Uzasadnienie do wniosku o nagrodę Premiera Rady Ministrów dla dr hab. Magdaleny Płotki za wysoko ocenione osiągnięcie będące podstawą nadania stopnia dr hab.

Tytuł: "Analiza molekularna bakteriofagowych i bakteryjnych enzymów litycznych wykazujących podobieństwo do eukariotycznych białek rozpoznających peptydoglikan."
Podmiot habilitujący Uniwersytet Gdański
1. Uchwała Rady Dyscypliny Nauki biologiczne nr RDNb/74/N/2021 z dnia 25 czerwca 2021 - nadanie stopnia dr hab.
2. Uchwała Rady Dyscypliny Nauki biologiczne nr RDNb/75/N/2021 z dnia 25 czerwca 2021 - wyróżnienie osiągnięcia habilitacyjnego.
UZASADNIENIE

W obliczu kryzysu związanego z opornością mikroorganizmów na antybiotyki przedłożone osiągnięcie naukowe idealnie wpisuje się w nurt badań bioinnowacyjnych dotyczących funkcji enzymów litycznych, pochodzących z bakterii oraz z bakteriofagów (wirusów infekujących bakterie), pod kątem zwalczania patogenów bakteryjnych.
Oporność bakterii na środki przeciwdrobnoustrojowe jest naturalnym procesem obserwowanym od czasu odkrycia penicyliny przez Sir Alexandra Fleminga w 1928 r. Nadużywanie środków przeciwdrobnoustrojowych zwiększyło tempo rozwoju oporności. Wzrost liczby bakterii wielolekoopornych jest szczególnie niepokojący w przypadku bakterii Gram-ujemnych, w tym *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii*, które są czynnikami etiologicznymi szerokiego spektrum zakażeń szpitalnych.

Jednym z możliwych rozwiązań problemu oporności na antybiotyki jest użycie enzymów pochodzących z bakteriofagów, zwanych endolizynami, które degradują warstwę peptydoglikanu (PG) ściany komórkowej bakterii w celu uwolnienia potomstwa faga pod koniec cyklu litycznego. Odkąd w laboratorium Prof. Vincenta Fischetti, zaczęto stosować endolizyny jako środki przeciwbakteryjne, coraz częściej mówi się o możliwości zastąpienia nimi antybiotyków.

W ramach badań zostały odkryte dwa białka pochodzenia bakteriofagowego, endolizyna Ph2119 oraz endolizyna Ts2631 z bakteriofagów infekujących komórki *Thermus scotoductus*. Po raz pierwszy udało się wykazać działanie bakteriobójcze enzymu Ts2631 pochodzącego z organizmu termofilnego wobec mezofilnych bakterii Gram-ujemnych, w tym bakterii patogennych opornych na antybiotyki. W serii pomysłowych doświadczeń wykazano, że zastosowanie endolizyny Ts2631 w połączeniu ze związkami destabilizującymi błonę zewnętrzną podnosi jej właściwości antybakteryjne. Najwyższą skuteczność takiego działania zaobserwowano wobec klinicznych izolatów bakterii *Citrobacter braakii* oraz *Acinetobacter baumanii.* Testowane szczepy bakterii wyizolowano od pacjentów Szpitala Klinicznego w Gdańsku. Charakteryzowały się one wieloraką lekoopornością i stąd wywołane infekcje były bardzo trudne w leczeniu. Wyniki opisane w pracy stanowią istotny wkład w poszerzenie wiedzy na temat funkcji dotychczas mało znanych termostabilnych enzymów litycznych.

Co niezwykłe, odkryte białka wykazują wysoką termostabilność. Chociaż rozpuszczalność i oporność na działanie wysokiej temperatury mają również duże znaczenie w badaniach nad endolizynami, prawie nie istnieją projekty badające to zjawisko w kontekście

enzymów litycznych. Bezsprzecznie, białka termostabilne mają przewagę nad ich mezofilnymi odpowiednikami zarówno w procesach medycznych jak i biotechnologicznych, chociażby ze względu na odporność na denaturację w podwyższonej temperaturze i proteolizę. Problem stabilności i oporności preparatów medycznych na działanie wysokiej temperatury ma również szerszy kontekst w dobie problemu jakim jest epidemia SARS-CoV-2. Szczepionka mRNA firmy Pfizer wymaga temperatury -70 °C. W takich warunkach musi być transportowana i przechowywana, co znacznie ogranicza możliwość dystrybucji i transportu takiego preparatu. Dlatego niezwykle ważnym jest, aby preparaty stosowane w leczeniu infekcji bakteryjnych były łatwe w transporcie i przechowywaniu.

Kolejnym ważnym aspektem jest powiązanie pomiędzy strukturą, a funkcją badanych enzymów litycznych. Badania w ramach osiągnięcia naukowego zaowocowały otrzymaniem, charakterystyką i zdeponowaniem struktury krystalicznej endolizyny Ts2631 w bazie PDB (Protein Data Bank) pod numerem akcesyjnym 6FHG. Tym samym endolizyna Ts2631 jest pierwszą endolizyną faga termofilnego o poznanej strukturze przestrzennej. Oryginalnym wkładem pracy jest określenie aminokwasów kluczowych dla aktywności litycznej endolizyny Ts2631 jako przedstawiciela endolizyn bakteriofagów *Thermus*. Endolizyna Ts2631 jest pierwszą endolizyną z termofilnego bakteriofaga, którego funkcjonalność centrum katalitycznego (reszty H30, Y58, H131 i C139) została eksperymentalnie potwierdzona.
Obie badane termofilne endolizyny Ph2119 oraz Ts2631 wykazują podobieństwo na poziomie sekwencji aminokwasowych do eukariotycznych białek rozpoznających peptydoglikan oraz do szeregu potencjalnych enzymów litycznych pochodzących z bakterii z rodzaju *Clostridium*. W osiągnięciu naukowym po raz pierwszy eksperymentalnie potwierdzono działanie antybakteryjne enzymu litycznego LysC z bakterii *C. intestinale* URNW. Zbadano również mechanizm bakteriobójczego działania białka oraz szczególną rolę jego N-terminalnego regionu. W pracy składającej się na przedstawione osiągnięcie naukowe wykazano bakteriobójcze działanie nowego naturalnego peptydu antybakteryjnego Intestinaliny, stanowiącego 30 pierwszych aminokwasów N-terminalnego regionu enzymu LysC.

Podsumowując, prowadzone badania były niezmiernie istotne z punktu widzenia zrozumienia powiązania pomiędzy strukturą, a funkcją termostabilnych endolizyn bakteriofagowych oraz bakteryjnych białek litycznych, o potencjalnym zastosowaniu w zwalczaniu infekcji bakteryjnych.