

Rośliny wykorzystują energię świetlną do wzrostu i przeprowadzania niektórych istotnych procesów fizjologicznych. Proces konwersji energii, znany jako fotosynteza, obejmuje ciąg reakcji transferu elektronów i protonów zachodzących w specyficznych białkach działających w charakterze maszyn molekularnych. Jedno z takich białek, cytochrom *b<sub>6</sub>f*, jest kompleksem nie tylko katalizującym reakcje łańcucha fotosyntetycznego, ale również jest postulowany jako element zaangażowany w regulację tego procesu. Jest tak dlatego, iż cytochrom *b<sub>6</sub>f* może kontrolować przełączanie pomiędzy dwiema możliwymi drogami, które są dostępne dla transferu elektronu zachodzącego pomiędzy centrami metalicznymi w trakcie fotosyntezy. Pomimo, iż utrzymuje się, że przełączanie takie jest konieczne dla zapewnienia wydajności energetycznej fotosyntezy w odpowiedzi na zmieniające się warunki naświetlenia, molekularny mechanizm takiej regulacji nie jest znany.

W naszych najnowszych badaniach, opisaliśmy wysokiej rozdzielczości strukturę roślinnego cytochromu *b<sub>6</sub>f*, która nieoczekiwanie ujawniła nowego partnera białkowego tego kompleksu: fosfoproteinę 9 (TSP9). Co ciekawe, TSP9 zajmuje w strukturze region w pobliżu miejsca gdzie mogą wiązać się potencjalni partnerzy białkowi cytochromu *b<sub>6</sub>f*, pełniący funkcję donorów elektronów. Wiązanie/uwalnianie tych białek może pełnić rolę w przełączaniu między drogami dla transferu elektronów. Co więcej, TSP9 samo w sobie może ulegać fosforylacji – specyficznej reakcji chemicznej powszechnie powiązanej z procesami regulatorowymi w żywych komórkach. W tym kontekście, odkrycie białka TSP9 jako nowego partnera cytochromu *b<sub>6</sub>f* otwiera całkowicie nowe perspektywy badań nad funkcją cytochromu *b<sub>6</sub>f* w regulacji fotosyntezy. Nasza hipoteza badawcza zakłada, że TSP9 jest brakującym ogniwem strukturalnym dla funkcjonalnego połączenia między cytochromem *b<sub>6</sub>f* a pozostałymi elementami zaangażowanymi w proces regulacji fotosyntetycznego transferu elektronów. W świetle tego ogólnego założenia formułujemy szereg intrygujących koncepcji, które są możliwe z mechanistycznego punktu widzenia, a także możliwe do przetestowania w badaniach eksperymentalnych. Koncepcje te rozważają możliwość odwracalnego bądź nieodwracalnego wiązania białka TSP9 do cytochromu *b<sub>6</sub>f* oraz rozważają specyficzne stany, w których wiązanie pozostałych partnerów białkowych dostarczających elektron cytochromowi *b<sub>6</sub>f* jest faworyzowane lub wykluczane.

W projekcie proponujemy przetestowanie tych koncepcji w oparciu o zastosowanie zaawansowanych technik spektroskopowych (optycznej, elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR), mikroskopii krioelektronowej (cryo-EM)) w powiązaniu z analizami biochemicznymi i inżynierią białkową. Opiszemy na poziomie molekularnym w jaki sposób TSP9 wiąże się do cytochromu *b<sub>6</sub>f*, jak wiązanie to wpływa na właściwości enzymu, jego aktywność enzymatyczną i zdolność do wiązania innych partnerów białkowych zaangażowanych w fotosyntetyczny transfer elektronów. Zdefiniujemy również czynniki wpływające na wiązanie TSP9 do cytochromu *b<sub>6</sub>f* oraz zbadamy dynamikę tego oddziaływania. Zbadamy również możliwe strukturalne zmiany zachodzące w obrębie samego TSP9 i ich konsekwencje dla procesów regulacji fotosyntezy. Opiszemy dynamikę oddziaływania TSP9 z błoną lipidową oraz przetestujemy czy samo TSP9 może bezpośrednio oddziaływać z pozostałymi partnerami białkowymi cytochromu *b<sub>6</sub>f*.

Całościowo, celem proponowanych badań jest przedstawienie kompleksowego i szczegółowego opisu podstawowych procesów molekularnych związanych z oddziaływaniem między białkiem TSP9 a cytochromem *b<sub>6</sub>f* oraz ich mechanistycznych konsekwencji. Uważamy, że ta wiedza, w sytuacji gdy białko TSP9 zostało dopiero co odkryte jako partner cytochromu *b<sub>6</sub>f*, stanowić będzie niezbędny fundament do dalszych badań mających na celu całościowe zrozumienie procesów regulujących fotosyntezę i udziału cytochromu *b<sub>6</sub>f* w tych procesach. W konsekwencji, wiedza uzyskana z realizacji projektu przyczyni się do lepszego zrozumienia tego, jak na poziomie molekularnym rośliny efektywnie wykorzystują energię świetlną i dostosowują się do zmiennych warunków środowiskowych. W dalszej perspektywie, odkryte zasady działania mogą dostarczyć użytecznych wskazówek przy celowanym projektowaniu roślin o wzmocnionym potencjale fotosyntetycznym dla zwiększenia efektywności upraw i hodowli roślinnych.