

Человек и Лекарство, 2020

**Создание новых антибактериальных пептидов
На примере *Thermus thermophilus***

**Курпе С.Р., Гришин С.Ю., Джус У.Ф., Селиванова
О.М., Глякина А.В., Сурин А.К., Галзитская О.В.**

ogalzit@vega.protres.ru

Институт белка РАН

Рост *T. th* на твердой питательной среде



- Температура 50 °С
- Питательная среда: LB, 3% агар

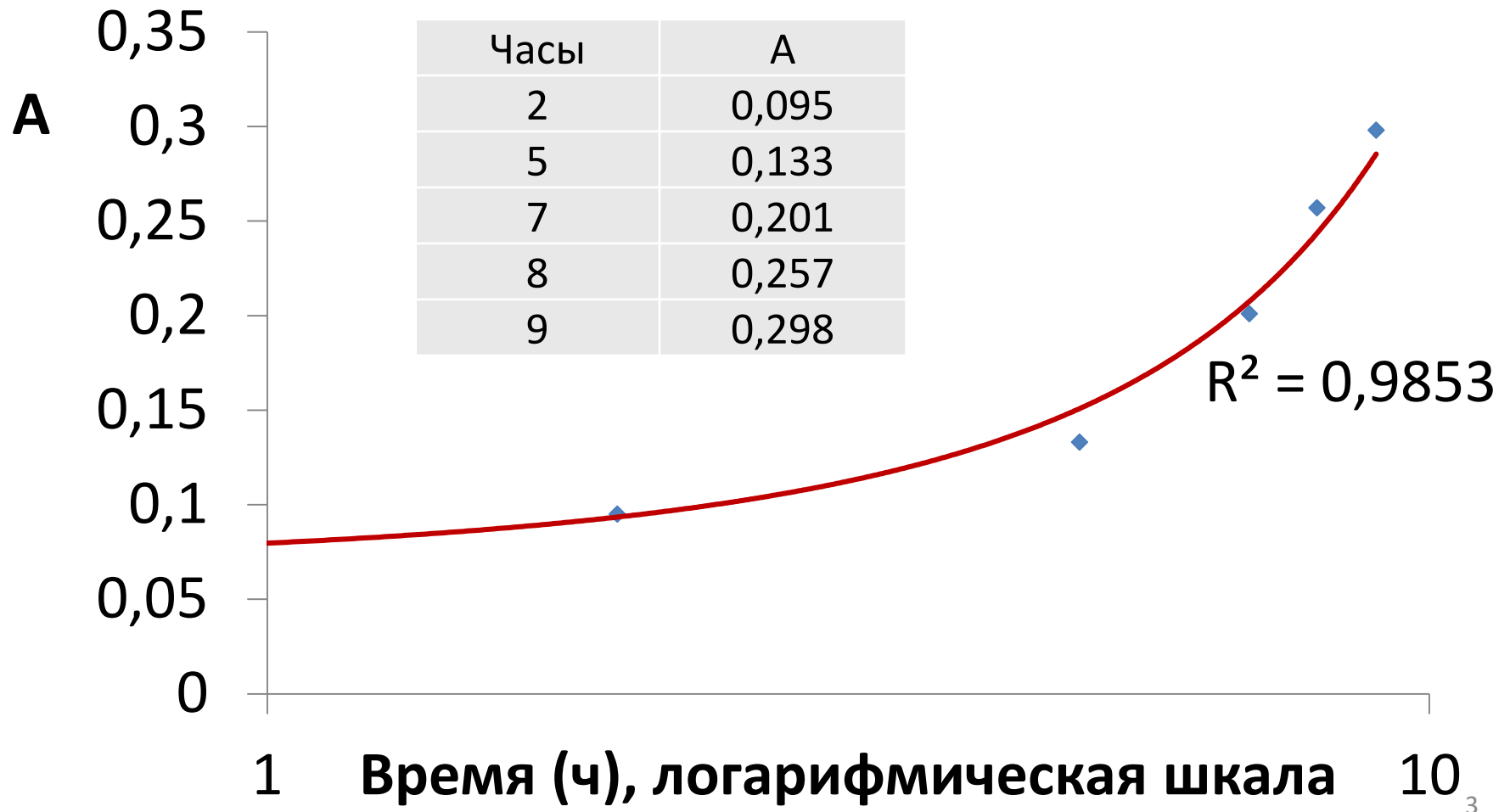
Дж Х. Определитель бактерий Берджи //М.: Мир. – 1997. – Т. 1. – С. 1-429.

Род *Thermus*

Прямые палочки, 0,5–0,8 × 5,0–10,0 мкм. В некоторых условиях культивирования могут образовывать нити длиной от 20 до 200 нм и более. Большинство штаммов образуют округлые тела — крупные сферические структуры диаметром 10–20 мкм, возникающие в результате соединения отдельных клеток; эти тела обычно присутствуют в старых культурах. Неподвижные; жгутиков не имеют. Эндоспор не образуют. Грамотрицательные. Колонии у большинства штаммов желтые, оранжевые или красноватые за счет каротиноидных пигментов. Аэробы; метаболизм чисто дыхательного типа с использованием кислорода в качестве конечного акцептора электронов. Оксидазо- и каталазоположительные. Желатину обычно гидролизуют. Крахмал обычно разлагают слабо. Как правило, восстанавливают нитрат до нитрита. Термофильные, оптимальная температура для роста 70–75°C. Оптимальное значение pH близко к нейтральному. Обнаружены в горячих источниках с pH от щелочного до нейтрального, а также в водонагревательных установках и в природных водоемах, подвергающихся термальному загрязнению.

Типовой вид: *Thermus aquaticus.*

Кривая роста *Thermus thermophilus*



Биологическая активность пептидов.

Описание эксперимента



Расчёт биологической активности пептидов

$$A = \frac{O_2 - O_1}{K_2 - K_1} \times 100\%, \text{ где}$$

A – бактериальная активность

O_2 – значение оптической плотности в опытном образце

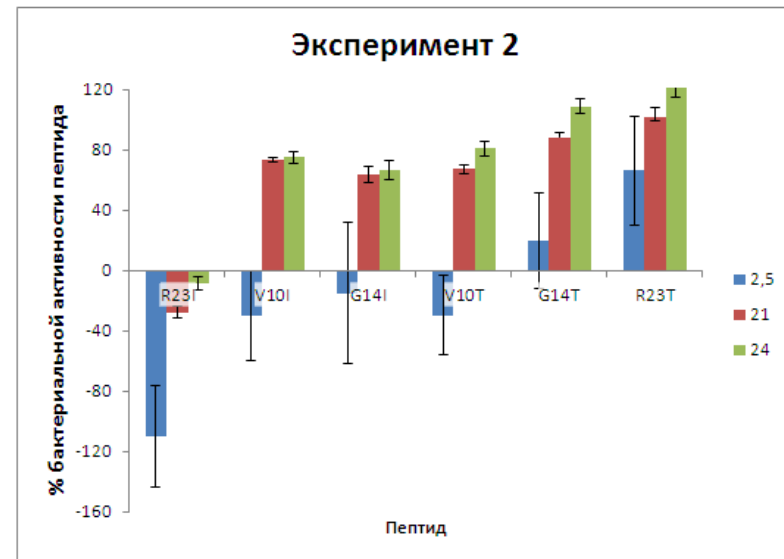
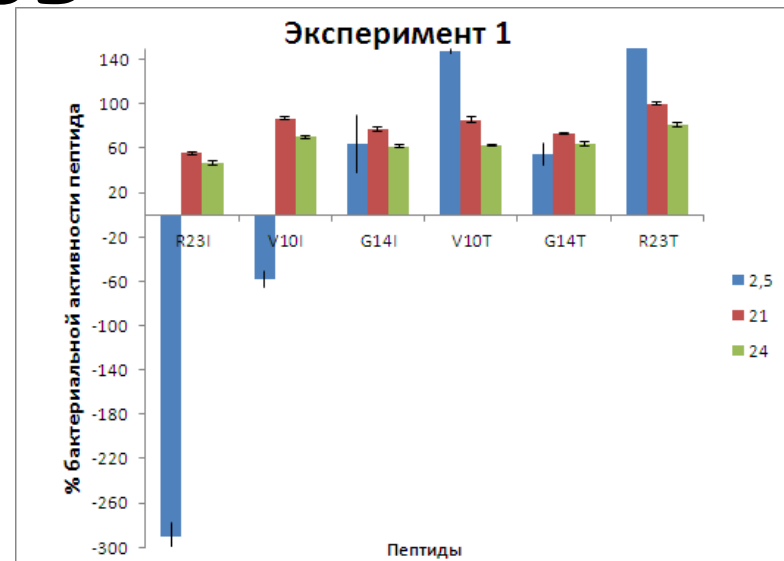
O_1 – значение оптической плотности в опытном образце в точке 0h

K_2 – значение оптической плотности в контрольном образце с DMSO

K_1 – значение оптической плотности в контрольном образце с DMSO в точке 0h

Антибактериальная активность пептидов

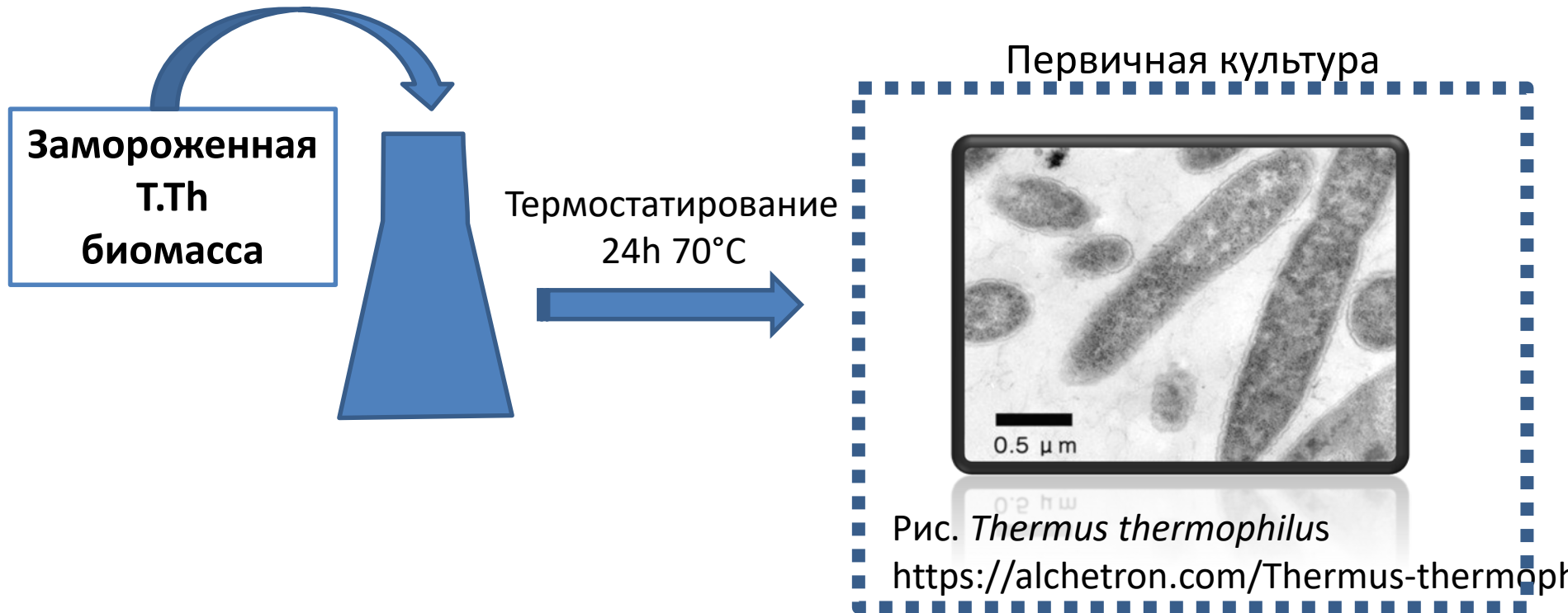
- Наибольшее антибактериальное действие наблюдается с R23I
- Максимальная антибактериальная активность наблюдается в первые часы



Оценка токсичности.

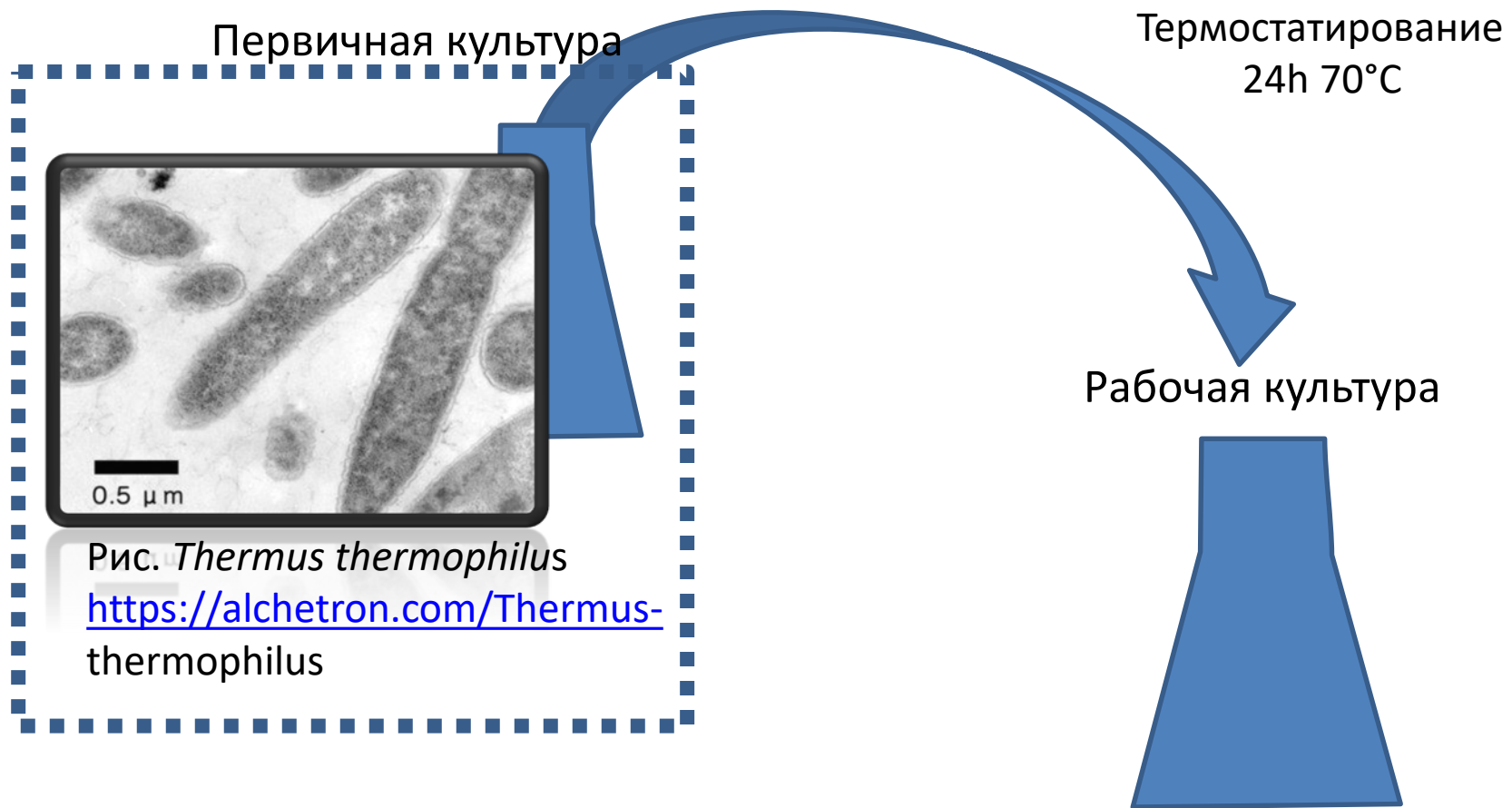
Влияние R23I на *Thermus thermophilus*

Оценка токсичности. Описание эксперимента



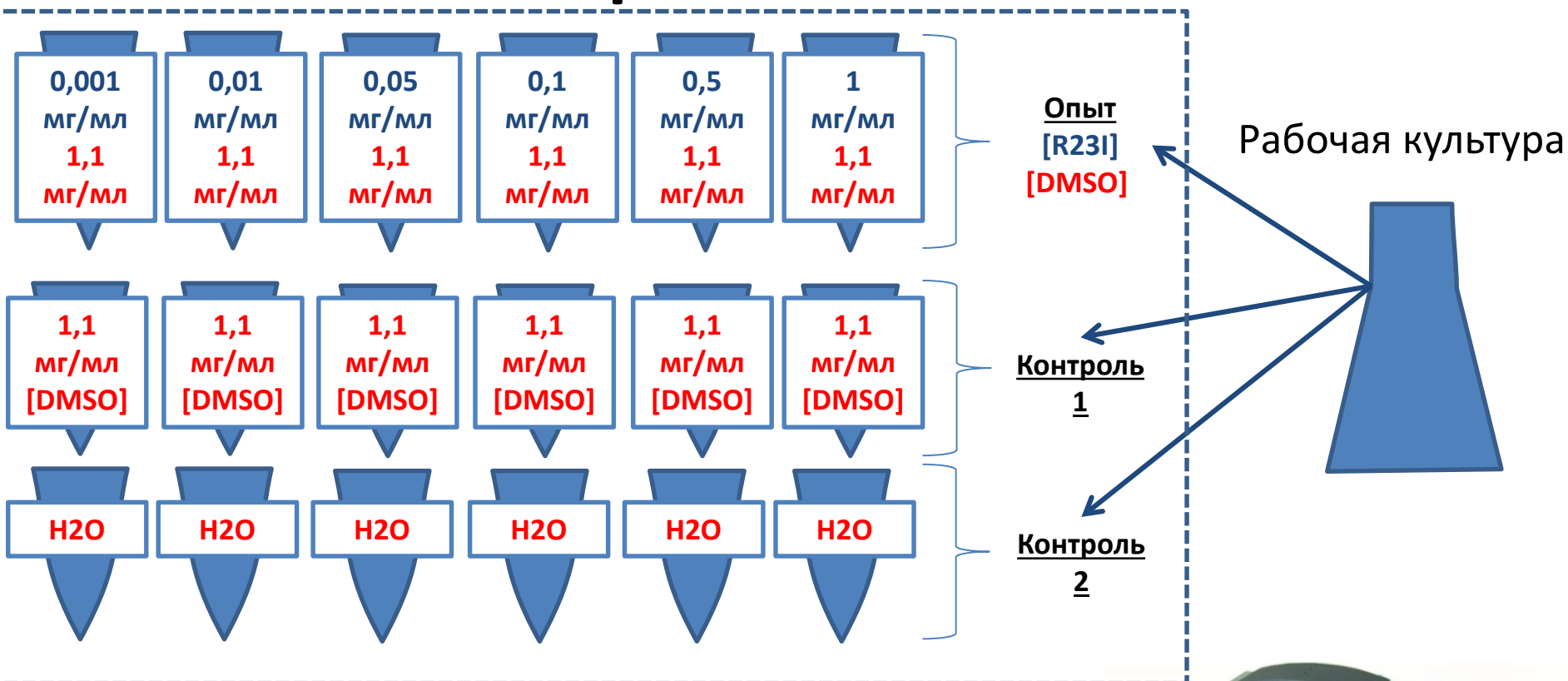
Оценка токсичности.

Описание эксперимента



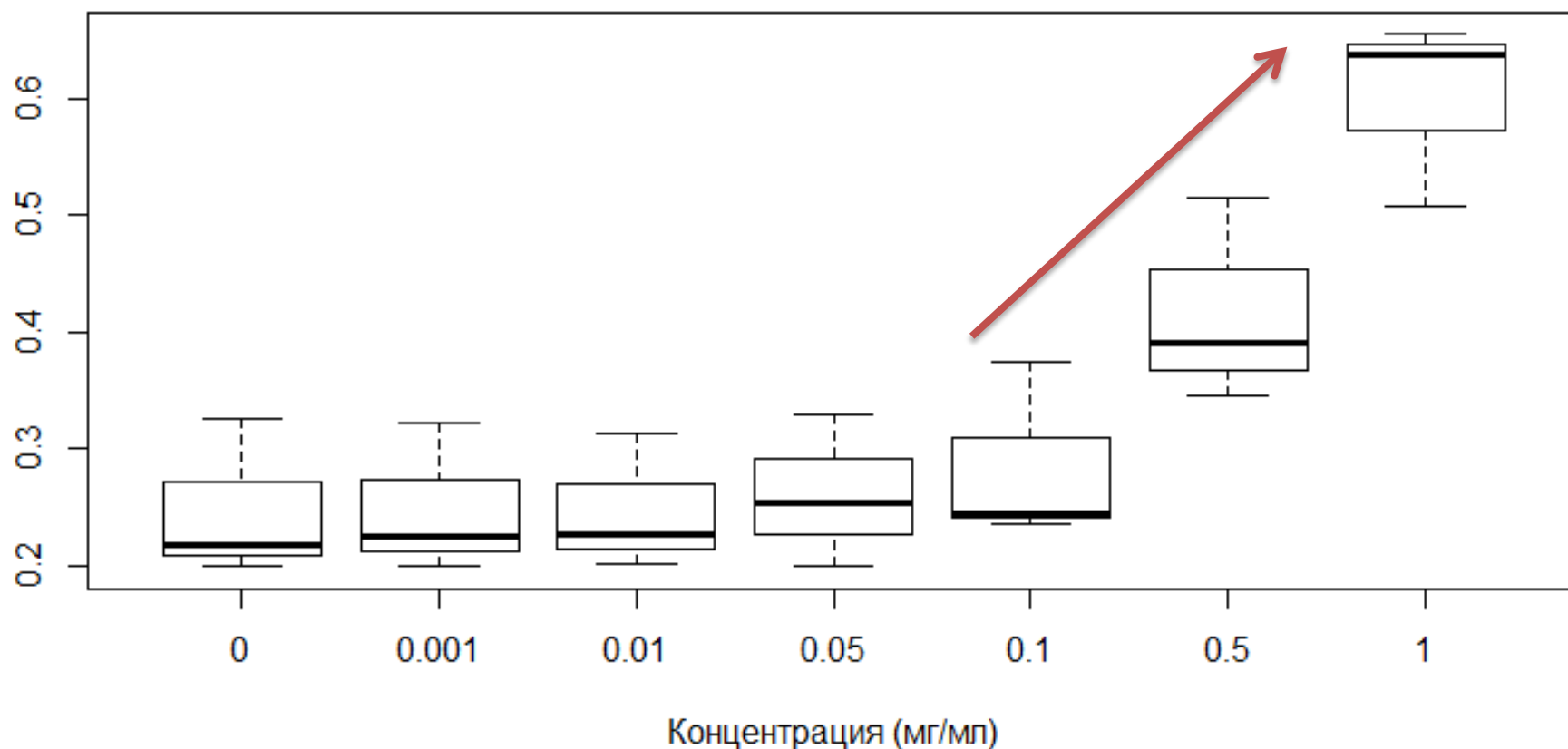
Оценка токсичности.

Описание эксперимента



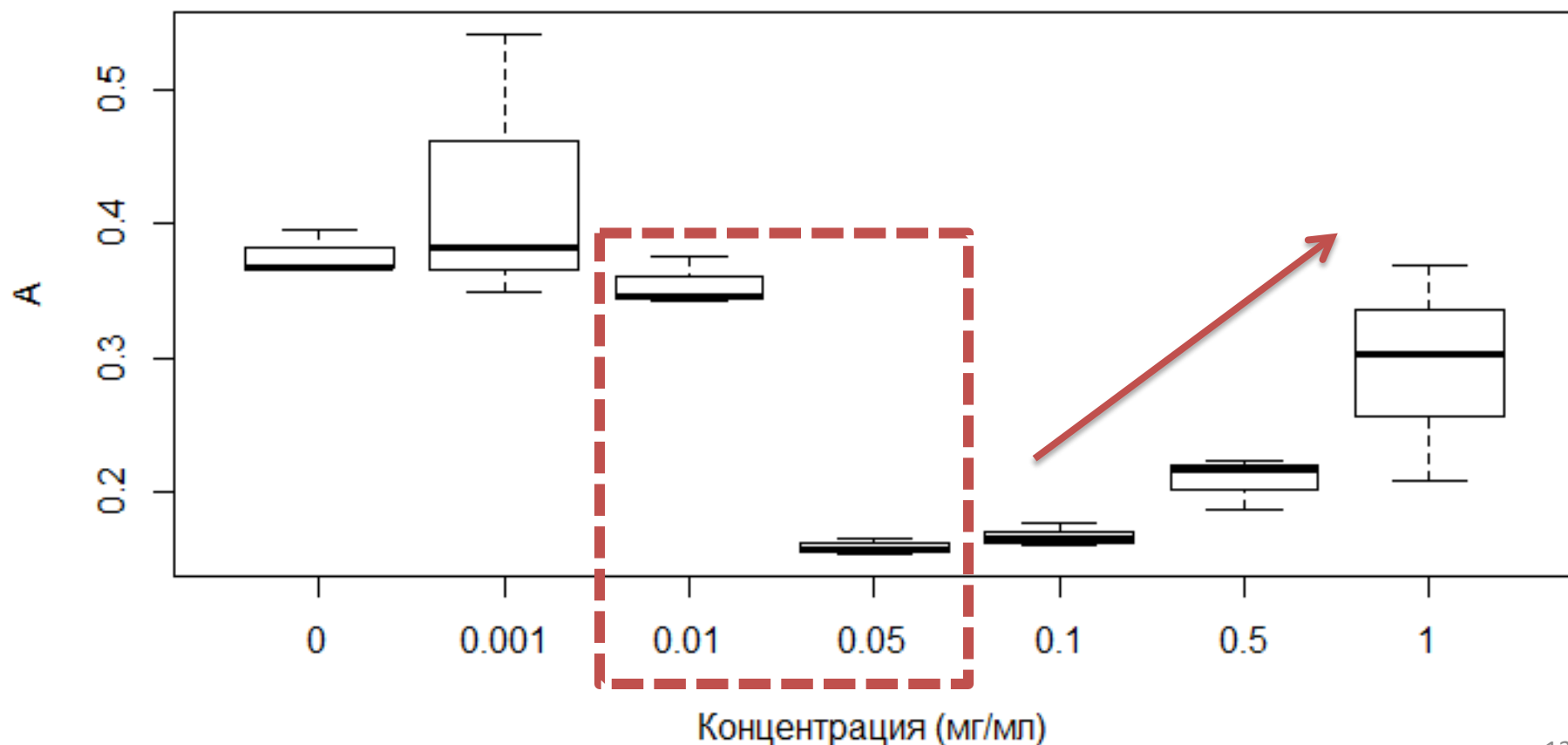
**Зависимость оптической плотности культуры клеток Th.th
с различными концентрациями пептида R23I (0; 0,001; 0,01;
0,1; 0,5 и 1 мг/мл) на начальном этапе инкубации**

Изменение оптической плотности после 0ч воздействия



Зависимость оптической плотности культуры клеток Th.th с различными концентрациями пептида R23I (0; 0,001; 0,01; 0,1; 0,5 и 1 мг/мл) после 24 часов инкубации

Изменение оптической плотности после 24ч воздействия



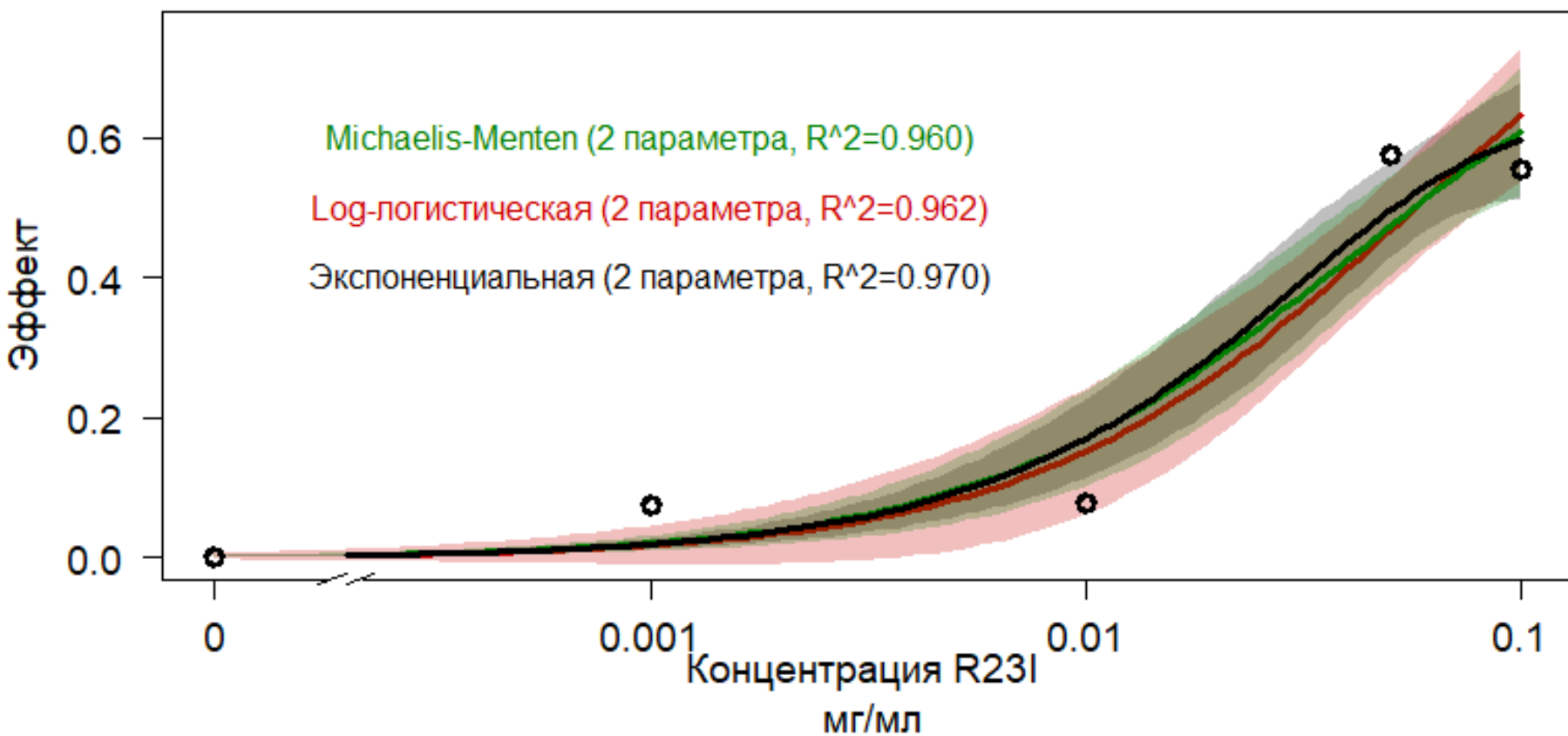
Расчет биологической эффективности пептида

- $$\mathcal{E} = 1 - \frac{A(\text{Опыт})}{A(\text{Контроль 1})}, \text{ где}$$

Э – эффективность, А- оптическое поглощение после 24ч инкубации в опыте и контроле

Модели «доза-эффект»

Кривые отклика *Thermus thermophilus*
на действие R23I



Выводы

- Охарактеризована биологическая система отклика граммотрицательных бактерий *Thermus thermophilus* на действие пептидов.
- Среди исследуемых пептидов R23I, R23T (модифицированные) и V10I (не модифицированный) обладают биологической активностью, подавляющей рост клеточной культуры *Thermus thermophilus*.
- Минимальные эффективные действующие концентрации пептидов равны: 0,05 мг/мл для R23I пептида, 0,5 мг/мл для R23T пептида и 1 мг/мл V10I пептида. Эти результаты подтверждаются данными, полученными с помощью электронной микроскопии. Наибольшую токсичность проявляет пептид R23I.
- Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 18-14-00321.