

Hydroliza wiązań peptydowych (proteoliza) katalizowana jest przez enzymy zwane proteazami i odgrywa istotną rolę we wszystkich procesach fizjologicznych. Ponieważ hydroliza wiązań peptydowych jest nieodwracalną reakcją, proteoliza białek i peptydów w organizmach żywych jest regulowana na wielu poziomach, od ekspresji genów kodujących proteazy, po aktywność proteaz wewnątrz i na zewnątrz komórek. W eukariotycznych organizmach wielokomórkowych zewnątrzkomórkowa proteoliza jest często kontrolowana przez wyspecjalizowane białka inhibitorowe wiążące się z proteazami i blokujące ich aktywność. O znaczeniu tego procesu świadczy fakt, że inhibitory proteaz stanowią 10% wszystkich białek w surowicy ssaków. W tym kontekście jest zaskakujące, że u bakterii, które również produkują liczne proteazy, geny kodujące inhibitory znajduje się bardzo rzadko a ich występowanie jest rozrzucone wśród gatunków bakterii zupełnie z sobą nie spokrewnionych. Dodatkowo, poza kilkoma wyjątkami, praktycznie nic nie wiadomo o funkcji inhibitorów proteaz u bakterii. Z powyższych powodów znalezienie aż 6 genów kodujących inhibitory proteaz u *Tannerella forsythia*, bakterii odpowiedzialnej za rozwój zapalenia przyzębia (parodontoza), jest fascynującym odkryciem. W dodatku, gen każdego inhibitora występuje razem z genem kontrolowanej proteazy w jednej jednostce transkrypcyjnej (operonie). Takie ułożenie genów zapewnia produkcję zarówno wydzielanej na zewnątrz proteazy jak i jej inhibitora, który pozostaje związany z błoną zewnętrzną bakterii. Wskazuje to na funkcję inhibitorów w regulacji aktywności proteolitycznej *T. forsythia*, ale nie można wykluczyć, że również inne proteazy będą hamowane przez te białka. Może mieć to duże znaczenie dla *T. forsythia*, która w swoim miejscu bytowania, wielogatunkowym biofilmie płytki nazębnej, jest narażona na proteazy innych bakterii jak i enzymy ludzkie, zwłaszcza te uwalniane z neutrofilii. Trzecia, fascynująca cecha inhibitorów proteaz *T. forsythia* jest ich unikatowość pod względem sekwencji aminokwasów. Każdy inhibitor jest „indywidualnością” samą w sobie i nie ma białek o podobnej sekwencji wśród innych organizmów żywych. Sugeruje to, że każdy z nich ma również unikatową strukturę przestrzenną i może wykazywać odmienny mechanizm inhibicji. Z tego względu głównym celem tego projektu jest charakterystyka struktury atomowej i funkcji poszczególnych inhibitorów w kontekście roli, jaką mogą spełniać w formowaniu i patogenności płytki nazębnej, jako białka kontrolujące proteolizę w płytce nazębnej. Zakładany cel badań będzie zrealizowany poprzez:

- (1) Wyznaczenie spektrum proteaz bakteryjnych i ludzkich, które są hamowane przez każdy z inhibitorów i kinetyczną charakterystykę procesu inhibicji (wyznaczenie stałych inhibicji, stechiometrii reakcji i stabilności kompleksu inhibitorowego).
- (2) Krystalizację i rozwiązanie struktury atomowej (metodą dyfrakcji promieniowania X) wolnych inhibitorów oraz kompleksów inhibitorowych.
- (3) Badanie roli inhibitorów *T. forsythia* w formowaniu, kompozycji, strukturze i patogenności wielobakteryjnego biofilmu.

Duża wartość naukowa przedstawionego projektu wynika z tego, że jego realizacja doprowadzi do strukturalnej i funkcjonalnej charakterystyki unikatowych inhibitorów z potencjalnie nowym mechanizmem inhibicji proteaz. Dodatkowo zostanie wyjaśniona rola jaką inhibitory pełnią w biologii *T. forsythia* oraz tworzeniu się chorobotwórczej płytki nazębnej, co przyczyni się do zrozumienia patogenez. W końcu, biorąc pod uwagę znaczenie inhibitorów proteaz jako leków można się spodziewać, że uzyskane dane pomogą w projektowaniu nowych związków terapeutycznych.