

STRESZCZENIE POPULARNONAUKOWE

Zdolność do odczuwania i reagowania na warunki środowiskowe jest szczególnie ważne dla przeżycia organizmów jednokomórkowych, takich jak bakterie. W przypadku wielu mikroorganizmów adaptacja jest możliwa dzięki dwuskładnikowym systemom regulacyjnym (ang. *two-component systems*, TCSs) i szlakiem sygnałowym. Ogólny mechanizm transdukcji sygnałów jest następujący: w odpowiedzi na bodziec zewnętrzny (tzw. przekaźnik pierwotny) dochodzi do aktywacji lub degradacji specyficznych nukleotydów cyklicznych (tzw. przekaźniki wtórne), a tym samym wzmożenia sygnału. To z kolei inicjuje kaskadę reakcji, w której sygnał jest ostatecznie przekazywany na białka efektorowe, które oddziałując z elementami docelowymi, promują odpowiedź na bodziec, np. ekspresję genów przydatnych w danym środowisku. Transport sygnału występuje również w TCSs, ale w tym przypadku transportowaną cząsteczką jest grupa fosforanowa. Klasyczne TCSs składają się z kinazy histydynowej (HK) i regulatora odpowiedzi (ang. *response regulator*, RR). W odpowiedzi na bodziec zewnętrzny dochodzi do autofosforylacji konserwatywnej reszty histydynowej HK, a następnie do przeniesienia grupy fosforanowej na resztę kwasu asparaginowego RR. Obecnie coraz częściej pojawiają się doniesienia, że fosforylowane mogą być inne reszty aminokwasowe RR, takie jak seryna, treonina lub tyrozyna, co zachodzi z udziałem kinaz innych niż HK. Ostatnio po raz pierwszy wykazano, że jednym z takich enzymów jest przedstawiciel niedawno odkrytej rodziny kinaz bakteryjnych UbK (ang. *Ubiquitous bacterial Kinase*). Zarówno kanoniczny, jak i alternatywny sposób fosforylacji RR może powodować jego aktywację, dzięki czemu możliwa jest regulacja ekspresji genów. W ten sposób TCSs regulują zdolność do przeżycia w warunkach stresu środowiskowego, np. poprzez regulację genów biorących udział w tworzeniu biofilmu, czy form przetrwalnikowych, a także genów związanych z patogenicznością.

Opisane zjawiska występują m.in. u bakterii *Tannerella forsythia*, która jest jednym z patogenów powiązanych z występowaniem paradontozy. Przewidujemy, że w transdukcję sygnału, zarówno w szlakach sygnałowych, jak i w TCS, zaangażowane jest białko PorX_{Tf}, które jest głównym przedmiotem zaplanowanych badań. Prawdopodobnie PorX_{Tf} pełni funkcję RR, który wraz z nieznaną HK tworzy TCS, regulujący działanie Systemu Sekrecji Typu 9 (ang. *Type 9 Secretion System*, T9SS). *T. forsythia* wykorzystuje T9SS do transportu białek z cytoplazmy, przez peryplazmę, do błony zewnętrznej komórki. Wśród transportowanych białek tej bakterii są m.in. czynniki wirulencji, które ułatwiają efektywną kolonizację kieszonek dziąsłowych i atak na komórki gospodarza. W świetle doniesień o alternatywnych drogach aktywacji i bliskiego sąsiedztwa genów kodujących te białka, chcielibyśmy sprawdzić, czy kinaza UbK1_{Tf} fosforyluje PorX_{Tf}. Ponadto, przypuszczamy, że PorX_{Tf} może stanowić negatywny regulator w szlakach sygnałowych poprzez hydrolizę wtórnych przekaźników uwolnionych w odpowiedzi na bodźce zewnętrzne. W tym celu sprawdzimy aktywność enzymatyczną PorX_{Tf} wobec zestawu nukleotydów dostępnych w naszym laboratorium. Drugim zadaniem będzie zbadanie, czy PorX_{Tf} rzeczywiście pełni funkcję RR zaangażowanego w regulację systemu T9SS bakterii *T. forsythia*. W tym celu sprawdzimy fenotypy mutantów, zawierających mutacje w sekwencjach PorX_{Tf}. Na koniec zbadamy czy UbK1_{Tf} fosforyluje PorX_{Tf} i jak wpływa to na aktywność enzymatyczną białka.

Paradontoza stanowi nie tylko problem stomatologiczny, który w ciężkich przypadkach doprowadza do resorpcji kości i utraty zębów, ale jest również związana ze zwiększonym ryzykiem występowania chorób, takich jak choroba sercowo-naczyniowa, cukrzyca, zapalenie płuc, a nawet choroba Alzheimera. Choroby przyzębia występują u 20-50% światowej populacji, przy czym aż 11% tej populacji cierpi na ciężką paradontozę. Ze względu na to, że bakteria posiada wiele czynników wirulencji i wykorzystuje skomplikowane i nie do końca poznane mechanizmy umożliwiające jej patogeniczność, znalezienie skutecznej metody leczenia jest wyzwaniem. Obecne metody leczenia obejmują stosowanie antybiotyków, regularne usuwanie płytki bakteryjnej z powierzchni zębów, a w ciężkich przypadkach również zabiegi chirurgiczne. Szacuje się, że bezpośrednie koszty leczenia w samej Europie wynoszą ok. 2,5 miliarda euro, a koszty całkowite, obejmujące również koszty pośrednie wynikające ze spadku produktywności osób chorych, mogą wynosić ponad 150 miliardów euro rocznie. Tak ogromny koszt i zwiększone ryzyko zachorowania na inne choroby powoduje, że choroba jest obciążeniem nie tylko dla chorego, ale i dla społeczeństwa. W związku z tym, wyniki uzyskane w trakcie projektu poszerzą wiedzę o mechanizmach czynników wirulencji *T. forsythia* oraz regulacji szlaków sygnałowych. Ze względu na to, że te procesy są niezbędne bakterii do adaptacji to zmian środowiskowych, uzyskane wyniki mogą pozwolić na znalezienie efektywnej metody leczenia paradontozy.