

Wykorzystanie różnych systemów ekspresyjnych do produkcji rekombinowanych białek o charakterze przeciwbakteryjnym

Streszczenie

Liczne przesłanki, poparte obserwacjami naukowców, dowodzą, że oporność bakterii na antybiotyki, w najbliższych dekadach stanie się jedną z przyczyn pogłębienia się światowego kryzysu zdrowotnego. W erze post-antybiotykowej, proste infekcje bakteryjne coraz częściej bywają przyczyną śmierci pacjentów. Między innymi z uwagi na ten fakt, stworzenie alternatywnych rozwiązań wobec terapii antybiotykowych, staje się potrzebą chwili. Niezwykle ważnym zadaniem jest więc kwestia poszukiwania nowych substancji działających przeciwko istniejącym szczepom opornym na leki obecnie stosowane w terapii zakażeń. Jednymi z najszerszej opisywanych w literaturze alternatywnych wobec antybiotyków, przeciwbakteryjnych substancji są peptydy tworzące grupę bakteriocyn. Są to związki białkowe naturalnego pochodzenia, służące bakteriom do obrony przed innymi blisko spokrewnionymi szczepami. Ze względu na swoje liczne zalety, do których można zaliczyć: stosunkowo wąskie spektrum działania, wysoką aktywność oraz łatwą degradację w środowisku, są one coraz częściej traktowane jako nowoczesne substancje przeciwbakteryjne. Problem antybiotykooporności jest szczególnie istotny w odniesieniu do grupy patogennych bakterii pochodzenia odzwierzęcego jak na przykład *Salmonella* i *Escherichia coli*. Szczepy te, narażone na stałą presję selekcyjną w postaci antybiotyków używanych na wielką skalę w hodowli zwierząt gospodarskich, wykształcają coraz szersze spektrum nieznanych wcześniej oporności. Z uwagi na to, szczególnym zainteresowaniem w pracy objęta została kolicyna M pochodząca z *Escherichia coli* oraz jej homolog pochodzący z *Salmonella enterica*. Stworzenie efektywnych alternatyw dla antybiotyków, obok oczywistej skuteczności nowych substancji, wymaga również opracowania metod zapewniających wysoką efektywność ich produkcji. Kierując się powyższymi czynnikami, w niniejszym opracowaniu, podjęto się otrzymywania rekombinowanych bakteriocyn w dwóch typach komórek, stosowanych do jako rodzaj platform ekspresyjnych dla białek. Pierwszy model otrzymywania bakteriocyn, tworzyły rekombinowane komórki bakteryjne, a obok nich do wyprodukowania rekombinowanych białek wykorzystano komórki roślinne gatunku *Nicotiana tabacum*. Te drugie, w świetle licznych zalet i wcześniejszych pozytywnych doświadczeń, uznawane są za wartościowy obiekt do produkcji i pozyskiwania białek rekombinowanych. Bakteriocyny uzyskane w wymienionych organizmach, zostały następnie oczyszczone i poddane badaniom ich aktywności, ze zwróceniem szczególnej uwagi na szczepy kliniczne, wykazujące oporność na antybiotyki.

The use of different expression systems for the production of recombinant antibacterial proteins

Summary

As scientists predict, bacterial resistance to antibiotics will become a growing global problem in the coming decades. Urgent action is needed to ensure the safety of mankind in a post-antibiotic era where simple infections can cause death. For this reason, an essential task is to search for substances that act against the strains resistant to antibiotics currently used in the treatment of infections. Presently, peptides from the group of bacteriocins are among the most widely described alternative to antibiotics. They are protein substances of natural origin that serve to defend bacteria against other closely related strains. Due to their numerous advantages, such as a narrow spectrum of action, high activity, and easy degradation in the environment, they are more and more often used as modern antibacterial substances.

The problem of antibiotic resistance is especially pronounced in relation to pathogenic bacteria of zoonotic origin, *Salmonella* and *Escherichia coli*, having contact with the constant selection pressure in the form of antibiotics, used on a large scale, especially in livestock breeding, acquire resistance. Due to this, colicin M derived from *Escherichia coli* and its homolog derived from *Salmonella enterica* were of particular interest in the work. In order to create effective alternatives to antibiotics, not only their effectiveness, but also production efficiency is extremely important, for this purpose, the work investigated the production of recombinant bacteriocins in stably transformed plant platforms (*Nicotiana tabacum*), which are recognized as one of the best platforms for the production of recombinant proteins. Recombinant bacteriocins were tested for their activity, which is worth emphasizing in relation to antibiotic-resistant strains.