

Najbardziej intensywna ko-ewolucja i wyścig zbrojeń na naszej planecie toczą się pomiędzy bakteriami i ich wirusami, zwanymi bakteriofagami. (Bakterio)fagi rozpoznają i zabijają bakteryjnego gospodarza z bardzo wysoką specyficnością. Każda infekcja faga jest inicjowana przez rozpoznanie określonej struktury na powierzchni bakterii (zwanej receptorem) przez białko wiążące receptor (RBP) będące elementem cząsteczki fagowej. Niektóre fagi rozpoznają i infekują tylko jeden rodzaj gospodarza bakteryjnego, podczas gdy inne mogą atakować różnych gospodarzy bakteryjnych przy użyciu różnych RBP. Ciekawym przykładem są fagi jumbo infekujące gatunki *Klebsiella*, które mają bardzo duży genom i są wyposażone w liczne RBP złożone w strukturę przypominającą kwiat. W konsekwencji fagi jumbo mogą infekować wiele szczepów należących do gatunku *Klebsiella*, co czyni je bardzo atrakcyjnymi z terapeutycznego punktu widzenia. Terapia fagowa jest koncepcją znaną od dawna, ale dopiero niedawno odzyskuje duże zainteresowanie. Fagi mogą być stosowane zamiast lub jako dodatek do antybiotyków w leczeniu infekcji bakteryjnych wywołanych przez wielolekooporne szczepy (MDR). Ponieważ śmiertelność z powodu infekcji spowodowanych przez szczepy MDR *Klebsiella pneumoniae*, bez tradycyjnej opcji terapeutycznej drastycznie wzrasta, Światowa Organizacja Zdrowia oznaczyła tę bakterię jako patogen o priorytecie 1 (krytycznym). Dlatego też znalezienie alternatywnych i skutecznych terapii ma ogromne znaczenie.

Komórka bakterii *Klebsiella* osłonięta jest otoczką składającą się z polisacharydów, według których wyróżniamy ponad osiemdziesiąt różnych typów otoczek. Nic dziwnego, że kapsułka zlokalizowana na powierzchni bakterii, jest głównym receptorem faga, który jest namierzany, rozpoznawany i trawiony przez RBP, umożliwiając adsorpcję i namnażanie wirusa *Klebsiella*. Kapsułka jest również najważniejszym czynnikiem wirulencji *Klebsiella*, wykorzystywanym do uniknięcia odpowiedzi układu odpornościowego człowieka.

Większość fagów jumbo została odkryta dopiero niedawno, a wiele cech ich funkcjonalności i biologii pozostaje nieznanych. Jednym z ważnych aspektów jest sposób, w jaki ich złożona, podobna do kwiatu struktura RBP jest zorganizowana, funkcjonuje i ewoluuje oraz w jaki sposób gospodarz bakteryjny unika infekcji faga jumbo.

W tym projekcie będziemy badać wyżej wymienione kwestie na dwóch modelowych fagach jumbo specyficznych dla *Klebsiella* (KAN i  $\phi$ Kp24). Stosując zaawansowaną mikrobiologię molekularną, biologię syntetyczną i metody strukturalne, przebadamy te złożone aspekty na poziomie białek, fagów oraz interakcji bakteria-fag. Eksperymenty będą wspólnie realizowane przez Uniwersytet Wrocławski (UWr – prof. Zuzanna Drulis-Kawa) i Uniwersytet w Gandawie (UGent – prof. Yves Briers) wraz z partnerem z Delft University of Technology (TU Delft – prof. Stan Brouns), który wnosi unikalną wiedzę na temat oporności bakteryjnej.

Odpowiemy na cztery szczegółowe pytania badawcze:

- (1) Jaka jest ogólna organizacja hiperrozgałęzionych systemów RBP u fagów jumbo i jak one funkcjonują?
- (2) Czy hiperrozgałęzione systemy RBP u fagów jumbo są statyczne czy dynamiczne?
- (3) W jaki sposób hiperrozgałęzione systemy RBP ewoluują u fagów jumbo?
- (4) W jaki sposób bakterie bronią się przed infekcją faga jumbo wyposażonego w hiperrozgałęziony system RBP?

Problemy badawcze, które należy rozwiązać, charakteryzują się złożonością i gromadzeniem wyników w kierunku pełnego zrozumienia najbardziej zaawansowanych systemów RBP. Projekt chcemy zrealizować w trzech pakietach roboczych:

- (1) Funkcjonowanie i ogólna organizacja hiperrozgałęzionych systemów RBP na poziomie białek
- (2) Dynamika hiperrozgałęzionych systemów RBP na poziomie faga
- (3) Jumbo fag - interakcje bakteria-gospodarz

Dzięki dotychczas zdobytemu przez nas doświadczeniu naukowemu na temat RBP fagów *Klebsiella*, będziemy wprowadzać najnowocześniejsze metody badawcze w celu poszerzenia wiedzy podstawowej na temat biologii fagów jumbo. Rozwikłanie organizacji, dynamiki i ewolucji przypominających kwiaty systemów RBP fagów jumbo stanie się podstawą do identyfikacji lub tworzenia nowoczesnych preparatów fagowych efektywnie działających w zwalczaniu infekcji wywołanych przez szczepy MDR *K. pneumoniae*. Chociaż projekt koncentruje się na typowych badaniach podstawowych, jego wyniki będą miały bardzo istotny wpływ gospodarczy i społeczny, zwłaszcza w sektorze zdrowia publicznego.