

Rozprzestrzenianie się patogenów opornych na antybiotyki staje się niezwykle poważnym problemem klinicznym na całym świecie. Obecnie niepokoi wzrost odporności na antybiotyki beta-laktamowe nowej generacji, które są powszechnie stosowane w leczeniu infekcji wywołanych przez bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*, głównie z rodzajów *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus* oraz *Salmonella*. Szczepy wytwarzające beta-laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL) najczęściej należą do szczepów wieloopornych i charakteryzujących się na ogół szybkim tempem rozprzestrzeniania w środowisku, wywołując m.in. groźne epidemie szpitalne. Obecnie prowadzone są badania mające na celu wyjaśnienie mechanizmów oraz sposobów przenoszenia oporności bakterii na antybiotyki beta-laktamowe nowej generacji. Ważną rolę w tym zjawisku odgrywa horyzontalny transfer genów (HGT). Głównymi czynnikami w HGT są plazmidy, elementy transpozycyjne i koniugacyjne, czynniki przenoszące geny i bakteriofagi. Mechanizmy koniugacyjne są znane i od dawna badane. Jednak fagi o szerokim zakresie gospodarzy, lizogenizujące w postaci plazmidu (takie jak bakteriofag P1) zostały pominięte w większości badań. Ponadto, ostatnie doniesienia sugerują, że udział fagów podobnych do P1 w rozprzestrzenianiu się oporności na beta-laktamazy o rozszerzonym spektrum jest znaczący. Wiele badań pokazuje, że plazmidy zawierające elementy faga P1 znajdują się w bakteriach takich jak *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, które wytwarzają ESBL. Plazmidy te bardzo często posiadają replikon oraz systemy partycji P1, ale nie zawierają genów koniugacyjnych, co wskazuje, że dostały się do komórki bakteryjnej przez infekcję fagiem. Dlatego tak ważne jest aby poznać wszystkie mechanizmy przystosowujące bakteriofagi do infekcji i namnażania się w komórkach bakterii odległych taksonomicznie, co znacząco przyczynia się do przenoszenia genów oporności na antybiotyki. Wysoka częstość występowania faga P1 w izolatach *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* lub *Salmonella* sugerują, że należy badać zdolność fagów podobnych do P1 do przenoszenia genów oporności oraz, że ich rola może być niedoceniana.

Wybrany przez nas do badań bakteriofag P1, był pierwszym odkrytym transdukującym bakteriofagiem. Od dziesięcioleci służy jako model w badaniach podstawowych procesów genetycznych oraz jako narzędzie w biotechnologii. Dopiero jednak ostatnie badania metagenomiczne mikrobioty ludzi i zwierząt ujawniły znaczącą rolę fagów i plazmidów wywodzących się z P1 w HGT, w tym szczególnie w transferze genów ESBL i MBL. Mimo szerokiego wykorzystania bakteriofaga P1, szereg aspektów jego biologii pozostaje nieznanymi. Wyniki naszych badań wskazują, że istotne znaczenie dla zdolności rozprzestrzeniania się P1 w populacjach bakterii różnych taksonów może mieć adaptacja tego faga do skutecznej lizy zróżnicowanych komórek jego bakteryjnych gospodarzy, tak by mogły uwolnić się fagi potomne. Zgodnie z kanonicznym modelem lizy, proces ten jest zależny od obecności trzech białek: endolizyny – enzymu uszkadzającego ścianę komórkową, holiny – białka tworzącego „dziury” w błonie cytoplazmatycznej pozwalające na przedostanie się endolizyny przez błonę i dotarcia do jej substratu (ściany), oraz antyholiny – białka regulującego czas lizy. Okazuje się, że do lizy komórki bakteryjnej wywołanej przez faga P1, oprócz wcześniej poznanych genów dla endolizyny, holiny i antyholiny, niezbędne są przynajmniej dwa inne geny P1 kodujące potencjalne holiny oraz dodatkowy gen o nieznanym funkcji. Z naszych wstępnych badań wynika, że tak złożony system funkcji litycznych umożliwia P1 i fagom podobnym do P1 namnażanie się w komórkach bakterii należących do różnych taksonów, przez co jest istotnym czynnikiem sprzyjającym HGT. Dlatego dokładne poznanie funkcji poszczególnych genów litycznych P1, ich wzajemnych relacji funkcjonalnych i regulacyjnych oraz ich roli w lizie komórek różnych gospodarzy ma podstawowe znaczenie dla poszerzenia wiedzy o mechanizmach wydajnego HGT z udziałem bakteriofagów łagodnych o szerokim spektrum gospodarzy. To właśnie jest cele proponowanego projektu. W badaniach wykorzystane zostaną już skonstruowane mutanty w genach lizy oraz skonstruowane zostaną nowe. Efektywność lizy z udziałem różnych mutantów badana będzie w komórkach różnych gospodarzy P1, znanych z nosicielstwa ESBL i MBL. Funkcje poszczególnych białek litycznych określane będą również w wyizolowanych systemach po wprowadzeniu do komórek plazmidów zawierających ich sklonowane geny.

Otrzymane wyniki przybliżą nas to do poznania mechanizmów szerokiego rozprzestrzenienia klinicznych szczepów bakterii niosących pochodne P1 z genami oporności na antybiotyki beta-laktamowe nowej generacji.