

Barbara Maciejewska

„Przygotowanie rekombinowanych endolizyn fagów *Klebsiella*-specyficznych i określenie ich aktywności bakteriobójczej oraz wpływu na komórki ludzkie”

STRESZCZENIE

Antybiotykooporność bakterii jest poważnym i stale rosnącym problemem współczesnej medycyny i stał się wybitnym zagrożeniem zdrowia publicznego w 21 wieku. Alternatywę dla konwencjonalnych metod leczenia infekcji wywołanych przez lekooporne bakterie stanowią obecnie bakteriofagi. Jednakże terapia fagowa obarczona jest pewnymi niedogodnościami jak skłonność fagów do mutacji, transdukcji DNA oraz oddziaływania z ludzkim systemem immunologicznym. Z tego powodu, lepszym i bezpieczniejszym rozwiązaniem wydaje się być stosowanie pojedynczych białek fagowych o właściwościach przeciwbakteryjnych. Endolizyny – bakteriofagowe enzymy o właściwościach muralitycznych odpowiadają za lizę bakteryjnego gospodarza pod koniec cyklu replikacyjnego i uwolnienie fagów potomnych do środowiska. Dotychczas dowiedziono, że endolizyny kodowane przez fagi specyficzne wobec bakterii Gram-dodatnich podawane osobno, jako białka rekombinowane wykazały efekty lecznicze w testach *in vivo* na zwierzętach. Lizyny mogą, więc być potencjalnie wykorzystane w leczeniu infekcji u ludzi. Wykorzystanie endolizyn nie jest ograniczone jedynie do terapii. Mogą być one również szeroko stosowane w biotechnologii i przemyśle na przykład przy produkcji żywności lub jako jej konserwanty. Niestety pula poznanych i scharakteryzowanych endolizyn fagów specyficznych wobec bakterii Gram-ujemnych jest ograniczona. Jeszcze słabiej scharakteryzowane są holiny fagowe, pomimo, że dowiedziono już ich właściwości antibakteryjnych. Niniejsza praca skupia się na endolizynach oraz holinach fagów *Klebsiella*-specyficznych: K11, KP15, KP27, KP32, KP34 oraz KP36. W trakcie realizacji projektu dowiedziono właściwości antibakteryjnych zarówno holin jak i endolizyn. Przygotowano wysokooczyszczone, rekombinowane endolizyny fagów K11, KP27, KP32 oraz KP34. Potwierdzono ich potencjał bakteriobójczy względem szczepów Gram-ujemnych. Zdefiniowano również wpływ endolizyn na komórki ludzkie, potwierdzając wstępnie bezpieczeństwo stosowania endolizyn. Wyniki realizacji pracy wskazują, że przebadane endolizyny mogą w przyszłości zostać wykorzystane, jako antibakteryjne środki do zwalczania lekoopornych mikroorganizmów.

Barbara Maciejewska

Barbara Maciejewska

Preparation of recombinant endolysins encoded by *Klebsiella*-specific phages and determination of their antibacterial activity and effect on human cells.

SUMMARY

Antibiotic resistance is a serious and growing problem in contemporary medicine and has emerged as one of the pre-eminent public health concerns of the 21st century. Bacteriophage treatment offers a possible alternative to conventional antibiotic treatments for bacterial infection. However, phage therapy is vitiated by some disadvantages like phages tendency to mutate, their ability to DNA transduction and to interact with the human immune system. For these reasons, a better and safer solution seems to be to use single phages enzymes with antibacterial properties. Endolysins - bacteriophage muralytic enzymes efficiently lyse the bacterial host cell wall in the late stages of the phage's lytic replication cycle to release the viral progeny to the extracellular environment. It has been already proven that some endolysins encoded by Gram-positive bacteria specific phages, applied externally (as purified recombinant proteins) in *in vivo* tests, gave positive results in a rapid lysis of bacteria and can potentially be applied against bacterial infection. Application of endolysins isn't limited to the therapy only. They can be also widely used in biotechnology and industry for example as food preservatives or useful in food production. However, the pool of fully characterized globular endolysins from Gram-negative infecting phages remains rather limited. Even less studied are phage holins despite the fact they also demonstrated the antibacterial activity and useful potential. This dissertation is focusing on endolysins and holins encoded by *Klebsiella*-specific phages: K11, KP15, KP27, KP32, KP34 and KP36. During the project implementation, antibacterial properties of these holins and endolysins have been confirmed. High purified, recombinant endolysins derived from K11, KP27, KP32 and KP34 were prepared. Their antibacterial activity, as applied externally proteins on Gram-negative bacterial strains was confirmed. Also the impact on human cells caused by the endolysin, as pre-confirmation of safety, was defined. The results of the project suggest that tested endolysins in the future can become an alternative to combat with antibiotic resistant bacteria.

Barbara Maciejewska