

Bakteryjne systemy toksyna-antytoksyna jako nowy cel dla potencjalnych antybiotyków

Pojawienie się bakteryjnych szczepów antybiotykoopornych jest istotnym problemem w dziedzinie zdrowia. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) umieściła zakażenia powodowane przez antybiotykooporne bakterie, na pierwszym miejscu listy chorób, których zwalczaniu oraz zapobieganiu należy nadać najwyższy priorytet. Wydaje się, że społeczności naukowej kończą się skuteczne antybiotyki, podczas gdy przemysł farmaceutyczny zmniejsza liczbę nowych antybiotyków w trakcie badań i linii rozwojowej. Podkreśla to wyraźnie potrzebę nowatorskich rozwiązań przeciwbakteryjnych. Jednak opracowywanie *de novo* substancji o właściwościach antybakteryjnych jest niezwykle skomplikowanym oraz kosztownym zadaniem. Dlatego potrzebne jest nowe spojrzenie w kierunku walki z zakażeniami bakteryjnymi. W ramach projektu, do walki z bakteriami antybiotykoopornymi projekcie chcemy wykorzystać „wewnętrzna bomba”, która znajduje się u większości bakterii - białko toksyny, kodowane w systemach toksyna – antytoksyna (TA).

Systemy TA stanowią układ dwóch genów: toksyny, którego produkt ma trujące działanie dla komórki oraz antytoksyny, która oddziałując z trucizną hamuje jej toksyczne działanie. W układzie tym toksyna jest stabilnym białkiem podczas gdy niezwiązana antytoksyna ulega szybkiej degradacji przez komórkowe proteazy. Jakikolwiek zaburzenie stosunku ilości obu białek modułu TA w komórce prowadzi zatem do akumulacji w komórce aktywnej, oraz stabilnej toksyny, a w konsekwencji do śmierci komórki. Prokariotyczne systemy TA zostały podzielone na 6 grup ze względu na rodzaj antytoksyny oraz mechanizm hamowania aktywności toksyn.

W tym projekcie chcemy zbadać typ II systemu TA jako potencjalny cel dla opracowania nowych środków przeciwbakteryjnych. W tym celu wykorzystamy krótkie, modyfikowane oligonukleotydy zaburzające ekspresję genów bakterii na poziomie translacji poprzez komplementarne przyłączanie się do bakteryjnego mRNA, blokowanie produkcji białek bakteryjnych i w efekcie hamowanie wzrostu bakterii. Oligonukleotydy zostaną zaprojektowane tak, aby prowadziły do sztucznej aktywacji systemu TA poprzez zahamowanie produkcji odpowiednich białek związanych z systemami TA.

Największą zaletą proponowanej strategii jest to, że może ona działać jako selektywny inhibitor i precyzyjnie hamować wzrost jednego rodzaju bakterii. Z drugiej strony, oligonukleotydy mogą być zaprojektowane w celu poszerzenia spektrum aktywności i hamowania wzrostu różnych rodzajów bakterii jednocześnie. Dodatkowo proponowana strategia jest uniwersalna i może być przystosowana do pracy na wszystkich bakteriach z TA. Ponadto, jeśli pojawią się mutacje mRNA, sekwencja oligonukleotydu może zostać szybko przeprojektowana w celu pokonania oporności.

Wszystkie badania zostaną przeprowadzone na chorobotwórczych oraz wielolekoopornych szczepach *Escherichia coli*. Projekt ma charakter interdyscyplinarny, łączy w sobie analizy bioinformatyczne oraz badania doświadczalne. Podstawowymi zadaniami teoretycznymi realizowanymi w projekcie są 1) analiza porównawcza sekwencji mRNA wybranych genów wśród badanych bakterii, 2) wybranie miejsca celowania oligonukleotydem oraz 3) zaprojektowanie sekwencji oligomerów celujących w wybrany fragment genu. Szczególnie interesujące przypadki zostają wybrane do analizy doświadczalnej oraz są charakteryzowane pod względem nowych celów dla inhibitorów wzrostu bakterii. Badania doświadczalne obejmują między innymi analizę właściwości przeciwbakteryjnych zaprojektowanych oligonukleotydów: wyznaczenie minimalnego stężenia hamującego wzrost bakterii (MIC), zdolność do selektywnej inhibicji wzrostu jednego gatunku bakterii oraz wyznaczenie synergistycznego działania z konwencjonalnymi antybiotykami (FIC). Dodatkowo, określimy skuteczność zaprojektowanych sekwencji do wyciszenia poziomu ekspresji wybranych genów (qRT-PCR) a także zbadamy wpływ antysensownych oligonukleotydów na tworzenie się populacji komórek przetrwałych (*persistor cells*). W pracy doświadczalnej wykorzystujemy również techniki klonowania molekularnego i konstrukcji mutantów.

Proponujemy nowatorskie rozwiązanie, które do tej pory nie zostało zbadane. Zrealizowanie celów projektu dostarczy podstawowej wiedzy na temat wykorzystania bakteryjnych systemów toksyna – antytoksyna jako nowych celów dla inhibitorów bakteryjnego wzrostu. Proponowana strategia może mieć znaczenie w przyszłości podczas projektowania nowych klas antybiotyków.