

Зависимость пептидогликанолитической и бактериолитической активностей лизостафина от его каталитической эффективности**Научный руководитель – Карягина-Жулина Анна Станиславовна****Шестаков Никита Викторович**

Аспирант

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: nikita1305@mail.ru

В настоящее время активно ведётся разработка новых классов терапевтических агентов, способных воздействовать на антибиотико-устойчивые штаммы патогенных бактерий, например, таких как метициллин-резистентный *Staphylococcus aureus*, который вызывает широкий спектр заболеваний, в частности остеомиелит – тяжёлое поражение костной ткани. Перспективным направлением в этой области является разработка антибактериальных лизинов – ферментов, разрушающих клеточную стенку бактерий. Одним из них является лизостафин – двухдоменная цинк-зависимая эндопептидаза, гидролизующая пентаглициновые мостики пептидогликана в клеточной стенке *S. aureus*. Поскольку на активность лизостафина оказывают влияние оба домена, входящие в его состав, то для эффективного и рационального дизайна антибактериальных препаратов на основе лизостафина необходимо разграничить вклады каталитического и пептидогликан-связывающего доменов в активность белка. В связи с этим, целью данной работы являлось изучение соотношения между каталитической, пептидогликанолитической и бактериолитической активностью вариантов рекомбинантного лизостафина с различным уровнем активности.

Варианты рекомбинантного лизостафина с различным уровнем каталитической активности получали путем изменения иона металла, встроенного в активный центр белка. Для этого из активного центра рекомбинантного лизостафина удаляли все ионы металлов при помощи ЭДТА с последующим встраиванием в него ионов Ca^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} или Zn^{2+} . Каталитическую эффективность k_{cat}/K_m полученных вариантов лизостафина изучали по расщеплению синтетического пентаглицина [1]. Пептидогликанолитическую и бактериолитическую активность вариантов лизостафина определяли по максимальной скорости просветления ($\Delta A_{550}/\text{мин}$) суспензии очищенных пептидогликановых оболочек или интактных клеток *S. aureus* ATCC 29213 соответственно при концентрации белка равной 20 нМ.

В результате проведенного исследования было показано, что каталитическая, бактериолитическая и пептидогликанолитическая активности препаратов лизостафина с ионами различных металлов в активном центре фермента варьируют от практически нулевых значений для лизостафина с ионами Ca^{2+} и Mg^{2+} до значений, сравнимых с нативным цинк-содержащим белком, для лизостафина с ионами Co^{2+} и демонстрируют сходные тенденции в изменении их значений в зависимости от иона металла, встроенного в активный центр лизостафина (рис.1).

Установлены линейные зависимости как для уровня пептидогликанолитической, так и для уровня бактериолитической активности лизостафина от уровня его каталитической эффективности (рис. 2), которые показывают целесообразность улучшения характеристик каталитической части генно-инженерных химерных лизинов на основе лизостафина в процессе разработки новых эффективных антибактериальных лекарственных соединений.

Источники и литература

- 1) Grishin A. V. et al. A simple protocol for the determination of lysostaphin enzymatic activity // Antibiotics. 2020. Vol. 9, № 12. P. 1–10.

Иллюстрации

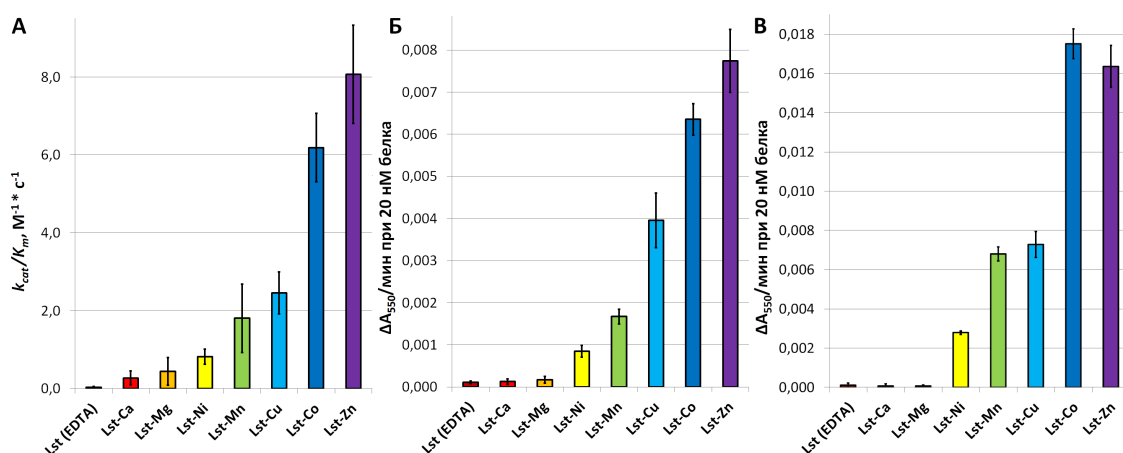


Рис. : Сравнение каталитической эффективности (А), пептидогликанолитической (Б) и бактериолитической активности (В) вариантов лизостафина с ионами различных металлов в активном центре фермента. Планки погрешностей представляют собой стандартное отклонение.

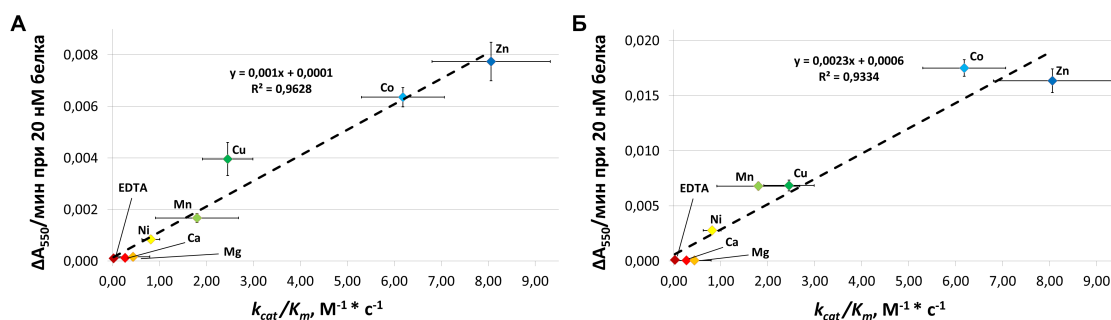


Рис. : Зависимость пептидогликанолитической (А) и бактериолитической (Б) активности вариантов лизостафина с ионами различных металлов в активном центре фермента от их каталитической эффективности и аппроксимирующие их прямые. Планки погрешностей представляют собой стандартное отклонение.