

Oporność bakterii na antybiotyki stanowi coraz bardziej rozpowszechniający się problem współczesnego świata. Pojawiają się kolejne szczepy wielolekooporne, które skutecznie hamują działania dotychczasowych substancji leczniczych. Zapadalność na infekcje i liczba zgonów nimi spowodowana wciąż rośnie. W związku z tym, zachodzi ogromna potrzeba wprowadzenia nowych, skutecznych terapii przeciwbakteryjnych.

Celem projektu doktorskiego było zbadanie nowych potencjalnych strategii przeciwbakteryjnych wykorzystujących kwasy nukleinowe i peptydomimetyki. W rozprawie przedstawiono trzy podejścia, które mogą doprowadzić do zahamowania wzrostu bakterii lub dotyczą transportu cząsteczek do wnętrza komórek mikroorganizmów.

Strategia pierwsza wykorzystuje rybozomy - aktywne katalitycznie enzymy RNA. W reakcji transestryfikacji rybozomy hydrolizują wiązania fosfodiesterowe w specyficznych miejscach w sekwencji innych cząsteczek RNA. Zaprojektowano rybozym *hammerhead* oddziałujący z informacyjnym RNA (mRNA) kodującym sekwencję białka przenoszącego grupy acylowe (ACP). ACP będące kofaktorem w biosyntezie kwasów tłuszczowych jest niezbędne bakterii do życia. Hydroliza mRNA kodującego sekwencję białka ACP we właściwym miejscu powinna doprowadzać do zahamowania wzrostu bakterii. Zaprojektowano rybozomy o różnej długości ramion i *in vitro* sprawdzono stabilność ich kompleksów oraz hydrolizę fragmentu mRNA jako substratu. Następnie sekwencje rybozymów zostały umieszczone na plazmidzie i wprowadzone do komórek *E. coli*, w których zaobserwowano działanie katalityczne prowadzące do inhibicji wzrostu. Ponadto, wykazano synergję jednego z rybozymów z antybiotykiem - tetracykliną. Zaprojektowanie i sprawdzenie rybozymu jako enzymu potencjalnie hydrolizującego mRNA w komórkach otwiera drogę do badania katalitycznych RNA jako związków przeciwbakteryjnych lub jako związków pomocniczych.

W strategii drugiej wykorzystywano aktywne błonowo peptydy. Udowodniono, że stabilizacja ich struktury drugorzędowej poprawia ich oddziaływanie z błoną bakterii i zwiększa ich potencjał przeciwbakteryjny. Peptydy, m. in. anoplina, o słabych własnościach przeciwbakteryjnych zostały zmodyfikowane za pomocą specjalnych łańcuchów węglowodorowych. Umożliwiło to stabilizację ich helikalnej struktury aktywnej błonowo, dzięki czemu mogły efektywniej oddziaływać z błonami komórkowymi niż peptydy niezmodyfikowane. Skuteczność poszczególnych peptydomimetyków różniła się w zależności od szczepu bakterii. Szczepy Gram-ujemne wykazały większą wrażliwość na działanie peptydomimetyków bardziej hydrofilowych, zaś Gram-dodatnie - pochodnych hydrofobowych. Wyniki pokazały, że chemiczna stabilizacja aktywnej błonowo struktury drugorzędowej naturalnych peptydów wielokrotnie zwiększa ich aktywność przeciwbakteryjną, często nie powodując jednocześnie hemolityczności.

Trzecia strategia polegała na wykorzystaniu witaminy B₁₂ (cyjanokobalaminy) jako nośnika peptydowego kwasu nukleinowego (PNA) do bakterii *E. coli* i określenia ścieżki tego transportu. PNA to syntetyczny analog DNA, który może działać jako antysensowny oligonukleotyd. Sekwencje PNA mogą zostać zaprojektowane tak, aby wiązały się komplementarnie i blokowały mRNA kluczowe dla życia bakterii. Potrzebują jednak transporterów, gdyż wolne PNA nie jest pobierane przez komórki. Określono szlak transportu koniugatów witaminy B₁₂-PNA do bakterii *E. coli*. Okazuje się, że PNA związane z witaminą B₁₂ jest transportowane poprzez te same receptory w błonie zewnętrznej i wewnętrznej co wolna witamina B₁₂. Otwiera to drogę do użycia tego szlaku transportu przez inne cząsteczki PNA kowalencyjnie podłączone do witaminy B₁₂.