

ZAHAMOWANIE PROCESÓW DEGRADACJI RNA JAKO NOWY CEL MOLEKULARNY W ZWALCZANIU LEKOOPORNYCH PAŁECZEK *HELICOBACTER PYLORI*

*Jakub Skibiński^{1,2}, Przemysław Płociński², Yaroslav Lavrynychuk¹, Magdalena Chmiela²

1) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Szkoła Doktorska BioMedChem UŁ i Instytutów PAN w Łodzi (ul. Stefana Banacha 12/16; 90-237, Łódź)

2) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej (ul. Stefana Banacha 12/16; 90-237, Łódź)

email autora do korespondencji*: jakub.skibinski@edu.uni.lodz.pl; przemyslaw.plocinski@biol.uni.lodz.pl

Wstęp: Nawet połowa populacji ludzi na świecie może być zakażona Gram-ujemną pałeczką *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). U około 20% osób, zakażenie prowadzi do zapalenia błony śluzowej żołądka, choroby wrzodowej żołądka czy owrzodzeń dwunastnicy. W konsekwencji przetrwałego zakażenia może dochodzić do rozwoju raka żołądka, który jest przyczyną około 1 mln zgonów rocznie. W obliczu narastającej oporności bakterii na antybiotyki, w tym izolatów klinicznych *H. pylori* (ok. 40% izolatów w Europie opornych na metronidazol), poszukuje się nowych celów molekularnych, których zaburzenie będzie prowadzić do eradykacji *H. pylori*. Synteza, jak również degradacja RNA, są kluczowymi dla przeżycia bakterii procesami, których zahamowanie moduluje profil oporności na antybiotyki i wpływa na zdolność do przeżywania drobnoustrojów w warunkach stresowych. Na podstawie danych literaturowych opisujących białka zaangażowane w metabolizm RNA u blisko spokrewnionych patogenów, zidentyfikowano fosforylazę polinukleotydową (polynucleotide phosphorylase, PNP), jako innowacyjny cel molekularny do poszukiwania przyszłych chemioterapeutyków przeciwko *H. pylori*.

Cel pracy: Wyprodukowanie i oczyszczenie białka rekombinowanego PNP i przeprowadzenie testów enzymatycznych w celu wytypowania kandydatów związków chemicznych jako potencjalnych inhibitorów białka PNP *H. pylori*.

Materiały i metody: Białko PNP wyprodukowano w systemie ekspresyjnym *Escherichia coli* BL21 i oczyszczano metodami chromatografii: 1) metalopowinowactwa, 2) jonowymiennej oraz 3) separacji żelowej. W celu wytypowania związków chemicznych hamujących aktywność białka PNP wykorzystano komercyjnie dostępną bibliotekę ponad 8 tys. związków bioaktywnych z firmy MedChemExpress. Biblioteka składa się ze wstępnie scharakteryzowanych substancji chemicznych, spośród których znajdują się np. antybiotyki, chemioterapeutyki czy substancje pochodzenia naturalnego. Ponadto, opracowano test fluorymetryczny z wykorzystaniem Tioflawiny T w celu oceny stopnia zahamowania aktywności białka PNP, mierząc aktywność poliadenylacyjną PNP. Wyniki poddano analizie matematycznej i wstępnie wytypowano związki o charakterze hamującym aktywność białka PNP.

Wyniki: Wybrano 360 związków chemicznych, które w stężeniu 100 mM hamowały aktywność białka PNP *H. pylori* *in vitro* na poziomie >90%. Wśród potencjalnych inhibitorów znajdowały się następujące związki chemiczne: 1) wpływające na syntezę RNA/DNA tj. związki o aktywności przeciwwirusowej (np. Atazanawir); 2) antybiotyki i chemioterapeutyki (np. Cefepim, Trimetoprim); 3) związki przeciwprątkowe (pochodne Rifampicyny); 4) związki wpływające na szlaki metaboliczne komórki związane z apoptozą (np. Mangiferin, Licofelone) lub 5) związki o aktywności przeciwgrzybiczej (np. Fluazinan).

Wnioski: Wstępnie zidentyfikowano substancje zdolne do hamowania aktywności białka PNP *H. pylori* *in vitro*. Dalsze badania posłużą zawężeniu puli inhibitorów do grupy związków o najlepszym potencjale aplikacyjnym oraz otrzymaniu pochodnych tych związków o najlepszych właściwościach hamujących. Zostaną wyznaczone wartości MIC i MBC względem szczepów referencyjnych *H. pylori* oraz wobec izolatów klinicznych. Badania będą poparte wykluczeniem toksyczności związków wobec ludzkiego białka PNP i wzorcowych linii komórek eukariotycznych.

Prezentowane badania przeprowadzono w ramach projektu: pt. „Badania strukturalne udziału degradosomu RNA w trans-translacji w świetle przeciwbakteryjnej aktywności pirazynamidu-perspektywy wynalezienia leków przeciw(myko)bakteryjnych” SONATA BIS 9 2019/34/E/NZ1/00338. Kierownik Przemysław Płociński