

# System wydzielania typu III w bakteriach

Mechanizm i strategie blokowania

# Strategie antypatogenne

## Rozwiązania

- Terapeutyki - antybiotyki  
Bakterie
- Szczepionki  
Bakterie i wirusy

## Problemy

- Oporność na antybiotyki
- Selektywność/efekty uboczne
- Możliwość opracowania oporności poprzez inżynierię genetyczną
- Izolowane białka- czas na opracowanie, ograniczony repertuar antygenowy
- Żywe- szybko opracowane, efekty uboczne

# Strategie terapeutyczne

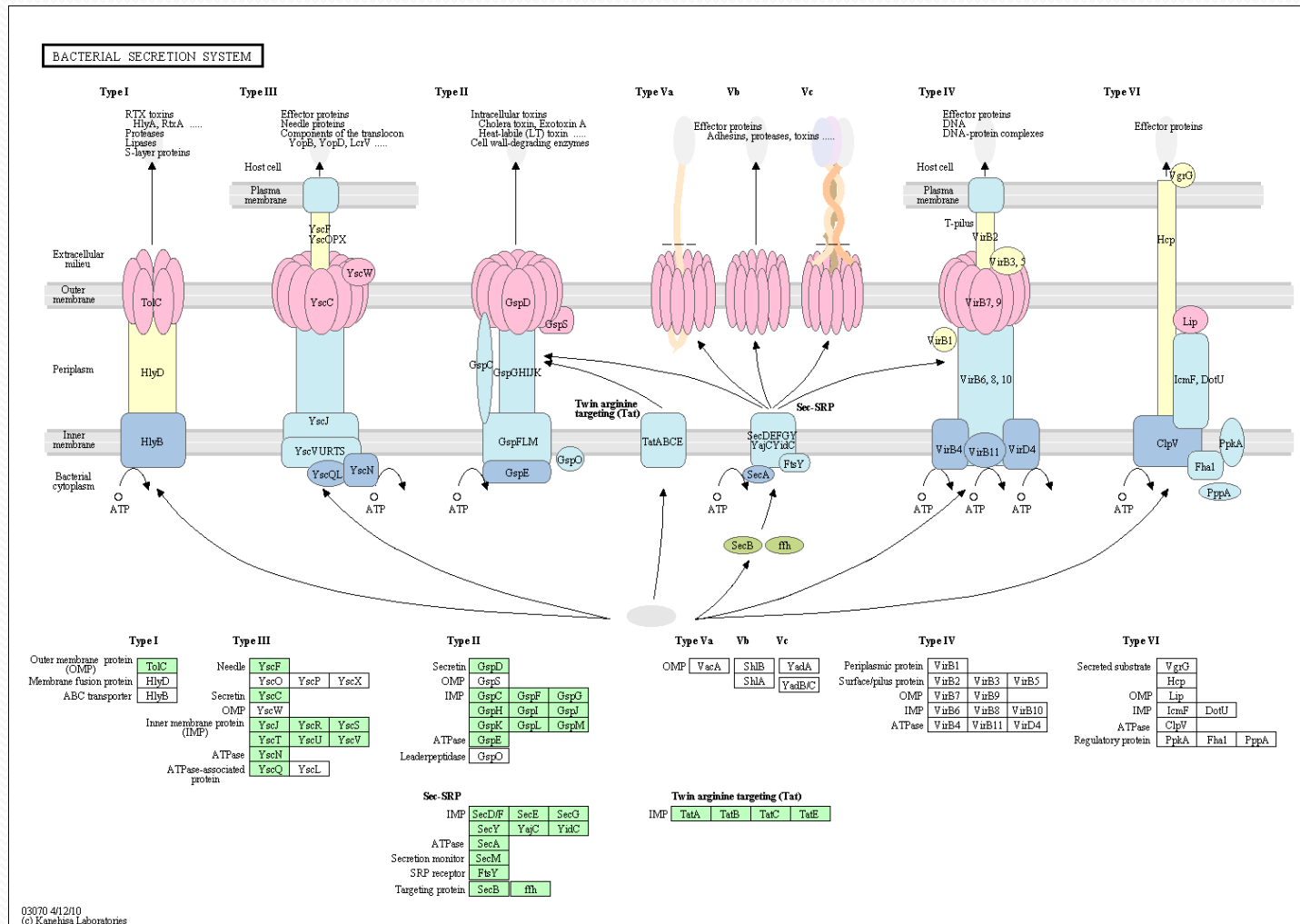
## Rozwiązania

- System metaboliczny  
Bakterie - głównie
- Systemy wydzielania  
Bakterie

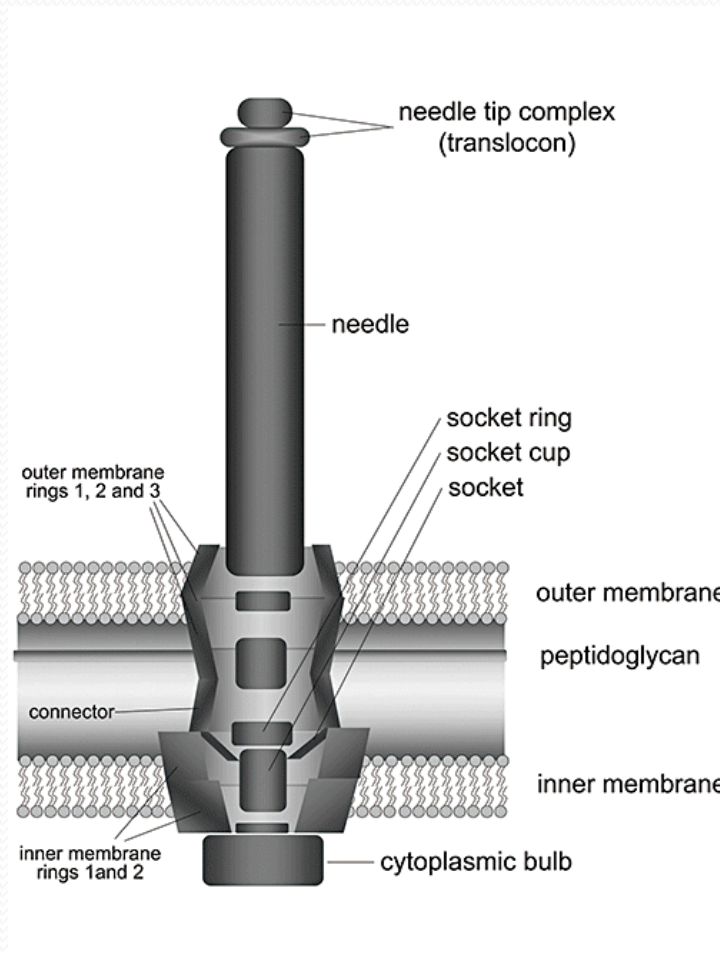
## Za/**Przeciw**

- Zachowane – uniwersalne białka docelowe, długi czas na pojawienie oporności
- **Wymaga trochę więcej czasu aby zagłodzić bakterie**
- Niezależne od antybiotyków/szczepionek– można użyć przeciwko szczepom GMO
- **Organizm gospodarza zabija patogen**
- **Nie można odwrócić toksycznych efektów wydzielanych białek**

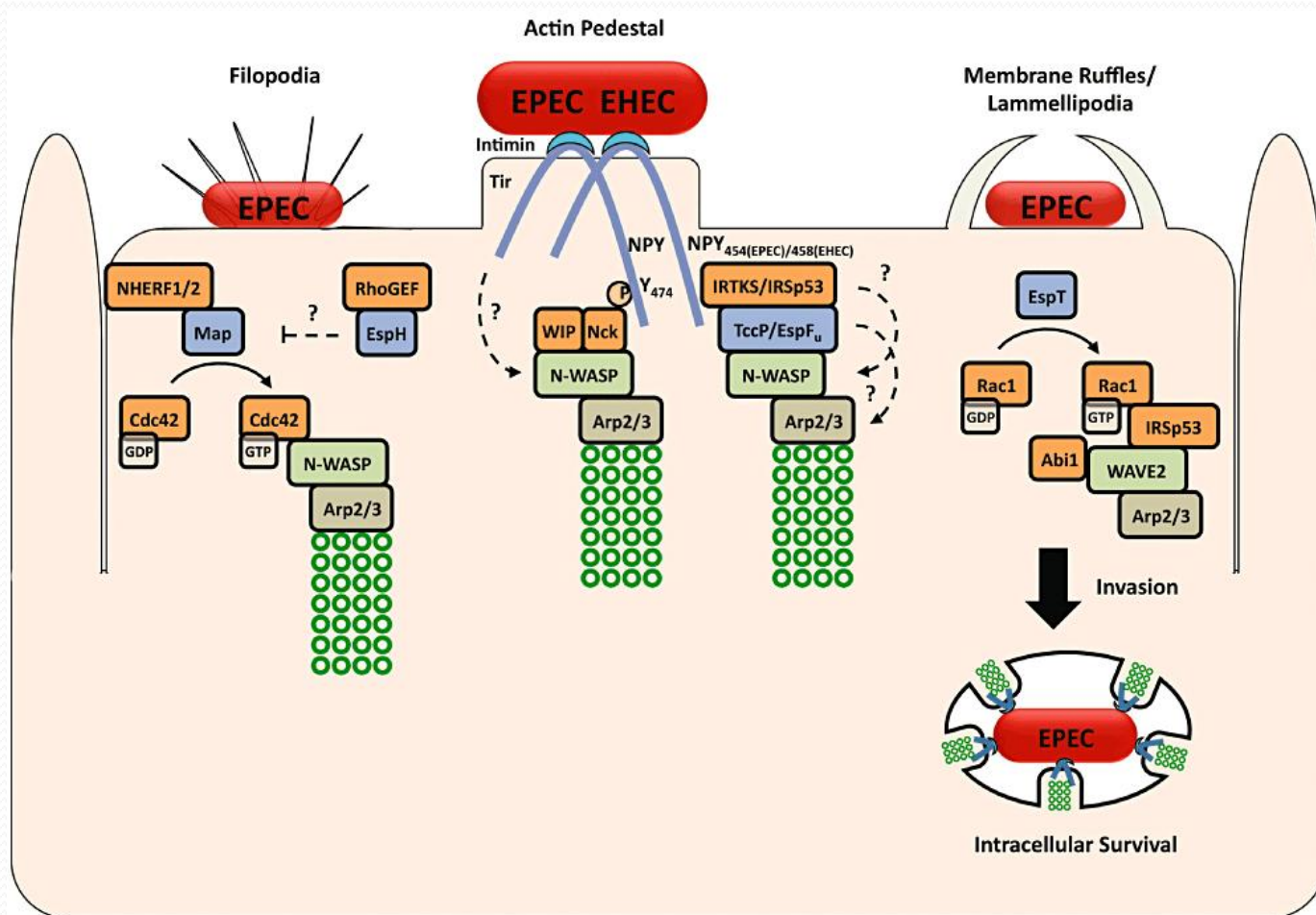
# Systemy wydzielania *EPEC/EHEC*



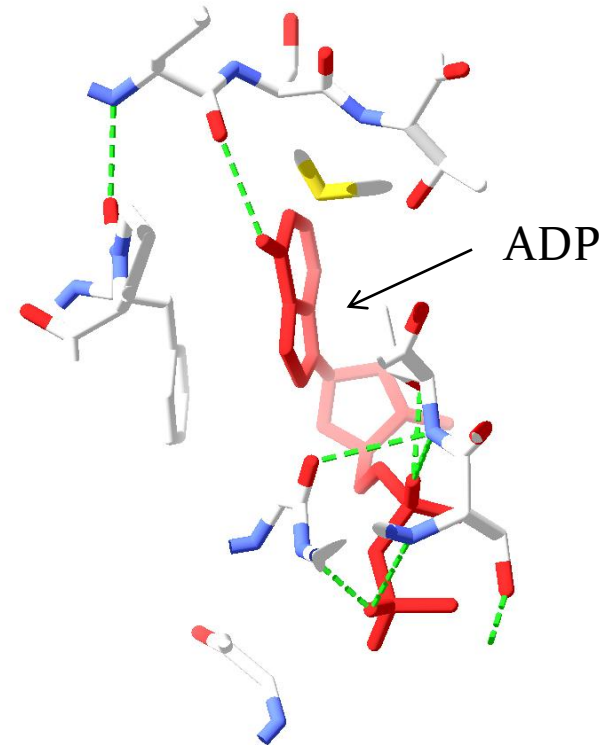
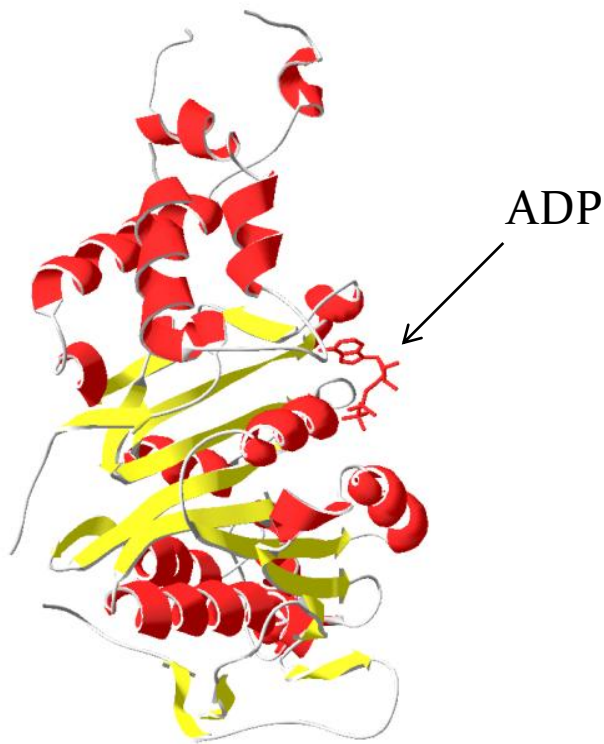
# Type III secretion of EPEC



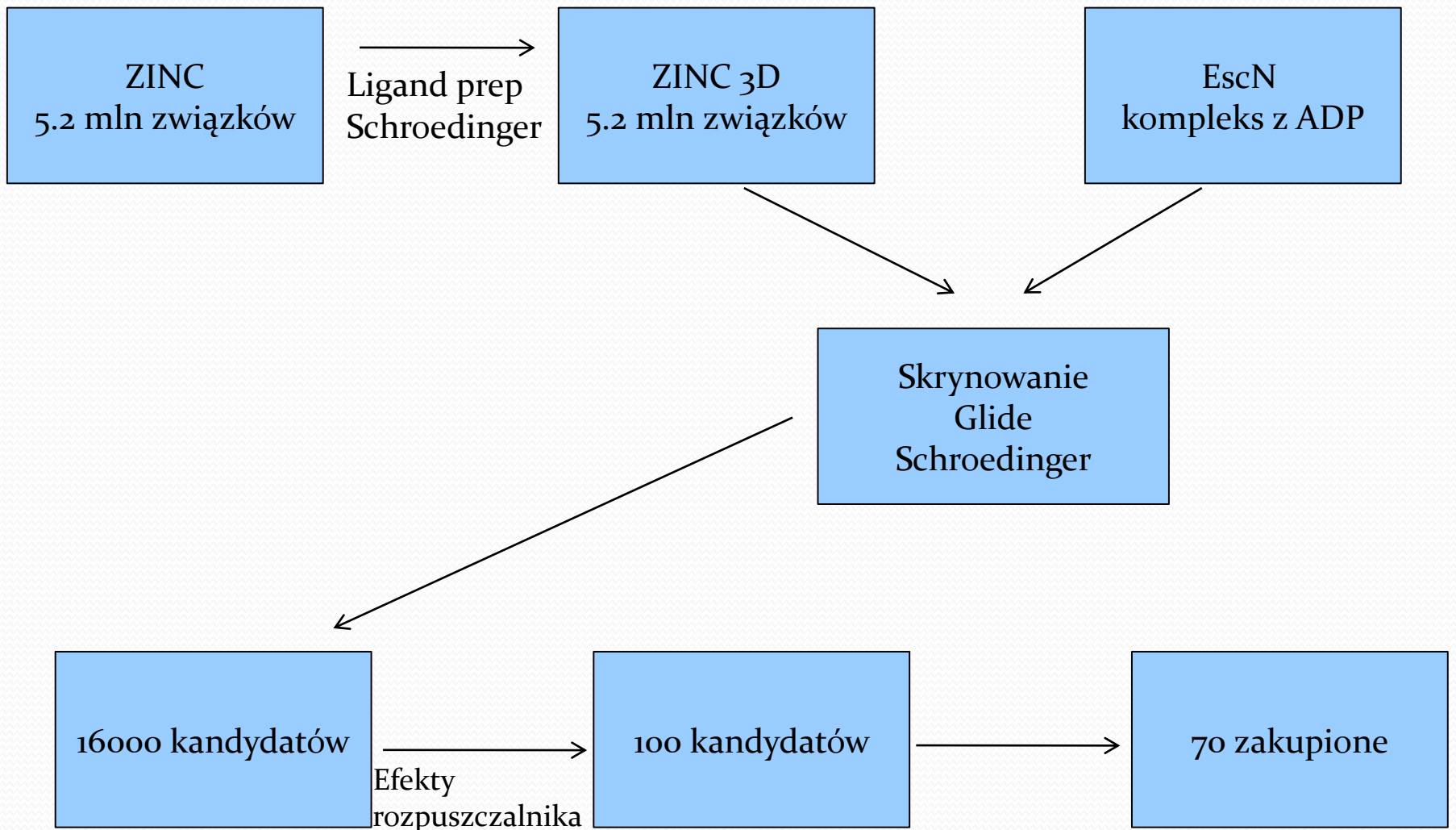
# Białka efektorowe z EPEC/EHEC



# Fragment katalityczny ATPazy EscN

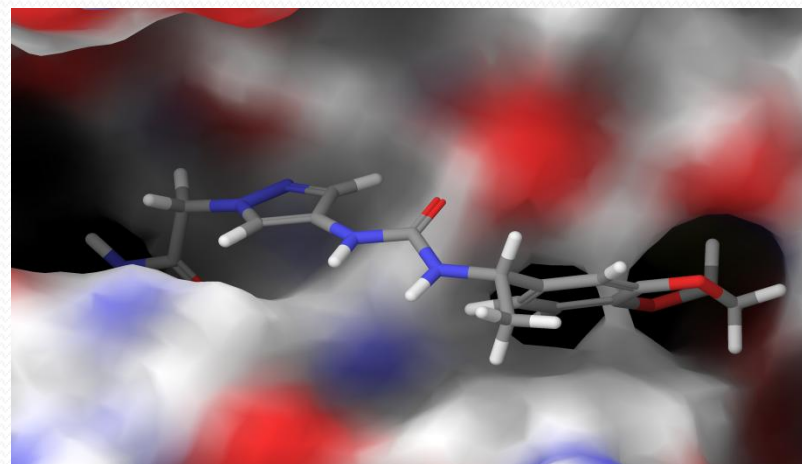
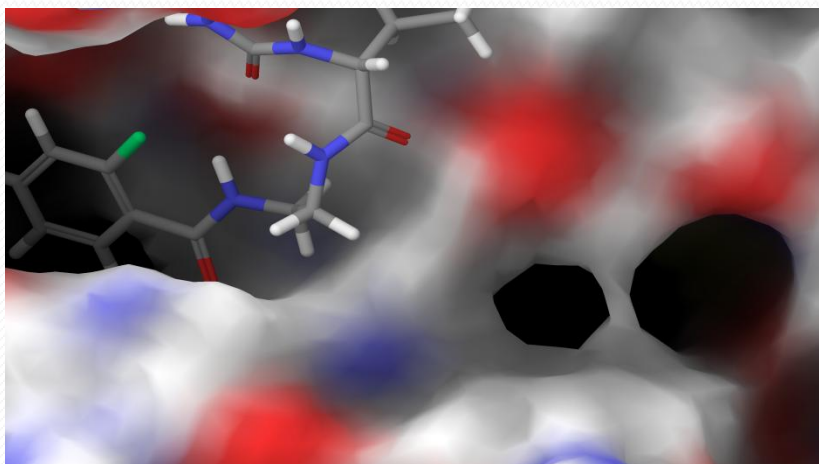
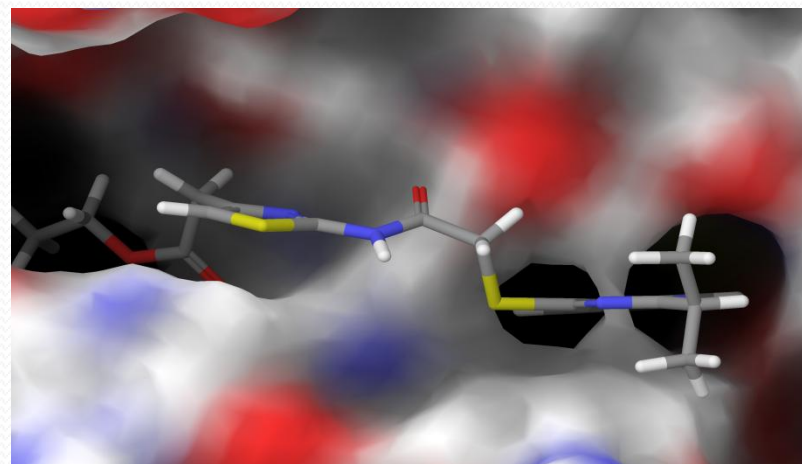
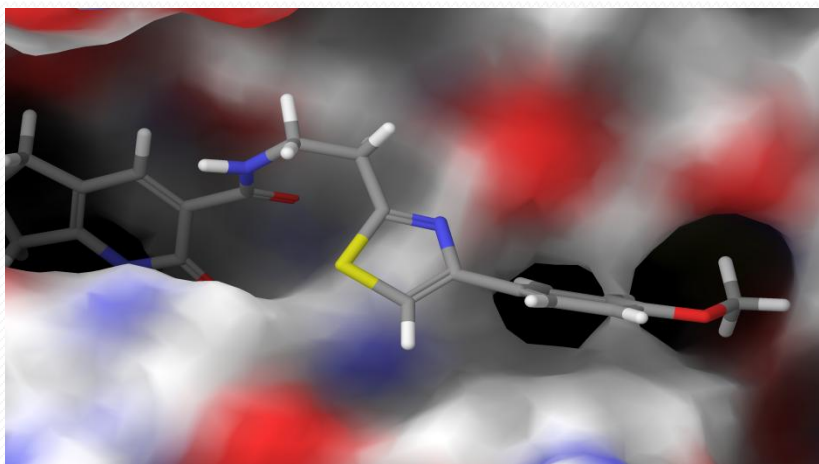


# Skrynowanie komputerowe



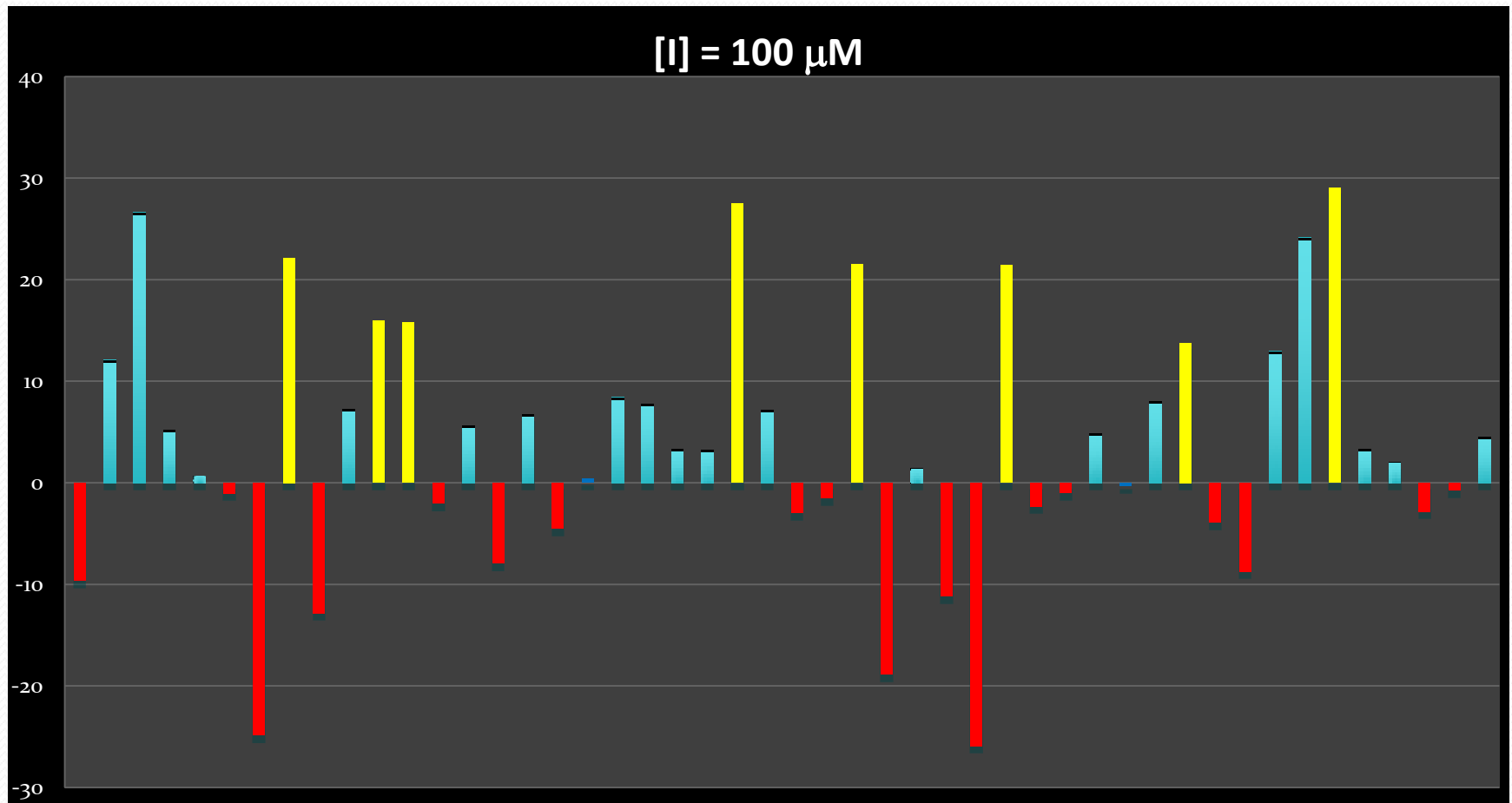


# Inhibitory ze skrynowania, cz. I

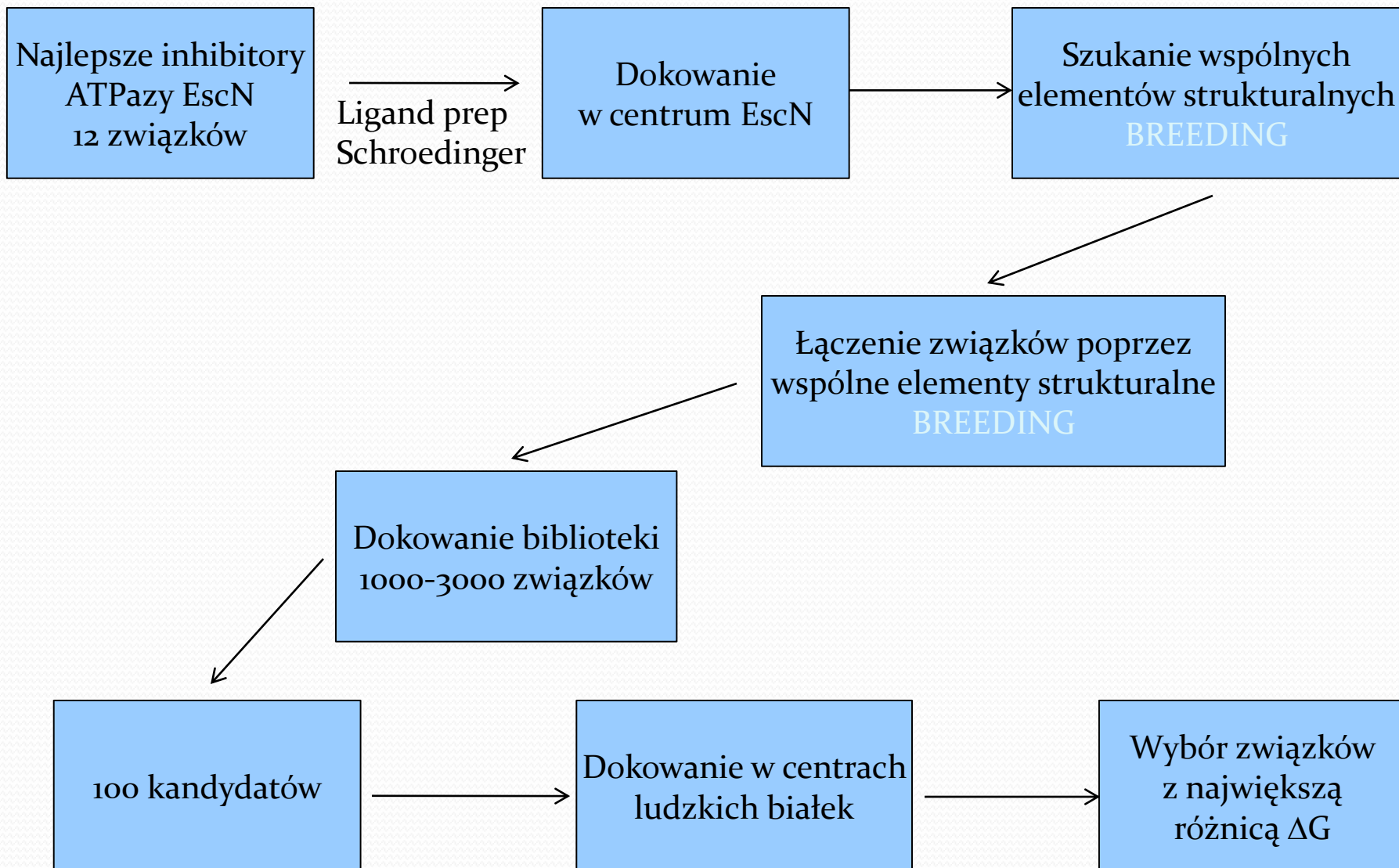


# Rezultaty skrynowania eksperymentalnego

## Blokowanie ATPazy EscN



# Nowe inhibitory



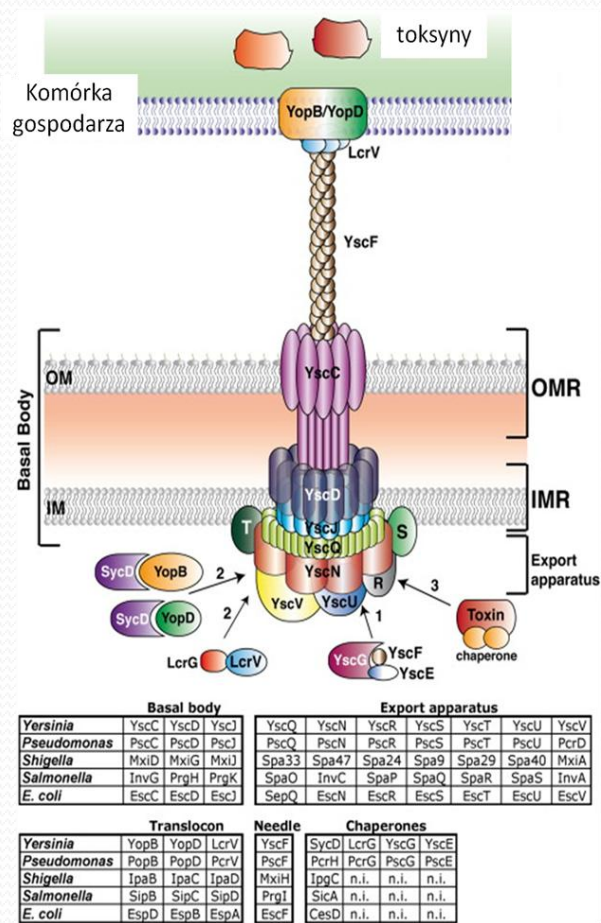
# Następny etap

- Opracowano farmakofofor
- Zidentyfikowano dodatkowe związki w bazach danych używając opracowany farmakofofor (Phase database screening)
- Modyfikacja związków do osiągnięcia kandydatury leku (masa, hydrofobowość, stabilność, wnikanie, selektywność)
- Skrynowanie blokowania wydzielania w kulturze bakteryjnej

# Inne rozwiązania

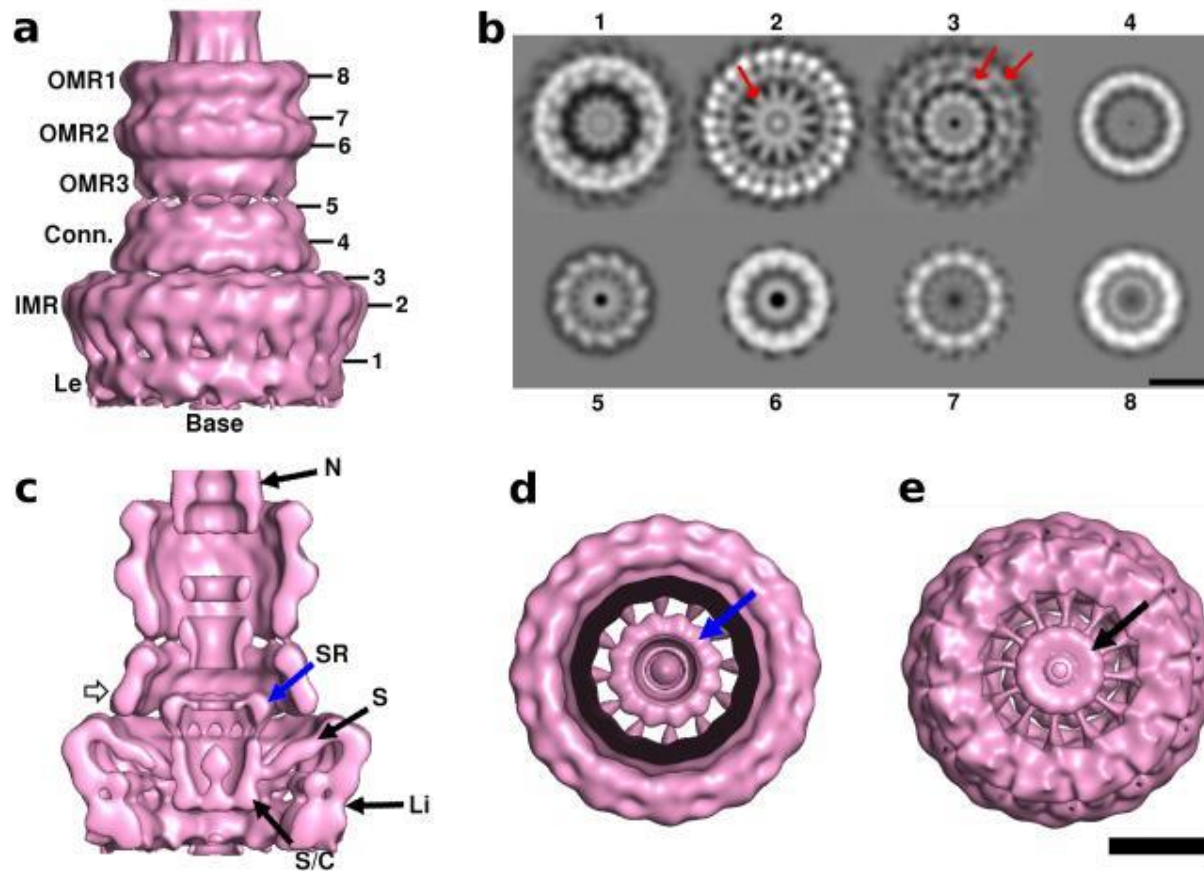
- Blokowanie YscN z systemu wydzielania typu III w *Y. pestis* (Swietnicki et al., 2011)
- Inhibitory efektorów: YopH (Tautz et al., 2005), SipD (Desin et al. 2010)
- Nie-specyficzne inhibitory funkcji T<sub>3</sub>SS: guadinominy (Iwatsuki et al., 2008), fenotypowe skryny
- Inhibitory transkrypcji T<sub>3</sub>SS: LcrF (Kim et al., 2009; Garrity-Ryan et al., 2010), ścieżka sygnałowa w patogenach roślinnych (komercyjne), ExsA (Grier et al., 2010)

# Organizacja injektisomu

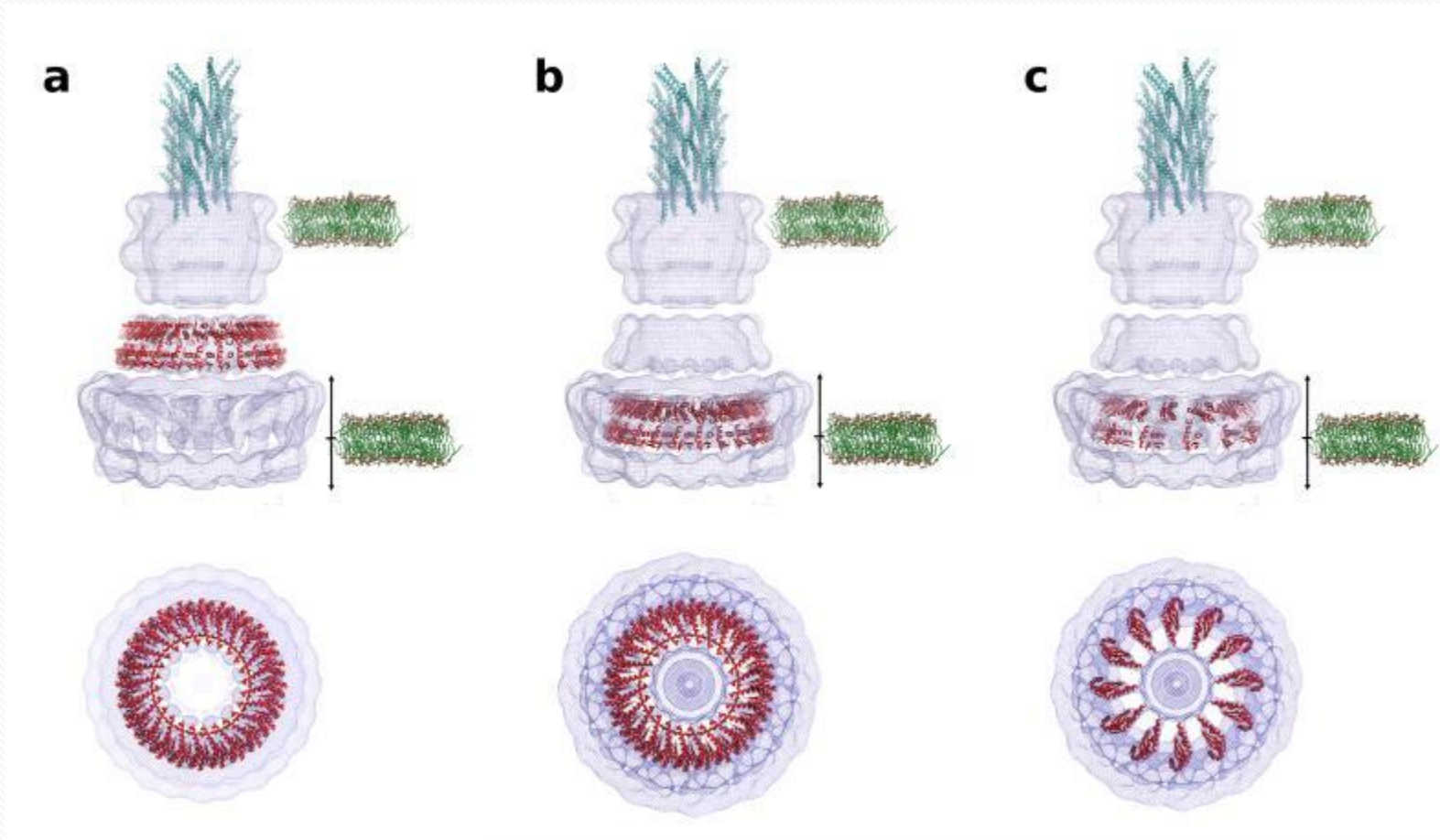




# Wewnętrzna organizacja?



# Umiejscowienie EscJ w iniektisomie





# Źródło energii dla transportu

- System wici –gradient protonowy
- T<sub>3</sub>SS – brak statorów (MotA/MotB) kodowanych w operonie
- Usunięcie MotA/MotB z systemu wici nie blokowało transportu w T<sub>3</sub>SS
- Gradient protonowy czy solny?

# ATPaza w T3SS

- Heksameryzuje w obecności ATP w systemie wici
- T<sub>3</sub>SS – Różne formy (heksamer, monomer)
- Aktywność katalityczna za niska na ciągłą pracę
- Po hydrolizie ATP, otwarcie kanału?

# Podziękowanie

**WCB EIT+**

*Wiesław Świętnicki, Ph.D. – Kierownik Projektu*

Hanna Krężel - klonowanie, nadekspresja i czyszczenie białek

Karol Wrzeszcz- klonowanie, nadekspresja i czyszczenie białek

Paweł Karoluk, Daniel Mikrut, Łukasz Nowicki - IT

Paweł Wielgus- Współpraca z WCSS

Katarzyna Janicka – Administracja/Koordinacja

**IITD**

Prof. Andrzej Gamian - Koordinacja