

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Dwuskładnikowe systemy regulacyjne (ang. *two-component systems*, TCSs) służą jako podstawowy mechanizm umożliwiający mikroorganizmom odpowiedź na różnorodne zmiany w środowisku. TCSs składają się zazwyczaj z kinazy histydynowej (ang. *histidine kinase*, HK), która odbiera bodźce oraz z regulatora odpowiedzi (ang. *response regulator*, RR), który wywołuje określoną odpowiedź komórkową, zazwyczaj działając jako czynnik transkrypcyjny. Komunikacja między HK i RR następuje dzięki transferowi grupy fosforanowej z konserwowanej reszty histydyny w HK, która jest autofosforylowana w obecności odpowiedniego bodźca, na resztę kwasu asparaginowego w N-końcowej domenie RR. Fosforylacja N-końcowej domeny RR skutkuje zmianą konformacji białka i aktywacją C-końcowej domeny wykonawczej. TCSs umożliwiają współdziałanie wielu funkcji życiowych od regulacji metabolizmu węgla i azotu, asymilację fosforanów, wzrost tlenowy i beztlenowy po tworzenie biofilmu i spor. W przeciwieństwie do większości mikroorganizmów, które posiadają średnio 52 TCSs, genom bakterii *Porphyromonas gingivalis* koduje tylko 12 białek zaangażowanych w TCSs. *P. gingivalis* jest późnym kolonizatorem płytki nazębnej i głównym patogenem zaangażowanym w rozwój i progresję chronicznej paradontozy, która w ostrych przypadkach może prowadzić do utraty zębów. Paradontoza jest związana również z systemowymi chorobami takimi jak miażdżycza tętnic, osteoporoza, przedwczesny poród, zapalenie płuc, reumatoidalne zapalenie stawów i cukrzyca. Wśród wielu czynników wirulencji wydzielanych przez *P. gingivalis* znajdują się proteazy zwane gingipainami, których proteolityczna aktywność jest uznawana za główną przyczynę rozwoju paradontozy. Używając gingipain, *P. gingivalis* jest w stanie zmienić odpowiedź immunologiczną gospodarza na swoją własną korzyść oraz pozyskiwać składniki odżywcze niezbędne do wzrostu. Biorąc pod uwagę, że terapia chorób związanych z aktywnością *P. gingivalis* pochłania ogromne koszty, jest czymś bardzo niepokojącym, że molekularny mechanizm patogenności tej bakterii jest wciąż daleki od pełnego zrozumienia.

Wydzielanie gingipain przez System Sekrecji Typu 9 (ang. *Type 9 Secretion System*, T9SS) jest prawdopodobnie regulowane przez niedawno odkryty TCS nazwany PorXY. Do dzisiaj bardzo niewiele jest wiadomo o tym systemie. Aby poznać go głębiej chcemy scharakteryzować białka PorX i PorY, budujące ten system. Na początku chcemy potwierdzić oddziaływanie pomiędzy tymi białkami. Następnie określimy efekt mutacji w centrach aktywnych PorX i PorY na tempo wzrostu *P. gingivalis* i sekrecję gingipain. Aby poznać lepiej mechanizm działania PorXY TCS zostanie również określona subkomórkowa lokalizacja białek PorX i PorY, a także przedział komórkowy, do którego wyeksponowany jest rejon sensorowy PorY. Ostatnim zadaniem badawczym będzie optymalizacja warunków krystalizacji wszystkich białek otrzymanych w tym projekcie. W przypadku otrzymania kryształów zostaną wykonane wstępne pomiary dyfrakcji. Uzyskane wyniki pozwolą na ocenienie jakości kryształów i ich użyteczności w rozwiązaniu struktury białek w przyszłości. Podsumowując, celem tej pracy jest biochemiczna, funkcjonalna i strukturalna charakterystyka unikatowego TCS zwanego PorXY. Wyniki otrzymane w niniejszym projekcie w znaczny sposób przyczynią się do rozwinięcia wiedzy na temat regulacji sekrecji głównych czynników wirulencji *P. gingivalis*. Ta wiedza może posłużyć w przyszłości do odkrycia związków hamujących patogenność *P. gingivalis*. Co więcej, wyniki te mogą się przyczynić również do rozwoju wiedzy na temat transdukcji sygnału i sekrecji czynników wirulencji w mikroorganizmach. Zostanie bowiem scharakteryzowana unikatowa domena wiążąca DNA, nowa domena sensorowa HK, a także niepoznany dotychczas mechanizm, który reguluje ekspresję genów T9SS.