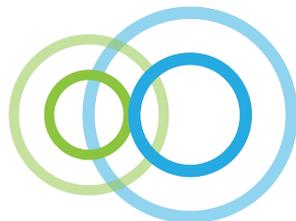


# Счастливым сон с пелёнок спасёт от биоплёнок

## *Новый подход к терапии биоплёнок*

Кларенс Леи Б. Батиста, Федор Кагакин, Алина Киричко, Матвей Никельшпарг,  
Мария Новикова, Алина Палачанина

...и Яков Боганцев



SMTB

Лаборатория “Бактериальная Кондитерская” - 2020



# Выбор белков, которые могут влиять на формирование биопленок

Глобальные регуляторы,  
которые задействованы в  
формировании биопленок

H-NS, CRP, Lrp, CsgD,  
OmpR, Fis, IHF, FNR

Белки, которые мы добавили  
на основании предыдущих  
исследований

UxuR, YjjM, ExuR, Dps

UxuR и YjjM ведут себя иначе в патогенных  
штаммах EPEC и Nissle 1917

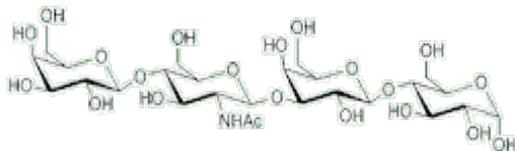
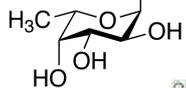
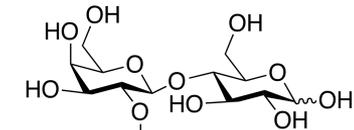
## Потенциальные лиганды

### Сахара из кишечника

D-glucose  
D-glucuronate (acid form)  
D-galacturonate  
Gulonic acid (acid and lactone forms)

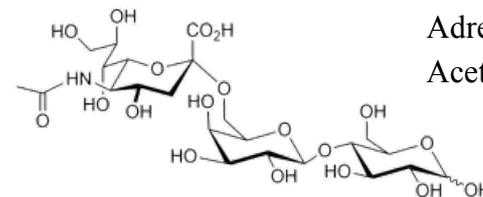
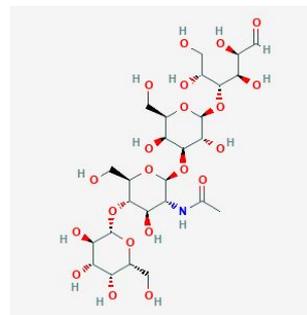
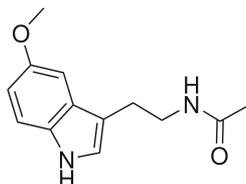
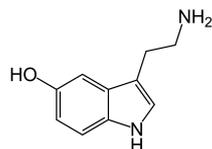
Lactose  
Galactose  
Mannose  
Acetate  
Glycerol

Succinate  
Maltose  
Fructose  
Sucrose



### Сахара из грудного молока

2'-fucosyl lactose  
6'-sialyl lactose  
Lacto-N-neotetraose  
Sialic acid



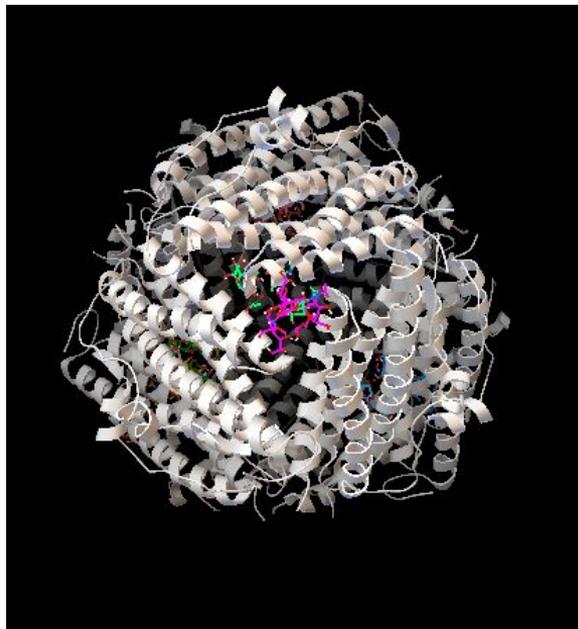
6'-Sialyllactose

### Нейромедиаторы

L-glutamic acid  
D-glutamic acid  
Dopamine  
hydrochloride  
Serotonin  
Melatonin  
Adrenalin  
Acetylcholine

PROTEIN	LIGAND	MINIMAL ENERGY (kcal/mol)
IHF	Lacto-N-neotetraose	-8.0
	Fucosyl lactose	-8.0
	Lactose	-7.9
	Sialyl lactose	-7.9
	Maltose	-7.8
HNS	Sialyl lactose	-6.7
CsgD	Sialyl lactose	-7.3
	fructose	-6.6
	Serotonin	-6.5
	Melatonin	-6.4
	D-glucuronic acid	-6.2
YjjM normal	Lacto-N-neotetraose	-6.8
	Maltose	-6.4
	Sialyl lactose	-6.4
	Lactose	-6.2
	YjjM EPEC	Lacto-N-neotetraose
Sialyl lactose		-7.4
Lactose		-6.3
UxuR normal	D-glucuronic acid	-6.2
	D-galacturonic acid	-6.1
UxuR EPEC	Melatonin	-6.0
	Serotonin	-5.8
	Maltose	-5.7

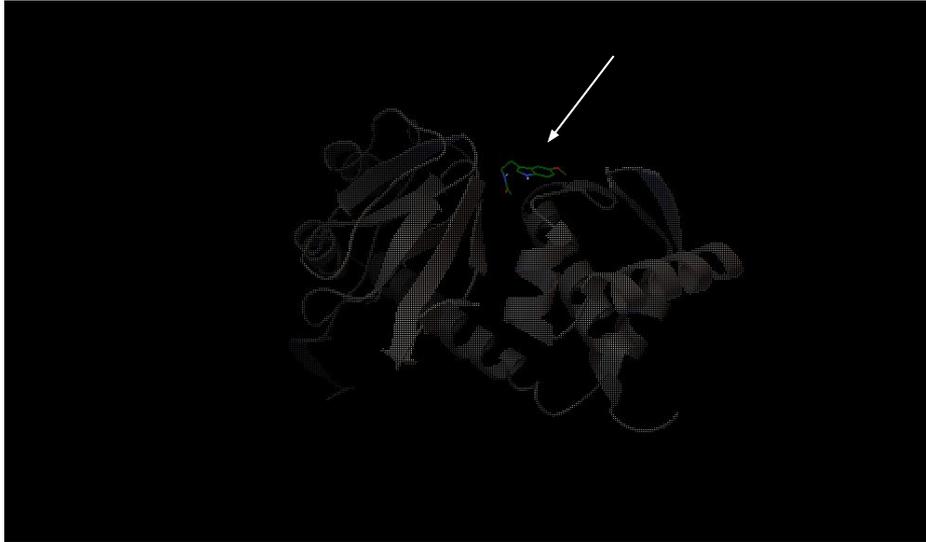
## Результаты докинга



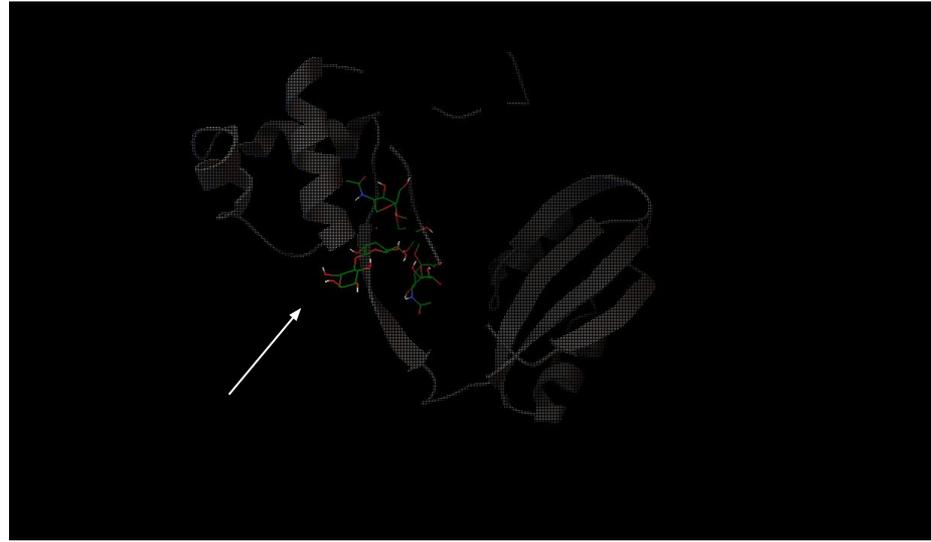
Лакто-N-неотетраоза связывается с меж-субъединичным пространством додекамера Dps с высокой свободной энергией, что, возможно, предотвращает сборку додекамера или вызывает его распад

PROTEIN	LIGAND	MINIMAL ENERGY (kcal/mol)
Dps	Lacto-N-neotetraose	-9.0
	Sialyl lactose	-7.0
OmpR	Maltose	-6.3
	Lactose	-6.3
	Sucrose	-6.0
	Sialic acid	-5.8
	Melatonin	-5.5
Lrp	Lacto-N-neotetraose	-8.3
	Sialyl lactose	-7.1
	Lactose	-6.0
	Maltose	-6.0
	Melatonin	-6.0
	Serotonin	-6.0
FNR	Lactose	-7,1
	Sucrose	-6.9
	Maltose	-6.7
	Melatonin	-6.5
CRP	Lacto-N-neotetraose	-7.9
	Sucrose	-6.3
	Lactose	-6.4

## Еще интересные результаты докинга



Мелатонин в кармане FNR

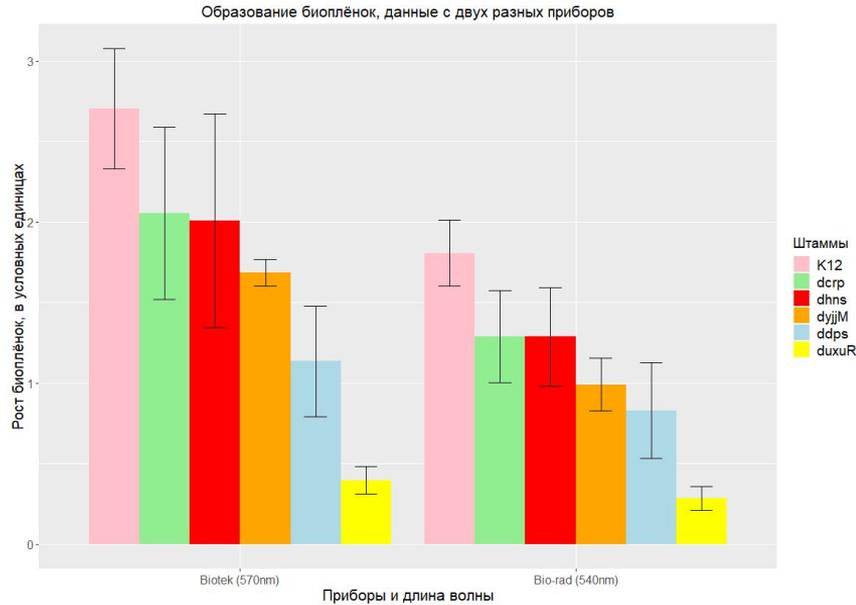


Лакто-N-неотетраоза в кармане Lrp

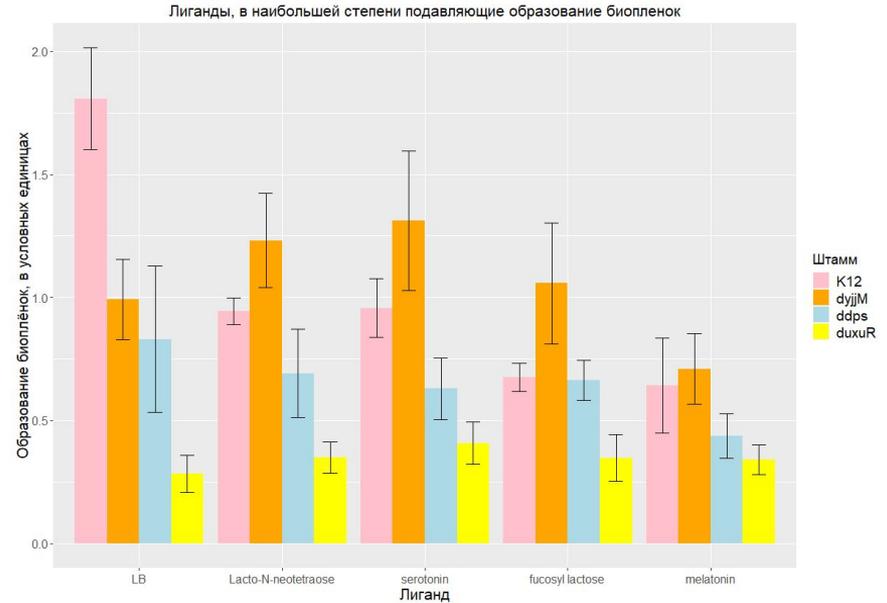
### Наблюдения:

- Почти для всех белков подошли одни и те же лиганды (сахара из грудного молока, мелатонин, серотонин и лактоза)
- Для Fis не нашлось ни одного лиганда

# Способность разных штаммов *E. coli* strains формировать биопленки и влияние на это выбранных нами лигандов

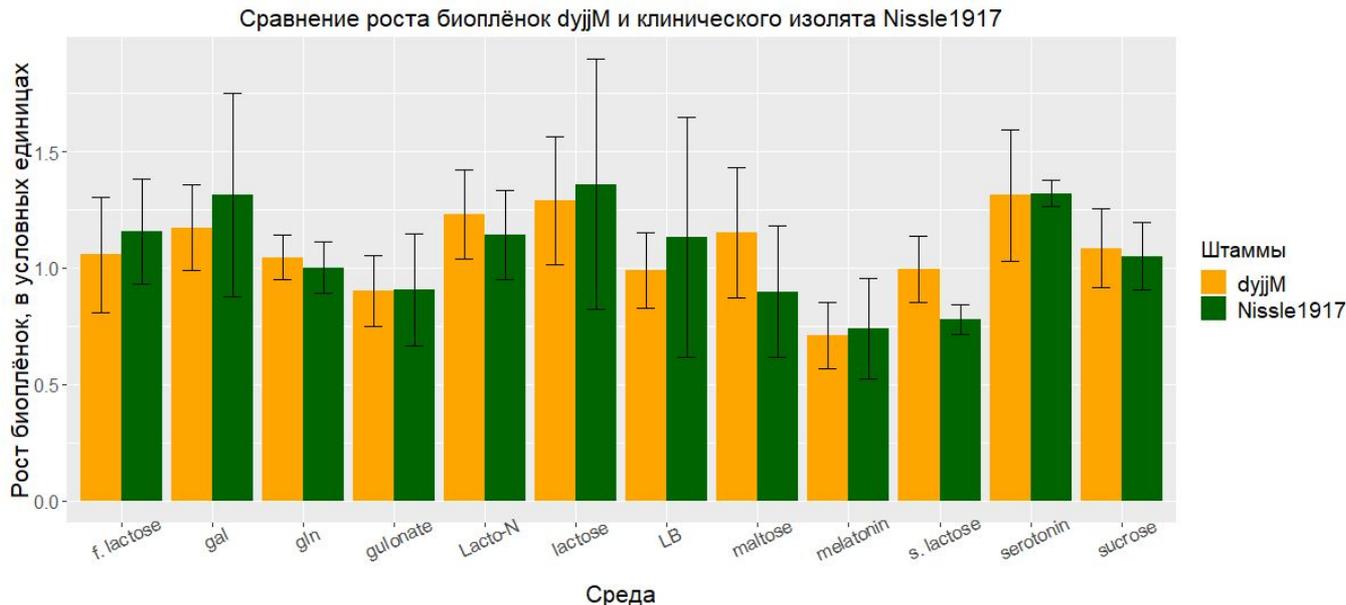


- UxuR критически важен в формировании биопленок
- Dps участвует в регуляции процесса, но его эффект не так силен
- CRP и H-NS эффекта почти не продемонстрировали



- Сахара из грудного молока, мелатонин и серотонин - самые перспективные кандидаты для дальнейшего исследования

# YjjM - возможно, ключевой игрок в регуляции формирования биопленок



- Штамм Nissle 1917, где *yjjM* содержит мутации, демонстрирует те же результаты, что и штамм K-12 с удаленным *yjjM*.
- Лиганды на способность этих штаммов к формированию биопленок не влияют (в отличие от всех остальных случаев) - это значит, что функциональный YjjM необходим для регуляции образования биопленок







## Штамм *E. coli*

*ΔompR, ΔyjjM, ΔixuR, ΔexuR, Δdps*

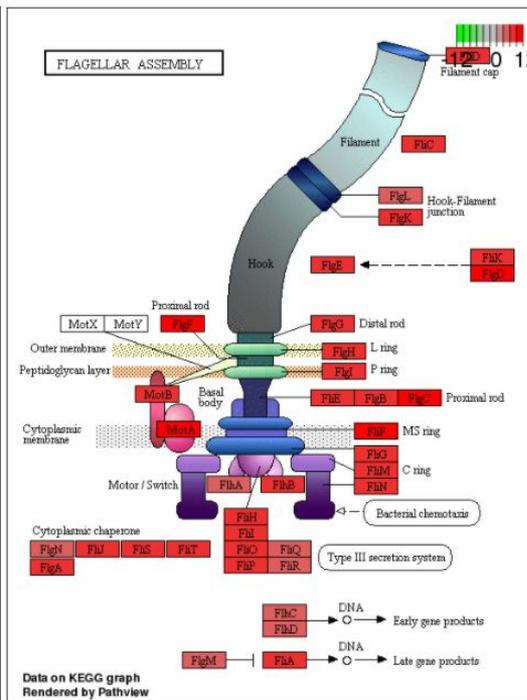
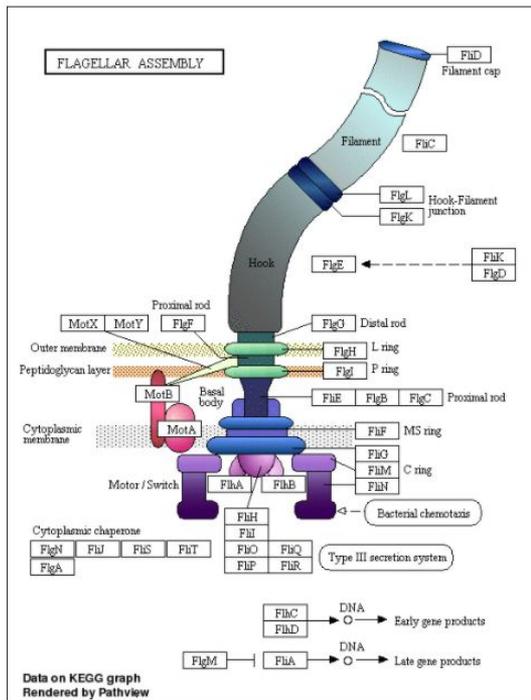
*Δhns, Δcrp*

## Влияние на образование биопленок и на подвижность

Уменьшилось образование биопленок,  
Увеличилось образование жгутиков,  
Увеличилось образование белков,  
регулирующих хемотаксис

Увеличилось образование биопленок,  
Уменьшилось образование жгутиков,  
Уменьшилось образование белков,  
отвечающих за хемотаксис

# Влияние выбранных регуляторов на сборку жгутиков



- ★ UxuR, YjjM и Dps играют ключевую роль в регуляции формирования биопленок
- ★ Сахара грудного молока (лакто-N-неотетраоза и фукозиллактоза) и нейромедиаторы “хорошего настроения” (серотонин и мелатонин) существенно снижают образование биопленок и являются перспективными кандидатами для продолжения исследований.

Сравнение транскрипционных данных штамма WT со штаммом  $\Delta\text{scr}$  на глюкозе(слева) и со штаммом  $\Delta\text{uxuR}$  на глюкозе(справа). Подобная положительная регуляция жгутиков(которая показана справа) наблюдается у штаммов:  $\Delta\text{yjjM}$  на глюкоронате и глюкозе,  $\Delta\text{uxuR}$  на глюкоронате,  $\Delta\text{dexuR}$  на глюкоронате и глюкозе,  $\Delta\text{ompR}$  и  $\Delta\text{dps}$  на 4 часа.

# Благодарности

Финансирование



Терпение



Молекулярная динамика



Юрий Пуртов

Общая поддержка



Бактериальная кондитерская: Аня Рыбина, Ваня Рандошкин  
Аня Казнадзей, Маша Тутукина