

Prezentowane badania koncentrując się na analizie struktury i funkcji enzymów produkowanych przez wirusy bakteryjne (fagi) aktywne wobec patogenów z grupy ESKAPE. ESKAPE to skrót nazw bakterii (*Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*), spośród których izoluje się najczęściej wielooporne szczepy kliniczne.

W ramach niniejszego projektu planujemy uzyskanie rekombinowanych białek pochodzenia fagowego, degradujących cukry powierzchniowe bakterii wchodzące w skład ich otoczek lub/i lipopolisacharydów (LPS). Celem jest poznanie właściwości i struktury nowych enzymów fagowych - depolimeraz oraz efektów ich działania. Pierwszym zadaniem na drodze do osiągnięcia celu jest ustalenie odpowiednich warunków na różnych etapach produkcji białek rekombinowanych z użyciem procedur inżynierii genetycznej. Przebadana zostanie również aktywność i specyficzność hydrolityczna uzyskanych enzymów wobec bakteryjnych polimerów cukrowych takich jak EPS (egzopolisacharyd) i LPS (lipopolisacharyd) przy zastosowaniu metod biochemicznych i biofizycznych.

Zamierzamy poznać ich strukturę na podstawie uzyskanych kryształów białkowych oraz określić aktywność w zależności od cech środowiska, w którym się znajdują. Dzięki analizom strukturalnym będziemy w stanie zidentyfikować centra aktywne otrzymanych enzymów, co pozwoli na zaprojektowanie zmodyfikowanych białek o zmienionej specyficzności substratowej. Takie rekombinowane enzymy zostaną zbadane pod kątem aktywności przeciwbakteryjnej i anty-wirulentnej, jako potencjalne środki lecznicze.

Niniejszy projekt dotyczy nowej, podstawowej wiedzy pozwalającej na lepsze zrozumienie mechanizmów działania enzymów fagowych, ich aktywności hydrolitycznej wobec bakterii oraz zakresu działania wobec bakteryjnych wielocukrów różnego pochodzenia. Wyniki projektu pozwolą odpowiedzieć na pytanie czy egzopolisacharydazy pochodzenia wirusowego mogą skutecznie degradować i usuwać struktury biofilmu bakteryjnego, ograniczać wirulencję najgroźniejszych patogenów człowieka, a co za tym idzie stanowić alternatywę lub dodatek wspomagający standardową terapię antybiotykową.

W literaturze można znaleźć potwierdzenie skuteczności depolimeraz w zwalczaniu infekcji na modelach zwierzęcych, jak również umożliwienia penetracji antybiotyków w głąb biofilmu na skutek działania tych enzymów. Choć zaproponowany projekt ma charakter czysto poznawczy, odpowiedzi na postawione pytania mogą pomóc rozwiązać przynajmniej część wątpliwości związanych z hipotetycznym zastosowaniem depolimeraz w zwalczaniu pałeczek z gatunku *Klebsiella pneumoniae* i *Pseudomonas aeruginosa*, wśród których zarówno izolaty pochodzenia szpitalnego jak i środowiskowego są w takim samym stopniu niebezpieczne. Badania nad depolimerazami fagowymi specyficznymi względem tych dwóch przedstawicieli grupy ESKAPE, nie są jeszcze szeroko rozpowszechnione, dlatego też zdecydowaliśmy się zgłębić ten temat.