

Projektresumé

Antibiotika har gennem tiden reddet mange menneskers liv og i det hele taget revolutioneret lægevidenskaben. Desværre er det med hensyn til behandling med antibiotika en usikker fremtid, som vi går i møde, hvilket man allerede på nuværende tidspunkt kan mærke. Menneskeliv tabes til fordel for patagone bakterier, der har udviklet resistens mod alle de antibiotika, som vi har til rådighed. Faktisk er multiresistente bakterier en af de største trusler mod menneskeheden, hvis ikke den største. I et perspektiv er problemet så omfattende, at man mener, at infektioner i år 2050 bliver en større trussel, end kræft er i dag. Dette er baggrunden for, at der skal findes en løsning.

Inspirationen til mit løsningsforslag er bl.a. hentet i fortiden. Det handler om en moderne form for bakteriofagterapi. Princippet i bakteriofagterapi er, at ”din fjendes fjende er din ven”. Meningen er at udnytte bakteriers naturlige fjender, bakterievirus, som antibiotika. Hidtil har det været kompliceret at arbejde med fager, men bioteknologien kan give denne form for antibiotika nyt håb. Det innovative i mit løsningsforslag består i at kombinere bakteriofager og CRISPR-Cas9. Jeg vil med denne kombination udnytte, at bakterier generelt ikke er gode til at reparere deres DNA efter skader. Faktisk fører dette i langt de fleste tilfælde til spontan celledød, hvilket netop derfor har en antimikrobiel virkning. Mere konkret i forhold til løsningsforslaget handler det om at bruge bakteriofager, som de biologiske maskiner, de naturligt er. De skal fungere som værtsorganismer for CRISPR-Cas9 systemet. Ved gensplejsning af bakteriofager er det muligt at indsætte et kompleks, der koder for CRISPR-Cas9 systemet. Bakteriofager fungerer naturligt på den måde, at de er passive, indtil de støder på en bakterie, som de er i stand til at inficere med deres arvemateriale. Formålet er at udnytte og overtage bakterieceller for at lave replikation. Der findes forskellige typer af fager. Nogle er gode til at dræbe bakterier i form af lytisk vækst, mens andre ikke dræber bakterier, men blot integrerer deres DNA i bakteriers genom. Det der er vigtigt for løsningsforslagets virkning er, at bakteriofagernes DNA bliver oversat, så CRISPR-Cas9 kan gøre sit arbejde i bakteriecellen. Her vil jeg fremhæve en fordel ved at bruge bakteriofager til overførsel af CRISPR-Cas9 til bakterier. Bakteriofager er mere eller mindre specifikke. Det er en stor fordel, da man ved antibiotikabehandling kun er interesseret i at dræbe patagone bakterier og ikke probiotiske bakterier. Det er et problem med den antibiotika, der anvendes i dag. Cas9, som er et protein, vil klippe i de patagones bakteriers DNA. Proteinet styres af sgrRNA, og proteinet klipper, hvor sgrRNA er komplementær til et stykke DNA. Dermed er det f.eks. muligt at få systemet til at ødelægge bakteriers resistensgener. Herudover kan systemet laves, så Cas9 klipper flere steder i bakteriernes genom, og dermed øges effektiviteten. På den måde kan man så at sige genetisk programmere en moderne form for bakteriofagterapi.

Jeg har ikke haft mulighed for at arbejde med GMO. Jeg har i stedet lavet forsøg med bakteriofager, hvor jeg på to forskellige måder har testet deres evne til at inficere og dræbe bakterier. Jeg har arbejdet med en godartet E.coli bakterie, Nissle1917.

Jeg har lavet såkaldt plaque assay. Det er en måde, hvorpå man kan finde nye typer af fager. En væsentlig pointe er, at bakteriofager er den type af mikroorganismer, der har den største biodiversitet. Fordelen herved er, at bakterier umuligt kan gøre sig resistent overfor dem alle, og vi vil hele tiden være et skridt foran i kampen mod de patagone bakterier. Jeg anvendte solid LB-medie til at lave plader, hvorpå der groede Nissle1917 og bakteriofager ved hjælp af LB-topagar. Jeg lavede kontrol, positiv kontrol og testede om der i to ukendte prøver (GAM-VKT og Bhis-Taurochlo) fra en fordøjelsesbeholder på DTU var fager, der inficerede og dræbte Nissle1917. Det var der. Jeg isolerede efterfølgende fagerne, der kom fra de to ukendte prøver og gentog plaque assay, så jeg endeligt havde prøver med en forholdsvis høj koncentration af fager. Jeg er i gang med at få fagerne genomsekventeret på DTU, og jeg forventer svar inden for få uger. Der er god chance for, at jeg har fundet nye og ukendte fager, og det vil glæde mig meget, hvis jeg kan bidrage med information til bioinformatikken, som også er en vigtig del af mit løsningsforslag.

Herudover har jeg lavet forsøg med flydende bakteriekulturer tilsat fager med det formål at måle koncentrationen af bakterier ved hjælp af optisk densitet som funktion af tiden. Jeg har lavet gentagelser og flere bestemmelser, men det er alligevel de gange, jeg har prøvet, ikke lykkedes mig at få fagerne til at dræbe bakterierne, som de gjorde i mit plaque assay forsøg. Jeg har senere fundet frem til en betydningsfuld fejl. Jeg startede ud med en for høj koncentration af bakterier, da jeg tilsatte fager. Generelt blev resultatet, at der var en nogenlunde konstant koncentration af bakterier i prøverne. I teorien skulle fagerne overtage og dræbe bakteriecellerne, så koncentrationen heraf ville falde markant indenfor 8 timer. Det har jeg en forhåbning om at arbejde videre med og få til at lykkes. Design af dette forsøg var med henblik på at få indblik i den tid, som det tager fager at inficere og dræbe bakterier, hvilket også er en væsentlig faktor i forhold til antibiotikabehandling.

Bakteriofager og CRISPR-Cas9 kan i en kombination være et bidrag til fremtidens antibiotika. Moderne bakteriofagterapi kan vinde kampen mod *alle* patagone bakterier og redde liv. Løsningsforslaget er effektivt, langtidsholdbart og har en økonomisk fordel. Så hvad venter vi på?