Секция «Физико-химическая биология»

Разработка новых генетических конструкций для определения механизма действия антибиотиков в ходе гражданских научных исследований

Научный руководитель – Остерман Илья Андреевич

Ягода Д.К.[1], *Волынкина И.А.*[2]

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: yagodadasha@mail.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: inna-volynkina@yandex.ru*

Устойчивость патогенных бактерий к уже имеющимся антибиотикам представляет собой проблему, которая приводит к нехватке эффективных методов лечения [1]. В связи с этим возникает задача интенсифицировать процесс поиска новых молекул для борьбы с бактериями, в том числе с помощью привлечения гражданских исследователей. В данной работе мы представляем механизм-ориентированный подход к поиску новых продуцентов антибиотиков с использованием зрительно детектируемых репортерных систем.

Ранее для поиска новых антибиотиков и их продуцентов в нашей лаборатории использовалась двойная репортерная система pDualrep2 [2], состоящая из генов двух флуоресцентных белков: turbo-RFP под контролем промотора sulA (активируется в присутствии индукторов SOS-ответа) и Katushka2S под контролем trpL2A-регуляторного элемента (индуцируется в присутствии ингибиторов биосинтеза белка). Однако для эффективного использования этого репортера необходимо специфическое оборудование, недоступное для гражданских исследователей, которое позволяет различать флуоресцентные сигналы turbo-RFP (553/574 нм) и Katushka2S (588/633 нм).

На основе исходной плазмиды pDualrep2 нами были получены следующие конструкции: pDualrep3, pTrpL2A-RFP, pTrpL2A-Katushka2S и pSulA-RFP. В качестве генов, локальная экспрессия которых может быть детектирована невооруженным глазом, нами были выбраны turbo-rfp (оранжево-красный), katushka2S (фиолетово-лиловый) и lacZ (синий в присутствии субстрата X-gal). Эффективность конструкций была проверена на штамме E.coli ΔtolC. Плазмиды pSulA-RFP и pTrpL2A-Katushka2S показали наилучшие результаты, так как они позволяют детектировать активность многих классов антибиотиков. Плазмиды pDualrep3 и pTrpL2A-RFP характеризуются высоким уровнем фоновой неспецифической экспрессии.

Далее новые плазмиды pSulA-RFP и pTrpL2A-Katushka2S будут использованы в ходе широкомасштабного поиска новых актиномицетов-продуцентов антибиотиков. Возможность детекции сигнала невооруженным глазом позволяет привлечь к этому поиску гражданских исследователей, не обладающих доступом к сложному биологическому оборудованию.

Автор выражает благодарность Остерману И. А. и Волынкиной И. А. за чуткое руководство и помощь в обучении. Данное исследование было профинансировано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2021-1085).

References

1) Frieri M., Kumar K., Boutin A. Antibiotic resistance //Journal of infection and public health. – 2017. – Т. 10. – №. 4. – С. 369-378.

2) Osterman, I.A. et al. Sorting out antibiotics' mechanisms of action: a double fluorescent protein reporter for high-throughput screening of ribosome and DNA biosynthesis inhibitors // Antimicrob. Agents Chemother. 60, 7481–7489 (2016).