

Изучение эндолизинов LysAm24, LysECD7 и LysSi3 с широким спектром бактерицидной активности в отношении грамотрицательных патогенов

Научный руководитель – Гущин Владимир Алексеевич

Антонова Наталья Петровна

Аспирант

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия

E-mail: northernnatalia@gmail.com

С каждым годом все стремительнее распространяется устойчивость бактерий к существующим антибактериальным средствам. Особое внимание при разработке новых препаратов привлекают к себе бактерии группы ESKAPE, представители которой чаще других несут гены множественной устойчивости к антибиотикам и, согласно ВОЗ, представляют наиболее серьезную опасность для здравоохранения. [2]

Бактериофаги давно зарекомендовали себя как один из альтернативных вариантов антибактериальных средств. Однако, фаговые ферменты, такие как эндолизины, обладают рядом преимуществ по сравнению с антибиотиками и бактериофагами и являются перспективными молекулами для R&D. [1]

Нами были получены и охарактеризованы рекомбинантные эндолизины LysAm24, LysECD7 и LysSi3. Изучение их структур *in silico* показало, что они обладают различной доменной организацией, а также отличаются по предсказанному типу ферментативного действия (мурамидазная или пептидазная активность).

Кодирующие последовательности эндолизинов, слитые с 8-His меткой, были экспрессированы в *E. coli* и очищены с помощью металл-хелатной аффинной хроматографии.

Минимальная концентрация эндолизинов, необходимая для проявления их активности в отношении экспоненциально растущих клеток *A. baumannii* составляла 0,5 мкг/мл для LysAm24 и LysECD7 и 10 мкг/мл для LysSi3, что на порядок ниже, чем описанная в литературе для аналогов.

Был изучен спектр активности трех белков на 18 штаммах бактерий (16 грамотрицательных, 2 грамположительных), включая клинические изоляты и лабораторные штаммы. Ферменты проявляли высокую или умеренную активность в концентрации 50 мкг/мл в отношении различных грамотрицательных бактерий, в том числе *A. baumannii*, *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae* и *E. coli*. Более того, LysAm24 подавлял рост изолята грамположительных бактерий *S. haemolyticus*.

Результаты исследования свидетельствуют о способности ферментов проникать через наружную мембрану грамотрицательных бактерий без дополнительной пермеабилзации. Предположительно, это связано с формированием на С-конце белковой молекулы положительно заряженного пептида, состоящего из аминокислотных остатков самих белков и искусственно добавленных 8 остатков гистидина. Изучение влияния pH на активность ферментов в отсутствии и присутствии пермеабилзатора (ЭДТА) подтверждает эту теорию: в слабокислых условиях, где заряд пептида максимален, ферментативная активность выше, чем при нейтральных значениях pH, однако при добавлении ЭДТА этот эффект элиминируется и активность выравнивается.

Полученные результаты демонстрируют потенциал исследуемых эндолизинов в качестве перспективных антибактериальных средств против широкого спектра социально значимых патогенов.

Источники и литература

- 1) Oliveira H. et al. Phage-derived peptidoglycan degrading enzymes: challenges and future prospects for in vivo therapy // *Viruses*. 2018. Vol. 10, №6. P. 292.
- 2) World Health Organization. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. Geneva: WHO, 2017.