

ТБ-ИЗАТЕСТ: быстрый и чувствительный способ молекулярной диагностики *Mycobacterium tuberculosis* для количественного анализа эффективности применяемой схемы антибактериальной химиотерапии

Научный руководитель – Беспятых Юлия Андреевна

Ширшиков Фёдор Владимирович

Аспирант

Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Факультет химико-фармацевтических технологий и биомедицинских препаратов (ХФТ), Москва, Россия

E-mail: shrshkv@ya.ru

Актуальной задачей диагностических центров, куда поступают пробы от пациентов с туберкулёзом, наряду с определением лекарственной устойчивости возбудителя является контроль эффективности назначенного режима химиотерапии на основании уровня бактериальной нагрузки образца. Быстрой и недорогой платформой для проведения такого анализа может стать метод петлевой изотермической амплификации (LAMP), ставший основой для многих форматов мобильной диагностики.

Целью исследования стала разработка тест-системы на основе метода LAMP для молекулярной диагностики *Mycobacterium tuberculosis*, позволяющей быстро отличить этот вид бактерий от других представителей микобактерий по видоспецифичному и однокопийному гену. В качестве мишени был выбран ген *rv2341* [1], имеющийся во всех вариантах [2] вида *M. tuberculosis*, представляющих опасность для человека.

В ходе работы был разработан новый подход к оптимизации условий амплификации LAMP на основе метода ортогональных матриц Тагути. Комплексная статистическая оценка влияния температуры и основных компонентов реакционной смеси позволила установить оптимальные значения каждого фактора и рассчитать процентный вклад в эффективность реакции. Предел детекции разработанного прототипа тест-системы ТБ-ИЗАТЕСТ (© Ширшиков Ф. В., название тест-системы, 2022) составляет 40 геном-эквивалентов на реакцию, а на проведение стадии амплификации требуется 15 минут. По этим параметрам данная разработка превосходит существующие в мире аналоги. Данная тест-система может стать основой для быстрого способа оценки эффективности назначаемой пациентам схемы антибиотикотерапии при туберкулёзе.

Исходя из особенностей функционирования гена *rv2341* можно сделать вывод о его возможной роли в качестве фактора вирулентности *M. tuberculosis*, необходимого для персистенции в макрофагах. Особенно любопытной представляется функциональная ассоциация *rv2341* с одной из токсин-антитоксиновых систем, действующих в качестве эффекторов покоя и персистенции [3, 4]. Поскольку кодируемый им белок LppQ считается липопротеином [5], интересно рассмотреть ген *rv2341* в качестве гипотетического функционального аналога другого известного фактора вирулентности Evf (от англ. *Erwinia virulence factor*), обнаруживаемого в штаммах фитопатогенных бактерий *Pectobacterium versatile* [6, 7]. Биохимическая функция Evf по-прежнему неизвестна, однако он также является липопротеином [8], его ген способен к горизонтальному переносу в близкородственные виды (например, *P. odoriferum* и *P. polonicum*), а другие бактерии благодаря *evf* приобретают способность к персистенции в кишечнике дрозофил [9]. Сравнительные исследования LppQ и Evf могут помочь в понимании механизмов бактериальной персистенции, имеющих важную роль в патогенезе заболеваний.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 20-75-10144).

Источники и литература

- 1) Goig *et al.* // Bioinformatics. 2020. V. 36. P. 985–989.
- 2) Riojas *et al.* // Int J Syst Evol Microbiol. 2018. V. 68. P. 324–332.
- 3) Jurėnas *et al.* // Nat Rev Microbiol. 2022. V. 20. P. 335–350.
- 4) Page & Peti // Nat Chem Biol. 2016. V. 12. P. 208–214.
- 5) Herrmann *et al.* // FEBS Lett. 2000. V. 473. P. 358–362.
- 6) Shirshikov *et al.* // Genome Announc. 2018. V. 6. P. e00260-18.
- 7) Portier *et al.* // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2019. V. 69. P. 3207–3216.
- 8) Quevillon-Cheruel *et al.* // J. Biol. Chem. 2009. V. 284. P. 3552–3562.
- 9) Basset *et al.* // EMBO Rep. 2003. V. 4. P. 205–209.

Иллюстрации

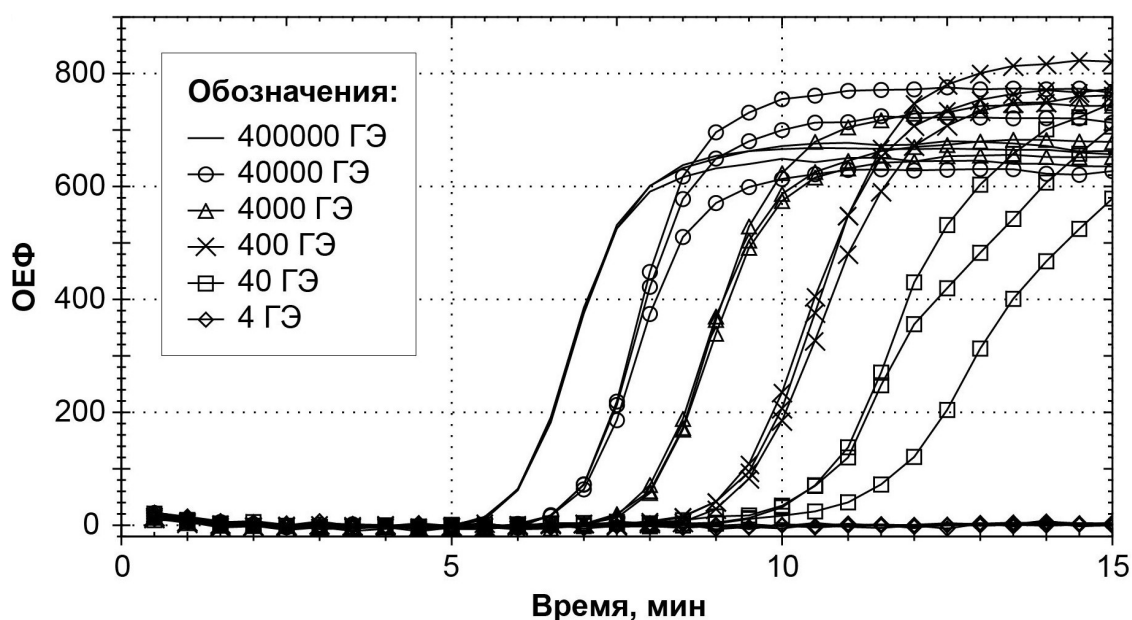


Рис. Оценка аналитической чувствительности разработанного прототипа тест-системы ТБ-ИЗАТЕСТ на образце очищенной геномной ДНК *M. tuberculosis*. Сокращения: ОЕФ — относительные единицы флуоресценции; ГЭ — геном-эквивалент.