

В числе этих «чувствительных» белков треть связана с окислительно-восстановительными процессами энергетического метаболизма. Помимо белков участвующих в транспорте электронов (cytochrome c oxidase subunit 2, isocitrate dehydrogenase (NADP), NADH-quinone oxidoreductase subunit 2), в этом наборе белков особенно выделяется redox-sensing transcriptional repressor Rex, являющийся регулятором анаэробного метаболизма [10]. Этот репрессор приводит к анаэробной регенерации NAD⁺, путем образования лактата, формиата и этанола, нитратное дыхание и синтез АТФ, что может подтверждать гипотезу о снижении продукции АТФ, NAD⁺ и других макроэргов.

Нами проведена оценка антимикробной активности искусственно синтезированных пептидов. Исследованы основные зависимости наступления антибактериального эффекта от концентрации пептида и времени его действия. Среди исследуемых пептидов R23I обладает наибольшей антимикробной активностью. Минимальная ингибирующая опытная концентрация (МИС) R23I равна 50 мкг/мл. При увеличении концентрации более 500 мкг/мл наблюдается снижение антимикробного действия. МИС для R23T и V10I соответственно равны 500 и 1000 мкг/мл, что указывает на их меньшую эффективность по сравнению с R23I. Дозо-зависимый характер антимикробного действия пептидов был продемонстрирован кривыми отклика. Зависимость «доза-эффект» для канамицина и для R23I имеют различную природу, что указывает на различные механизмы действия. Время наступления эффекта для канамицина и для R23I наступает в первые часы воздействия.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ (проект № 18-14-00321).

ЛИТЕРАТУРА

1. Азимова, В.Т., и др. (2015). Современные проблемы науки и образования, (1–1), 1337–1337.
2. Wang, G. (Ed.). (2017). Antimicrobial peptides: discovery, design and novel therapeutic strategies. Cabi.
3. Wang, G. (2016). Structural Analysis of Amphibian, Insect, and Plant Host Defense Peptides Inspires the Design of Novel Therapeutic Molecules. In Host Defense Peptides and Their Potential as Therapeutic Agents (pp. 229–252). Springer, Cham.
4. Barlow, P.G., et al. (2011). PloS one, 6(10).
5. Hsieh, I.N., & Hartshorn, K.L. (2016). Pharmaceuticals, 9(3), 53.
6. Ahmed, T.A., & Hammami, R. (2019). Journal of food biochemistry, 43(1), e12546.
7. Jenssen, H., et al. (2006). Clinical microbiology reviews, 19(3), 491–511.
8. Console, S., et al. (2003). Journal of Biological Chemistry, 278(37), 35109–35114.
9. Levitsky, L.I. et al. (2018) J. Proteome Res. 2018, 17, 2249–2255
10. Pagels, M., et al. (2010). Molecular microbiology, 76(5), 1142–1161.

УДК 577.214.39

SYNTHETIC INHIBITORS TARGETING KU/DNA INTERACTION AS A POSSIBLE TOOL TO STUDY DNA-MEDIATED REGULATION OF TRANSCRIPTION BY KU PROTEIN.

E. Pavlova, S. Korolev, O. Shadrina, A. Mantyszov, M. Gottikh

Lomonosov Moscow State Universit, Moscow, Russia

Human Ku heterodimeric protein participates in DNA double strand break repair and effectively binds to free ends of double stranded DNA, but its ability to interact with internal DNA regions such as gene promoters has not yet been clearly shown. Nevertheless, Ku can contribute to the transcription regulation of cellular and viral genes including IIIV–I through interactions with proteins or DNA. We assumed that during IIIV–I transcription Ku could directly bind to the viral promoter. We investigated the effect of Ku intracellular concentrations on the transcription of the firefly luciferase gene under the control of the IIIV–I LTR promoter. It was found that the depletion of Ku subunits by both siRNAs and CRISPR/Cas9 monoallelic knockout significantly decreased the transcription efficiency, whereas overexpression of each Ku subunit equally activated luciferase expression from the LTR promoter. Also, we found that both recombinant Ku and Ku from the nuclear cell lysate were able to interact with DNA containing IIIV–I promoter in the absence of free DNA ends. Using the available crystallographic structure of Ku/DNA complex we built a pharmacophore model describing key contacts of a DNA duplex with Ku. The model was implemented to filter ChemDiv collection of compounds and select 232 molecules fitting the pharmacophore. The subset of compounds for initial screening was further fetched taking into account the results of virtual docking of the molecules to the putative binding site on the Ku heterodimer surface. We carried out three consecutive rounds of EMSA experimental screening on recombinant Ku and identified a new structural class of Ku/DNA interaction inhibitors with an IC₅₀ within micromolar range.

The work was supported by RFBR grant 18-04-00542.