

Technologie ekspresji genetycznej rekombinowanych genów obecnie mieszczą się w głównym nurcie badań naukowych, zarówno podstawowych, jak i aplikacyjnych w biologii molekularnej, genetyce molekularnej, biotechnologii i medycynie. Klonowanie i ekspresja genów w heterologicznych organizmach a następnie izolowanie rekombinowanych białek, ich analiza i zastosowania stały się niezastąpionymi narzędziami nauki oraz przemysłu biotechnologicznego. Obecnie ww. technologie ewoluują do ‘nowej ery’ biologii syntetycznej i ewolucji *in vitro*, generując nowe genomy, genetyczne pętle regulacyjne, ścieżki metaboliczne, części biologiczne, urządzenia oraz nowe lub przeprojektowane systemy oparte na tych obecnych w Naturze. Pomimo jednak, że zostały opracowane tak wysoce zaawansowane biomolekularne technologie, ciągle jeszcze istnieją istotne obszary, w których są poważne problemy do rozwiązania, m.in.: częste problemy w biosyntezie białek z rekombinowanych genów, poddanych klonowaniu i ekspresji genetycznej. Białka te są często toksyczne dla rekombinowanego gospodarza. W odróżnieniu od DNA, które jest jednolite w kompozycji chemicznej i strukturalnej, każde białko stanowi odrębne wyzwanie. Białka wykazują różnorodne chemiczne i biologiczne właściwości z powodu ich kompozycji, złożonej z 20 aminokwasowych jednostek budulcowych, co powoduje nieograniczoną liczbę kombinacji i interakcji pomiędzy resztami aminokwasowymi w obrębie jednego polipeptydu, dodatkowo komplikowanych przez modyfikacje potranslacyjne. Proponowany projekt rozwiązuje ten fundamentalny problem ekspresji genetycznej rekombinowanych, toksycznych genów. Na całym świecie naukowcy mierzą się z problemami biosyntezy białek w wyniku ekspresji toksycznych genów. W projekcie proponowane jest zastosowanie inżynierii genetycznej, biologii syntetycznej i ewolucji *in vitro* do modyfikacji ekstremalnie toksycznego systemu biologicznego, istniejącego w Naturze: litycznego systemu bakteriofag-bakteryjny gospodarz, do biosyntezy toksycznych i problematycznych białek. W takim systemie, pomimo nieuniknionej śmierci gospodarza bakteryjnego pod koniec cyklu bakteriofaga, genom bakteriofagowy jest w stanie ekspymować własne geny, kodujące toksyczne białka. Stanowią one zarówno komponenty formującego się bakteriofaga, który może być opisany jako letalny, makromolekularny kompleks nukleoproteiny, jak i białka bakteriofagowe, przejmujące kontrolę nad metabolizmem gospodarza w celu produkcji bakteriofagów, zamiast komponent komórkowych. Proces ten ostatecznie powodujące rozpad komórek gospodarza. Kluczowym aspektem projektu jest selekcja odpowiedniego bakteriofaga do konstrukcji takiego ‘letalnego’ systemu ekspresji genetycznej. Planowane jest eksplorowanie bioróżnorodności w celu znalezienia najbardziej odpowiedniego systemu lub jego komponentów genetycznych. Jak do tej pory nie ma lepszego kandydata od mezofilnego-termofilnego bakteriofaga TP-84, infekującego kilka szczepów *Geobacillus stearothermophilus*. System biologiczny bakteriofag TP-84 / *Geobacillus* funkcjonuje w niezwykle szerokim zakresie temperaturowym 30-80°C, zatem jest odpowiedni do biosyntezy mezofilnych, termofilnych jak i części psychrofilnych (zimnolubnych) białek, jeśli są w stanie przetrwać temperaturę 30°C. Przeprowadziliśmy wstępne badania and systemem TP-84 / *Geobacillus*, opracowując metodę wprowadzania poddanych inżynierii genetycznej genomów TP-84 do komórek *Geobacillus* oraz zdołaliśmy dokonać produkcji rekombinowanego Białka Zielonej Fluorescencji, pochodzącego z meduzy *Aequorea victoria* w systemie TP-84 / *Geobacillus*. Dalsze planowane eksperymenty będą polegały na wprowadzaniu różnorodnych ‘części biologicznych’ do ww. systemu, m.in. promotorów transkrypcji, pętli regulacyjnych, fragmentów genomów innych bakteriofagów/genomów bakteryjnych, które utworzą nowego ‘mozaikowego’ bakteriofaga. Bakteriofag ten z kolei utworzy nowy rodzaj systemu ekspresji genetycznej. Poza proponowanymi tak wyspecjalizowanymi konstrukcjami genetycznymi, naszym długoterminowym celem jest wypromowanie bakteriofaga TP-84 jako modelu termofilnego bakteriofaga, będącego obiektem badań naukowych.