

Генетический анализ генов *mycobacterium tuberculosis* кодирующих мишени действия бедаквилина

Юшкевич Илья Витальевич

Белорусский государственный медицинский университет, Минск

Научный(-е) руководитель(-и) – кандидат медицинских наук, доцент Слизень Вероника Вячеславовна, Белорусский государственный медицинский университет, Минск

Актуальность. По оценке ВОЗ общее количество случаев туберкулеза (ТБ) в мире повысилось с 7,5 в 1990 до 10,4 миллионов в 2016, преимущественно за счет множественно- и широко лекарственно устойчивого ТБ. Для преодоления проблем лечения мультирезистентного ТБ были разработаны новые противотуберкулезные лекарственные средства деламамид и бедаквилин. Последний относится к диарилхинолинам и ингибирует аденозин 5'трифосфат-синтазу, играющую роль в процессе клеточного дыхания и кодируемую геном *atpE*, что диктует необходимость изучения первичной структуры этого гена.

Цель – изучить генетические особенности гена, кодирующего мишень действия бедаквилина.

Материалы и методы. Проведен биоинформационный анализ гена *atpE* (код доступа NC_000962.3.; Genbank, NCBI). Проведен дизайн праймеров для *atpE* гена (с помощью программы <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) и их *in silico* анализ: 1) температура плавления; 2) образование вторичных структур; 3) гетеро- и аутодимеров (<http://mfold.rna.albany.edu/?q=DINAMelt/Quickfold>, <http://eu.idtdna.com/analyzer/Applications/OligoAnalyzer/>). Рестриктазы для фрагментного анализа *atpE* гена подобраны с помощью NEBcutter (<http://nc2.neb.com/NEBcutter2/>).

Результаты и их обсуждение. Проведена селекция праймеров с оптимальными свойствами для амплификации *atpE*. Прямой праймер (5'-АСТАТСТГСТГССГССССТ-3') имеет температуру отжига 68,5°C, образующаяся вторичная структура имеет энергию связи $\Delta G = -2,32$ и разрушается при 62,5°C, образующиеся аутодимеры имеют энергию связи $\Delta G = -8,2$ и плавятся при $T = 43,0^\circ\text{C}$. Обратный праймер (5'-ТСАТСААСТГССГТТТАТГССГС-3') имеет температуру отжига 67,4°C, образующаяся вторичная структура обладает энергией связи $\Delta G = -2,17$ и разрушается при 60,6°C, образующиеся аутодимеры имеют энергию связи $\Delta G = -2,17$ и плавятся при $T = 60,6^\circ\text{C}$. Гетеродимеры же имеют энергию связи $\Delta G = -7,1$ и разрушаются при $T = 31,7^\circ\text{C}$. Проведена оценка рестриктаз для фрагментного анализа *atpE* гена *M.tuberculosis*. Рестрикция гена может осуществляться с помощью рестриктаз Hpy166II, AciI, MboI, EaeI, DpnII, MboI, BsaNI, MspJI, HaeII, KasI, HpaII, MspI, ScrFI, Hpy99I, HphI.

Выводы. С помощью биоинформационного анализа были разработаны праймеры для амплификации *atpE* гена, а также проведен подбор рестриктаз для фрагментного анализа гена, что позволит мониторировать появления мутаций в гене *atpE* и контролировать появление резистентных к бедаквилину микобактерий.