

10. Streszczenia

Streszczenie w języku polskim

Narastająca lekooporność *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) na stosowane obecnie antybiotyki ogranicza skuteczność eradykacji, co wiąże się z koniecznością poszukiwania nowych celów molekularnych dla potencjalnych leków. W pracy scharakteryzowano wybrane komponenty degradosomu RNA *H. pylori*, biorąc pod uwagę ich strukturę i funkcję, a także wzajemne oddziaływania: fosforylaze polinukleotydową PNP (PNPaze), helikaze RhpA oraz białko PapS, ze szczególnym uwzględnieniem roli PNP jako potencjalnego celu terapeutycznego. Określono funkcję PapS w metabolizmie RNA i zbadano występowanie interakcji PapS-RhpA. Oczyszczono rekombinowane białka PNP, RhpA i PapS. Zoptymalizowano testy aktywności PNP (reakcje polimeryzacji i degradacji RNA). Wykazano, że PNPaza występuje w formie trimery i zachowuje aktywność enzymatyczną w warunkach umożliwiających dalsze badania przesiewowe. PapS nie wykazywało aktywności poliadenylacyjnej wobec jednoniciowego RNA, natomiast katalizowało sekwencyjną dobudowę końca 3' CCA do tRNA, co wskazuje na funkcję enzymu dobudowującego CCA. Stwierdzono przejściowe, umiarkowane oddziaływanie PapS-RhpA. Analiza transkryptomiczna ujawniła ograniczone zmiany ekspresji w szczepach delecyjnych *H. pylori* G27 Δpnp i $\Delta papS$ oraz rozległą przebudowę profilu transkryptomicznego w $\Delta rhpA$. Delecja *pnp* nie wiązała się z obumieraniem komórek, lecz powodowała istotne ograniczenie zdolności adaptacyjnych: obniżenie tolerancji na stres temperaturowy (wolniejszy wzrost w 39°C i słabsze przeżycie w 4°C), wzrost wrażliwości na UV-C i stres oksydacyjny, zahamowanie ruchliwości i aktywności ureazy oraz katalazy. Jakkolwiek delecja *pnp* wiązała się z nasileniem tworzenia obszaru biofilmu, czego wyjaśnienie wymaga dalszych badań. Zastosowano czteroetapową strategię przesiewową użytych w badaniach inhibitorów PNP łączącą testy *in vitro*, selekcję jakościową i ocenę działania wobec komórek bakteryjnych. Z biblioteki 8562 związków wyłoniono 23 kandydatów do dalszej weryfikacji, a najbardziej obiecujący profil działania zależny od obecności PNP wykazał niklozamid. Uzyskane wyniki wskazują, że PNPaza *H. pylori*, mimo że nie jest niezbędna do przeżycia bakterii stanowi kluczowy węzeł regulacji metabolizmu RNA determinujący odpowiedź stresową i fenotypy adaptacyjne bakterii oraz racjonalny cel dla poszukiwania inhibitorów PNP w celach terapeutycznych.

Słowa kluczowe: *Helicobacter pylori*, degradosom RNA, PNPaza, RhpA, PapS

