

Bioenergetyka ekstremofilnych archeonów: badania strukturalno-funkcjonalne oksydoreduktaz oddechowych u *Sulfolobus acidocaldarius*

Konwersja materii i energii to jeden z fundamentalnych procesów charakteryzujących organizmy żywe, wymagany do utrzymania ich homeostazy oraz do kopiowania i rozpowszechniania przenoszonej informacji genetycznej. W komórkach procesy te muszą zachodzić w sposób wydajny i bezpieczny. We wszystkich domenach życia jest to osiągnięcie w ten sam, uniwersalny sposób. Energia jest przetwarzana i magazynowana poprzez utrzymywanie stężeń ATP, ADP i P_i daleko od ich stężeń równowagowych, natomiast samo ATP służy za uniwersalny przenośnik, używany do wykonywania pracy. Istnieją różne sposoby na syntezę ATP, jednak najważniejszym z nich jest związany z działaniem łańcuchów oddechowych. Łańcuchy oddechowe to zestawy enzymów zakotwiczone w błonie, oksydoreduktaz, które przetwarzają energię zgromadzoną w różnych substratach na siłę protonomotoryczną, poprzez sprzężenie transportu elektronów przez swoje kofaktory z transportem protonów w poprzek błony. Wygenerowana siła protonomotoryczna jest wykorzystywana do produkcji ATP przez syntazę ATP.

Obecnie można uznać, że posiadamy znaczącą wiedzę o organizacji i budowie łańcuchów oddechowych u bakterii i w mitochondriach organizmów eukariotycznych. Postęp dokonany w technikach spektroskopowych oraz nowe metody, takie jak mikroskopia krioelektronowa, pozwoliły nam przyjrzeć się funkcjonowaniu enzymów oddechowych na poziomie molekularnym i subatomowym, a także poznać sposób w jaki organizują się one w większe struktury, zwane superkompleksami. Mimo tych postępów, nadal niewiele wiadomo na temat odpowiedników znanych kompleksów oddechowych u archeonów. W przypadku ekstremofilnych archeonów, skład łańcuchów oddechowych znacznie odbiega od znanych układów, a sposób ich działania pozostaje tajemnicą.

Sulfolobaceae to rodzina archeonów, które znane są z zasiedlania ekstremalnie nieprzyjaznych środowisk, takich jak gorące, siarkowe jeziora w rejonach o wysokiej aktywności wulkanicznej. Pokazano, że posiadają one unikalny zestaw enzymów odpowiedzialnych za konwersję energii, które wykazują zarówno różnice jak i podobieństwa to ich odpowiedników w bakteriach i mitochondriach. **Celem niniejszego projektu jest rozwikłanie, na poziomie molekularnym, struktury i funkcji superkompleksów oddechowych u *Sulfolobus acidocaldarius***, który niedawno został zaproponowany jako nowy organizm modelowy. Projekt będzie skupiony na nietypowej dehydrogenazie bursztynianu oraz superkompleksach cytochrom-oksydaza, które występują u *Sulfolobus*.

Do osiągnięcia celu postawionego w projekcie, użyte zostaną nowoczesne techniki spektroskopowe i biochemiczne, takie jak metoda impulsowa i fali ciągłej elektronowego rezonansu magnetycznego, techniki szybkiego zamrażania, miareczkowanie potencjometryczne, czasowo-rozdzielcza spektrofotometria z detekcją na macierzy diodowej, polarograficzne pomiary konsumpcji tlenu połączone ze spektrofotometrią światłowodową oraz elektroforeza białek w warunkach natywnych. Połączenie technik spektroskopii elektronowego rezonansu paramagnetycznego z metodami szybkiego zamrażania i miareczkowania potencjometrycznego pozwoli na wykrywanie i opisywanie własności paramagnetycznych kofaktorów i stanów pośrednich reakcji obecnych w próbkach enzymów. Pomiary kinetyczne w wykorzystaniem spektrofotometrii z detekcją na macierzy diodowej oraz oksymetria polarograficzna w różnych warunkach otoczenia zostaną użyte aby opisywać i przewidywać możliwe drogi oraz sekwencje transferu elektronów przez łańcuchy kofaktorów. Elektroforeza w warunkach natywnych, w połączeniu z elektroforezą w warunkach denaturujących oraz metodami spektroskopowymi, zostanie użyta do wykrycia, zidentyfikowania i opisanie struktur wyższego rzędu, tworzonych przez duże kompleksy enzymatyczne i ich superkompleksy. Do określenia struktury dwóch z badanych kompleksów enzymatycznych zostanie wykorzystana nowoczesna metoda mikroskopii krioelektronowej.

Oczekiwanym efektem projektu badawczego jest opisanie i wyjaśnienie struktury łańcucha kofaktorów i drogi transportu elektronów w dehydrogenazie bursztynianowej u archeonów, enzymie, który łączy szlak cykl Krebsa z łańcuchem oddechowym. Ponadto, projekt dostarczy nowych informacji o budowie molekularnej oraz sposobie działania dużych, błonowych superkompleksów oddechowych. W szerszym kontekście, projekt pozwoli zwiększyć zasób naszej wiedzy o łańcuchu oddechowym u *Sulfolobaceae*, co pozwoli uzyskać wgląd w mechanistyczne szczegóły, których nie obserwuje się w mezofilnych układach. Pozwoli nam to lepiej zrozumieć ewolucyjne korzenie układów oddechowych, a szczególnie sposób w jaki zachodzi ich adaptacja do warunków środowiskowych. Również z tej perspektywy, *Sulfolobaceae* stanowią interesujący obiekt dla astrobiologów, ponieważ warunki, w których żyją i rozwijają się, mogą istnieć na przykład w środkowych partiach atmosfery Wenus oraz w przypuszczalnie nadal aktywnych wulkanicznie terenach na Marsie.