

Peptydy pochodzące z degradacji białek gospodarza przez enzymy proteolityczne są obok cukrów cennym źródłem pokarmu dla mikroorganizmów. Peptydy jednak nie mogą samoczynnie przenikać przez błonę komórkową bakterii ale muszą być transportowane do wnętrza komórki przez specjalne białka. Dotychczas poznano trzy typy kompleksów, mogących transportować peptydy do wnętrza komórek bakteryjnych: są to transportery z rodziny Opp, OPT i POT. Bakterie Gram-dodatnie mogą pobierać bardzo długie peptydy składające się z 35 reszt aminokwasowych. Brak natomiast w literaturze informacji na temat transportu większych peptydów (powyżej 6 reszt aminokwasowych) w bakteriach Gram-ujemnych. Sugeruje się nawet, że bakterie Gram-ujemne nie mogą pobierać peptydów dłuższych niż 6 reszt aminokwasowych.

Bakteria *Porphyromonas gingivalis* jest głównym patogenem odpowiedzialnym za zapoczątkowanie i rozwój paradontozy – choroby dziąseł i przyzębia, która w skrajnych przypadkach prowadzi do całkowitej utraty uzębienia. Bakteria ta nie jest w stanie przyswajać cukrów, a głównym źródłem pokarmowym są peptydy pochodzące z rozkładu tkanek gospodarza głównie przez enzymy proteolityczne zwane gingipainami. Dotychczas nie poznano jednak mechanizmu, dzięki któremu bakteria ta może pobierać peptydy do wnętrza komórki. W niniejszym projekcie odkryto dwubiałkowy kompleks dzięki któremu jest to możliwe. Została również rozwiązana jego struktura krystaliczna. Dlatego też głównym celem tego projektu jest strukturalna i biochemiczna charakterystyka tego kompleksu. Planuje się określenie jego specyficzności substratowej, określenie reszt aminokwasowych niezbędnych do pełnienia przez niego funkcji biologicznej, zbadanie wpływu mutacji kluczowych reszt aminokwasowych na wzrost bakterii *P. gingivalis*, rozwiązanie struktury podobnego kompleksu ze szczepu ATCC 33277 *P. gingivalis* oraz rozwiązanie struktury tego kompleksu zawierającej peptyd o zdefiniowanej sekwencji aminokwasowej. Specyficzność substratowa kompleksu będzie określona poprzez denaturację kompleksu izolowanego z hodowli, w której głównym źródłem peptydów jest albumina surowicy wołowej (ang. *bovine serum albumin*, BSA), a następnie analizę uwolnionych peptydów z wykorzystaniem spektrometrii mas. Zostaną stworzone mutanty kluczowych reszt aminokwasowych kompleksu, które następnie będą charakteryzowane poprzez zdolność wzrostu w pożywce podstawowej zawierającej BSA. Kompleks zostanie wyizolowany z bakterii szczepu ATCC 33277 oraz poddany próbom krystalizacyjnym. Analogicznym próbom zostanie poddany kompleks po inkubacji z nadmiarem peptydu o znanej sekwencji. Wszystkie zaplanowane badania zostaną przeprowadzone w światowej sławy ośrodku Institute for Cell and Molecular Biosciences (ICaMB) na Newcastle University w Wielkiej Brytanii, gdzie wnioskodawca planuje odbyć staż.

Kompleks będący celem badawczym w niniejszej pracy doktorskiej stanowi pierwszy opisany system do transportu dużych peptydów (składających się z co najmniej 11 reszt aminokwasowych) przez błonę zewnętrzną bakterii Gram-ujemnych. Opisanie molekularnego mechanizmu transportu peptydów przez ten system będzie w sporym wkładem w dziedzinę Mikrobiologii. Wiedza ta umożliwi opis wcześniej niezrozumiałych procesów transportu peptydów u bakterii Gram-ujemnych, a w przyszłości może również pozwolić na rozwój nowych terapii opartych na peptydach. Staż odbyty w tak renomowanym ośrodku jakim jest ICaMB pozwoli na dokończenie doświadczeń w tej pracy doktorskiej. Pozwoli również na zdobycie doświadczenia, które zostanie wykorzystane na dalszych etapach rozwoju kariery naukowej.