

## POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Bakterie z rodzaju *Rhizobium* tworzą symbiozę z roślinami bobowatymi, wiążą azot atmosferyczny i dostarczają zredukowane związki azotu swoim gospodarzom. Symbioza rizobia-rośliny motylkowate jest wydajnym, naturalnym procesem pozwalającym na znaczne ograniczenie nawożenia azotowego, co jest istotne dla tzw. zrównoważonego rolnictwa. Badania podstawowe dotyczące różnych aspektów symbiozy mają duże znaczenie z punktu widzenia agrobiotechnologii, stwarzają bowiem szansę na zastosowanie wyselekcjonowanych lub odpowiednio zmodyfikowanych rizobiów jako bionawozów. Jednym z niezbędnych warunków nawiązania układu symbiotycznego pomiędzy bakteriami a roślinnym gospodarzem jest synteza zewnątrzkomórkowych polisacharydów, m.in. egzopolisacharydów.

Bakterie syntetyzują różne polisacharydy. Są one gromadzone w komórce, współtworzą błonę zewnętrzną lub są wydzielane poza komórkę tworząc kapsułę połączoną z jej powierzchnią, lub warstwę śluzu luźno związaną z komórką. Dzięki swojej lokalizacji polisacharydy pełnią szereg funkcji związanych z wychwytem substancji odżywczych, ochroną przed stresorami środowiskowymi i związkami antybakteryjnymi oraz adhezją do różnych powierzchni. Ogromna różnorodność strukturalna, a co za tym idzie różnorodność właściwości polisacharydów, szczególnie polisacharydów zewnątrzkomórkowych produkowanych przez różne gatunki bakterii, sprawia, że znalazły one zastosowanie w przemyśle spożywczym, kosmetycznym czy medycynie. Ze względu na potencjał tworzenia struktur chemicznych o różnych właściwościach fizyko-chemicznych, w polisacharydach upatruje się źródła nowych materiałów dla medycyny i przemysłu i szansy na ich pozyskiwanie dzięki biologii syntetycznej.

**Celem prezentowanego projektu jest zbadanie kompleksu enzymatycznego glikozylotransferaz zaangażowanych w biosyntezę egzopolisacharydu (EPS), czyli zewnątrzkomórkowego polisacharydu o charakterze śluzowym w modelowej bakterii glebowej *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*.** Wybór tego modelu badawczego jest uzasadniony tym, że warunkiem koniecznym dla efektywnej (wiążącej azot) symbiozy w tej grupie bakterii jest synteza EPS. Planujemy zbadać zależności między glikozylotransferazami, ich lokalizację w komórce, aktywność oraz wzajemne oddziaływania, jak również interakcje z innymi białkami systemu transportu EPS. Zakładamy także identyfikację nowych genów kodujących elementy szlaku biosyntezy egzopolisacharydu. Badania będą realizowane m.in. poprzez heterologiczną ekspresję, oczyszczanie glikozylotransferaz i badanie ich aktywności *in vitro* z wykorzystaniem specyficznych prekursorów i akceptorów, na które glikozylotransferazy przenoszą reszty cukrowe. Zamierzamy przeprowadzić mutagenезę wybranych genów w celu poznania ich funkcji. Będziemy badać oddziaływania między glikozylotransferazami aktywnymi na różnych etapach syntezy podjednostki egzopolisacharydu oraz identyfikować białka oddziałujące z glikozylotransferazami.

**Ze względu na powszechne występowanie polisacharydów u różnych bakterii, opracowanie kompleksowego modelu biosyntezy tych polimerów ma ogromne znaczenie poznawcze, a jego uniwersalność może wykraczać poza grupę bakterii glebowych.** Spodziewane rezultaty projektu opracowane na dobrze poznanym przez nas modelu badawczym pozwolą opisać nowe białka i enzymy zaangażowane w biosyntezę i transport egzopolisacharydów. Uzyskane wyniki znacznie wzbogacą wiedzę na temat kluczowych etapów tego procesu, specyficzności substratowo-akceptorowej, budowy domenowej i oddziaływań glikozylotransferaz z innymi składnikami systemu oraz przepływu oligosacharydów od glikozylotransferaz do centrum ich polimeryzacji i transportu.