

Proces biosyntezy białka (translacja), realizowany w komórce przez wyspecjalizowane organella zwane rybosomami, jest tematem przewodnim badań naukowych prowadzonych w Zakładzie Biologii Molekularnej (ZBM) na Uniwersytecie Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie. Szczególną uwagę poświęcono kluczowemu i jak dotąd najbardziej tajemniczemu elementowi funkcjonalnemu rybosomu tzw. centrum GTPazowemu, które warunkuje szybkość i precyzję funkcjonowania maszynerii translacyjnej. Grupa badawcza ZBM od szeregu lat realizuje badania dotyczące struktury i funkcji rybosomu, i wniosła przez ten czas istotny wkład w poznanie i zrozumienie funkcjonowania centrum GTPazowego zarówno na poziomie molekularnym jak i fizjologicznym. Proponowany projekt skierowany jest na wyczerpujące, wielopoziomowe wyjaśnienie roli modyfikacji centrum GTPazowego, polegającej na fosforylacji jego kluczowego elementu białkowego - kompleksu rybosomalnych białek P. Chociaż zjawisko fosforylacji białek P opisane zostało już ponad 30 lat temu to rola tej post-translacyjnej modyfikacji pozostaje wciąż nieodkryta. Wyniki naszych wstępnych badań wskazują jednoznacznie, że ww. modyfikacja wpływa w sposób istotny na oddziaływanie rybosomu z czynnikami białkowymi zaangażowanymi w proces translacji, tzw. translacyjnymi GTPazami (trGTPazy), co przekłada się na zmiany w funkcjonowaniu maszynerii translacyjnej. Bazując na wstępnych wynikach została postawiona hipoteza badawcza, że fosforylacja rybosomalnego kompleksu białek P obniża powinowactwo trGTPaz do rybosomu, co może zmienić profil syntetyzowanych białek w odpowiedzi na zmienne warunki środowiska. Realizacja projektu jest podzielona na 3 zasadnicze części. Pierwsza obejmuje panel badań w warunkach *in vitro*, obejmujący analizy interakcji białek P i trGTPaz z wykorzystaniem technik tj. 'Bio-Layer-Interferometry' i 'Microscale-Thermophoresis', oraz analizy przebiegu procesu translacji w systemie izolowanym, na bazie rekonstrukcji maszynerii translacyjnej *in vitro*, co umożliwi dokładne określenie wpływu modyfikacji białek P na oddziaływanie rybosomu z całym przekrojem trGTPaz uczestniczących w translacji oraz pozwoli prześledzić jak to się przekłada na bezpośrednie funkcjonowanie rybosomu. Kolejna część to analizy funkcjonalne z wykorzystaniem modelowego organizmu eukariotycznego drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, które pozwolą na opisanie funkcjonowania maszynerii translacyjnej w komórce eukariotycznej, uwzględniając rolę fosforylacji rybosomalnych białek P. Zostaną przebadane różne aspekty funkcjonowania rybosomu *in vivo* w odniesieniu do wydajności i dokładności procesu translacji. Prace badawcze zostaną rozszerzone o tzw. wysokoprzepustowe metody analizy ekspresji genów - transkryptomika i translatomika, co pozwoli na zdefiniowanie zmiany w profilu ekspresji genów na poziomie globalnym. Ostatnia grupa eksperymentów pozwoli na funkcjonalne opisanie roli fosforylacji białek P w komórkach wyższych organizmów eukariotycznych - ssaków (w tym ludzi). Jak pokazują wyniki naszych badań wstępnych zaobserwowany przez nas mechanizm regulatorowy może stanowić nieopisany dotychczas szlak metaboliczny regulujący odpowiedź komórki na stres, a tym samym uczestniczyć w adaptacji na zmienne warunki środowiska. Defekty w obrębie tego szlaku opisywane były jako jeden z czynników etiologicznych szeregu chorób człowieka, włączając w to schorzenia neurodegeneracyjne tj. choroba Parkinsona, choroba Alzheimera czy defekty metaboliczne tj. cukrzyca. Odkrycie nowej, nieznannej dotychczas gałęzi tego szlaku metabolicznego pozwoli na zrozumienie skomplikowanych zależności metabolicznych w komórce eukariotycznej, ale także umożliwi lepiej poznać podłoże molekularne wiele chorób, co stanowić może punkt wyjścia dla opracowania nowych metod diagnostycznych oraz skutecznych terapii chorób cywilizacyjnych.