

Identyfikacja nowych antybiotyków poprzez indukcję nieaktywnych klastrów genów

Zgodnie z danymi opublikowanymi przez Światową Organizację Zdrowia, rosnąca oporność na antybiotyki jest jednym z 10 największych zagrożeń dla ludzkości (WHO, 2017). W 2019 roku odnotowano 5 milionów zgonów spowodowanych zakażeniami lekoopornymi szczepami bakterii (Murray i wsp., 2022). Ponadto, obecnie identyfikowanych jest coraz mniej nowych związków mających działanie przeciwbakteryjne. Jedną z wielu przyczyn tego zjawiska jest ograniczona skuteczność metod stosowanych do poszukiwania nowych inhibitorów. Przykładowo zastosowanie chemicznych bibliotek kombinatorycznych nie uwzględnia szybkiego nabywania oporności na dany inhibitor przez bakterie oraz problemu z przepuszczalnością bakteryjnej ściany komórkowej dla nowo zidentyfikowanych związków. W związku z faktem, że 50 lat temu antybiotyki były łatwo dostępnymi, tanimi i równocześnie efektywnymi środkami, poszukiwanie nowych leków nie było opłacalne dla przemysłu farmaceutycznego. Dodatkowo, sądzono, że większość naturalnie występujących antybiotyków została już zidentyfikowana, a nowe związki stanowią tylko modyfikacje znanych już inhibitorów (Katz & Baltz, 2016).

Producentem 2/3 naturalnych antybiotyków są bakterie glebowe należące do rzędu promieniowców. Opublikowanie sekwencji pierwszego genomu gatunku modelowego dla promieniowców (*Streptomyces coelicolor*) w 2002 roku zmieniło przekonanie o niemożliwości odkrycia nowych antybiotyków produkowanych przez tę grupę bakterii. Poza syntezą 4 charakterystycznych dla rodzaju metabolitów drugorzędowych (tj. aktynorodyna, prodigiozyna, CDA oraz szary pigment warunkujący zabarwienie spor), genom *S. coelicolor* zawiera 18 kolejnych klastrów genów związanych z syntezą związków bioaktywnych (Bentley i wsp., 2002). Fakt ten doprowadził do odrodzenia zainteresowania odkryciami naturalnych produktów o aktywności przeciwbakteryjnej. Jednakże ważne pytanie pozostało ciągle bez odpowiedzi: **jak zaindukować syntezę antybiotyków, które nie są produkowane w warunkach laboratoryjnych?** Dotychczas nie opisano skutecznej i uniwersalnej metody indukcji nieaktywnych klastrów genów biosyntezy antybiotyków, poza jednoczesną hodowlą promieniowców z innymi mikroorganizmami, optymalizacją warunków hodowli czy próbami uruchamiania danego klastra z zastosowaniem narzędzi inżynierii genetycznej. **Głównym założeniem proponowanego projektu jest zastosowanie mutagenезы transpozonowej do indukcji nieaktywnych klastrów genów syntezy antybiotyków.** Transpozony to małe, mobilne fragmenty DNA mające zdolność integracji w losowych miejscach na chromosomie (Cain i wsp., 2020). W celu aktywacji wybranego klastra genów skonstruowałem transpozon zawierający silny aktywator, który umożliwia efektywną ekspresję genów, w pobliżu których transpozon zostanie wbudowany. Celem zaproponowanych w projekcie badań jest rozwinięcie tej techniki, a tym samym stworzenie skutecznej metody identyfikacji nowych antybiotyków.

Bentley, S. D., Chater, K. F., Cerdano-Tarraga, A. M., Challis, G. L., Thomson, N. R., James, K. D., Harris, D. E., Quail, M. A., Kieser, H., Harper, D., Bateman, A., Brown, S., Chandra, G., Chen, C. W., Collins, M., Cronin, A., Fraser, A., Goble, A., Hidalgo, J., ... Hopwood, D. A. (2002). Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*, 417(6885), 141–147. <https://doi.org/10.1038/417141a>

Cain, A. K., Barquist, L., Goodman, A. L., Paulsen, I. T., Parkhill, J., & van Opijnen, T. (2020). A decade of advances in transposon-insertion sequencing. *Nat Rev Genet*. <https://doi.org/10.1038/s41576-020-0244-x>

Katz, L., & Baltz, R. H. (2016). Natural product discovery: past, present, and future. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 43(2–3), 155–176. <https://doi.org/10.1007/s10295-015-1723-5>

Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Kashef Hamadani, B. H., Kumaran, E. A. P., McManigal, B., ... Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)

WHO. (2017, November 17). *Antimicrobial resistance*.