

Изучение влияния нового ингибитора бактериальной рибосомы на точность трансляции.

Научный руководитель – Остерман Илья Андреевич

Соболь Анастасия Павловна

Студент (специалист)

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

E-mail: sobanas2000@gmail.com

Проблема лечения бактериальных инфекций человека остаётся актуальной и по сей день в связи с быстро развивающейся устойчивостью патогенов к ныне существующим препаратам. Штамм-репортёр *EcoliBWΔtolC_pDualrep2*, сконструированный в нашей лаборатории [1], позволяет ускорить процесс поиска новых антибактериальных соединений. С его помощью было обнаружено соединение 49252, выделяемое во внешнюю среду штаммом *Actinoplanes* sp. VKM Ac-2862, ингибирующее синтез белка. Далее были отобраны штаммы, устойчивые к действию 49252. Часть резистентных клонов неслучайно ранее не описанные в литературе мутации в 16S рРНК. Устойчивость других клонов была обусловлена мутациями в рибосомном белке S4. Поскольку мутация в S4 приводит к снижению точности трансляции [2], мы проверили, как присутствие 49252 влияет на мискодинг *in vivo*. Для данного эксперимента был создан штамм $\Delta tolCkanS$ с репортёрной плазмидой, содержащей люминесцентные белки *Fluc* и *Rluc* под одним промотором. При этом в ген *Fluc* были внесены мутации в позицию *Lys529*, аннотированные, как наиболее часто заменяемые в процессе трансляции [3]. Мутации в *Fluc* препятствуют его связыванию с субстратом, поэтому сигнал от *Fluc* возникает только в результате ошибок во время трансляции. Тогда свечение *Fluc*, нормированное на сигнал от *Rluc* является мерой мискодинга *in vivo*. Полученные таким образом данные показали, что это соединение, по-видимому, не является ни ингибитором, ни индуктором мискодинга. Дальнейшая работа по изучению механизма действия 49252 будет основана на измерении точности трансляции мутантов по 16S рРНК в штаммах SQ110 и SQ171 путем трансформации в них репортёрных плазмид с *fluc*, *rfluc*. Также мы выделим мутантные рибосомы, чтобы измерить точность их трансляции напрямую. Работа выполнена при поддержке РФФИ 19-34-51021.

Источники и литература

- 1) 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
- 2) 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.
- 3) Emily B Kramer, Philip J. Farabaugh. 2007. The frequency of translational misreading errors in *E. coli* is largely determined by tRNA competition.