

Choroby zakaźne są jedną z najważniejszych przyczyn zgonów na całym świecie. Do głównych sprawców zakażeń wewnątrzszpitalnych zalicza się między innymi enterokoki. W obrębie rodzaju *Enterococcus*, gatunek *E. faecium* jest obecnie najtrudniejszym terapeutycznie organizmem. Należy do tzw. patogenów ESKAPE, czyli mikroorganizmów, które potrafią „uciec” przed większością dostępnych kuracji przeciwbakteryjnych. Kliniczne izolaty tej bakterii są odporne na wiele antybiotyków, w tym na wankomycynę, która często jest lekiem ostatniej szansy. Co ciekawe okazuje się, że determinanty oporności na ten antybiotyk znajdują się prawie wyłącznie na plazmidach typu pRUM, które dodatkowo posiadają system toksyna-antytoksyna (TA) *axe-txe*. Plazmidy są jednym z kluczowych elementów odpowiedzialnych za rozprzestrzenianie się antybiotykooporności. Zlokalizowane na nich systemy TA odpowiadają za stabilne utrzymywanie się tych elementów genetycznych w populacji bakteryjnej oraz mogą wpływać na różne procesy fizjologiczne zachodzące w komórkach gospodarza, w tym te związane z wirulencją i patogenezą. Kasety toksyna-antytoksyna są małymi modułami kodującymi toksynę i jej specyficzne antidotum. Toksyna jest często określana mianem wewnątrzkomórkowej bomby molekularnej, gdyż jej uwolnienie z kompleksu z antytoksyną powoduje zahamowanie wzrostu komórek lub nawet ich śmierć. Stąd też precyzyjna i ścisła regulacja ekspresji obu genów jest niezbędna dla bezpieczeństwa komórek.

Geny typowego operonu toksyna-antytoksyna typu II, do którego należy system *axe-txe*, są prosto kontrolowane poprzez negatywną autoregulację. Jednakże w naszych poprzednich badaniach zidentyfikowaliśmy kilka różnych elementów genetycznych w obrębie tego operonu, takich jak dodatkowe promotory, antysensowny transkrypt, szpilka termiancyjna czy też mini-gen, z których każdy jest ważny dla prawidłowego funkcjonowania całej kasety. Taka różnorodność komponentów regulacyjnych zdecydowanie wyróżnia ten system od innych poznanych do tej pory modułów TA. Eksperymenty zaplanowane w pierwszej części niniejszego projektu mają na celu poznanie dokładnego mechanizmu regulacji ekspresji genów *axe-txe* i wzajemnego współdziałania wszystkich istniejących elementów tego skomplikowanego układu, który precyzyjnie dostraja stosunek antytoksyny Axe do toksyny Txe w jej naturalnym gospodarzu, którym są komórki *E. faecium*. Ponadto, dotychczas nie zbadano roli kasety *axe-txe* w funkcjonowaniu komórek enterokoków. W związku z tym zaplanowane w drugiej części tego projektu eksperymenty mają na celu sprawdzenie czy obecność tego modułu na plazmidzie ma jakikolwiek wpływ na kondycję, fizjologię lub cechy związane z wirulencją i patogenezą enterokoków.

Spodziewamy się, że informacje uzyskane w wyniku realizacji niniejszego projektu istotnie poszerzą dotychczasową wiedzę na temat różnorodnych strategii i mechanizmów wykorzystywanych przez bakterie w celu precyzyjnej regulacji ekspresji genów, w tym genów systemów toksyna-antytoksyna. Ze względu na powszechność występowania modułów TA w klinicznie ważnych szczepach bakterii uważa się, że sztuczna aktywacja toksyny może w przyszłości stanowić innowacyjną strategię w walce z drobnoustrojami. Ponadto, systemy toksyna-antytoksyna mają ogromny potencjał jako narzędzia do wielu innych praktycznych zastosowań w medycynie, a także w biotechnologii. Zatem poznanie wpływu tych modułów na funkcjonowanie komórek bakteryjnych oraz mechanizmów ścisłej regulacji ekspresji obu genów są kluczowe, aby przyszłe narzędzia o charakterze aplikacyjnym były wydajne i bezpieczne.