



УДК 577.21:579.873.21:579.258

АДАПТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *Mycobacterium tuberculosis* В ХОДЕ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА

© 2012 г. Т. А. Скворцов[#], Т. Л. АжикинаИнститут биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997 ГСП, Москва, В-437, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 27.09.2011 г. Принята к печати 03.11.2011 г.

Mycobacterium tuberculosis вызывает у людей инфекцию с различными клиническими проявлениями – от бессимптомного носительства до быстро прогрессирующего туберкулеза легких. Спектр проявлений инфекции зависит от сложных и все еще мало изученных взаимодействий между патогенной бактерией и организмом хозяина. Изменения в экспрессии генов, возникающие в ответ на защитную реакцию хозяина, являются необходимым условием для выживания и функционирования *M. tuberculosis*. Обзорная статья посвящена анализу динамических изменений транскриптома *M. tuberculosis*, происходящих в ходе развития инфекционного процесса в тканях организма хозяина. Рассматриваются современные данные по изменению транскриптома, полученные в различных модельных системах. Большая часть обзора посвящена описанию изменений в биохимии инфекционного процесса, вызываемого *M. tuberculosis*, при переходе от первичного инфицирования через латентное состояние к реактивации патогена. Также в обзоре обсуждаются изменения в экспрессии генов, происходящие на каждой из стадий, и вызванные этим перестройки бактериального метаболизма.

Ключевые слова: *Mycobacterium tuberculosis*, транскриптом, экспрессия генов, патоген *in vivo*, модельная инфекция.

ВВЕДЕНИЕ

В 1882 г. Роберт Кох впервые выделил возбудителя одной из самых страшных болезней человечества – туберкулеза [1, 2]. Это открытие положило начало исследованиям, в результате которых были созданы живая вакцина и ряд антибиотиков, позволяющих предотвращать и излечивать туберкулез. Тем не менее, в настоящее время туберкулез остается одной из основных причин смертности в мире, унося каждый год около 2 млн. жизней. Полному искоренению болезни препятствует ряд факторов, среди которых можно выделить возникновение штаммов, обладающих

множественной лекарственной устойчивостью. Совершенно очевидно, что в кратчайшие сроки требуется интенсифицировать усилия по поиску новых терапевтических и диагностических средств борьбы с туберкулезом.

Бактерия *Mycobacterium tuberculosis*, являющаяся возбудителем туберкулеза, принадлежит к отряду Actinobacteria, состоящему в основном из свободноживущих почвенных бактерий. *M. tuberculosis* обладает рядом уникальных особенностей, среди которых можно выделить необычное строение клеточной стенки, наличие большого числа нестандартных биохимических циклов, значительно увеличенное (по сравнению с другими бактериями) время удвоения численности бактериальной популяции [3, 4]. Достаточно необычно развивается заболевание [5–8]. Чаще всего инфицирование происходит при вдыхании аэрозоля, содержащего бактерии. Бактерии достигают терминальных альвеол, где захватываются макрофагами путем эндоцитоза, в результате чего бактерии оказываются в фагосомах. Далее в процессе фагоцитоза фагосома сливается с лизосомами, и в образующихся фаголизосомах бактерии подвергаются воздействию сред с низким значением pH, активных форм кислорода, радикалов NO, лизосомальных ферментов и токсических пептидов. Однако *M. tuberculosis* блокирует слияние фаго-

Сокращения: EHR – длительный гипоксический ответ (enduring hypoxic response); IFN- γ – гамма-интерферон (interferon-gamma); IS – инсерционная последовательность (insertion sequence); NRP – персистенция без репликации (non-replicating persistence); PDIM – димикоцерозат фтиоцерола (phthiocerol dimycoserolate); RNA-seq – секвенирование транскриптомов с использованием технологий секвенирования нового поколения (RNA sequencing); RNI – активные формы азота (reactive nitrogen intermediates); ROI – активные формы кислорода (reactive oxygen intermediates); SL-1 – сульфоллипид-1 (sulfolipid 1); TNF- α – фактор некроза опухоли-альфа (tumor necrosis factor-alpha); VBNC – живые, но некультивируемые (о клетках) (viable but non culturable); ЭТЦ – электронтранспортная цепь.

[#] Автор для связи: тел.: +7 (495) 330-65-47; факс: (495) 330-65-38; эл. почта: timofey@ibch.ru.

сом с лизосомами и, благодаря этому, выживает и размножается в макрофагах [9, 10].

Дальнейшее развитие заболевания связано с образованием в ходе иммунного ответа так называемых гранул, которые, с одной стороны, препятствуют возникновению системной инфекции, а с другой — способствуют размножению микобактерий, изолируя их от воздействия иммунной системы. При этом инфицирование продолжается, так как защитные механизмы не могут очистить организм хозяина от патогена, но инфекция не оказывает видимого воздействия на его самочувствие. Это так называемое состояние хронической, или латентной, инфекции, которое может длиться десятилетиями [11, 12]. Снижение уровня иммунитета может привести к реактивации инфекции, в результате чего развивается активный туберкулез.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

M. tuberculosis

Важной вехой в современной истории изучения туберкулеза стало окончание секвенирования генома *M. tuberculosis* [13, 14]. Для установления полной нуклеотидной последовательности был выбран хорошо изученный лабораторный штамм *M. tuberculosis* H37Rv. На настоящий момент в геноме *M. tuberculosis* длиной 4411532 п.о. насчитывают 4012 генов, 7 псевдогенов, 48 генов стабильных РНК и 25 генов малых РНК (*M. tuberculosis* annotation, release R21, <http://tuberculist.epfl.ch/>). Несомненный интерес представляет собой тот факт, что геном *M. tuberculosis* богат IS-элементами. Предполагается, что различающаяся функциональная активность IS-элементов может являться причиной различий в экспрессии некоторых генов у ряда штаммов *M. tuberculosis*. Примерно 4% генома участвует в кодировании белков двух родственных семейств PE и PPE, характерных только для *M. tuberculosis* [13, 15–17]. Более 250 генов отвечают за синтез ферментов метаболизма жирных кислот. Это многообразие вполне логично, поскольку для микобактерий характерно наличие уникальных липидов и гликолипидов. Интересно, что в геноме *M. tuberculosis* также присутствует около 100 генов, отвечающих за синтез ферментов окислительного катаболизма липидов. Такое количество ферментов, деградирующих липиды, не было отмечено ни у одной другой бактерии. Предполагается, что эти ферменты необходимы как для деградации экзогенных для микобактерий липидов хозяина с их последующей утилизацией патогеном, так и для модификации собственных липидов *M. tuberculosis*.

В скором времени после завершения секвенирования генома штамма H37Rv был секвенирован геном второго штамма *M. tuberculosis* — CDC1551 [18], а затем и остальных представителей рода *Mycobacterium*: *M. bovis* [19], *M. leprae* [20], *M. marinum* [21].

Применение методов сравнительной геномики дало информацию о генетическом полиморфизме микобактерий, который оказался намного выше, чем предполагалось ранее [22–24]. Полиморфизм, несомненно, объясняет существенную разницу в физиологии, биохимии и, что самое важное, в вирулентности различных штаммов. Тем не менее, знание структуры генома не позволяет делать выводы о причинах течения конкретного инфекционного процесса, равно как не дает возможность определить, за счет каких факторов микобактерии выживают внутри макрофагов, как образуются гранулемы и каким образом осуществляется долговременное персистирование бактерий в легких. Развитие функционального ответа микобактерий на те или иные изменения условий внешней среды происходит крайне быстро, что увеличивает сложность изучения этого процесса.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМОВ *M. tuberculosis*

Завершение в 1998 г. секвенирования генома *M. tuberculosis* [13] положило начало так называемой “постгеномной эре”, основной характерной чертой которой являются широкомасштабные исследования функциональной активности генома. Наличие информации об организации генома бактерии позволяет сконструировать макро- и микроматрицы ДНК, содержащие фрагменты большинства ОРС (открытых рамок считывания), давая тем самым возможность анализа изменений профиля транскрипции патогена в разнообразных условиях. Неудивительно, что первое исследование транскриптома *M. tuberculosis* с использованием микроматриц было проведено в течение года с момента опубликования геномной последовательности [25]. Уже через 5 лет появилось значительное число публикаций, описывающих результаты применения микроматриц для транскриптомного анализа микобактерий в различных условиях (см. обзоры [26, 27]).

Тем не менее, анализ экспрессии генов микобактерий в ходе развития инфекционного процесса *in vivo*, представляющий собой наибольший научный интерес, достаточно сложен, чем может объясняться относительно небольшое число публикаций на эту тему. Эксперимент по анализу транскриптома патогена *in vivo* определяется тремя факторами: экспериментальной моделью инфекции, методом выделения РНК патогена и методом анализа транскриптома. В данном обзоре мы остановимся только на используемых экспериментальных моделях (для обзора методов полнотранскриптомного анализа внутриклеточных бактериальных патогенов *in vivo* см. [28, 29]).

Экспериментальные модели туберкулеза, используемые для полнотранскриптомных исследований *in vivo*, отличаются большим разнообразием. Ниже перечислены основные варианты:

А) Искусственная гранулема.

В работе Каракоусис и сотр. [30] был применен оригинальный подход – создание искусственной гранулемы для решения проблем с выделением РНК *M. tuberculosis*.

Б) Фагоциты хозяина (мышь и человека).

Первыми исследованиями транскриптома *M. tuberculosis in vivo* являются работы Шнаппингера и сотр. [31] и Рахмана и сотр. [32]. Была изучена экспрессия генов *M. tuberculosis* в активированных и неактивированных мышинных макрофагах и выявлены дифференциально экспрессирующиеся гены. Рохде и сотр. охарактеризовали изменения в транскриптоме *M. tuberculosis* на начальных этапах инфицирования макрофагов мыши и продемонстрировали динамическое повышение уровня экспрессии ряда генов в течение первых 24 ч с момента инфекции [33].

Капелли с сотр. первыми охарактеризовали экспрессию генов *M. tuberculosis* в макрофагах человека на полногеномном уровне *in vivo* [34]. Фонтан и сотр. предприняли анализ транскриптомов *M. tuberculosis* из макрофагов клеточной линии ТНР-1 через 4 и 24 ч с момента инфекции [35]. Тэйо с сотр. первыми провели анализ генов *M. tuberculosis*, экспрессирующихся в макрофагах и дендритных клетках, инфицированных этим патогеном [36]. В работе Ли и сотр. впервые было предпринято сравнение двух штаммов *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis* H37Rv и *M. tuberculosis* H37Ra) на уровне транскриптома *in vivo* [37].

Исследование экспрессии генов микобактерий *in vivo*, проведенное Хомолка и сотр. [38], является наиболее обширным. Был предпринят сравнительный анализ профилей экспрессии генов 3 клинических изолятов *M. africanum*, 12 клинических изолятов *M. tuberculosis*, а также 2 референсных лабораторных штаммов, *M. tuberculosis* H37Rv и CDC1551, в активированных и неактивированных макрофагах мыши. В результате анализа был определен так называемый “коровый (основной) внутриклеточный транскриптом”, представляющий собой некий набор транскриптов, экспрессирующихся при персистенции микобактерий внутри макрофага. Этот транскриптом характерен для большого числа штаммов *M. tuberculosis* и не зависит от состояния макрофага.

В) Моделирование инфекции *M. tuberculosis* в лабораторных животных.

Группой Талаата в 2004 г. был впервые проведен анализ транскриптома микобактерий *M. tuberculosis*, выделенных из тканей организма инфицированного хозяина (лабораторных мышей)

[39]. В эксперименте исследовались изменения в составе транскриптома патогена в зависимости от времени с момента инфекции (7, 14, 21 или 28 дней) и генотипа хозяина (иммунокомпетентные мыши линии Balb/c и иммунодефицитные мыши линии SCID). В 2007 г. Талаат и сотр. опубликовали работу, посвященную анализу экспрессии генов *M. tuberculosis* в легких мышей линии Balb/c на более поздних стадиях инфекционного процесса [40]. В 2010 г. в работе Ажикиной и сотр. был проведен анализ экспрессии генов *M. tuberculosis* в тканях легкого инфицированных мышей с использованием масштабного секвенирования (RNA-seq) [41].

Г) Исследование транскриптома *M. tuberculosis* в тканях человека.

Работа Рахман и сотр., опубликованная в 2006 г., на настоящий момент является единственной, в которой было проведено исследование экспрессии генов *M. tuberculosis* непосредственно в тканях легкого человека (хирургические образцы) [42]. Были получены профили экспрессии генов патогена для трех различных образцов: гранулемы, перикавитарной легочной ткани и морфологически нормальной легочной ткани.

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ТРАНСКРИПТОМ *M. tuberculosis*

На основании данных, полученных разными авторами в системе *in vivo*, можно выделить ряд основных отличительных черт транскриптома, характерных для микобактерий, персистирующих внутри макрофагов. Это, в основном, изменения в экспрессии генов, требующихся для адаптации патогена к неблагоприятным и/или специфическим условиям внутри макрофагов, а также генов различных факторов модуляции иммунного ответа. Микобактерии, попадающие внутрь макрофагов, находятся во внутреннем пространстве фагосом, что, наряду с преимуществами, связанными с защитой от компонентов иммунной системы, приводит также и к усложнению доступа патогена к питательным веществам и микроэлементам. Изменения в экспрессии генов *M. tuberculosis* прежде всего направлены на формирование микроокружения, способного поддерживать функциональную активность микобактерий *in vivo*.

Метаболизм липидов

Метаболизм липидов является ключевым для *M. tuberculosis*, что прямо или косвенно подтверждается рядом факторов: присутствием значительного числа генов ферментов метаболизма липидов в структуре генома; незаменимостью ряда генов на основании данных транспозонного мутагенеза [43]; ослаблением или утратой вирулент-

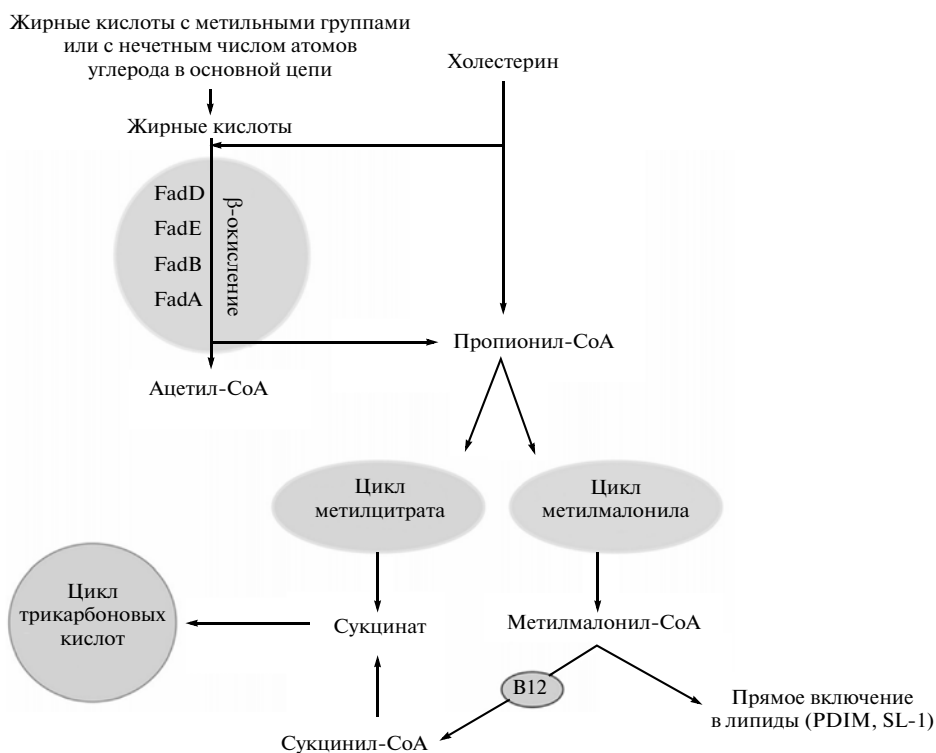


Рис. 1. Пути образования и утилизации пропионил-СоА (модифицировано из работы [48]). PDIM – димикоцерозат фтиоцера (phthiocerol dimycocerosate); SL-1 – сульфополипид-1 (sulfolipid 1); B12 – витамин B12.

ности штаммов *M. tuberculosis*, мутантных по генам из этой функциональной категории [44].

Одним из наиболее характерных изменений в экспрессии генов, вовлеченных в липидный метаболизм, является активация экспрессии генов кластеров *fadA*, *fadB*, *fadD*, *fadE* и *echA* [31, 36, 41, 45]. Эти гены кодируют ферменты, участвующие в процессе β-окисления жирных кислот и катаболизма холестерина. Конечным результатом их активности являются ацетил-СоА и пропионил-СоА, образующиеся из жирных кислот с соответственно четным и нечетным числом атомов углерода в цепи. Эти производные жирных кислот используются в цикле трикарбоновых кислот и метилцитратном цикле (рис. 1).

С работой метилцитратного цикла связано также повышение экспрессии гена изоцитратлиазы *icl1*. Изоцитратлиаза является ключевым ферментом глиоксилатного цикла (шунта) – процесса, активизирующегося в условиях, при которых основным источником углерода являются жирные кислоты (рис. 2). В ходе этого процесса происходит последовательное превращение активированного ацетата (ацетил-СоА) в малат через стадию образования глиоксильной кислоты.

Малат может быть превращен в пируват под действием фосфоенолпируваткарбоксикиназы, являющейся продуктом гена *pckA*, повышенную

экспрессию которого у микобактерий *in vivo* отмечали ранее, что косвенным образом указывает на возможность активации глюконеогенеза [31, 36, 46]. Помимо обеспечения работы собственно глиоксилатного шунта, активность изоцитратлиазы необходима для утилизации накапливающегося в процессе жизнедеятельности микобактерии пропионил-СоА, который является цитотоксическим продуктом [47]. Такая утилизация осуществляется за счет способности изоцитратлиазы выступать в роли 2-метилизоцитратлиазы, отвечающей за превращение пропионил-СоА в сукцинат. Также пропионил-СоА может быть метаболизирован преобразованием в метилмалонил-СоА и последующим превращением в сукцинат, либо включением в различные компоненты клеточной стенки, такие как фтиоцеролдимикоцерозат (PDIM) или сульфополипид-1 (SL-1) [48].

Среди других генов липидного метаболизма, экспрессия которых наблюдается преимущественно *in vivo*, можно отметить гены группы *desA*, кодирующие десатуразы жирных кислот [31, 37, 38, 42]. Транскрипция генов *papA* и *pks*, белковые продукты которых требуются для синтеза поликетидов, выступающих в качестве компонентов клеточной стенки *M. tuberculosis* [49–51], практически всегда обнаруживается при анализе экспериментальных данных; тем не менее, эти гены

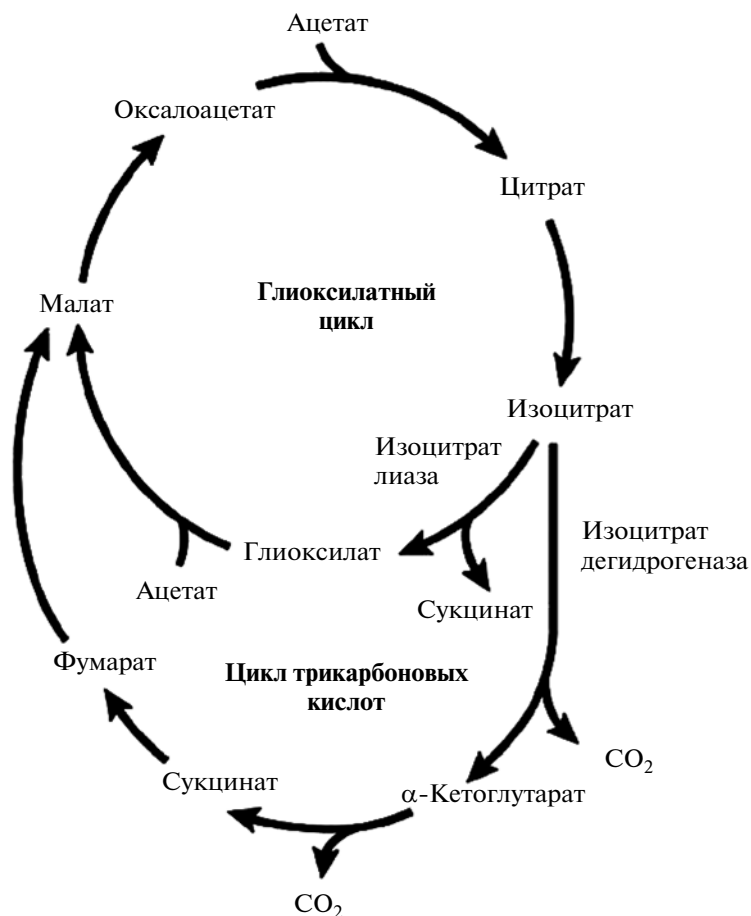


Рис. 2. Соотношение глиоксилатного шунта и цикла трикарбоновых кислот (модифицировано из работы [118]).

могут иметь как повышенную, так и пониженную экспрессию *in vivo*, что, вероятно, является отражением особенностей метаболизма липидов в конкретных условиях [33, 36–38, 41]. Интересно, что экспрессия этих генов снижена у авирулентных *M. bovis* BCG и *M. tuberculosis* H37Ra по сравнению с вирулентным штаммом *M. tuberculosis* H37Rv [33, 37].

Энергетический метаболизм: клеточное дыхание

Данные, полученные в ходе исследования экспрессии генов *M. tuberculosis in vivo*, свидетельствуют о том, что в ходе развития инфекционного процесса микобактерии претерпевают значительную перестройку энергетического метаболизма. Характерным при этом является последовательное снижение уровня экспрессии генов NADH-дегидрогеназы типа I (*nuoA-N*) и повышение экспрессии генов кластера *narGHJI*, кодирующего нитратредуктазу, и гена *narK2*, продукт которого является белком-транспортером нитратов [31, 36, 41]. Подобный метаболический сдвиг означает, скорее всего, что происходит переориентация

электронтранспортной цепи (ЭТЦ) на использование нитрата в качестве конечного акцептора электронов. Помимо этого в большинстве случаев наблюдается снижение экспрессии генов цитохром-с-оксидазы типа aa3 (*ctaBEC*) и цитохром-с-редуктазы (*qcrCAB*) [31, 52, 53].

Биосинтез белков и клеточный рост

Снижение экспрессии генов рибосомных белков (*rpl*, *rpm*, *rps*) свидетельствует о вероятном снижении потребности клетки в белковом синтезе. Обычно это явление проявляется в неоптимальных условиях пребывания патогена (дендритные клетки, активированные макрофаги) и коррелирует с понижением уровня экспрессии генов АТФ-синтазы (*atpA-H*) и замедлением репликации *M. tuberculosis* [36, 38].

Защитные механизмы, репарация ДНК

Несмотря на то, что компартмент (ранняя фаголизосома), в котором пребывает *M. tuberculosis* во время персистенции в макрофагах, пред-

ставляет собой среду, агрессивность которой достаточно невелика (рН фаголизосомы – 6.2–6.4, практически полное отсутствие гидролитической активности), микобактерии подвергаются значительному числу стрессовых воздействий, среди которых можно выделить воздействие активных форм кислорода и азота и гибель клетки-хозяина в результате апоптоза. Вследствие стрессовых воздействий происходит повышение экспрессии генов систем репарации и рекомбинации ДНК (*dinF/G*) [31, 39, 42] и шаперонов (*groES*, *groEL1/2*, *dnaJ/K*, *hspX*) [30, 33, 35, 36, 38, 52]. Ряд данных свидетельствует о том, что подобная реакция не является специфическим ответом на внутриклеточные условия пребывания, а представляет собой часть адаптивного ответа на стрессовые условия [54, 55].

Клеточная стенка, мембрана и транспорт

Клеточная стенка *M. tuberculosis* – образование, уникальное как по своей структурной сложности, так и по разнообразию исполняемых функций. В ее составе находится большое количество особых липидов, которые обеспечивают защиту бактерии от вредных внешних воздействий и модулируют иммунный ответ хозяина [56]. Клеточная стенка и внутренняя плазматическая мембрана представляют собой две составляющих сложной клеточной оболочки микобактерий. Во внутренней плазматической мембране находится большое число транспортных систем. Повышенная экспрессия наблюдалась для ряда генов таких систем, среди которых гены *irtA/B*, кодирующие транспортеры карбоксимикобактерина [31, 36, 37]; *sugI*, *Rv2040c* и *Rv2041c*, гены транспортеров углеводов [31, 36, 41]; ген белка-транспортера нитратов (*narK2*) [36, 40, 41, 52].

Ограниченным доступом к железу объясняется повышенная экспрессия генов ферментов синтеза сидерофоров – микобактерина и карбоксимикобактерина (*mbtA-J*, *mbtL-N*) [31, 36, 41].

Факторы вирулентности *Mycobacterium tuberculosis*

Вирулентность *M. tuberculosis* проявляется как за счет различных по своей структурной принадлежности веществ, так и за счет разнообразных метаболических процессов, обеспечивающих успешное протекание инфекции. Выживание патогена в клетках хозяина напрямую связано с уклонением от негативных воздействий со стороны защитных систем организма хозяина и получением питательных веществ из тканей хозяина для существования и размножения. На поздних стадиях инфекционного процесса патогену также необходимо значительное повреждение тканей и органов хозяина, так как оно способствует распространению инфекции. Мы рассмотрим те

факторы, которые оказывают непосредственное воздействие на организм хозяина с целью подавления защитных механизмов.

К таким модуляторам иммунного ответа можно отнести белок ESAT-6 [57], кодируемый геном *esxA*, который секретируется с помощью системы транспорта типа 7 (T7SS) ESX-1 [58, 59]. ESAT-6 выступает в качестве одного из ключевых факторов иммунной модуляции; предполагается, что он участвует в лизисе мембран фаголизосомы и внешней мембраны макрофагов и, тем самым, способствует распространению микобактерий от одной клетки хозяина к другой [60, 61]. Экспрессия генов кластера *esx in vivo* находится под постоянным контролем, и может быть как повышена, так и понижена в зависимости от условий [31, 33, 35, 36].

Другой важной системой модуляции иммунного ответа является экспрессия генов белков семейства PE/PPE, обладающих иммуногенными свойствами [17, 62, 63]. Увеличение или снижение экспрессии этих генов также зависит от конкретных условий [17, 31, 35, 36, 41]. В геноме *M. tuberculosis* белки семейства PE/PPE кодируются приблизительно 168 генами (5% от общей кодирующей емкости генома) (TubercuList, сборка генома R21, <http://tuberculist.epfl.ch/>). Схематическая структура белков этих семейств приведена на рис. 3.

Несмотря на то, что конкретная функциональная активность белков этого семейства не ясна, тот факт, что они являются уникальными для микобактерий, указывает на их важность. Для некоторых из этих белков (PPE61, PPE55) было показано увеличение экспрессии соответствующих генов в большинстве экспериментов по изучению экспрессии генов *M. tuberculosis*. В ряде исследований также было показано, что PPE55 может выступать в качестве потенциального кандидата для создания вакцины против туберкулеза [64, 65].

Регуляция транскрипции

В основе адаптации к изменению условий внешней среды лежит активность сигнальных и регуляторных систем бактерии, а следовательно, и изменение экспрессии генов систем регуляции транскрипции. Среди регуляторных систем надо выделить, прежде всего, 13 генов сигма-факторов [66, 67]. Неоднократно в экспериментах *in vivo* была показана их дифференциальная экспрессия. Например, ген *sigH* имел повышенную экспрессию в искусственной грануле мышей и в макрофагах человека [30]; гены *sigB* и *sigE* также имели повышенный уровень экспрессии в фагосомах мышей [33], а также в искусственной грануле мышей [30] и в легком мыши [39].

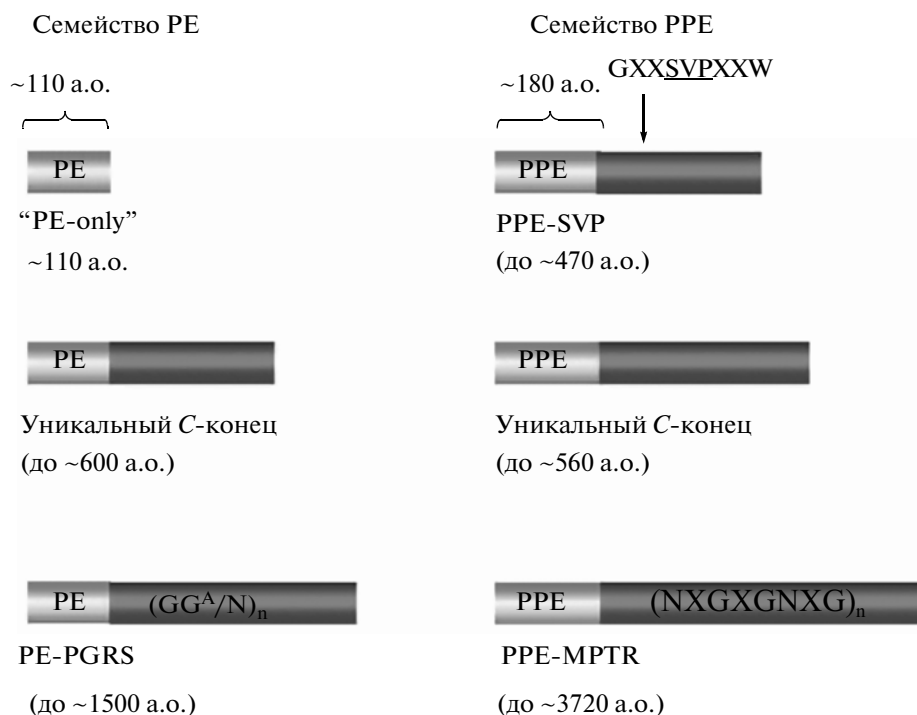


Рис. 3. Схематическое представление белков семейств PE/PPE. Приведены структурные особенности белков. Белки PE и PPE обладают консервативными N-концевыми доменами длиной около 110 и 180 а.о. соответственно. Одна из подгрупп белков PPE имеет характерный мотив SVP (длиной около 350 а.о.). Оба семейства (PE и PPE) могут быть разделены на отдельные подгруппы на основе структуры их вариабельных C-концевых доменов. Участки, кодируемые полиморфными GC-богатыми последовательностями (Polymorphic GC-Rich Sequence, PGRS) семейства PE и основными полиморфными тандемными повторами (Major Polymorphic Tandem Repeats, MPTR) семейства PPE, принадлежат к основным источникам геномного полиморфизма *M. tuberculosis* [62].

Другими генами транскрипционных регуляторов, повышение экспрессии которых было зафиксировано в экспериментах *in vivo*, являются *whiB3* [33, 35], *ethR*, *ideR*, *kstR* и *relA* [31, 35, 36]. Кроме того, *M. tuberculosis* обладает 12-ю двухкомпонентными регуляторными системами [68]. Две из них, *rhoPR* [69] и *dosRS* (*devRS*) [70], были изучены более детально, чем остальные. Установлено, что функциональная активность системы *rhoPR* обеспечивает вирулентность *M. tuberculosis*, регулируя метаболизм сложных липидов и работу систем секреции ESX [69]. Индукция генов, находящихся под контролем позитивного регулятора транскрипции *rhoP*, наблюдалась при воздействии слабокислой среды (pH 6.4) фагосом макрофагов мышей [33]. Не менее важной регуляторной двухкомпонентной системой является *dosRS*, которая регулирует экспрессию около 50 генов [70]. Повышение экспрессии генов этого регулона при заражении макрофагов микобактериями отмечалось неоднократно [31, 33, 35, 36]. Кроме того, экспрессия генов этого регулона наблюдалась практически во всех других экспериментах *in vivo*: в *M. tuberculosis* из искусственной гранулемы мышей, в образцах тканей легкого мы-

ши и хирургических образцах человеческого легкого, а также в образце мокроты. Подобное повышение экспрессии было отмечено также и в ряде опытов *in vitro* [30, 37, 38, 40, 52, 71, 72]. Функциональная роль этого регулона не вполне ясна, но предполагается, что его активность важна для адаптации *M. tuberculosis* к изменениям окислительно-восстановительного статуса в ходе развития инфекционного процесса [73–75].

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ ТРАНСКРИПТОМА *Mycobacterium tuberculosis* — ОТ ПЕРВИЧНОГО ИНФИЦИРОВАНИЯ ЧЕРЕЗ ЛАТЕНТНОЕ СОСТОЯНИЕ К РЕАКТИВАЦИИ

Взаимодействие *M. tuberculosis* с макрофагом начинается с момента прикрепления бактерии к поверхности макрофага. Можно было бы ожидать, что первичное изменение экспрессии генов патогена происходит уже в этот момент и служит подготовкой бактерии к условиям внутри макрофага. Тем не менее, подобной перестройки транскрипции не происходит: заметные изменения профиля экспрессии генов патогена наблюдаются

ся уже на первых минутах с момента его захвата макрофагом [33]. Среди генов, экспрессия которых активируется первой, выделяются различные гены регулонов, например *devR* (*dosR*), активация которого сопряжена с воздействием гипоксических условий (а также губительных для патогенных активных форм кислорода), и *phoP*, включающего гены факторов ремоделирования клеточной стенки. Несмотря на то, что понижение кислотности среды в фагосоме с микобактерией значительно (рН понижается с 7 до 6.4), оно является важным сигналом, вызывающим адаптивные изменения в профиле экспрессии генов. Известно, что белок *PhoP* служит сенсором кислотности среды у таких внутриклеточных бактерий как *Salmonella* [76], что может свидетельствовать об его участии в процессе ответа на изменение рН среды фаголизосомы и у *M. tuberculosis* [77]. У мутантов *M. tuberculosis* по гену *phoP* нарушен синтез липидов PAT, DAT и ManLAM, и не секретируется ESAT-6/CFP-10 [78]. Это приводит к нарушениям в способности *M. tuberculosis* эффективно блокировать взаимодействие фагосомы с лизосомами и выражается в явно сниженной вирулентности мутантов *M. tuberculosis* Δ *phoP* [79]. Таким образом, транскрипционная активность регулона *phoP* может служить не только для предотвращения закисления содержащей *M. tuberculosis* фагосомы, но и для предотвращения ее созревания, таким образом являясь одним из наиболее важных первичных адаптивных изменений.

После попадания в фагосому и устранения угрозы ее созревания микобактерии оказываются в достаточно безопасной среде (практически физиологическая кислотность среды, отсутствующая активность гидролаз, физическая защита за счет мембраны фагосомы) [9, 80]. Тем не менее, подобная локализация не является оптимальной из-за ряда факторов. Так, согласно данным [31, 33, 38, 81], в фагосоме микобактерии встречаются с дефицитом питательных веществ, низким парциальным давлением кислорода (гипоксией) и воздействием активных форм кислорода. В дальнейшем, после активации содержащих бактерии макрофагов с помощью IFN- γ и TNF- α , дополнительное негативное влияние будут оказывать также возобновление процесса созревания фагосомы и действие активных форм азота. Кроме того, микобактерии будут вынуждены подавлять активацию апоптоза.

Рассмотрим вначале события, не связанные напрямую с активацией макрофага. Данные экспериментов *in vivo* показывают, что для микобактерий, находящихся внутри макрофагов, наблюдается повышение экспрессии генов ферментов синтеза сидерофоров микобактина и карбоксимикобактина (*mbtA-J*, *irtA/B*, *mbtL-N*), что указывает на возможный дефицит ионов железа [31, 36, 37]. Тем не менее, подобного повышения не отме-

чалось в образцах из человеческих легких, мокроты или клеточной линии ТНР-1, что может свидетельствовать либо о различиях в доступности железа в микроокружениях микобактерий из фагосом макрофагов мыши и человека, либо о том, что захват железа не является необходимым на всех стадиях инфекционного процесса *M. tuberculosis* [35, 42, 52]. Интерес представляет и тот факт, что в клетках линии ТНР-1 после их инфицирования микобактериями повышается экспрессия гена *mhuD* [35], кодирующего фермент деградации гема [82], что указывает на возможное использование гема в качестве источника железа при инфекции человека.

Помимо дефицита железа, в микроокружении микобактерий также наблюдается дефицит фосфора [83, 84], а также, вероятно, и аминокислот [42]. Несмотря на то, что сульфаты также важны для выживания бактерии, блокирование основного сульфатного транспортера (*CysTWA*) не оказывает ярко выраженного негативного влияния на жизнеспособность микобактерий; и это является косвенным подтверждением реализации транспорта серы в составе метионина [3]. В подтверждение этой точки зрения говорит и факт активации экспрессии генов транспортеров аминокислот у *M. tuberculosis* в условиях *in vivo* [31].

В ходе многочисленных наблюдений было установлено, что микобактерии при попадании внутрь макрофага активируют экспрессию генов метаболизма липидов; это подтверждается данными большинства исследований изменений экспрессии генов патогена *in vivo*. Принято считать, что причиной подобных изменений является переход к преимущественному использованию липидов вместо углеводов в качестве основного источника углерода [45, 85, 86]. На это указывает как снижение экспрессии гена пируваткиназы (*pykA*), ключевого фермента гликолиза [31, 52], так и повышение экспрессии генов транспортеров углеводов (*sigI*, *Rv2040c*, *Rv2041c*) [31, 36] и глицерин-3-фосфата (*ugpA/B/E*) [36]. Таким образом, можно предположить, что в ходе инфекции *M. tuberculosis* использует углеводы и аминокислоты для биосинтетических целей, а источником ацильных групп для цикла Кребса выступают жирные кислоты и холестерин.

Интересно, что при инфекции снижается уровень экспрессии генов транспортеров липидов *mce4* и *mce1* [31, 36]. Образование белка Mce4, являющегося транспортером холестерина [87], необходимо патогену для выживания в макрофагах, активированных IFN- γ [88]. Так как в процессе метаболизма липидов образуются молекулы цитотоксического пропионил-СоА [89], можно сделать вывод о том, что регулирование потребления холестерина является важным для жизнедеятельности *M. tuberculosis*.

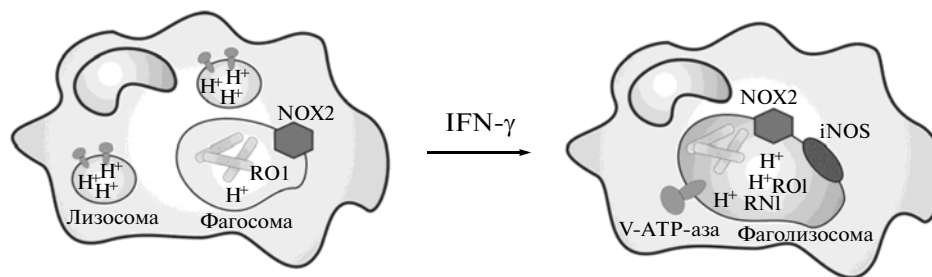


Рис. 4. Классический путь активации макрофага (модифицировано из [119]). Под воздействием $\text{IFN-}\gamma$ происходит ряд изменений, приводящих к слиянию лизосом с фагосомой, содержащей микобактерии, что приводит к закислению среды внутри образовавшейся фаголизосомы. Кроме повышенной кислотности (H^+) данное микроокружение характеризуется также большим содержанием активных форм кислорода (ROI) и наличием активных форм азота (RNI), генерируемых белками макрофага NADPH оксидазой NOX2 и NO-синтазой iNOS, соответственно.

Как было уже сказано выше, микобактерии в ходе развития инфекции претерпевают перестройку ЭТЦ, постепенно снижая зависимость от кислорода и переходя на использование нитрата в качестве конечного донора кислорода [53]. Хотя традиционно считалось, что причина этого заключается в процессе адаптации патогена к пониженному содержанию кислорода, ряд исследований последних лет указывает на то, что существенной причиной подобной перестройки системы клеточного дыхания может служить необходимость аккумуляции нитратов или борьбы с активными формами азота [90, 91].

Активация макрофага при помощи $\text{IFN-}\gamma$ и $\text{TNF-}\alpha$ имеет негативные последствия для находящейся внутри микобактерии (рис. 4). Как уже отмечено ранее, к этим последствиям относятся: (i) возобновление процесса созревания содержащей микобактерии фагосомы, которое сопровождается закислением ее внутреннего пространства и дальнейшим снижением доступности питательных веществ и микроэлементов для бактерий, находящейся в фагосоме; (ii) воздействие активных форм кислорода и азота; (iii) возможность апоптотического пути клеточной смерти инфицированного макрофага, что приводит к элиминации патогена. Несмотря на существование у *M. tuberculosis* ряда механизмов, противодействующих негативным изменениям в физиологии их клетки-хозяина [92], полностью предотвратить эти явления бактерия не в состоянии, что может привести к последующему уничтожению микобактериальных клеток.

M. tuberculosis не допускают своего полного уничтожения и, тем самым, излечения инфекции путем перехода в так называемое покоящееся (дормантное) состояние, в котором они невосприимчивы к воздействию перечисленных негативных факторов. На системном уровне болезнь переходит в так называемое латентное состояние [93, 94], сопровождающееся образованием особых агрегатов (гранул) [95], состоящих пре-

имущественно из клеток иммунной системы. Предполагается, что гранулемы обеспечивают защиту организма от бактерий, хотя есть ряд сведений, что гранулематозное ремоделирование легких приносит значительную пользу патогену, предоставляя ему защищенную от внешних воздействий нишу для размножения и последующего эффективного распространения [96]. В состоянии латентной инфекции внешне не наблюдается негативных проявлений болезни, то есть воздействие патогена на общее состояние инфицированного организма становится минимальным.

Механизм, за счет которого происходит переход бактерии в дормантное состояние, не вполне ясен. В целом считается, что важную роль в обеспечении этого перехода играет регулон *dosR*, так как экспрессия генов, входящих в него, наблюдается в большинстве условий, в которых *M. tuberculosis* приобретает дормантный фенотип. Также с входжением в дормантное состояние ассоциируют повышение экспрессии гена *hspX* (*acr, Rv2031c*) [97], относящегося к *dosR*-регулону [70, 97–99] и кодирующего белок α -кристаллин [100, 101]. Тем не менее, ряд данных указывает на то, что активация регулона *dosR* и экспрессия гена *hspX* не обязательно связаны с переходом в дормантное состояние. Так, было установлено, что в “стоящей” (оставленной без перемешивания) культуре *M. tuberculosis* экспрессия *hspX* повышается в 100 раз в течение 30 мин [98]. Активация регулона *dosR* может осуществляться под влиянием целого спектра стимулов, включающих как гипоксию, так и низкий pH, воздействие CO, NO, SDS, H_2O_2 [74]. Также было показано, что экспрессия генов регулона *dosR* является кратковременной (<24 ч), необязательна для проявления вирулентных свойств и в дальнейшем сменяется экспрессией примерно 230 генов, кодирующих факторы, необходимые для персистенции микобактерий. Экспрессия генов этой группы получила название “enduring hypoxic response” (EHR) [102].

Приведенные данные позволили выдвинуть предположение, что роль регулона *dosR* шире, чем обеспечение перехода в дормантное состояние, и заключается, скорее всего, в адаптации к изменениям окислительно-восстановительного потенциала в клетках *M. tuberculosis*, которые могут быть вызваны сочетанием различного рода стрессовых воздействий, характерных для условий *in vivo* [74].

Данные, касающиеся физиологического состояния бактерий, находящихся в дормантном состоянии, противоречивы [103]. Окончательно не установлено точное место локализации бактерий, пребывающих в дормантном состоянии [104]. Не ясно, что из себя конкретно представляет это состояние, то есть, является ли оно действительно дормантным, не сопровождающимся клеточными делениями [105], либо же клеточное деление продолжает осуществляться [106]. В последнем случае непонятно, все ли бактерии активны и участвуют в поддержании динамического равновесия между репликацией микобактерий и их гибелью в результате активности иммунной системы, либо же в организме также присутствует и популяция микобактерий в истинно дормантном состоянии. В том случае, если верно предположение о том, что при латентной инфекции бактерии находятся в дормантном состоянии, то не ясно, какова природа этого состояния.

Можно выделить два основных типа такого состояния: за счет действия внешних неблагоприятных факторов, прекращение воздействия которых приводит к восстановлению способности к размножению бактерий, что наблюдается в модели Вейна (Wayne model, NRP – non replicating persistence) [107], либо за счет перехода микобактерий в особое состояние, которое характеризуется определенным уровнем метаболической активности, но восстановление возможности к размножению таких бактерий неосуществимо без воздействия экзогенных факторов (модель VBNC, viable but non culturable) [97, 103, 108]. В зависимости от того, что представляют собой микобактерии в дормантном состоянии, возможны два варианта реактивации туберкулеза: за счет локального выхода бактерий из дормантного состояния (статическая гипотеза латентного туберкулеза) [95], либо за счет постоянной эндогенной реинфекции (динамическая гипотеза латентного туберкулеза) [109].

Накопленные данные позволили ряду авторов выступить с предложением отказаться от классического деления туберкулеза на активный и латентный и перейти к рассмотрению инфекции в виде спектра исходов взаимодействий иммунной системы организма и патогена [110]. Вероятно, что наиболее соответствующей истинной ситуации может быть модель, приведенная на рис. 5.

Согласно этой модели, в организме хозяина одновременно присутствуют как активно делящиеся бактерии, так и бактерии в дормантном состоянии; их взаимодействие друг с другом, а также с клетками иммунной системы, определяет проявление инфекции на уровне организма.

Финальной стадией туберкулеза является реактивация инфекционного процесса; при этом вероятность реактивации в организме инфицированного человека составляет ~10% в течение жизни [111]. Данных об изменениях метаболического состояния микобактерий в ходе реактивации туберкулеза и о сдвигах в экспрессии бактериальных генов, связанных с реорганизацией метаболизма, на текущий момент недостаточно. В работе Кесавана и соотр. [112] было проведено исследование экспрессии ряда генов в ходе реактивации туберкулеза в модельной инфекции кроликов, для чего у группы инфицированных животных активность иммунной системы была подавлена при помощи кортикостероидов [112]. В условиях реактивации у микобактерий было обнаружено повышение экспрессии генов семейства *rpf* [112]. Ранее было показано, что функциональная активность этих генов, кодирующих мурамидазы, необходима для выхода микобактерий из дормантного состояния *in vivo* (ресусцитации) [113–115]. Эти данные указывают на важную роль факторов Rpf в реактивации туберкулеза.

Таким образом, несмотря на накопленный объем данных и значительный уровень понимания физиологии *M. tuberculosis* в ходе инфекции в целом, процессы, связанные с переходом в дормантное состояние у микобактерий, а также реактивацией латентной инфекции, требуют дальнейшего изучения.

ПРИМЕНЕНИЕ ДАННЫХ ТРАНСКРИПТОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ *M. tuberculosis* ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ

Особенности биохимии, клеточной и молекулярной биологии *M. tuberculosis* несомненно представляют собой значительный интерес для фундаментальной науки, способствуя, в том числе, лучшему пониманию адаптивной эволюции бактерий. Объем накопленных данных о *M. tuberculosis* ставит ее в один ряд с такими бактериями как *Escherichia coli* и *Bacillus subtilis*, делая ее *de facto* модельным организмом. Тем не менее, совершенно очевидно, что такой интерес научного сообщества к *M. tuberculosis* обусловлен в первую очередь чрезвычайной медицинской, социальной и экономической значимостью вызываемого им заболевания человека – туберкулеза. Туберкулез является причиной смерти около 2 млн. человек каждый год; кроме этого, длительное лечение снижает эффективность труда заболевших и ка-

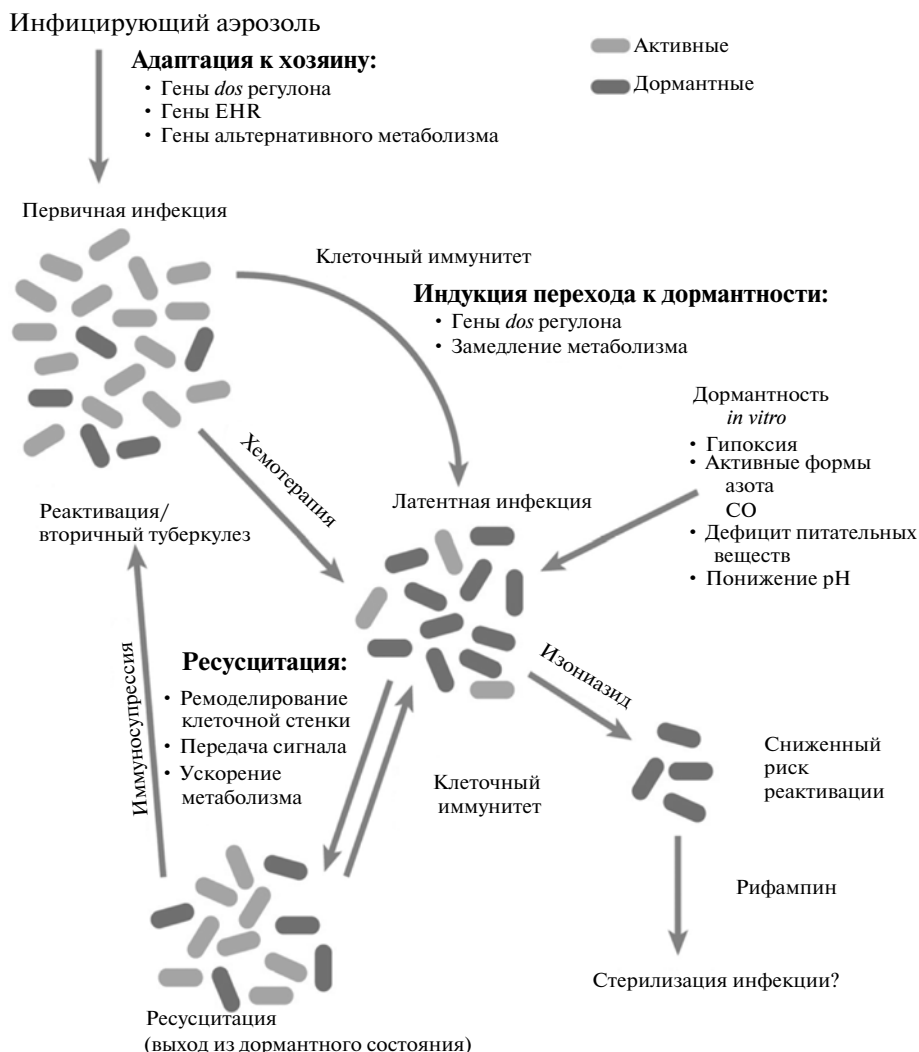


Рис. 5. Современная модель инфекции *M. tuberculosis* (приводится по [103]).

чество их жизни, а также зачастую ведет к ухудшению их общественного статуса. Всесторонние функциональные исследования *M. tuberculosis* позволили выявить ряд генов, продукты которых являются хорошими мишенями для создания антибактериальных препаратов и вакцин.

Было бы некорректно утверждать, что одни лишь транскриптомные исследования микобактерий привели к созданию такого рода препаратов; тем не менее, зачастую те гены, продукты которых являются объектами действия фармацевтических препаратов, демонстрируют повышенный уровень экспрессии во время инфекционного процесса. Так, продукт гена *desA3*, линоленоил-СоА-десатураза, является мишенью действия изоурона (изоксила, 3-(5-*mpem*-бутил-изоксазол-3)-1,1-диметилмочевина). В работе [42] было показано повышение экспрессии гена *desA3* в образцах легкого больных туберкулезом.

В 2004 г. Талаат и сотр. показали, что уровень экспрессии гена *atpE*, кодирующего субъединицу с АТФ-синтазы *M. tuberculosis*, повышен у микобактерий из образцов тканей мышей линии BALB/c, устойчивых к туберкулезу, в сравнении с экспрессией у микобактерий из мышей линии SCID [39]. Открытый в 2005 г. диарилхиолин TMC-207 (J&J/Tibotec and TB Alliance) оказывает ингибирующее действие на с-субъединицу АТФ-синтазы, что снижает концентрацию внутриклеточного АТФ бактерии и приводит к ее гибели [116]. В работе Ли и сотр. было найдено, что среди генов, экспрессия которых у *M. tuberculosis* H37Rv из макрофагов мыши повышена по сравнению с авирулентным штаммом H37Ra, можно выделить 18, которые необходимы для оптимального размножения микобактерий в макрофагах [83]. К ним относится ген *secA2*, кодирующий транслоказу SecA2, являющуюся компонентом вспомога-

тельной транспортной системы Sec, обеспечивающей, помимо прочего, секрецию супероксиддисмутазы SodA и каталазы KatG. Живая вакцина, созданная на основе мутанта *M. tuberculosis* по гену *secA2* [117], показала высокую эффективность и безопасность при испытаниях на животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение экспрессии генов внутриклеточных бактерий на уровне функциональной активности всего генома, а не только отдельных групп генов, существенно для изучения метаболических и физиологических состояний, необходимых патогенам для успешного персистирования в инфицированных тканях. Кроме того, данные об экспрессии генов могут помочь в обнаружении механизмов вирулентности, позволяющих патогенам модулировать иммунный ответ хозяина. Гены бактерий, экспрессия которых индуцируется внутри клеток хозяина, важны для выживания патогенов в этих условиях и, таким образом, являются потенциальными мишенями для создания новых терапевтических средств и дизайна вакцин.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 11-04-01325, Программы поддержки научных школ (№ 5638.2010.4) и Программы по молекулярной и клеточной биологии Президиума РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Koch R.* // Berliner klinische Wochenschrift. 1882. V. 19. P. 221–230.
- Koch R.* // Rev. Infect. Dis. 1982. V. 4. P. 1270–1274.
- Cook G.M., Berney M., Gebhard S., Heinemann M., Cox R.A., Danilchanka O., Niederweis M.* // Adv. Microb. Physiol. 2009. V. 55. P. 81–182, 318–189.
- Levinson W.* Medical Microbiology & Immunology: Examination & Board Review. The McGraw-Hill Companies, Inc: 2004.
- Cosma C.L., Sherman D.R., Ramakrishnan L.* // Annu. Rev. Microbiol. 2003. V. 57. P. 641–676.
- Smith I.* // Clin. Microbiol. Rev. 2003. V. 16. P. 463–496.
- van Crevel R., Ottenhoff T.H., van der Meer J.W.* // Clin. Microbiol. Rev. 2002. V. 15. P. 294–309.
- Glickman M.S., Jacobs W.R., Jr.* // Cell. 2001. V. 104. P. 477–485.
- Vergne I., Chua J., Singh S.B., Deretic V.* // Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 2004. V. 20. P. 367–394.
- Flynn J.L., Chan J.* // Curr. Opin. Immunol. 2003. V. 15. P. 450–455.
- Cardona P.J., Ruiz-Manzano J.* // Eur. Respir. J. 2004. V. 24. P. 1044–1051.
- Flynn J.L., Chan J.* // Annu. Rev. Immunol. 2001. V. 19. P. 93–129.
- Cole S.T., Brosch R., Parkhill J., Garnier T., Churcher C., Harris D., Gordon S.V., Eiglmeier K., Gas S., Barry C.E., III, et al.* // Nature. 1998. V. 393. P. 537–544.
- Camus J.C., Pryor M.J., Medigue C., Cole S.T.* // Microbiology. 2002. V. 148. P. 2967–2973.
- Brennan M.J., Delogu G.* // Trends Microbiol. 2002. V. 10. P. 246–249.
- Banu S., Honore N., Saint-Joanis B., Philpott D., Prevost M.C., Cole S.T.* // Mol. Microbiol. 2002. V. 44. P. 9–19.
- Voskuil M.I., Schnappinger D., Rutherford R., Liu Y., Schoolnik G.K.* // Tuberculosis (Edinb.). 2004. V. 84. P. 256–262.
- Fleischmann R.D., Alland D., Eisen J.A., Carpenter L., White O., Peterson J., DeBoy R., Dodson R., Gwinn M., Haft D., et al.* // J. Bacteriol. 2002. V. 184. P. 5479–5490.
- Garnier T., Eiglmeier K., Camus J.C., Medina N., Mansoor H., Pryor M., Duthoy S., Grondin S., Lacroix C., Monsempe C., et al.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. V. 100. P. 7877–7882.
- Cole S.T., Eiglmeier K., Parkhill J., James K.D., Thomson N.R., Wheeler P.R., Honore N., Garnier T., Churcher C., Harris D., et al.* // Nature. 2001. V. 409. P. 1007–1011.
- Stinear T.P., Seemann T., Harrison P.F., Jenkin G.A., Davies J.K., Johnson P.D., Abdellah Z., Arrowsmith C., Chillingworth T., Churcher C., et al.* // Genome Res. 2008. V. 18. P. 729–741.
- Kato-Maeda M., Bifani P.J., Kreiswirth B.N., Small P.M.* // J. Clin. Invest. 2001. V. 107. P. 533–537.
- Domenech P., Barry C.E., III, Cole S.T.* // Curr. Opin. Microbiol. 2001. V. 4. P. 28–34.
- Zhu X., Chang S., Fang K., Cui S., Liu J., Wu Z., Yu X., Gao G.F., Yang H., Zhu B., et al.* // BMC Microbiol. 2009. V. 9. P. 40.
- Wilson M., DeRisi J., Kristensen H.H., Imboden P., Rane S., Brown P.O., Schoolnik G.K.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. V. 96. P. 12833–12838.
- Butcher P.D.* // Tuberculosis (Edinb.). 2004. V. 84. P. 131–137.
- Kendall S.L., Rison S.C., Movahedzadeh F., Frita R., Stoker N.G.* // Trends Microbiol. 2004. V. 12. P. 537–544.
- La M.V., Raoult D., Renesto P.* // FEMS Microbiol. Rev. 2008. V. 32. P. 440–460.
- Скворцов Т.А., Ажикина Т.Л.* // Биоорганическая химия. 2010. Т. 36. С. 596–606 (*Skvortsov T.A., Azhikina T.L.* // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 2010. V. 36. P. 550–559.)
- Karakousis P.C., Yoshimatsu T., Lamichhane G., Woolwine S.C., Nuermberger E.L., Grosset J., Bishai W.R.* // J. Exp. Med. 2004. V. 200. P. 647–657.
- Schnappinger D., Ehrt S., Voskuil M.I., Liu Y., Mangan J.A., Monahan I.M., Dolganov G., Efron B., Butcher P.D., Nathan C., et al.* // J. Exp. Med. 2003. V. 198. P. 693–704.

32. *Rachman H., Strong M., Schaible U., Schuchhardt J., Hagens K., Mollenkopf H., Eisenberg D., Kaufmann S.H.* // *Microbes Infect.* 2006. V. 8. P. 747–757.
33. *Rohde K.H., Abramovitch R.B., Russell D.G.* // *Cell Host Microbe.* 2007. V. 2. P. 352–364.
34. *Cappelli G., Volpe E., Grassi M., Liseo B., Colizzi V., Mariani F.* // *Res. Microbiol.* 2006. V. 157. P. 445–455.
35. *Fontan P., Aris V., Ghanny S., Soteropoulos P., Smith I.* // *Infect. Immun.* 2008. V. 76. P. 717–725.
36. *Tailleux L., Waddell S.J., Pelizzola M., Mortellaro A., Withers M., Tanne A., Castagnoli P.R., Gicquel B., Stoker N.G., Butcher P.D., et al.* // *PLoS One.* 2008. V. 3. P. e1403.
37. *Li A.H., Waddell S.J., Hinds J., Malloff C.A., Bains M., Hancock R.E., Lam W.L., Butcher P.D., Stokes R.W.* // *PLoS One.* 2010. V. 5. P. e11066.
38. *Homolka S., Niemann S., Russell D.G., Rohde K.H.* // *PLoS Pathog.* 2010. V. 6. P. e1000988.
39. *Talaat A.M., Lyons R., Howard S.T., Johnston S.A.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101. P. 4602–4607.
40. *Talaat A.M., Ward S.K., Wu C.W., Rondon E., Tavano C., Bannantine J.P., Lyons R., Johnston S.A.* // *J. Bacteriol.* 2007. V. 189. P. 4265–4274.
41. *Azhikina T., Skvortsov T., Radaeva T., Mardanov A., Ravin N., Apt A., Sverdlov E.* // *Biotechniques.* 2010. V. 48. P. 139–144.
42. *Rachman H., Strong M., Ulrichs T., Grode L., Schuchhardt J., Mollenkopf H., Kosmiadi G.A., Eisenberg D., Kaufmann S.H.* // *Infect. Immun.* 2006. V. 74. P. 1233–1242.
43. *Sasseti C.M., Boyd D.H., Rubin E.J.* // *Mol. Microbiol.* 2003. V. 48. P. 77–84.
44. *Neyrolles O., Guilhot C.* // *Tuberculosis (Edinb.).* 2011. V. 91. P. 187–195.
45. *Munoz-Elias E.J., McKinney J.D.* // *Cell Microbiol.* 2006. V. 8. P. 10–22.
46. *Marrero J., Rhee K.Y., Schnappinger D., Pethe K., Ehrh S.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107. P. 9819–9824.
47. *Savvi S., Warner D.F., Kana B.D., McKinney J.D., Mizrahi V., Dawes S.S.* // *J. Bacteriol.* 2008. V. 190. P. 3886–3895.
48. *Russell D.G., VanderVen B.C., Lee W., Abramovitch R.B., Kim M.J., Homolka S., Niemann S., Rohde K.H.* // *Cell Host Microbe.* 2010. V. 8. P. 68–76.
49. *Bhatt K., Gurcha S.S., Bhatt A., Besra G.S., Jacobs W.R., Jr.* // *Microbiology.* 2007. V. 153. P. 513–520.
50. *Hatzios S.K., Schelle M.W., Holsclaw C.M., Behrens C.R., Botyanszki Z., Lin F.L., Carlson B.L., Kumar P., Leary J.A., Bertozzi C.R.* // *J. Biol. Chem.* 2009. V. 284. P. 12745–12751.
51. *Sirakova T.D., Thirumala A.K., Dubey V.S., Sprecher H., Kolattukudy P.E.* // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. P. 16833–16839.
52. *Garton N.J., Waddell S.J., Sherratt A.L., Lee S.M., Smith R.J., Senner C., Hinds J., Rajakumar K., Adegbola R.A., Besra G.S., et al.* // *PLoS Med.* 2008. V. 5. P. e75.
53. *Shi L., Sohaskey C.D., Kana B.D., Dawes S., North R.J., Mizrahi V., Gennaro M.L.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. V. 102. P. 15629–15634.
54. *Boshoff H.I., Myers T.G., Copp B.R., McNeil M.R., Wilson M.A., Barry C.E., III* // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 40174–40184.
55. *Waddell S.J., Stabler R.A., Laing K., Kremer L., Reynolds R.C., Besra G.S.* // *Tuberculosis (Edinb.).* 2004. V. 84. P. 263–274.
56. *Kaur D., Guerin M.E., Skovierova H., Brennan P.J., Jackson M.* // *Adv. Appl. Microbiol.* 2009. V. 69. P. 23–78.
57. *Sorensen A.L., Nagai S., Houen G., Andersen P., Andersen A.B.* // *Infect. Immun.* 1995. V. 63. P. 1710–1717.
58. *Abdallah A.M., Gey van Pittius N.C., Champion P.A., Cox J., Luirink J., Vandenbroucke-Grauls C.M., Appelmeik B.J., Bitter W.* // *Nat. Rev. Microbiol.* 2007. V. 5. P. 883–891.
59. *Simeone R., Bottai D., Brosch R.* // *Curr. Opin. Microbiol.* 2009. V. 12. P. 4–10.
60. *de Jonge M.I., Pehau-Arnaudet G., Fretz M.M., Romain F., Bottai D., Brodin P., Honore N., Marchal G., Jiskoot W., England P., et al.* // *J. Bacteriol.* 2007. V. 189. P. 6028–6034.
61. *Kinhikar A.G., Verma I., Chandra D., Singh K.K., Weldingh K., Andersen P., Hsu T., Jacobs W.R., Jr., Laal S.* // *Mol. Microbiol.* 2010. V. 75. P. 92–106.
62. *Sampson S.L.* // *Clin. Dev. Immunol.* 2011. V. 2011. P. 497203.
63. *Bottai D., Brosch R.* // *Mol. Microbiol.* 2009. V. 73. P. 325–328.
64. *Zvi A., Ariel N., Fulkerson J., Sadoff J.C., Shafferman A.* // *BMC Med. Genomics.* 2008. V. 1. P. 18.
65. *Singh K.K., Dong Y., Patibandla S.A., McMurray D.N., Arora V.K., Laal S.* // *Infect. Immun.* 2005. V. 73. P. 5004–5014.
66. *Manganelli R., Provvedi R., Rodrigue S., Beaucher J., Gaudreau L., Smith I.* // *J. Bacteriol.* 2004. V. 186. P. 895–902.
67. *Rodrigue S., Provvedi R., Jacques P.E., Gaudreau L., Manganelli R.* // *FEMS Microbiol. Rev.* 2006. V. 30. P. 926–941.
68. *Tucker P.A., Nowak E., Morth J.P.* // *Methods Enzymol.* 2007. V. 423. P. 479–501.
69. *Gonzalo-Asensio J., Mostowy S., Harders-Westervreen J., Huygen K., Hernandez-Pando R., Thole J., Behr M., Gicquel B., Martin C.* // *PLoS One.* 2008. V. 3. P. e3496.
70. *Park H.D., Guinn K.M., Harrell M.I., Liao R., Voskuil M.I., Tompa M., Schoolnik G.K., Sherman D.R.* // *Mol. Microbiol.* 2003. V. 48. P. 833–843.
71. *Fenhalls G., Stevens L., Moses L., Bezuidenhout J., Betts J.C., Helden P.v., Lukey P.T., Duncan K.* // *Infect. Immun.* 2002. V. 70. P. 6330–6338.
72. *Timm J., Post F.A., Bekker L.G., Walther G.B., Wainwright H.C., Manganelli R., Chan W.T., Tsenova L.,*

- Gold B., Smith I., et al.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. V. 100. P. 14321–14326.
73. *Bacon J., Marsh P.D.* // Curr. Mol. Med. 2007. V. 7. P. 277–286.
74. *Rustad T.R., Sherrid A.M., Minch K.J., Sherman D.R.* // Cell Microbiol. 2009. V. 11. P. 1151–1159.
75. *Bacon J., James B.W., Wernisch L., Williams A., Morley K.A., Hatch G.J., Mangan J.A., Hinds J., Stoker N.G., Butcher P.D., et al.* // Tuberculosis (Edinb.). 2004. V. 84. P. 205–217.
76. *Martin-Orozco N., Touret N., Zaharik M.L., Park E., Kopelman R., Miller S., Finlay B.B., Gros P., Grinstein S.* // Mol. Biol. Cell. 2006. V. 17. P. 498.
77. *Walters S.B., Dubnau E., Kolesnikova I., Laval F., Dafefe M., Smith I.* // Mol. Microbiol. 2006. V. 60. P. 312–330.
78. *Ferrer N.L., Gomez A.B., Neyrolles O., Gicquel B., Martin C.* // PLoS One. 2010. V. 5. P. e12978.
79. *Perez E., Samper S., Bordas Y., Guilhot C., Gicquel B., Martin C.* // Mol. Microbiol. 2001. V. 41. P. 179–187.
80. *Rohde K., Yates R.M., Purdy G.E., Russell D.G.* // Immunol. Rev. 2007. V. 219. P. 37–54.
81. *Schnappinger D., Schoolnik G.K., Ehrt S.* // Microbes Infect. 2006. V. 8. P. 1132–1140.
82. *Chim N., Iniguez A., Nguyen T.Q., Goulding C.W.* // J. Mol. Biol. 2010. V. 395. P. 595–608.
83. *Rengarajan J., Bloom B.R., Rubin E.J.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. V. 102. P. 8327–8332.
84. *Rifat D., Bishai W.R., Karakousis P.C.* // J. Infect. Dis. 2009. V. 200. P. 1126–1135.
85. *Eisenreich W., Dandekar T., Heesemann J., Goebel W.* // Nat. Rev. Microbiol. 2010. V. 8. P. 401–412.
86. *Shi L., Sohaskey C.D., Pfeiffer C., Datta P., Parks M., McFadden J., North R.J., Gennaro M.L.* // Mol. Microbiol. 2010. V. 78. P. 1199c–1215.
87. *Mohn W.W., van der Geize R., Stewart G.R., Okamoto S., Liu J., Dijkhuizen L., Eltis L.D.* // J. Biol. Chem. 2008. V. 283. P. 35368–35374.
88. *Pandey A.K., Sasseti C.M.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2008. V. 105. P. 4376–4380.
89. *Yang X., Nesbitt N.M., Dubnau E., Smith I., Sampson N.S.* // Biochemistry. 2009. V. 48. P. 3819–3821.
90. *Malm S., Tiffert Y., Micklinghoff J., Schultze S., Joost I., Weber I., Horst S., Ackermann B., Schmidt M., Wohlleben W., et al.* // Microbiology. 2009. V. 155. P. 1332–1339.
91. *Tan M.P., Sequeira P., Lin W.W., Phong W.Y., Cliff P., Ng S.H., Lee B.H., Camacho L., Schnappinger D., Ehrt S., et al.* // PLoS One. 2010. V. 5. P. e13356.
92. *Stokes R.W., Waddell S.J.* // Future Microbiol. 2009. V. 4. P. 1317–1335.
93. *Ahmad S.* // Clin. Dev. Immunol. 2011. V. 2011. P. 814943.
94. *Cardona P.J.* // Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.). 2010. V. 58. P. 7–14.
95. *Ulrichs T., Kaufmann S.H.* // J. Pathol. 2006. V. 208. P. 261–269.
96. *Davis J.M., Ramakrishnan L.* // Cell. 2009. V. 136. P. 37–49.
97. *Zhang Y.* // Front Biosci. 2004. V. 9. P. 1136–1156.
98. *Kendall S.L., Movahedzadeh F., Rison S.C., Wernisch L., Parish T., Duncan K., Betts J.C., Stoker N.G.* // Tuberculosis (Edinb.). 2004. V. 84. P. 247–255.
99. *Voskuil M.I.* // Tuberculosis (Edinb.). 2004. V. 84. P. 138–143.
100. *Verbon A., Hartskeerl R.A., Schuitema A., Kolk A.H., Young D.B., Lathigra R.* // J. Bacteriol. 1992. V. 174. P. 1352–1359.
101. *Yuan Y., Crane D.D., Simpson R.M., Zhu Y.Q., Hickey M.J., Sherman D.R., Barry C.E., III* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V. 95. P. 9578–9583.
102. *Rustad T.R., Harrell M.I., Liao R., Sherman D.R.* // PLoS One. 2008. V. 3. P. e1502.
103. *Chao M.C., Rubin E.J.* // Annu. Rev. Microbiol. 2010. V. 64. P. 293–311.
104. *Ehlers S.* // Infection. 2009. V. 37. P. 87–95.
105. *Munoz-Elias E.J., Timm J., Botha T., Chan W.T., Gomez J.E., McKinney J.D.* // Infect. Immun. 2005. V. 73. P. 546–551.
106. *Gill W.P., Harik N.S., Whiddon M.R., Liao R.P., Mittler J.E., Sherman D.R.* // Nat. Med. 2009. V. 15. P. 211–214.
107. *Wayne L.G., Sohaskey C.D.* // Annu. Rev. Microbiol. 2001. V. 55. P. 139–163.
108. *Oliver J.D.* // J. Microbiol. 2005. V. 43. P. 93–100.
109. *Cardona P.J.* // Infection. 2009. V. 37. P. 80–86.
110. *Barry C.E., 3rd, Boshoff H.I., Dartois V., Dick T., Ehrt S., Flynn J., Schnappinger D., Wilkinson R.J., Young D.* // Nat. Rev. Microbiol. 2009. V. 7. P. 845–855.
111. *Apt A., Kondratieva T.* // Mol. Biol. 2008. V. 42. P. 784–793.
112. *Kesavan A.K., Brooks M., Tufariello J., Chan J., Manabe Y.C.* // Tuberculosis. 2009. V. 89. P. 17–21.
113. *Kana B.D., Gordhan B.G., Downing K.J., Sung N., Vostroktunova G., Machowski E.E., Tsenova L., Young M., Kaprelyants A., Kaplan G., et al.* // Mol. Microbiol. 2008. V. 67. P. 672–684.
114. *Kana B.D., Mizrahi V.* // FEMS Immunol Med. Microbiol. 2010. V. 58. P. 39–50.
115. *Kana B.D., Mizrahi V.* // Drug Discovery Today: Disease Mechanisms. 2010.
116. *Cole S.T., Riccardi G.* // Curr. Opin. Microbiol. 2011.
117. *Hinchey J., Jeon B.Y., Alley H., Chen B., Goldberg M., Derrick S., Morris S., Jacobs W.R., Jr., Porcelli S.A., Lee S.* // PLoS One. 2011. V. 6. P. e15857.
118. *Russell D.G.* // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2001. V. 2. P. 569–577.
119. *Ehrt S., Schnappinger D.* // Cell Microbiol. 2009. V. 11. P. 1170–1178.

Adaptive Changes of *Mycobacterium tuberculosis* Gene Expression during the Infectious Process

T. A. Skvortsov[#] and T. L. Azhikina

[#]Phone: (495) 330-65-47; fax: (495) 330-6538; e-mail: timofey@ibch.ru

Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences

ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117997 Russia

Mycobacterium tuberculosis causes an infection in humans with clinical manifestations varying from asymptomatic carriage of bacteria to rapidly progressing tuberculosis. Infection outcomes depend on complex and still not fully understood interactions between the pathogenic bacteria and their host organism. Gene expression changes in response to host defense mechanisms are needed for *M. tuberculosis* survival and functioning. This review focuses on the analysis of dynamic changes in the *M. tuberculosis* transcriptome taking place during infection processes in host tissues. Presently available data on mycobacterial transcriptome changes obtained from different infection models are discussed. A major part of this review is devoted to the description of biochemical changes occurring in *M. tuberculosis* infection process, from the primary through latent infection to pathogen reactivation. At each stage of the infection, gene expression changes and induced bacterial metabolic variations are discussed.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, transcriptome, gene expression, pathogen, in vivo, model of infection.