

1. Cel projektu:

Celem projektu jest wytłumaczenie w jaki sposób na poziomie molekularnym cytochrom bc_1 (mitochondrialny kompleks III) bierze udział w regulacji działania łańcucha oddechowego i tworzeniu wolnych rodników. Enzym ten jest kluczowym punktem, w którym regulacja może zachodzić ze względu na to, że jako jedyny 1 czy dwa rezerwuary ruchomych przenośników elektronów 1 czy dwóch ze sobą poszczególne elementy łańcucha w funkcjonalną całość. Regulacyjna rola cytochromu bc_1 może być również pochodną faktu, że przez swój unikatowy cykl sprzągają cy dwa przeciwstawnie działające miejsca katalityczne, enzym może działać w oparciu o sprzężenie zwrotne ujemne.

By zidentyfikować elementy regulacji, w projekcie poddane zostaną szczegółowej analizie stany pośrednie reakcji zachodzących w miejscach katalitycznych i zostanie przebadany ich wpływ na działanie enzymu. Obiektem badań będzie cytochrom bc_1 z bakterii purpurowej *Rhodobacter capsulatus*, w formie natywnej i odpowiednio zaprojektowanych i skonstruowanych mutantów oraz kompleks III izolowany z mitochondriów. Porównanie bakteryjnego i mitochondrialnego enzymu zostanie przeprowadzone celem uzyskania informacji na temat poziomu uniwersalności zidentyfikowanych elementów regulacji i sprawdzenia czy w układzie mitochondrialnym pojawiły się dodatkowe mechanizmy adaptacyjne do warunków, w których obecny jest tlen czysty.

2. Międzydziedziczne badania podstawowe:

Badania w swej istocie dotyczą szeroko rozumianych zagadnień związanych z procesami oksydoredukcyjnymi, molekularnym mechanizmem działania miejsc katalitycznych, oddziaływaniami białko-białko, tworzeniem i stabilizacją wolnorodnikowych stanów przejściowych, fizycznych natur sprzężenia między centrami metalicznymi w białkach, i wreszcie możliwość projektowania miejsc o zmienionych właściwościach fizyko-chemicznych. W tych aspektach projekt wybiega poza obszar zainteresowania samym cytochromem bc_1 odnosząc się do ogólnych zagadnień związanych z fizyko-chemią podstawowych procesów komórkowych oraz opisem właściwości strukturalnych i dynamicznych białek (biochemia, biofizyka, biologia molekularna) a także inżynierii i projektowania *de novo* białek.

Stawiane w projekcie pytania odnoszące się do mechanizmów regulacji procesów bioenergetycznych i produkcji wolnych rodników dotyczą zagadnień z obszaru fizjologii i medycyny w tym: fotosyntezy i oddychania komórkowego, bioenergetyki i medycyny mitochondrialnej oraz komórkowego przekazu sygnału.

Projekt 1 czy stacjonarne i kinetyczne badania eksperymentalne oparte na szeregu technik spektroskopii optycznej i elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) z badaniami teoretycznymi opartymi na modelowaniu komputerowym. Proponuje przy tym nowe rozwiązania metodologiczne polegające na kinetycznych pomiarach z jednoczesnym zastosowaniem obu spektroskopii (optycznej i EPR).

3. Powody podjęcia tematyki:

Projekt podejmuje zagadnienie regulacji działania biologicznych układów przekształcających energię. W istocie swojego działania układy te wykorzystują pozakomórkowe źródła energii do wytworzenia siły napędzającej metabolizm komórkowy, co jest jednym z podstawowych procesów życiowych. Regulacja jest istotna z fizjologicznego punktu widzenia ponieważ daje układom możliwość płynnego dostosowywania się do zmieniającego się zapotrzebowania na energię i do warunków stresu (np. przy nagłym niedoborze tlenu). Molekularne mechanizmy procesów regulacyjnych nie są znane a ich zrozumienie jest konieczne do poznania całościowego obrazu funkcjonowania organizmów żywych. Dotychczasowa wiedza na temat działania cytochromu bc_1 i wyniki badań wstępnych pozwalają na sformułowanie hipotezy o tym w jaki sposób na poziomie molekularnym enzym może brać udział w procesach regulacyjnych, a dostępne techniki badawcze i metodologia (w tym opracowane przez nasz zespół metody spektroskopowe) dają możliwość nie tylko jej zweryfikowania ale również przeanalizowania szeregu istotnych procesów fizyko-chemicznych z nią powiązanych. Podejmowane w projekcie badania niosą w sobie potencjał by dostarczyły podstawową wiedzę na temat molekularnych podstaw związanych z regulacją układów bioenergetycznych.