

## Porównanie skuteczności inhibitorów koagulaz *Staphylococcus aureus*

Agnieszka Kołpa

Kierownik: **prof. dr hab. Sławomir Filipek, dr hab. Marta Zapotoczna**

*Staphylococcus aureus* jest przyczyną zakażeń, które odpowiadają za ponad milion zgonów rocznie na świecie. Bakteria ta wydziela zewnątrzkomórkowo białka zwane koagulazami: stafylokoagulazę (Coa) oraz białko wiążące czynnik von Willebranda (vWbp). Białka te tworzą kompleks z ludzką protrombiną, nieproteolitycznie ją aktywują i powodują wytrącanie fibryny z fibrynogenu. W ten sposób powstaje fibrynowa osłona, która przyczynia się do powikłań zakażeń [1]. W szczepach odpowiadających za zakażenia ludzi koagulazy kodowane są przez wysoce polimorficzne geny. Choć opisano szereg małocząsteczkowych inhibitorów Coa i vWbp, ich specyficzność rozpatrywano dla jednego wariantu koagulazy.

Celem badania było wyznaczenie rankingu dziesięciu znanych inhibitorów koagulaz według spektrum działania oraz potencjału hamującego wobec kompleksów zróżnicowanych genetycznie wariantów koagulaz z protrombiną.

W niniejszym badaniu przeprowadzono analizę miejsc wiązania inhibitorów w zróżnicowanych genetycznie sekwencjach pierwszorzędowych oraz modelach koagulaz wykonanych przy użyciu narzędzia AlphaFold3 oraz obliczono energie swobodne wiązania ( $\Delta G$ ) inhibitorów w tych modelach. Obecnie prowadzone są prace eksperymentalne z wykorzystaniem rekombinowanych izoform koagulaz oczyszczonych z *S. aureus* w celu wyznaczenia stężeń hamujących IC50 dla każdego z inhibitorów.

Przeprowadzone analizy *in silico* wykazały brak korelacji między zachowaniem sekwencji a geometrią kieszeni, co dowodzi, że konformacja miejsc wiązania jest ewolucyjnie bardziej zachowana niż jej bezpośrednie otoczenie aminokwasowe. Najsilniejsze powinowactwo, przewidziano dla dryokrassyny ABBA [2], a w dalszej kolejności dla bilobetyny. Najniższe powinowactwo ustalono dla Sinigryny. Dodatkowo, silniejsze wiązanie dla większości inhibitorów przewidywane jest do vWbp niż do Coa.

Izoformy koagulaz determinują różne miejsca oddziaływania oraz różne  $\Delta G$  wiązania z inhibitorami. Jednak, niektóre z badanych związków wykazują mniejszą zależność od izoformy pod względem miejsca wiązania oraz wykazują silne powinowactwo, co pozwala przypuszczać, że będą one skutecznie hamować szerokie spektrum wariantów genetycznych tego enzymu. Zintegrowanie danych z analiz *in silico* oraz pozyskiwanych obecnie wyników eksperymentalnych (IC50) pozwoli potwierdzić spójność podejścia *in silico* i *in vitro* oraz wyłonić najbardziej uniwersalne i najsilniej oddziałujące inhibitory koagulaz.

Literatura:

[1] Vanassche T, Peetermans M, Van Aelst LN, et al. J Infect Dis. 2013; 208(1):92-100. doi: 10.1093/infdis/jit130

[2] Li B, Jin Y, Xiang H, Mu D, Yang P, Li X, Zhong L, Cao J, Xu D, Gong Q, Wang T, Wang L and Wang D, Front. Microbiol. (2019) 10:7. doi: 10.3389/fmicb.2019.00007