

Gruźlica jest jedną z najgroźniejszych chorób człowieka i drugą wiodącą przyczyną śmiertelności ludzi na świecie z powodu chorób zakaźnych. Czynnikiem etiologicznym gruźlicy jest prątek gruźlicy (*Mycobacterium tuberculosis*), (*Mtb*), który intensywnie rozprzestrzenił się na całej kuli ziemskiej infekując 1/3 populacji człowieka. Według danych Światowej Organizacji Zdrowia, w roku 2013 zdiagnozowano 9 milionów nowych przypadków gruźlicy, a 1.5 miliona ludzi zmarło z powodu tej choroby zakaźnej. Niepokojąca jest również wzrastająca liczba zakażeń wywoływanych przez lekooporne szczepy *Mtb*, w tym typu MDR (multi-drug resistant), XDR (extensively-drug resistant) i TDR (totally-drug resistant), które są niezwykle trudne do leczenia z zastosowaniem dostępnych leków przeciwprątkowych. Istotnym czynnikiem zwiększającym ryzyko wystąpienia aktywnej gruźlicy są infekcje u osób z dysfunkcjami układu odpornościowego, takich jak chorzy na AIDS czy cukrzycę. Mimo wielu lat intensywnych badań, a także dużych nakładów różnych instytucji zdrowia publicznego, skuteczne leczenie lekoopornej gruźlicy pozostaje nadal dużym wyzwaniem. Wciąż nie zostały wyjaśnione złożone mechanizmy patogenności *Mtb*, które umożliwiają tym bakteriom skuteczne przełamanie wrodzonej odpowiedzi odpornościowej gospodarza, co warunkuje ich wnikanie, przeżywanie i wewnątrzkomórkowy wzrost w niesprzyjającym środowisku wewnątrz makrofagów. **Zrozumienie interakcji *Mtb* z elementami odporności wrodzonej jest kluczowe dla wyselekcjonowania nowych mykobakteryjnych tarcz docelowych, które stanowiłyby niezbędny punkt wyjściowy w konstruowaniu nowoczesnych i skutecznych narzędzi leczenia i immunoprophylaktyki gruźlicy, co z kolei przyczyniłoby się do efektywniejszej kontroli zakażeń wywoływanych przez prątki gruźlicy.**

Mycobacterium tuberculosis charakteryzuje się niewątpliwym sukcesem ewolucyjnym. Drobnoustrój ten wykazuje duże zdolności adaptacyjne, które warunkują wykształcenie złożonych mechanizmów patogenności determinowanych głównie przez interakcje z czynnikami i procesami odporności wrodzonej. Oddziaływania takie prowadzą nie tylko do manipulowania mechanizmami obronnymi gospodarza, ale nawet do ich wykorzystywania w celu ułatwienia inwazji komórek docelowych. Po przeniesieniu drogą kropelkową i dotarciu do pęcherzyków płucnych, wnikające prątki gruźlicy indukują mechanizmy obronne makroorganizmu, których etapem wstępnym jest rozpoznanie czynnika zakaźnego, a dokładnie jego konserwatywnych struktur antygenowych (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), przez krążące lub błonowe receptory rozpoznające wzorce molekularne patogenów (pattern recognition receptors, PRRs), stanowiące składowe wrodzonej odpowiedzi odpornościowej gospodarza. Interakcje pomiędzy tymi cząsteczkami mają istotne znaczenie nie tylko dla wytworzenia skutecznej odpowiedzi odpornościowej, ale także są kluczowe dla samego patogenu, gdyż determinują adhezję niezbędną w procesie jego wnikania do komórek docelowych. **W niniejszym projekcie wskazujemy na potencjalną interakcję *Mtb* z ludzkim głównym białkiem ostrej fazy, mianowicie surowiczym amyloidem A (SAA). Ponadto proponujemy, iż w osłonach komórkowych *Mtb* obecne są komponenty (ligandy) warunkujące specyficzną interakcję tych bakterii z SAA oraz postulujemy zaangażowanie tych interakcji w proces wnikania *Mtb* do ludzkich makrofagów.**

Przeprowadzone w ramach prezentowanego projektu badania wstępne potwierdziły zdolność *Mtb* do swoistego wiązania ludzkiego SAA. Dodatkowo zastosowanie złożonej metodologii badawczej umożliwiło wyselekcjonowanie i identyfikację sześciu membranowych białek prątków gruźlicy, Rv2477c, Rv1308, Rv0423c, Rv3881c, Rv0009 i Rv2140c, jako potencjalnych ligandów zaangażowanych w interakcje tych bakterii z badanym ludzkim białkiem ostrej fazy. W dalszych etapach badań wstępnych skoncentrowano się na dwóch zidentyfikowanych ligandach, Rv2477c i Rv1308, i stosując rekombinowane ich formy potwierdzono ich oddziaływanie z SAA za pomocą techniki Western blot oraz powierzchniowego rezonansu plazmowego. Ponadto w celu określenia udziału białek Rv2477c i Rv1308 we wczesnych etapach wnikania *Mtb* do ludzkich makrofagów skonstruowano szczepy mutanty prątków gruźlicy nadprodukujące te ligandy. Badania przewidywane w ramach niniejszego projektu koncentrować się będą na potwierdzeniu wiązania SAA przez pozostałe cztery wstępnie wytypowane białka *Mtb*, mianowicie Rv0423c, Rv3881c, Rv0009 i Rv2140c. Zostaną również skonstruowane szczepy mutanty nadprodukujące i/lub niezdolne do syntezy tych białek, dla których potwierdzona zostanie właściwość wiązania SAA. Wszystkie te szczepy oraz wcześniej przygotowane szczepy mutanty nadprodukujące białko Rv2477c i Rv1308 zostaną wykorzystane w doświadczeniach zmierzających do wyjaśnienia roli tych ligandów w procesie wnikania *Mtb* do ludzkich makrofagów. Dodatkowo przedmiotem badań będzie ocena wpływu wiązania SAA przez prątki gruźlicy na aktywność funkcjonalną zarówno samego patogenu, jak i makrofagów ludzkich w trakcie infekcji badanych docelowych komórek gospodarza.