

## Streszczenie popularnonaukowe

Stale rosnąca oporność bakterii na antybiotyki stanowi obecnie poważne wyzwanie dla społeczności naukowej i została zdefiniowana przez Światową Organizację Zdrowia jako jedno z głównych zagrożeń dla ludzkiego zdrowia na całym świecie. Co ciekawe, wiadomo, że komórki bakteryjne komunikują się ze sobą za pomocą organicznych cząsteczek sygnalizacyjnych, co uważane jest za potencjalny cel leczenia reprezentujący piętę Achillesową mikroorganizmów. Wykazano, że komunikacja ta odgrywa kluczową rolę w regulacji niezbędnych procesów u bakterii, dlatego jej interferencja stanowi obiecujący kierunek badań w celu przewyciężenia oporności na antybiotyki i tworzenia biofilmu. Takie zakłócenie komunikacji między komórkami, zwane wygaszaniem kworum (*ang. Quorum Quenching – QQ*), można osiągnąć przez enzymatyczną degradację cząsteczek sygnałowych co stanowi główne spektrum zainteresowania tego projektu. Do tej pory wykazano, że cztery grupy katalityczne enzymów działają na bakteryjne cząsteczki sygnałowe: laktamazy, reduktazy, oksydazy cytochromowe i acylazy. Wśród nich laktonazy i acylazy stanowią najbardziej obiecującą grupę z punktu widzenia wykorzystania ich potencjału wygaszającego, z przewagą dla acylaz ze względu na ich nieodwracalny sposób działania w przeciwieństwie do laktonaz, większą specyficzność i łatwiejszy metabolizm produktu końcowego. Niemniej jednak ich wąska specyficzność i ograniczona procesywność innych enzymów QQ do zastosowań przemysłowych i medycznych na dużą skalę motywuje poszukiwania innych enzymów do inżynierii białek.

W związku powyższym, głównym celem projektu jest zaproponowanie ulepszonych katalitycznie enzymów o potencjale QQ jako alternatywy dla konwencjonalnych terapii antybiotykowych lub środków przeznaczonych do przemysłowego wykorzystania w celu przeciwdziałania tworzeniu się biofilmów. Badania będą prowadzone na prototypowym enzymie QQ – acylazie laktonów acyl-homoserynowych z *Pseudomonas aeruginosa* (PvdQ) i biotechnologicznie zoptymalizowanej acylazie penicyliny G z *Escherichii coli* (EcPGA). Początkowo naszym celem jest zbadanie wstępnie wybranych reszt aminokwasowych w oparciu o już zaprojektowaną inteligentną bibliotekę mutacji EcPGA, wyselekcjonowanie najbardziej obiecujących kandydatów i określenie ich preferencji w stosunku do szerokiej gamy bakteryjnych cząsteczek sygnałowych. Co więcej, warianty o najciekawszych właściwościach zostaną scharakteryzowane eksperymentalnie. Równolegle dążymy do opisanego pełnego cyklu katalitycznego enzymów PvdQ i EcPGA dzikiego typu oraz jego wstępnie zaprojektowanego wariantu, zawierającego trzy substytucje aminokwasów i prezentującego eksperymentalnie ulepszone właściwości katalityczne, przy użyciu zaawansowanych symulacji komputerowych. Stawiamy hipotezę, że takie badanie poszerzy naszą wiedzę na temat kluczowych uwarunkowań odpowiedzialnych za aktywność QQ badanych enzymów i znacząco przyczyni się do przewyciężenia pozostałych ograniczeń i usprawni racjonalne projektowanie nowych obiecujących wariantów.