

**„ Molekularny mechanizm stabilności termicznej endolizyny Ts2631 bakteriofaga  
vB\_Tsc2631 infekującego *Thermus scotoductus*”  
mgr Karolina Ciemińska**

Walka ludzi z patogenami trwa od wielu wieków. Odkrycie antybiotyków i bakteriofagów przyczyniło się do poprawy jakości życia, jednak każdy organizm, w tym bakterie, wykształca mechanizmy przetrwania. Ludzkość coraz bardziej doświadcza kryzysu związanego z lekoopornością bakterii. Dlatego wyznaczenie nowych strategii w ich zwalczaniu jest tak potrzebne. Jedną z pożądanych cech odpowiedniego leku jest jego stabilność. Dlatego enzymów bakteriolytycznych warto szukać w organizmach termostabilnych, które cechują się wysoką opornością na denaturację chemiczną, czy proteolizę. W bieżącej pracy zbadalam mechanizm stabilności termicznej endolizyny Ts2631. Temperatura topnienia ( $T_m$ ) tego białka wyznaczona w buforze 20 mM MES pH 6,0 wynosiła 99,82°C, jednak w buforze składającym się z 20 mM HEPES, pH 7,4, 25 mM NaCl i 10% glicerolu została określona na 104,73°C. W wyniku przeprowadzonych analiz dowiodłam, że reszty W102, W109, W145 i P140 są istotne dla stabilności termicznej endolizyny Ts2631. Poza tym zaburzenie koordynacji  $Zn^{2+}$  skutkowało znacznym obniżeniem temperatury topnienia ( $T_m$ ). W trakcie badań wykazałam także, że inne białka pochodzące z termofili podobne do Ts2631 posiadają tryptofany oraz prolinę w tej samej pozycji, co sugeruje że mechanizm stabilności termicznej może być podobny u tych białek. Postawiłam sobie za cel sprawdzenie, czy można podnieść stabilność termiczną białek mezofilnych o strukturalnej homologii do endolizyny Ts2631 bez wpływu na ich aktywność lityczną, poprzez zamianę aminokwasów w białku mezofilnym na te, które odpowiadają za stabilność termiczną endolizyny Ts2631. Przebadałam endolizynę K11gp3.5 pochodzącą z bakteriofaga K11, który infekuje *Klebsiella pneumoniae* oraz domenę amidazową białka LytO, która pochodzi z *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* NCTC 8325. W przypadku wariantu N91W\_Q137W endolizyny K11gp3.5,  $T_m$  uległa zmniejszeniu o około 6°C.

W przypadku wariantu substytucyjnego Q115W\_F179W domeny amidazowej białka LytO  $T_m$  udało się podnieść o 9,7°C w porównaniu do białka typu dzikiego. Uzyskane wyniki pokazują, że samo podstawienie reszt aminokwasowych nie wystarczy, aby poprawić stabilność termiczną białka, a potrzebna jest jeszcze analiza otoczenia reszt, które chce się zamienić. Nie ma zatem uniwersalnej procedury badawczej, a każdy przypadek wymaga indywidualnej analizy.