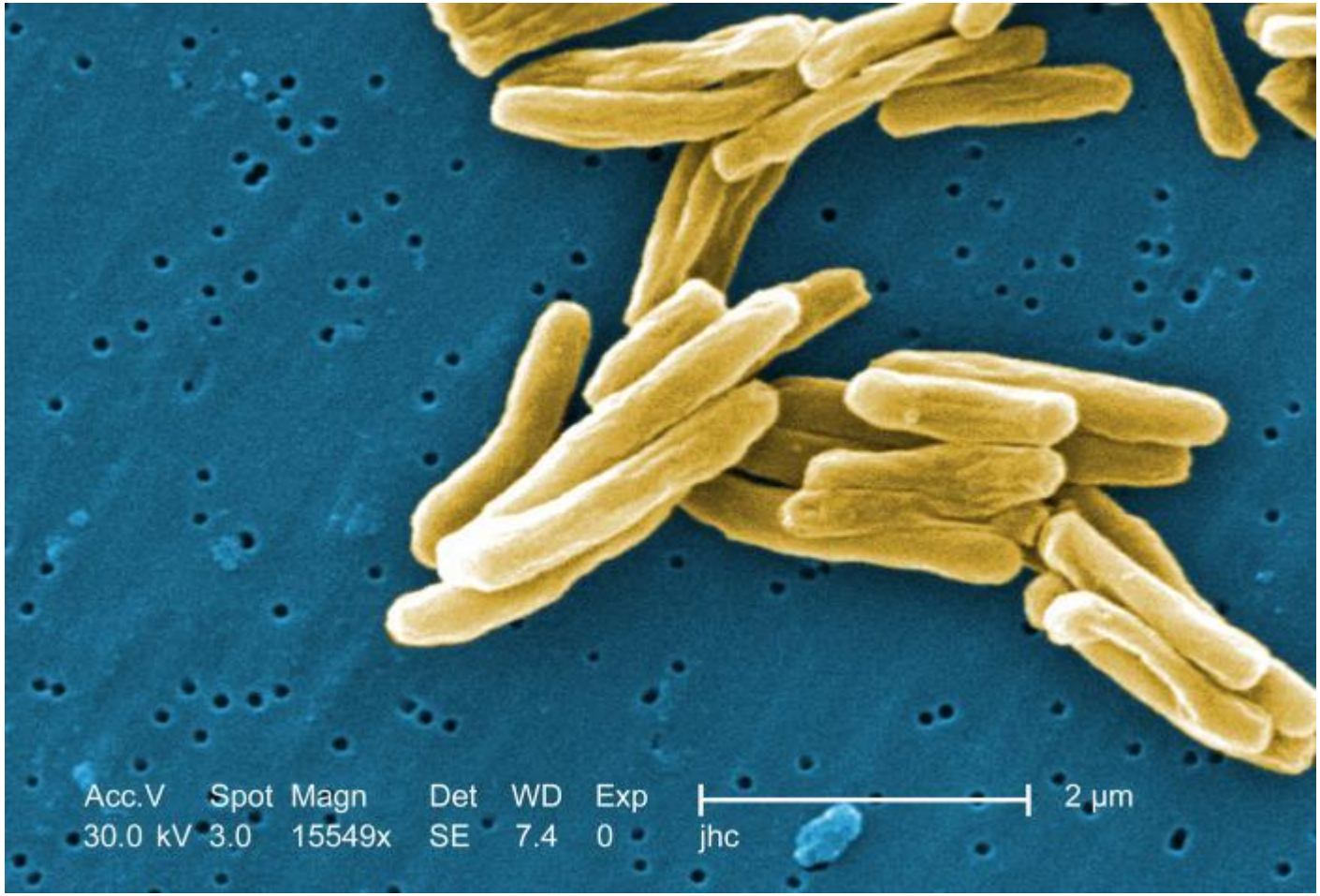
Поиск мишеней для лекарств у возбудителя туберкулеза



Почему туберкулез?

- По мнению экспертов ВОЗ, в течение ближайших 30 лет туберкулёзом заболеют не менее 90 млн. человек и 30 млн. умрут от этого заболевания. В настоящее время туберкулёзом ежегодно заболевают не менее 9 млн. человек (около 60% приходится на развивающиеся страны). 3-4 млн. человек ежегодно умирают от туберкулёза (женщины составляют 1 млн.). Во Франции до 1991 г. отмечали постоянное снижение заболеваемости туберкулёзом (14,9 на 100 тыс. населения), но уже в 1993г. рост заболеваемости составил 15,4%
- в России ежегодно заболевают 145 600 граждан
- Нет эффективной вакцины (БЦЖ)
- Манту-проба – неспецифична

Возбудитель туберкулеза и его особенности

- Mycobacterium tuberculosis – основной возбудитель туберкулеза.
- Микобактерии – идеальные паразиты (малый размер генома, мощная устойчивость)
- Внутриклеточный паразит
- Размножаются медленно (одно деление за 12-20 ч) – скрыые формы
- Множество форм бактерий (активные, спящие)

Какие лекарства применяются при лечении туберкулеза и их общие механизмы

- Изониазид быстро убивает большое количество активно живущих *M. tuberculosis*, далее следуют "рифампицин-стрептомицин-пиразинамид".
- Для *полуспящих M. tuberculosis.* - рифампицин и пиразинамид. Они способны убивать *M. tuberculosis,* пережившие бактерицидное действие изониазида.
- При приобретённой лекарственной устойчивости — комбинации препаратов: изониазид и рифампицин, несколько слабее стрептомицин и этамбутол.

- В 2006 году стали появляться первые сообщения о туберкулезе с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ-ТБ), еще более тяжелой форме лекарственно-устойчивого ТБ, чем ТБ с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ).
- ***В 2009 году в Иране была зарегистрирована когорта из 15 пациентов с устойчивостью ко всем протестированным противотуберкулезным препаратам***
- ***Как решить проблему? Разработать новые лекарства, убивающие клетки бактерии?***
- ***Или же разработать препарат, нарушающий работу компонентов клетки, что делает ее чувствительной к обычным лекарствам!!!***

Преамбула нашего исследования: что известно априори о MtrA

- MtrA – важный белок-регулятор у многих бактерий
- У коринебактерий – положительно влияет на резистентность к лекарствам, проницаемость мембран
- У *Mycobacterium avium* помогает приобрести резистентность к лекарствам
- У *M.tuberculosis* снижает скорость размножения, связываясь **с мотивом перед геном** dnaA (показано в биологическом эксперименте). DnaA - один из регуляторов скорости размножения бактерий

Наша гипотеза

Ключевая мысль: можем ли мы использовать подавители MtrA для комплексного лечения туберкулеза?

- Известно, что MtrA влияет на ряд признаков (см. предыдущий слайд). Влияет через dnaA только, либо есть непосредственное влияние?
- Если напрямую, то, очевидно, через тот же мотив, что стоит перед MtrA!
- Мотив CACGCCG – основной для посадки MtrA, с ним белок связывается даже в небольшой концентрации. С вариантами этого мотива (немного отличаются от этого) – нужна большая концентрация (это мы тоже знаем из эксперимента)
- Есть ли такой мотив (все его варианты) перед другими генами M.tuberculosis? Перед какими?
- Есть ли среди этих генов те, которые могут влиять на чувствительность к лекарствам?
- Может ли MtrA использоваться для комплексной терапии ШЛУ туберкулеза (например, блокаторы MtrA + лекарства, к которым туберкулез ***после*** приобретет чувствительность?). Подключаем биологическую эрудицию!!!

Дано

- Последовательность ДНК M.tuberculosis (все гены лежат на одной «хромосоме»)
- Последовательности белков
- Заданы мотивы

Найти:

1) Список генов, которые регулируются MtrA.

2) Сделать вывод, важны ли эти гены как регуляторы устойчивости к лекарствам

3) Сделать вывод, подходит ли MtrA в качестве мишени для лекарственной терапии, открывающей доступ к лечению туберкулеза известными лекарствами

4)* Как должен действовать лекарственный препарат на MtrA исходя из данных о влиянии концентрации MtrA на связывание с разными мотивами и имеющейся у нас информации о мотивах перед интересующими нами генами? Иными словами, должно ли потенциальное лекарство подавлять MtrA полностью или частично?

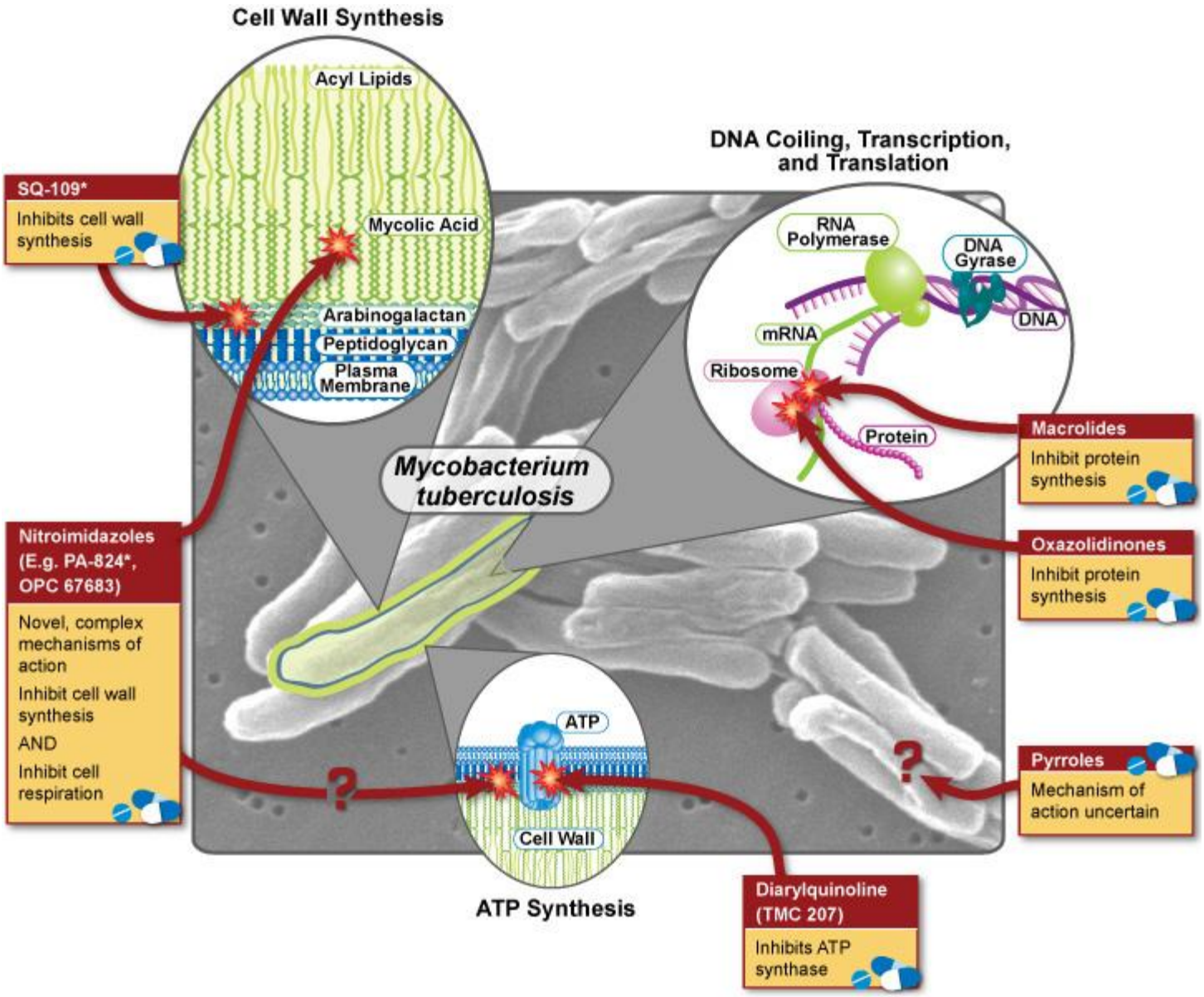
Удачи!

Подсказка-1

Найти гены, соответствующие белкам.

- Проверить их на наличие заданных мотивов
- Отбираем важные белки, проверяем тип мотива (основной вариант мотива, или нет)
- Делаем вывод, исходя из набора генов, на которые влияет MtrA и типа мотивов перед ними, будет ли положительный эффект в аспекте лек. устойчивости при подавлении MtrA

Подсказка-2. Механизмы действия противотуберкулезных препаратов



Доп.задания

1) Для генов без аннотации - найти аннотацию по таблице гомологов с M. smegmatis

2) Ранжировать гены по степени подавления их экспрессии белком MtrA (где это известно)