

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Karboksylaza/oksygenaza rybulozo-1,5-bisfosforanu (RuBisCO) jest enzymem odpowiedzialnym za przyłączenie atmosferycznego CO₂ do pentozy. Efektem następującego po tym cyklu reakcji jest powstanie dwóch cząsteczek kwasu 3-fosfoglicerynowego, będącego wyjściowym związkiem dla wielu szlaków anabolicznych. RuBisCO jest jedynym enzymem w przyrodzie, umożliwiającym włączenie materii nieorganicznej w organiczną na dużą skalę. Ze względu, na to że jest to enzym bardzo wolny, a także niedokładny, od lat poszukuje się metod na poprawę jego parametrów kinetycznych. Główną przeszkodą w tym przedsięwzięciu jest skomplikowany proces biosyntezy RuBisCO, utrudniający, a niekiedy uniemożliwiający testowanie potencjalnie korzystnych pod kątem kinetycznym mutacji enzymu. Do uzyskania aktywnej RuBisCO wymagany jest udział chaperoniny Cpn60/Cpn20/Cpn10 lub jej prokariotycznych homologów, a także udział szeregu tzw. chaperonów składania. Sugeruje się też, że już na wczesnych etapach fałdowania enzym ten wymaga udziału specyficznych homologów białek DnaK i DnaJ. Celem proponowanego projektu będą głównie próba identyfikacji a następnie charakterystyka biochemiczna specyficznego homologu (homologów) DnaJ, odpowiedzialnego za oddziaływanie z dużą podjednostką RuBisCO (RbcL).

Eksperymenty zostaną przeprowadzone na homologach DnaJ z *Synechocystis* sp. PCC 6803. RuBisCO z tej sinicy, w przeciwieństwie do innych cyjanobakterii, nie fałduje się w *E. coli*, co sugeruje brak wyspecjalizowanego czynnika fałdującego lub niewystarczającą homologię istniejących czynników w tej bakterii. U *Synechocystis* sp. PCC6803 kodowane jest w genomie siedem homologów białka DnaJ. Podczas projektu zostanie przetestowana zdolność wszystkich siedmiu DnaJ, do udziału w fałdowaniu RuBisCO z tej sinicy zarówno w *E. coli* jak i *in vitro*. W przypadku identyfikacji wyspecjalizowanego czynnika odpowiadającego za rozpoznanie RuBisCO, zostanie przeprowadzona jego charakterystyka biochemiczna (wyznaczenie stałej oddziaływania z RuBisCO, identyfikacja rozpoznawanej sekwencji.), a także podjęte zostaną próby wyznaczenia jego struktury. Identyfikacja wyspecjalizowanego czynnika odpowiadającego za rozpoznanie Rubisco pozwoli na ekspresję tego enzymu z *Synechocystis* sp. PCC 6803 w *E. coli*, czego dotychczas nie udało się dokonać. Możliwość ekspresji RuBisCO z tej modelowej sinicy w systemie bakteryjnym pozwoli na dalsze badania nad wyjaśnieniem mechanizmu biosyntezy RuBisCO.