

**Определение механизма действия вещества с антибактериальной активностью, выделенного из штамма *Actinoplanes sp.* 49252****Научный руководитель – Остерман Илья Андреевич****Соболь Анастасия Павловна**

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: sobanas2000@gmail.com

В 1928 году Александром Флемингом был открыт первый антибиотик - пенициллин. На сегодняшний день известно уже более тысячи антибиотиков. Однако проблема лечения бактериальных инфекций человека остаётся актуальной и по сей день. Поэтому ускорение поиска новых антибактериальных соединений имеет особую практическую значимость. В лаборатории структуры и функций РНК профессора О. А. Донцовой под руководством доктора химических наук И. А. Остермана осуществляется поиск новых антимикробных препаратов методом высокопроизводительного скрининга с использованием штамма-репортёра *EcoliBWΔtolC\_pDualrep2* [2]. Этот штамм несёт плазмиду *pDualrep2* с геном *RFP* под контролем промотора *sulA*, активирующимся при *SOS*-ответе, и ген другого флуоресцентного белка *Katushka2S* под триптофановым аттенуатором, активирующимся при застревании рибосомы. Поэтому данная система позволяет разделять образцы на три группы: индукторы застревания рибосомы, индукторы *SOS*-ответа и не индуцирующие репортёр, что сообщает о возможных мишенях тестируемых веществ. Таким способом было обнаружено соединение, выделяемое во внешнюю среду штаммом *Actinoplanes sp.* 49252 с антибактериальной активностью. С помощью репортёрной конструкции было сделано предположение, что принцип механизма действия 49252 основан на ингибировании трансляции. Чтобы подтвердить эту гипотезу, мы определили, способен ли 49252 подавлять трансляцию *in vitro* и *in vivo* системах. В ходе проведенных экспериментов было установлено, что 49252 обладает ярко выраженным концентрационно-зависимым эффектом на ингибирование трансляции. Параллельно отбирались штаммы, устойчивые к действию 49252. Так как с помощью репортёрной системы мы установили, что 49252 относится к группе веществ, подавляющих трансляцию, то было решено сначала проанализировать рибосомный оперон на предмет наличия мутаций. Часть резистентных клонов несла мутации в 16S рРНК в регионе под названием 560 петля. Другая группа устойчивых клонов не имела мутаций в рРНК, поэтому мы провели полногеномное секвенирование, чтобы найти мишень. Было установлено, что устойчивость этих штаммов обусловлена мутациями в рибосомном белке *S4*, которые превращают рибосомы в ошибающиеся [1]. Далее мы проверили, как фенотипически проявляются мутации в рРНК. Выяснилось, что, по крайней мере, для клона с мутацией *C564G*, уровень ошибок в трансляции также повышается. Следовательно, было выдвинуто следующее предположение: 49252 ингибирует трансляцию, делая рибосому более точной. Детальное определение механизма действия требует дальнейших экспериментов.

**Источники и литература**

- 1) Agarwal D, Kamath D, Gregory ST, O'Connor M. 2015. Modulation of decoding fidelity by ribosomal proteins S4 and S5. *J Bacteriol* 197:1017–1025. doi:10.1128/JB.02485-14.

- 2) Osterman, Ilya A et al. "Sorting Out Antibiotics' Mechanisms of Action: a Double Fluorescent Protein Reporter for High-Throughput Screening of Ribosome and DNA Biosynthesis Inhibitors" *Antimicrobial agents and chemotherapy* vol. 60,12 7481-7489. 21 Nov. 2016, doi:10.1128/AAC.02117-16