



Поиск и изучение новых антибиотиков, ингибирующих белковый синтез

Выполнила ученица 10 класса СУНЦ МГУ (г. Москва):

Суркова Дарья Евгеньевна

Научный руководитель:

Яровенко Светлана Юрьевна

студентка VI курса ФББ МГУ

Введение

- 1928 год - Александр Флеминг открыл антибактериальную активность гриба *Penicillium notatum*.
- 1945 год - Хоурд Флори и Эрнст Чейни совершили открытие в области разработки методов промышленного получения пенициллина.
- 1946 год - Зельман Ваксман открыл стрептомицин.



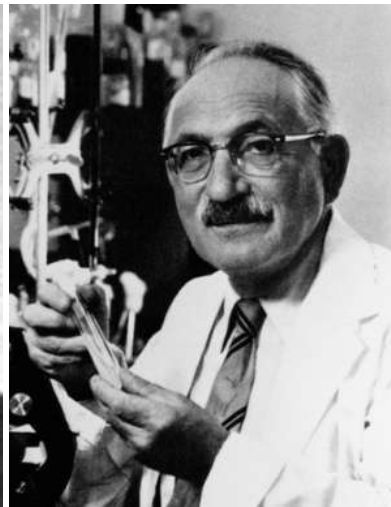
А. Флеминг



Х. Флори



Э. Чейни



З. Ваксман

Введение

- К концу 70-х годов XX века открытие антибиотиков пошло на спад, а *бактерии, наоборот, начали демонстрировать рост резистентности* к открытым лекарствам.
- Один из способов борьбы с устойчивостью микроорганизмов к антимикробным препаратам - это *поиск и разработка новых веществ, способных эффективно убивать бактерии.*

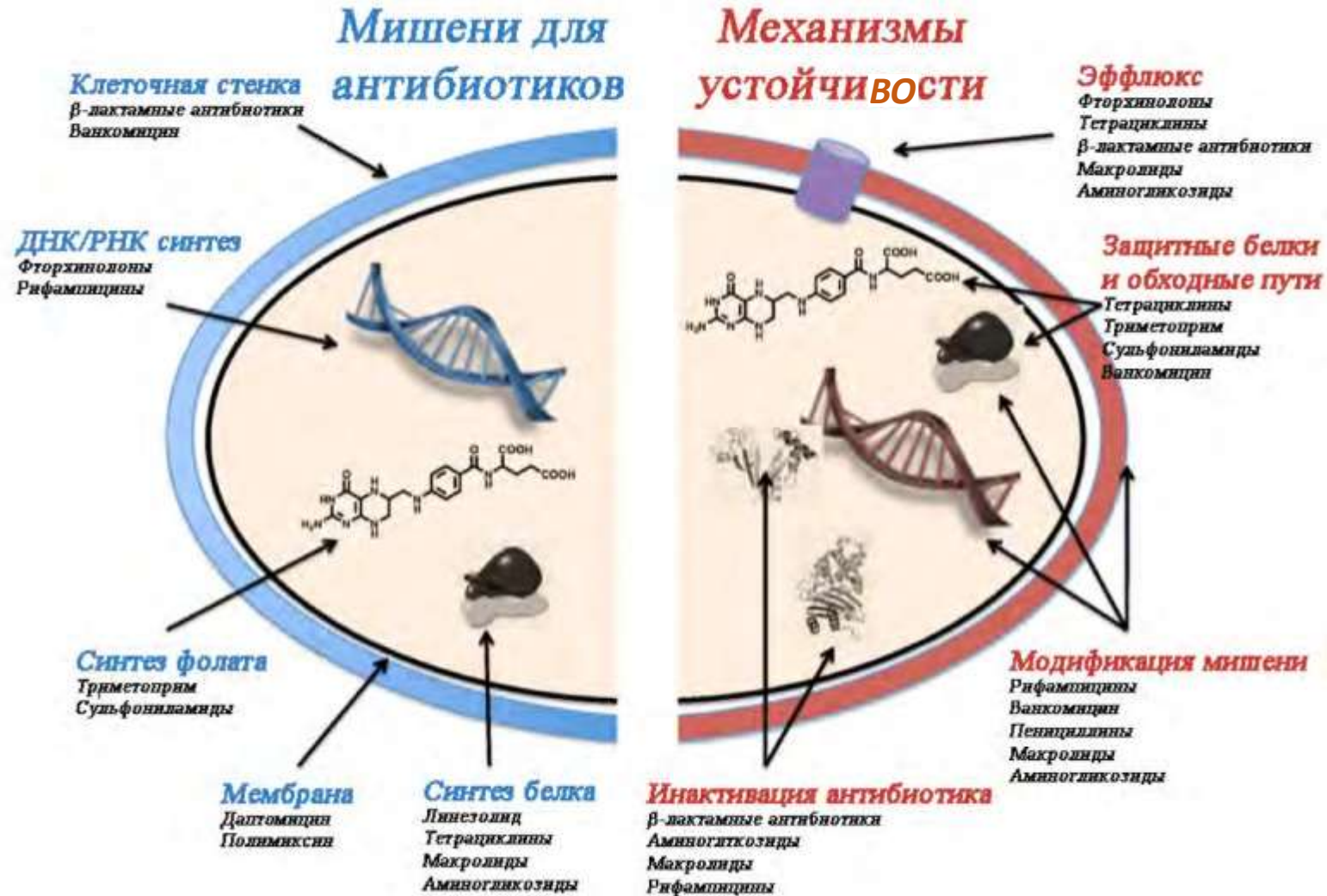
Что такое антибиотики?

Антибиотики – это синтетические или произведённые живой природой соединения, которые способны убивать бактерии или подавлять их рост.

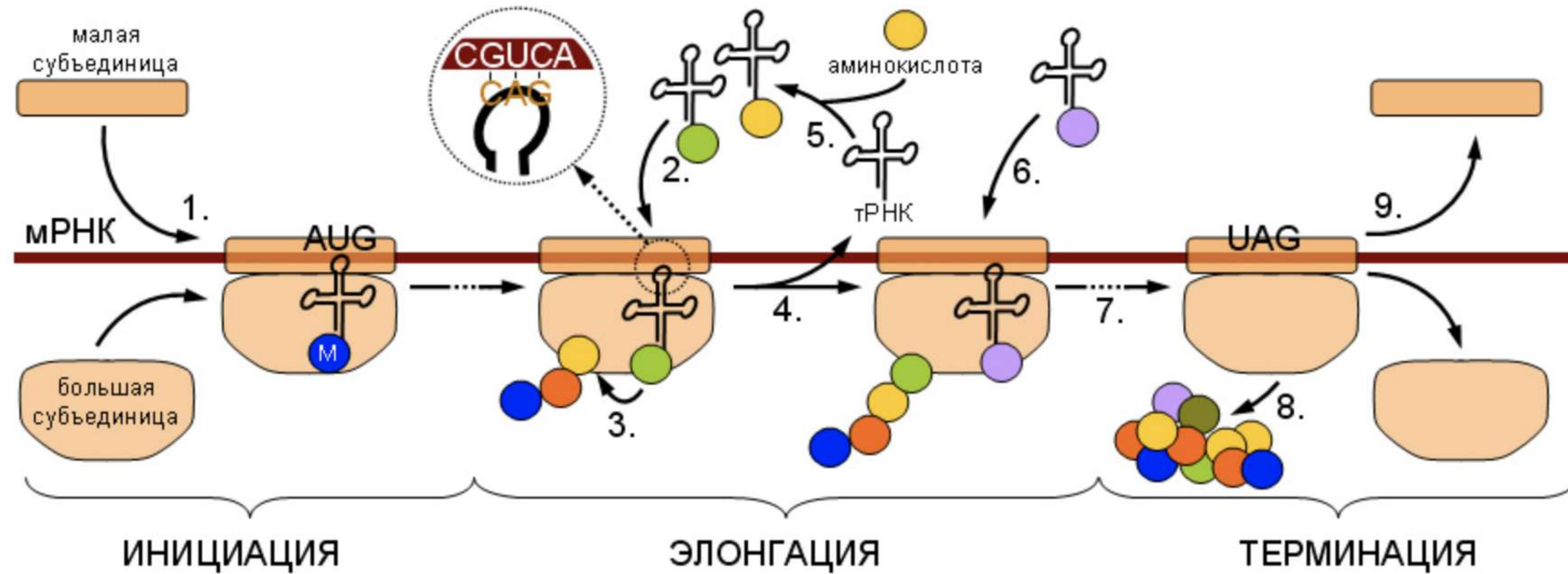
Особенности антибиотиков:

- Обладают высокой биологической активностью в отношении чувствительных к ним организмов.
- Избирательность действия.
- Могут проявлять иммуномодуляторное действие или выступать в качестве ингибиторов ферментов, инактивирующих значимые вещества.

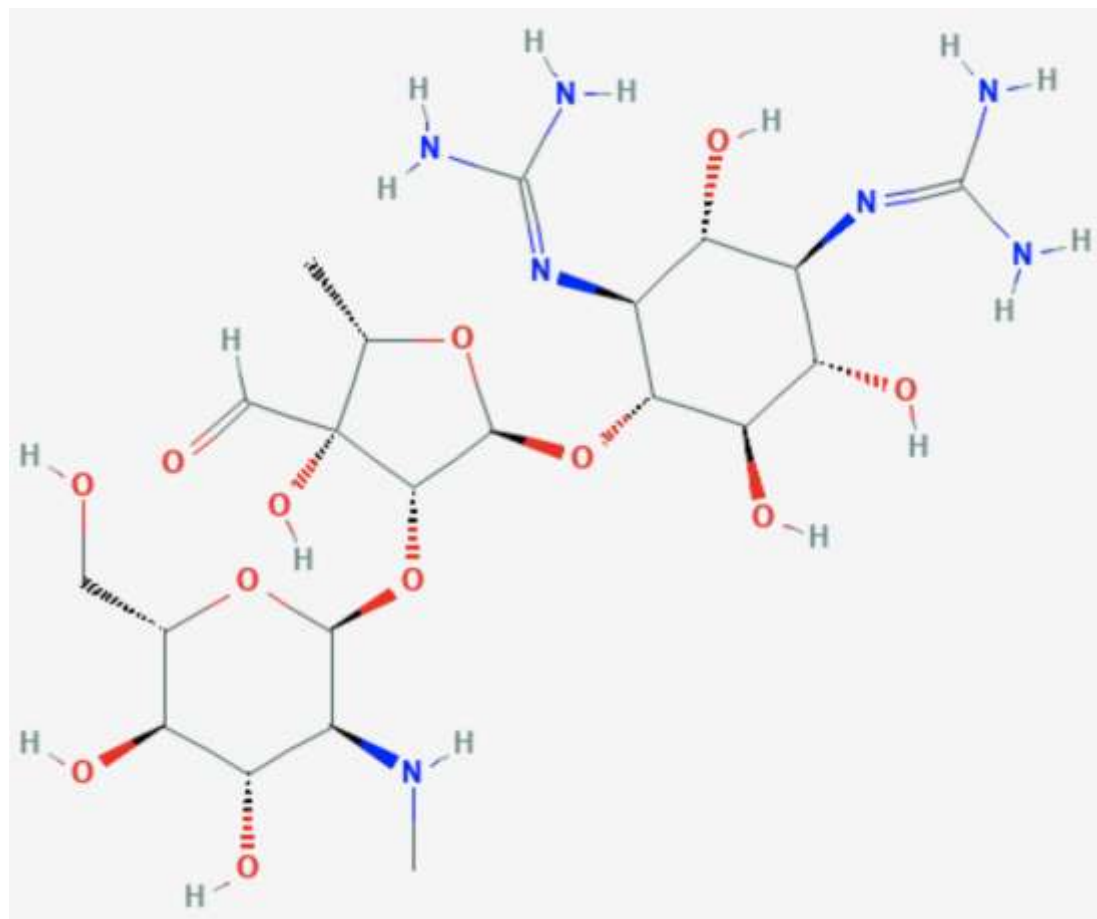
Классификация антибиотиков по механизму действия



Трансляция – мишень многих антибиотиков.

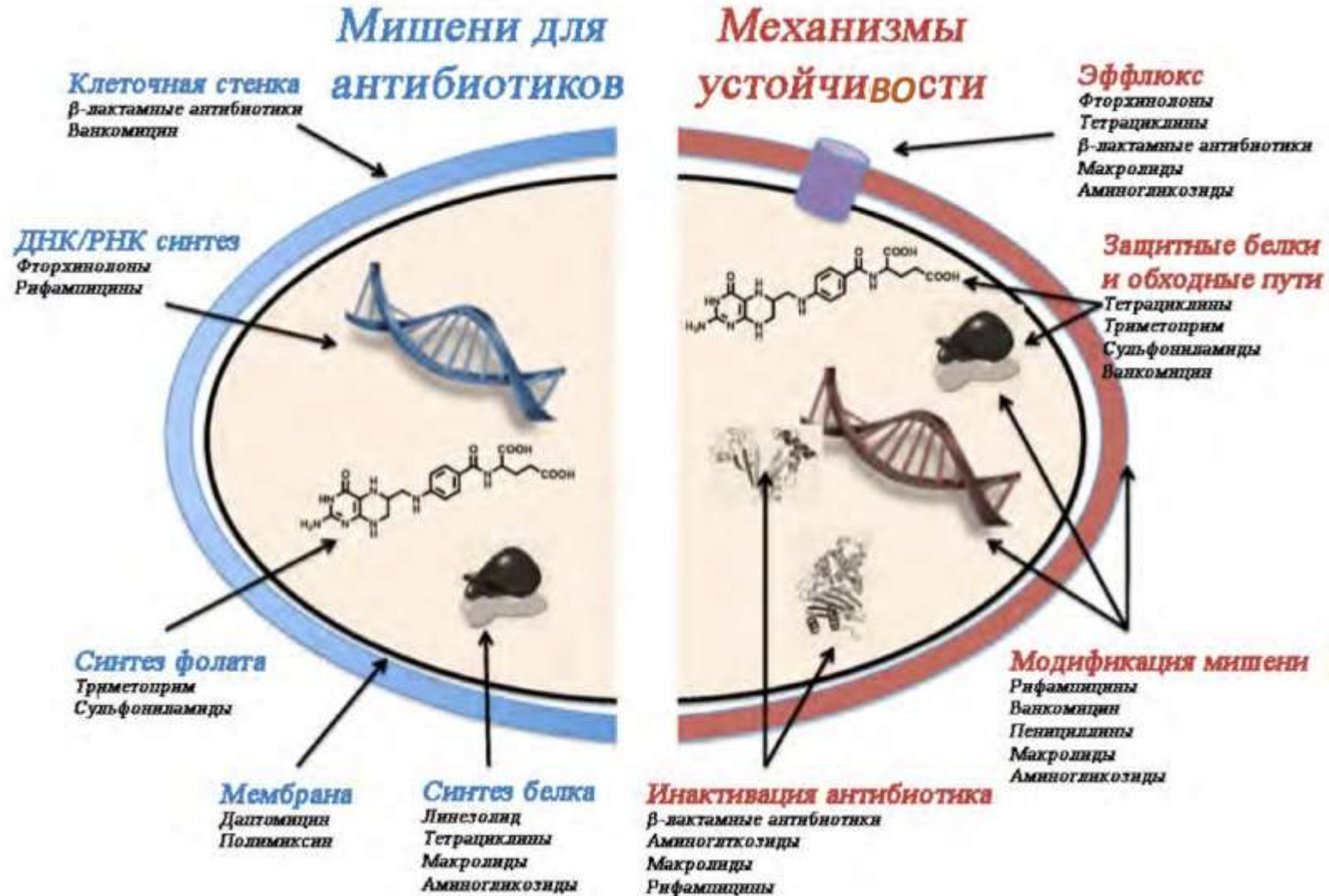


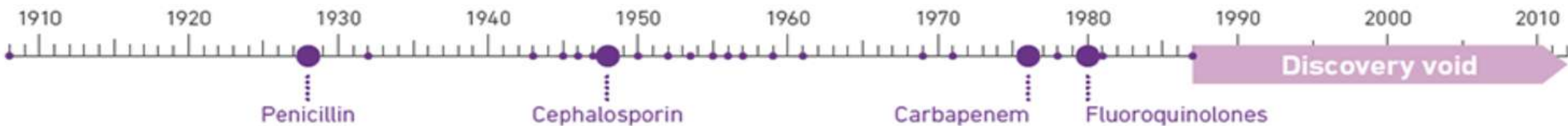
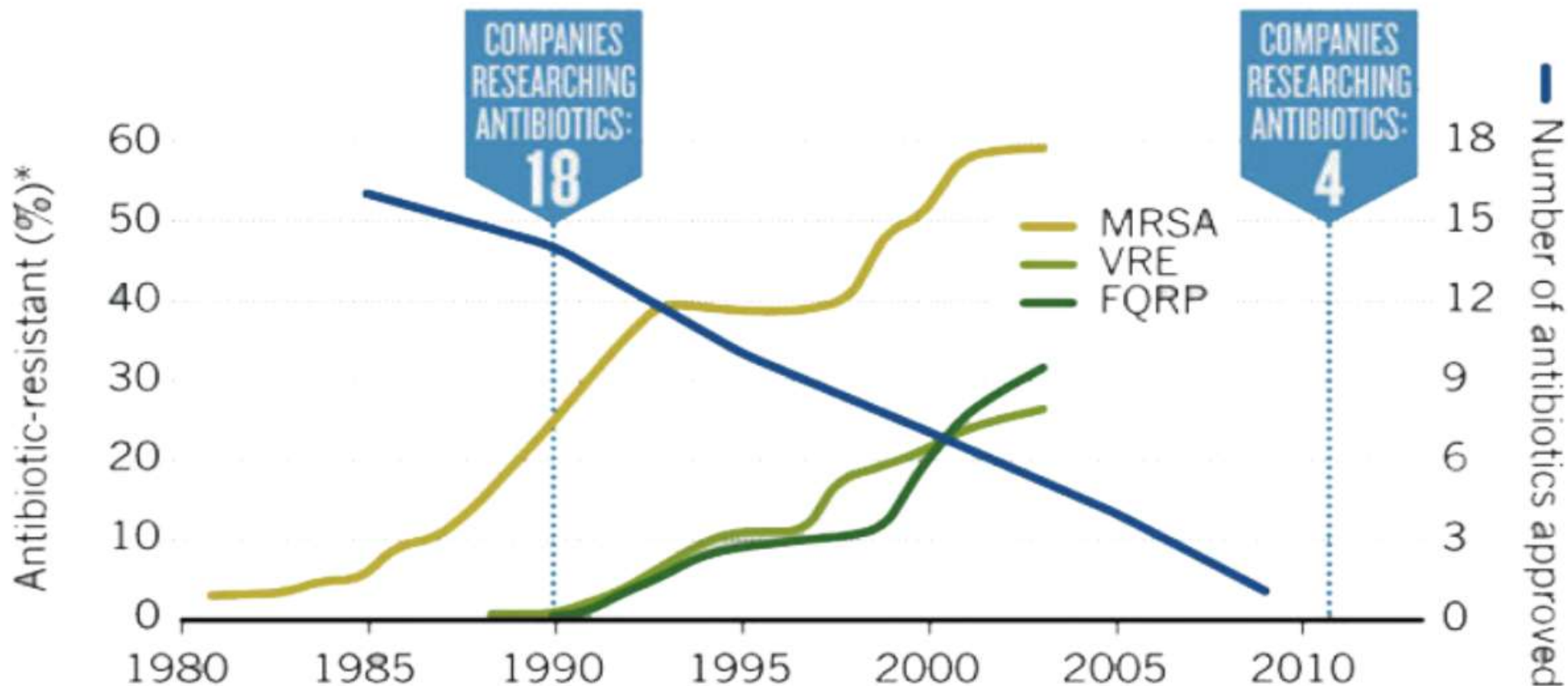
Антибиотики, подавляющие синтез белка



Стрептомицин

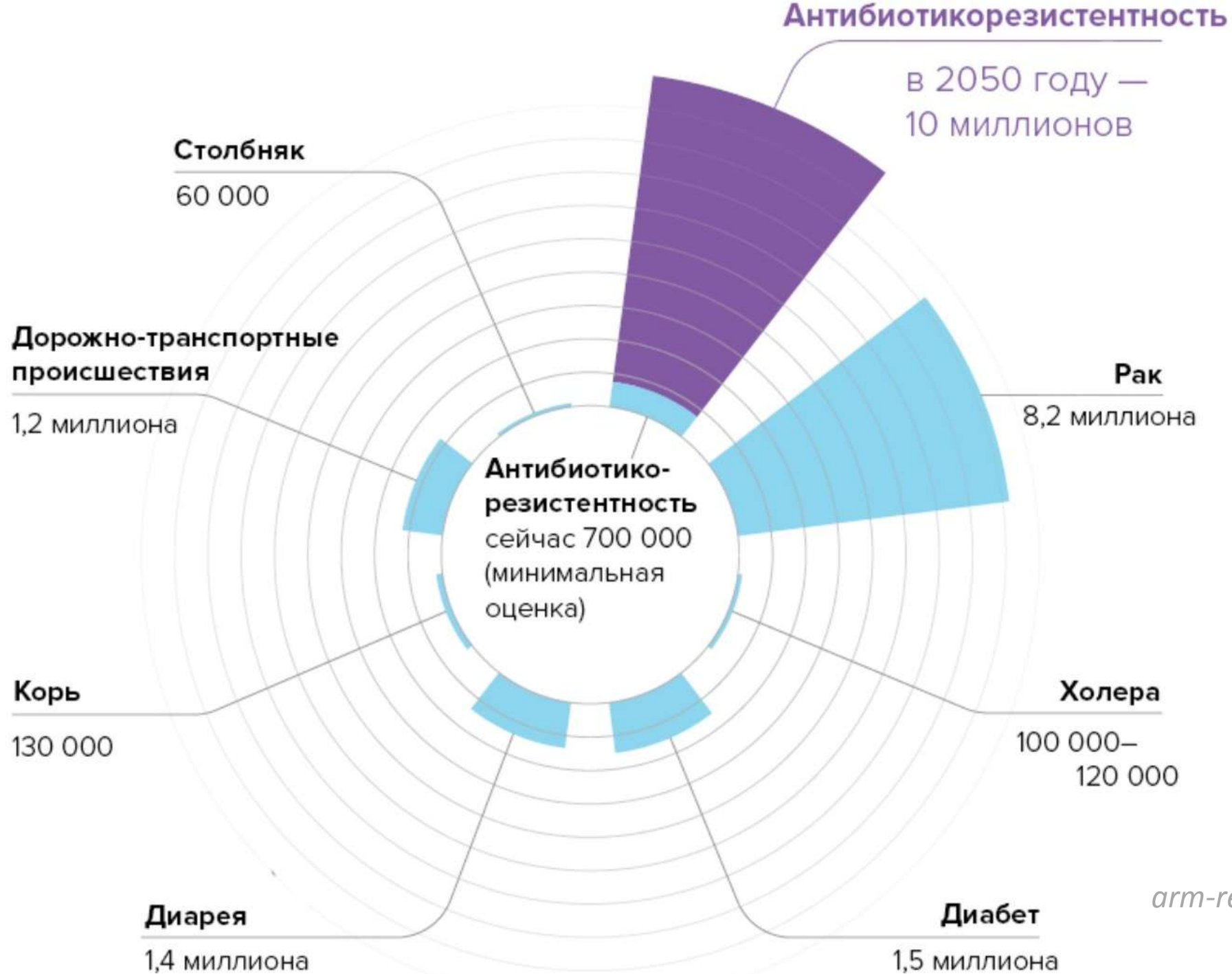
Развитие резистентности к антибактериальным веществам



a**6**

IDSA, 2011

Рост бактериальной антибиотикорезистентности отбивает у фармкомпаний желание разрабатывать новые препараты.



Цель исследования

- Цель: поиск новых антибиотиков, действующих на аппарат трансляции, с помощью системы на основе специальной репортерной конструкции, чувствительной к изменению скорости трансляции.

Задачи исследования

- **Задачи:**

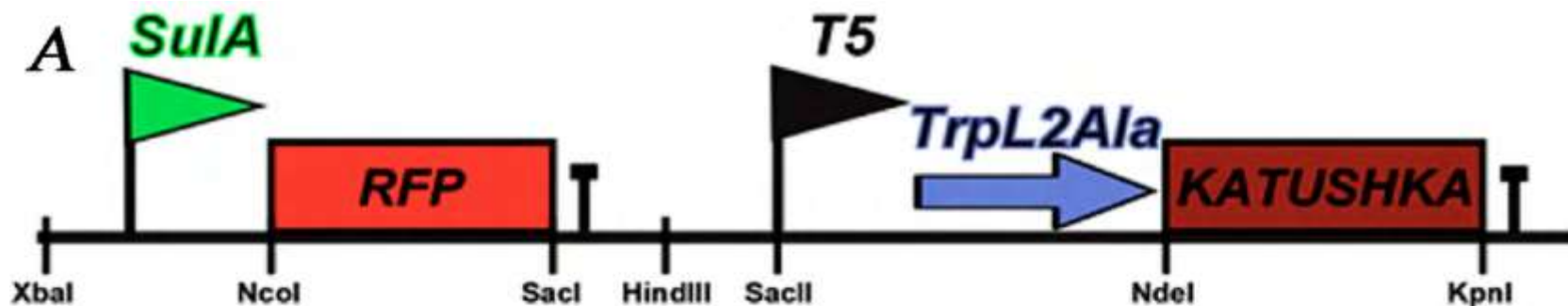
- 1) С помощью репортерной системы pDualRep2 осуществить первичный скрининг синтетических веществ, а также соединений, выделенных из культуральных жидкостей продуцентов антибиотиков.
- 2) На основе полученных данных определить вещества, предположительно действующие на трансляцию.
- 3) Определить для активных соединений минимальную ингибирующую концентрацию.

Материалы и методы

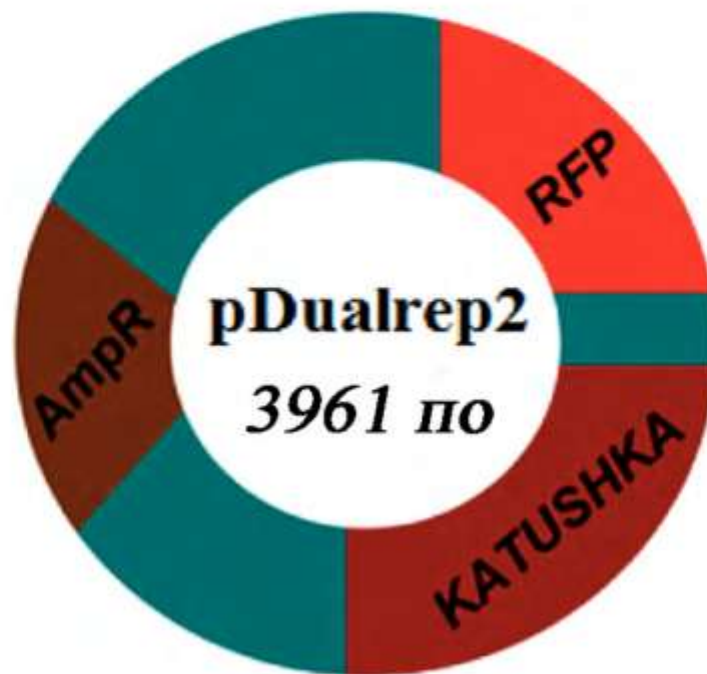
Схема эксперимента:

- Набор веществ -> скрининг на твёрдой среде с газоном бактерий, содержащих репортерную систему -> анализ и отбор активных соединений, потенциально подавляющих трансляцию -> оценка активности с помощью измерения минимальной ингибирующей концентрации (МИК).
- Проверка предсказанной активности с помощью *in vitro* трансляции.

Система рDualrep2 для поиска соединений, подавляющих трансляцию

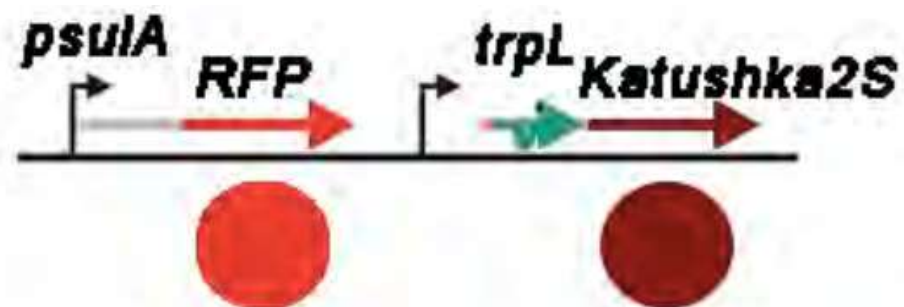


Б



Остерман, 2018

Плазмида рDualrep2



Нарушение синтеза ДНК



Нарушение синтеза белка

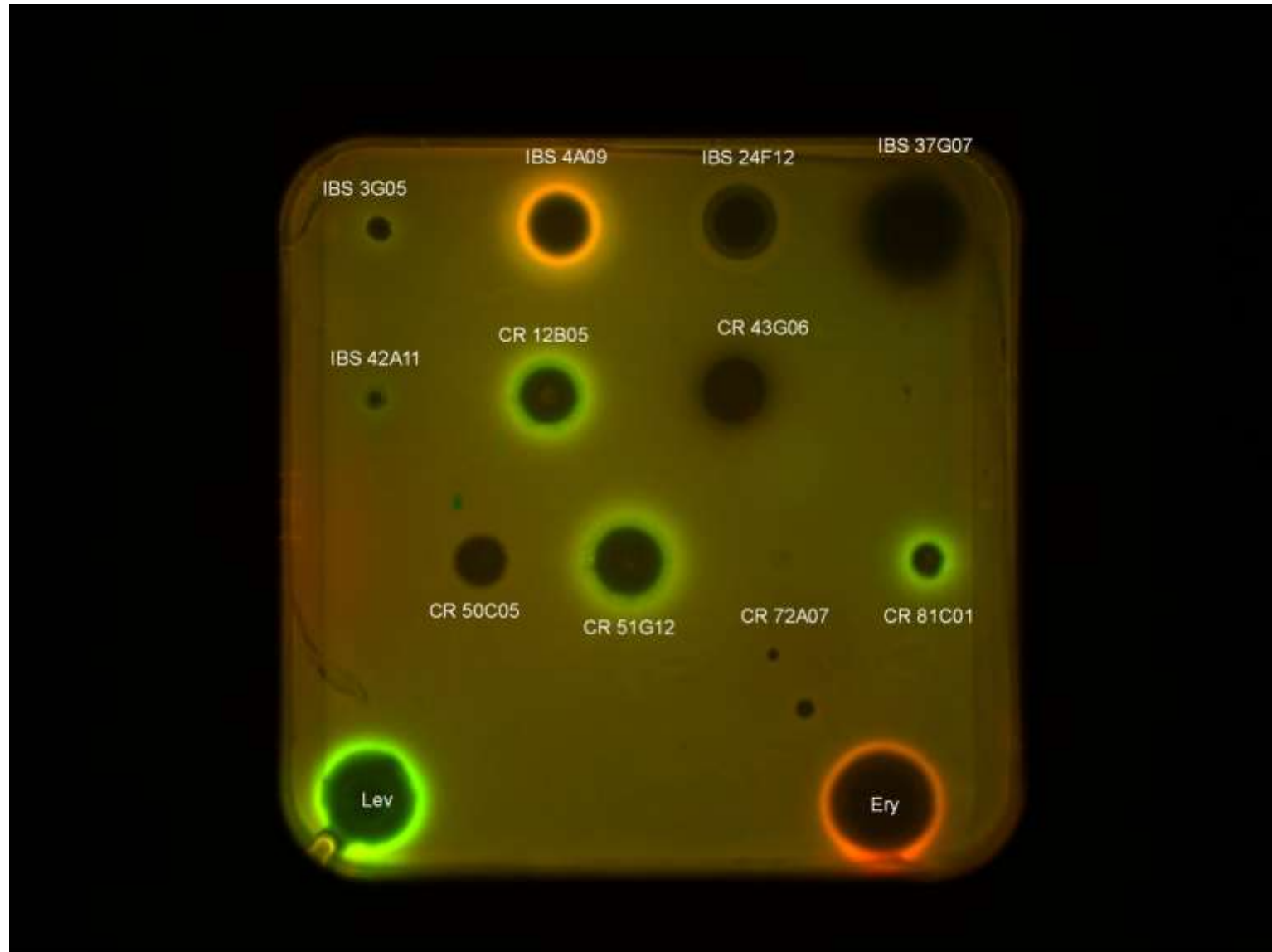


Первичный скрининг синтетических веществ

Имя	Исходная концентрация	Разбавление	МИК	МИК
	мг/мл	1/	мг/мл	мкг/мл
X X	20,000	<		
CR 50C05	20,000	200,000	0,1	100
CR 51G12	20,000	200,000	0,1	100
CR 72A07	20,000	200	0,1	100
CR 81C01	20,000	<		
Ery	50,000	12800,000	0,00390625	3,90625

Имя	исходная концентрация	Разбавление	МИК	МИК
	мг/мл	1/	мг/мл	мкг/мл
IBS 3G05	20,000	<		
IBS 4A09	20,000	200,000	0,1	100
IBS 24F12	20,000	100,000	0,2	200
IBS 37G07	20,000	200,000	0,1	100
IBS 42A11	20,000	<		
CR 12B05	20,000	400,000	0,05	50
CR43G06	20,000	200,000	0,1	100
Ery	50,000	12800,000	0,00390625	3,90625

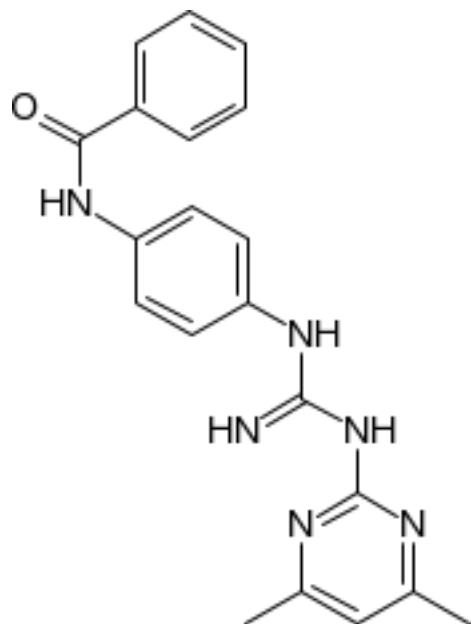
Первичный скрининг синтетических веществ



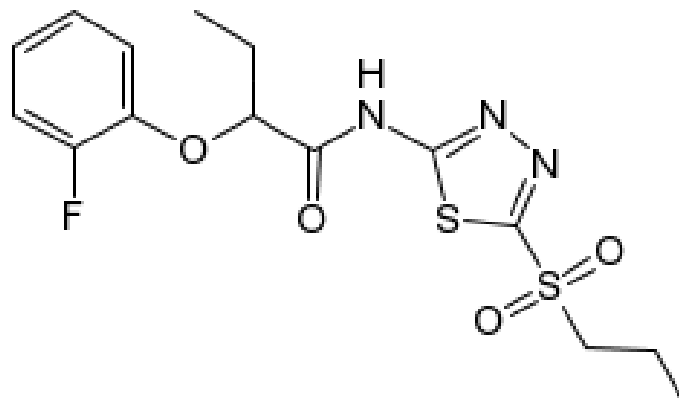
Проверка активности с помощью in vitro трансляции

- Исходная система in vitro трансляции с мРНК-люциферазой и люциферин —> детекция люминисценции —> если вещество подавляет трансляцию, то подавляется и синтез люциферазы, и сигнал

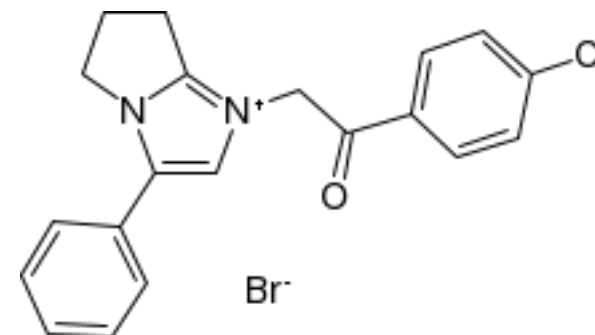
Вещества, выбранные для проверки с помощью in vitro трансляции:



IBS 4A09



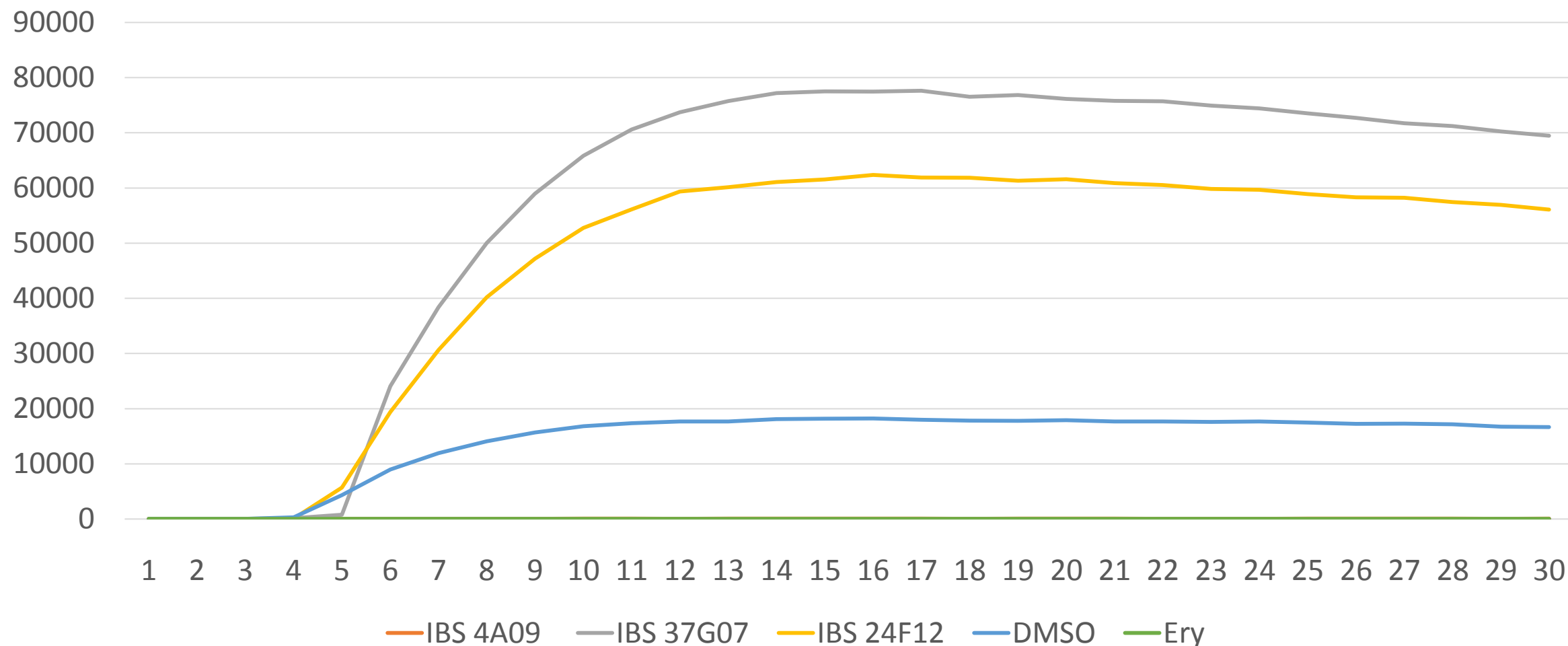
IBS 37G07



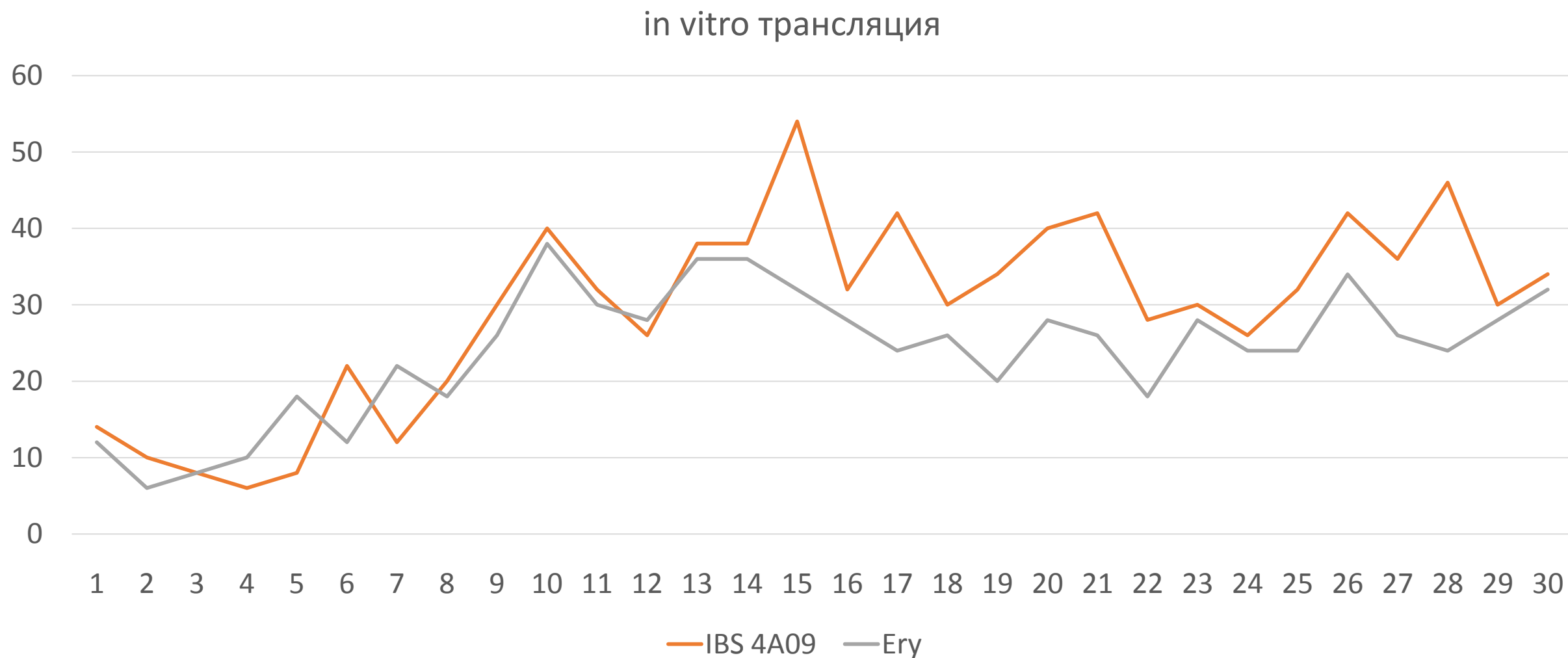
IBS 24F12

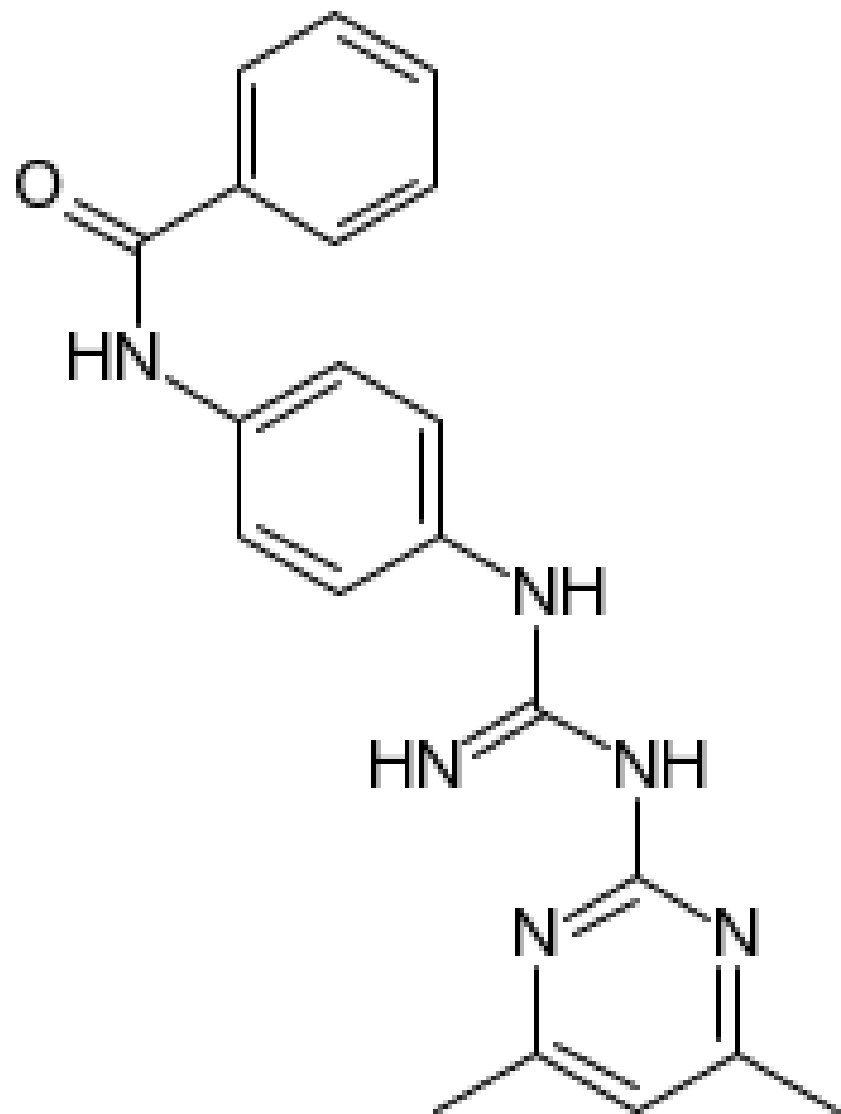
Проверка активности с помощью in vitro трансляции

in vitro трансляция



Проверка активности с помощью in vitro трансляции





IBS 4A09

Выводы

- 1) С помощью репортерной системы pDualRep2 был осуществлен первичный скрининг 11 синтетических веществ.
- 2) Для изучаемых соединений были определены минимальные ингибирующие концентрации. Наименьшей МИК обладало соединение CR 12B05.
- 3) На основе полученных данных были определено 3 вещества, предположительно действующих на трансляцию.
- 4) Для IBS 4A09 было доказано подавление трансляции в *in vitro* системе.

Список литературы

- Fleming A. On the Antibacterial Action of Cultures of a *Penicillium*, with Special Reference to Their Use in the Isolation of *B. Influenzae*. // *British Journal of Experimental Pathology*. 1929. T. 10. No 3. — С. 226-236.
- Clark R.W.// *The life of Ernst Chain : penicillin and beyond*. — New York : St. Martin's Press, 1985. — x, 217 p., 8 p. of plates.
- Comroe J.H. Pay Dirt - Story of Streptomycin .1. From Waksman to Waksman // *American Review of Respiratory Disease*. 1978. T. 117. No 4. — С. 773-781.
- Brandi L., Fabbretti A., Pon C.L., Dahlberg A.E., Gualerzi C.O. Initiation of protein synthesis: a target for antimicrobials // *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. 2008. T. 12. No 5. — С. 519- 534.
- Егоров Н.С.// *Основы учения об антибиотиках*. 2004. — С. 22-27; С. 417-449
- Sánchez S.A., Demain A.L.// *Antibiotics : current innovations and future trends*. — Norfolk, U.K. : Caister Academic Press, 2015. — ix, 429 pages, 11 pages of color plates.
- Ленинджер А.//*Основы биохимии*. 1985. — С. 922
- Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P.// *Molecular biology of the cell*. 5th edition. Part 1. 2008. 2002. p. 599-624

- Спасибо за внимание!

Суркова Дарья Евгеньевна
surkovadaria2002@gmail.com