

STRESZCZENIE POPULARNONAUKOWE (PL)

Sieć regulacyjna i interaktom transporterów leków/metabolitów błony wewnętrznej bakterii - implikacje dla fizjologii, lekooporności i wirulencji

Bakterie są organizmami jednokomórkowymi, które bardzo dobrze adaptują się do środowiska dzięki umiejętnemu gospodarowaniu zasobami i oszczędnemu wykorzystaniu repertuaru genów zakodowanych w genomie. Białka transporterowe zakodowane w każdym genomie są odpowiedzialne zarówno za pobieranie do komórki niezbędnych składników odżywczych, takich jak węglowodany, aminokwasy i metale, jak i za wypływ z komórki toksyn i środków przeciwdrobnoustrojowych. Odgrywają więc kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy komórkowej, dostarczając substancji potrzebnych do procesów komórkowych, jak również wydalając toksyczne, niekorzystne związki. Istnieje wiele różnych rodzin białek transporterowych, różniących się specyficznością substratową, strukturą i mechanizmami transportu. Częstość występowania genów transporterów u bakterii jest bardzo różna, ale zazwyczaj istnieje związek między środowiskiem życia komórki, a liczbą i rodzajem transporterów posiadanych przez bakterię, a liczba transporterów w genomie jest na ogół proporcjonalna do wielkości genomu.

Pseudomonas aeruginosa jest bakterią powszechnie występującą w różnych niszach ekologicznych i charakteryzującą się zdolnością do przetrwania w bardzo niekorzystnych, zmiennych warunkach środowiskowych. Będąc niebezpiecznym, oportunistycznym patogenem człowieka, jest często przyczyną zakażeń szpitalnych u pacjentów z obniżoną odpornością, w tym zmagających się z COVID-19. Główne cele projektu zakładają scharakteryzowanie transporterów leków/metabolitów (DMTs) pochodzących z *P. aeruginosa* jako modelowego organizmu bakterii Gram ujemnych. Przedmiotem badań będzie sieć regulacyjna i interakcyjna DMTs błony wewnętrznej wraz z jej możliwymi implikacjami dla fizjologii, oporności na leki i wirulencji. DMTs stanowią słabo scharakteryzowaną grupę białek, zaliczaną do transporterów wtórnych. Do tej pory u bakterii scharakteryzowano tylko kilku członków DMTs. U *P. aeruginosa* występują 33 geny transporterów leków/metabolitów. Trzy białka ArnE, ArnF, CntI mają przypisaną funkcję w *P. aeruginosa*, dla pozostałych rola w biologii tej bakterii czeka na wyjaśnienie.

Główne hipotezy badawcze zakładają, że: I/ DMTs biorą udział w utrzymaniu homeostazy komórki, poprzez wydalenie związków toksycznych, niekorzystnych oraz przypuszczalnie pełnią rolę posłańców odżywiania do wirulencji, łącząc status metaboliczny komórki, potencjał adaptacyjny z lekoopornością i patogenizacją; II/ DMTs biorą udział w regulacji funkcji błonowych, np. związanych z biosyntezą LPS, utrzymaniem integralności błon, czy kontrolą sekrecji; III/ DMTs tworzą skomplikowaną sieć interakcji ze swoimi domniemanymi partnerami, zaangażowanymi w kontrolę różnych procesów komórkowych i ogólnych strategii przeżycia (transport, odpowiedź na głód, stres, antybiotyki, ruchliwość, tworzenie biofilmu, wirulencja); IV/ C koniec niektórych DMTs jest prawdopodobnie zaangażowany w interakcje z partnerami komórkowymi po cytoplazmatycznej stronie błony, co pozwala na kontrolę funkcji błonowych, np. związanych z wydzielaniem toksyn. Jest to niezbadana i nieodkryta sieć interakcji, która może stanowić obiecujący obiekt badań i źródło inspiracji do projektowania nowych terapii antybakteryjnych.

Badania będą obejmować połączenie technik mikrobiologicznych i genetycznych, biologii molekularnej i wysokoprzepustowej genomiki, tj. konstruowanie zmutowanych szczepów *P. aeruginosa* i ich charakterystykę fenotypową; klonowanie genów i badanie wpływu nadekspresji genów na komórki bakteryjne; wykorzystanie analiz ChIP-seq i typu pull-down do identyfikacji sieci regulacyjnej DMTs; analizy interakcji białko-białko za pomocą bakteryjnego systemu hybrydowego i współczyszczania białek, znakowanie białek biotyną w żywych komórkach *P. aeruginosa* połączone z oczyszczaniem znakowanych białek i ich identyfikacją za pomocą spektrometrii mas.

Uzyskane wyniki pozwolą na poznanie DMTs, ich znaczenia dla bakterii oraz roli w sieci interakcji i biologii *P. aeruginosa*. Wiedza uzyskana w wyniku planowanych badań ułatwi nam zrozumienie fizjologii i strategii przetrwania patogennych bakterii takich jak *P. aeruginosa* oraz może pomóc w identyfikacji potencjalnych celów dla terapii przeciwbakteryjnych. Ponadto, uzyskane wyniki mogą pomóc w zaprojektowaniu wartościowych narzędzi do kontroli metabolizmu bakterii, które znajdują potencjalne zastosowanie w przemyśle, ochronie środowiska oraz w zwalczaniu patogenów roślinnych, zwierzęcych i ludzkich.