

Streszczenie

Charakterystyka genetyczna fagów łagodnych i litycznych, specyficznych dla *Burkholderia cenocepacia* i *Klebsiella pneumoniae*

Globalny problem narastającej wielolekooporności u bakterii sprawia, że poznawanie biologii patogenów i czynników ich zjadliwości jest jednym z głównych celów współczesnej nauki. Zarówno fagoterapia jak i leczenie z wykorzystywaniem białek wirusowych, dają obiecujące efekty, dlatego też tak ważne jest lepsze zrozumienie biologii i ekologii bakteriofagów oraz interakcji z ich bakteryjnym gospodarzem. Badania wykorzystujące analizy komputerowe stanowią nowoczesne podejście do wirusologii i proteomiki. Pozwalają one nie tylko na wykrycie nowych i nieznanymi sekwencji nukleotydowych i aminokwasowych, ale także dają bardzo rozległe możliwości odkrywania nieznanymi dotąd zależności ewolucyjnych i mechanizmów genetycznych.

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej była charakterystyka genetyczna fagów łagodnych i litycznych, specyficznych dla *Burkholderia cenocepacia*, jako reprezentanta oportunistycznych bakterii środowiskowych oraz *Klebsiella pneumoniae*, jako przedstawiciela mikrobiomu człowieka i patogenów oportunistycznych. Część rozprawy dotycząca bakteriofagów litycznych została oparta na analizach bakteriofagów KP15 oraz KP27, w których skupiono się na różnicach w budowie genomów i wynikających z niej różnej podatności na trawienie enzymami restrykcyjnymi. W przypadku większości analizowanych genomów bakteryjnych *K. pneumoniae* (127 ze 139 szczepów) oraz *B. cenocepacia* (16 z 16 szczepów) stwierdzono obecność odpowiednio 705 i 58 potencjalnych sekwencji profagowych. Ze względu na fakt, iż bakterie z grup *K. pneumoniae* oraz BCC są przedstawicielami różnych środowisk, w których mogą występować odmienne zależności ekologiczne, w trakcie analiz podjęto próbę porównania omawianych patogenów pod względem ilościowej i jakościowej obecności profagów (lub ich elementów). Po przeprowadzeniu analizy jakościowej i ilościowej wykryte regiony bakteriofagowe przydzielono odpowiednio do grup stworzonych na podstawie ich kompletności (kompletne, niekompletne, wątpliwe). Zarówno w przypadku bakteriofagów specyficznych wobec *K. pneumoniae* jak i *B. cenocepacia* wykryto regiony kodujące czynniki wirulencji oraz białka, które potencjalnie zwiększają przystosowanie bakterii do życia w danym

biotopie. W trakcie analiz zbadano organizację wybranych genomów fagowych, ze szczególnym uwzględnieniem istotnych genów (np. kaset litycznych), wyszukaniem korelacji ewolucyjnych pomiędzy poszczególnymi grupami wirusów (miejsc integracji profagów oraz częstotliwości ich występowania), a także dokonano ogólnej charakterystyki nowo odkrytych cząstek wirusowych. Uzyskane wyniki przedstawiono w formie map genomowych i tabel charakterystyk. Wykorzystując otrzymane dane poszczególne regiony fagowe porównano filogenetycznie i przydzielono do grup taksonomicznych. Badania zostały przeprowadzone z wykorzystaniem analiz manualnych i automatycznych, pozwalanych na wybranie optymalnej metodologii.

16.09.21 *Jan Lewand.*

Abstract

Genetic characterization of temperate and lytic bacteriophages specific for *Burkholderia cenocepacia* and *Klebsiella pneumoniae*

The global issue of multidrug resistance emergence in bacteria forces us to deepen the understanding of pathogens biology and their virulence factors and it is one of the main goals of modern science. Both phage therapy and treatment with phage-borne proteins have shown promising results, therefore it is important to better understand the biology and ecology of bacteriophages and the interaction with their host. In silico computer analyses represent a modern approach to virology and proteomics research. It allows not only for the detection of new and unknown nucleotide and amino acid sequences but also offer extensive possibilities for discovering hitherto unknown evolutionary relationships and genetic mechanisms.

The aim of this dissertation was the genetic characterization of temperate and lytic phages specific for *Burkholderia cenocepacia*, as a representative of opportunistic environmental bacteria and for *Klebsiella pneumoniae*, as a representative of the human microbiome and opportunistic pathogens. The section of the dissertation concerning lytic bacteriophages was based on analyses of bacteriophages KP15 and KP27, and was focused on differences in their genome structure and susceptibility to digestion with restriction enzymes.

Most of the analyzed bacterial genomes of *K. pneumoniae* (127 of 139 strains) and *B. cenocepacia* (16 of 16 strains) were found to contain 705 and 58 potential prophage sequences, respectively. Since *K. pneumoniae* and *B. cenocepacia* are representatives of different environments, in which different ecological relationships may occur, during the analyses an attempt was made to compare the pathogens in terms of the quantitative and qualitative prevalence of prophages or their elements. After qualitative and quantitative analyses, the detected bacteriophage regions were assigned accordingly to groups based on their completeness (complete, incomplete, questionable). For both bacteriophages specific to *K. pneumoniae* and *B. cenocepacia*, regions encoding virulence factors and proteins that might enhance bacterial adaptation in a particular biotope were detected. In the course

of analyses, the organization of selected phage genomes was examined, with particular attention paid to essential genes such as lytic cassettes as well as responsible for evolutionary correlations between different groups of viruses (prophage integration sites and frequencies). The general characterization of the newly discovered viral particles was also performed. The obtained results are presented in the form of genome maps and characterization tables. Using the obtained data, individual phage regions were phylogenetically compared and assigned to taxonomic groups. The studies were carried out with the use of manual and automatic analyses, allowing the selection of optimal methodology.

16.09.21 *Łucja Dąbrowska*