

Życie na Ziemi uzależnione jest od fotosyntezy. To w jej wyniku rośliny produkują tlen, którym oddychamy, oraz substancje organiczne, zasilające niemal wszystkie ekosystemy. W procesie fotosyntezy szereg procesów i reakcji przekształca energię promieni słonecznych w energię chemiczną, a kluczową rolę w tym procesie odgrywają cząsteczki chlorofilu. Jednokomórkowe organizmy zaczęły syntetyzować chlorofil już ponad 2,7 miliarda lat temu i od tego czasu szlak biosyntezy chlorofilu cały czas ewoluuje, także dzisiaj.

W naszych badaniach skupiamy się na jednej, wyjątkowej reakcji ze szlaku biosyntezy chlorofilu. Odpowiedzialny za nią enzym – LPOR – jest aktywny tylko w świetle, a w ciemności oddziałuje z błonami lipidowymi tworząc rozległe białkowo-lipidowe sieci, tzw. ciała prolamellarne. Wykorzystując metody spektroskopowe, mikroskopię elektronową oraz techniki biologii molekularnej pokazaliśmy, że enzymy LPOR pochodzące od roślin i od bakterii istotnie różnią się sposobem działania. Bakteryjny LPOR tworzy w ciemności tylko krótkie, podłużne kompleksy, których aktywność nie zmienia się w zależności od obecności lipidów. Z kolei roślinne enzymy LPOR tworzą wielopodjednostkowe kompleksy o kształcie rurek, które spontanicznie organizują się w sieć ciała prolamellarnego. Co ciekawe, większość roślin okrytonasiennych ma dwie różne kopie enzymu LPOR: jedna z nich jest aktywna niezależnie od obecności lipidów, druga forma LPOR aktywna jest właściwie tylko kiedy oddziałuje z błoną lipidową.

W planowanym projekcie chcemy wyjaśnić jak zmieniały się własności enzymu LPOR w toku ewolucji w różnych grupach organizmów. Chcemy także wyjaśnić jaką fizjologiczną rolę pełni oddziaływanie LPOR z błonami lipidowymi. W wyniku naszych badań chcemy także określić jakie reszty aminokwasowe odpowiadają za oddziaływanie LPOR z lipidami, za wiązanie substratów, za zależną od światła aktywność, a także za tworzenie wielopodjednostkowe kompleksów.

W tym celu zmodyfikujemy komórki bakterii *E. coli* w taki sposób, aby same produkowały wszystkie elementy niezbędne dla enzymu LPOR do tworzenia kompleksów. Jednocześnie, przygotujemy biblioteki tysięcy wariantów genów LPOR, do których wprowadzimy losowo po kilka mutacji. Łącząc zmodyfikowane bakterie, biblioteki wariantów LPOR oraz wysokoprzepustowe metody przeszukiwania, znajdziemy i określimy wpływ setek mutacji na własności enzymu. Podejście to nazywa się ukierunkowaną ewolucją i zostało nagrodzone Nagrodą Nobla w 2018 roku.

Wszystkie zgromadzone dane będziemy analizować przy pomocy sieci neuronowej i uczenia maszynowego. W wyniku tych analiz opracujemy algorytm, który będzie w stanie przewidzieć własności nowoodkrytych genów LPOR oraz wygenerować sekwencję nowego, nieistniejącego naturalnie genu LPOR o pożądanym właściwościach. Algorytm ten umieścimy na stronie internetowej dostępnej dla każdego.