**Биолюминесцентная тест-система на основе живых клеток для быстрой оценки эффективности действия аминогликозидов**

***Каминская С.С.1,2, Ломакина Г.Ю.1, Угарова Н.Н.1***

*Студент, 2 курс магистратуры*

*1Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

*химический факультет, Москва, Россия*

*2Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана, факультет фундаментальных наук, Москва, Россия*

*E-mail: kaminsk1902@yandex.ru*

В работе исследованы антибиотики аминогликозидного ряда - гентамицин, канамицин и неомицин, и приведено сравнение их действия. Оценка эффективности и механизма действия проводили методом биолюминесцентного скрининга на основе живых рекомбинантных клеток *E. сoli*, экспрессирующих термостабильную люциферазу светляков Luciola mingrelica, нечувствительную к изменению рН.

 Разработанная тест-система позволяет за 2-4 часа оценить эффективность действия антибиотиков, определить степень повреждения клеточной мембраны, изучить влияние антибактериальных агентов на систему синтеза/гидролиза АТР и на дыхательный метаболизм клетки, выявить формирование клеток-персистеров по изменению уровня АТР и люциферазы внутри и вне клеток. Персистеры представляют собой субпопуляцию устойчивых к антибиотикам клеток дикого типа.

Известно, что мишенью аминогликозидных антибиотиков являются рибосомы, поэтому изменение внутриклеточной люциферазной активности Lucin может быть индикатором повреждения системы синтеза белка. Влияние антибиотиков близкого строения гентамицина, канамицина и неомицина для сравнения их между собой изучали при концентрациях от 0 до 1.6 мг/мл и концентрациях клеток от 20 до 500 млн кл/мл. Реакционные смеси инкубировали в среде LB при 37°С в аэрированных условиях в течение 4 часов и регистрировали кинетику изменения уровней ATPtot, ATPex, а также Lucin и Lucex.

Определены минимальные ингибирующие концентрации аминогликозидов, для гентамицина и неомицина значения МИК оказались близки (1.6 мкг/мл), для канамицина – несколько ниже (1.2 мкг/мл). Можно предположить, что отсутствие метильных групп и большее число аминогрупп, способствующих лучшему проникновению через клеточную мембрану, делают канамицин более эффективным.

Остаточное содержание ATPin, (рассчитанное по разности ATPtot - ATPex) в клетках свидетельствует о сохранении клетками жизнеспособности. Действительно, после отделения антибиотика и помещении клеток в свежую питательную среду клетки возобновляли рост. Из представленных антибиотиков неомицин показал более высокую эффективность и скорость действия по сравнению с канамицином и неомицином.

Полученные результаты могут использованы при разработке новых модифицированных форм антибактериальных агентов при изучении эффективности и механизма их действия.

Работа выполнена в рамках госрегистрационной темы МГУ имени М.В. Ломоносова Номер ЦИТИС 121041500039-8/