

Bakteriofagi (w skrócie fagi) to w rzeczywistości wirusy takie jak wirus ospy, czy opryszczki, tylko atakujące komórki bakteryjne, a nie komórki ludzkiego organizmu. Fagi zostały odkryte ponad 100 lat temu i przez ten czas dały się poznać zarówno z tej dobrej, jak i złej strony. Odegrały one ogromną rolę w poznaniu podstaw procesów biologicznych i w rozwoju inżynierii genetycznej oraz biotechnologii. Niestety bakteriofagi mają też swoją „ciemną stronę”, a w wyniku ich działania, pożyteczne bakterie stają się groźnymi dla człowieka patogenami. W tym aspekcie na szczególną uwagę zasługują fagi łagodne.

Bakteriofagi określane jako łagodne, zostały tak nazywane ze względu na sposób w jaki traktują swego gospodarza - bakterię. W przeciwieństwie do fagów zjadliwych, infekcja fagiem łagodnym nie zawsze kończy się śmiercią komórki bakteryjnej. Bakteriofag taki może przebywać w bakterii w utajonym stadium profaga, podczas którego jego DNA namnaża wraz z DNA bakterii i jest przekazywane do komórek potomnych. W tej fazie cyklu, określanej mianem lizogenii, fag namnaża się w wyniku podziałów komórki bakteryjnej, nie powodując jej zniszczenia, natomiast bakterie zyskują dzięki obecności profaga oporność na dany rodzaj faga. W takiej formie bakteriofag może przetrwać w bakteriach przez wiele pokoleń. W określonych warunkach bakteriofag może przejść ze stadium profaga w rozwój lityczny, podczas którego intensywnie namnaża swoje DNA, niezależnie od DNA bakterii, uruchamia ekspresję własnych genów i produkcję zakodowanych w swoim genomie białek. W efekcie powstaje nowe potomstwo fagów, które uwalniając się z komórki bakteryjnej doprowadzają do jej śmierci i są zdolne do zainfekowania kolejnych bakterii. Niestety w odniesieniu do organizmu ludzkiego, określenie fagi łagodne jest często mylące, gdyż w rzeczywistości fagi te mogą być dla nas bardzo groźne. Dzieje się tak gdy przenoszą niebezpieczne dla naszego organizmu toksyny takie jak np. toksyna Shiga wywołująca trudne do zahamowania krwotoczne biegunki i powikłania związane z niewydolnością nerek, toksyna cholery, czy toksyna błonicza. Co istotne, do produkcji i uwolnienia tych toksyn dochodzi tylko w efekcie rozwoju litycznego faga. W stadium utajonym, toksyny nie są produkowane, ale kodujące je geny ulegają zwielokrotnieniu i są przekazywane do komórek potomnych. W tym świetle, niezwykle istotne wydaje się szczegółowe poznanie mechanizmu warunkującego przejście faga z jednego stanu w drugi. Kluczowe w tym aspekcie będzie rozwikłanie działania systemu represja-antyrepresja. Wybór drogi rozwojowej faga uzależniony jest od ilości produkowanych w komórce represorów i antyrepresorów. Cykl lityczny uruchamiany jest jeśli przeważają antyrepresory, natomiast represory odpowiadają za utrzymania faga w stanie lizogenii. Od lat prowadzone są badania dotyczące działania represorów, natomiast dużo mniej wiadomo na temat antyrepresorów. Jest zaledwie kilka doniesień wskazujących na udział małych niekodujących RNA w regulacji ekspresji antyrepresorowych genów.

Naszemu zespołowi również udało się znaleźć kilka małych cząsteczek RNA, pochodzących od fagów przenoszących geny toksyn Shiga, które mogą mieć potencjalne znaczenie w tej regulacji. Co istotne jednak, znalezione przez nas cząsteczki są dużo mniejsze niż te dotąd opisane i swym rozmiarem przypominają cząsteczki mikroRNA funkcjonujące u wirusów atakujących komórki eukariotyczne. Pomimo, iż wirusowe cząsteczki mikroRNA odgrywają ważną rolę w regulacji przejścia wirusa (np. herpeswirusa) ze stanu utajonego (latentnego) w lityczny, tego typu cząsteczki pochodzenia fagowego nie były znane do 2015 roku, kiedy to opisaliśmy pierwszą taką cząsteczkę. Podobnego rozmiaru cząsteczki zidentyfikowano wcześniej jedynie w genomach bakterii. W ramach niniejszego projektu, prezentujemy sześć nowych, fagowych, równie małych niekodujących cząsteczek RNA, których znacznie biologiczne i mechanizm działania zamierzamy zbadać w ramach zaplanowanych prac. Znalezione cząsteczki zlokalizowane są w rejonie antyrepresorów a uzyskane wyniki analiz bioinformatycznych wskazują, że mogą one regulować ekspresję antyrepresorowych genów i tym samym ilość produkowanych antyrepresorów. Co więcej, jak wskazują wyniki badań, wpływ jednej z tych cząsteczek na rozwój faga w bakteriach *E. coli* jest bardzo prawdopodobny i w związku z tym cząsteczka ta będzie pierwszym kandydatem do dalszych zaplanowanych analiz mających na celu scharakteryzowanie sieci regulowanych przez nią docelowych transkryptów i tym samym poznanie mechanizmu jej działania.

Jeśli faktycznie jest tak, jak przypuszczamy i analogicznie do wirusowych cząsteczek mikroRNA, te małe fagowe cząsteczki RNA odgrywają istotną rolę w regulacji mechanizmu przejścia faga ze stanu utajonego w lityczny, odkrycie to znacząco zmieni obecne poglądy na temat funkcjonujących w systemach prokariotycznych małych cząsteczek RNA oraz rzuci nowe światło na proces regulacji rozwoju fagów w komórkach bakteryjnych. W tym świetle, niniejszy projekt ma ogromny potencjał poznawczy, a uzyskana wiedza może mieć w przyszłości istotne znaczenie w opracowaniu skutecznej strategii walki z tymi bakteriofagami. Być może będzie to właśnie metoda oparta na zatrzymaniu rozwoju faga w stanie lizogenii. Metoda taka nie jest obecnie znana, a stosowanie antybiotyków ma często efekt odwrotny, gdyż indukują one rozwój lityczny faga i tym samym wzmagają produkcję zakodowanych w genomach fagów toksyn.