

Głównym celem projektu jest **zrozumienie interakcji i biologicznej roli miedzi (oraz innych jonów metali dwuwartościowych, takich jak cynk, nikiel, czy kobalt) z ważnym czynnikiem wirulencji: chaperoniną prątkową GroEL1.**

Rodzaj *Mycobacterium* obejmuje klinicznie istotne bakterie, takie jak *M. tuberculosis*, *M. smegmatis*, *M. bovis* i *M. leprae* – patogeny, które mają ogromny wpływ na zdrowie człowieka i hodowlę zwierząt. Projekt skupi się w szczególności na chaperoninach GroEL1 z niegruźliczych gatunków prątków z bogatą w histydyny C-końcową domeną (ang. Histidine Rich C-term Tail - HRCT). Histydyny są budulcem białek i aminokwasami zdolnymi skutecznie wiązać jony metali. Powodem zmierzania się z tym specyficznym problemem jest brak nowych, skutecznych terapii antybiotykowych, co skłania środowisko naukowe do poszukiwania nowych strategii antybakteryjnych – jedną z nich jest wykorzystanie antybakteryjnych właściwości metali. Niedawno odkryto, że powyższe białka są niezbędne do adaptacji metabolicznej i energetycznej w warunkach stresu komórkowego, dlatego stanowią obiecujące cele molekularne nowej generacji leków przeciw infekcjom bakteryjnym. Aby przezwyciężyć lekooporne zakażenia prątkami, potrzebna jest bardziej szczegółowa wiedza na temat biologii komórki bakteryjnej, zwłaszcza mechanizmów oporności i jej czynników wirulencji. Aby osiągnąć ten cel, konieczne są badania właściwości termodynamicznych kompleksów tworzonych przez potencjalne czynniki wirulencji i leki.

Naszym głównym celem w tym projekcie jest odpowiedź na następujące pytania:

1. Jaka jest charakterystyka wiązania Cu(II) i innych jonów M(II) do motywów GroEL1 HRCT? Jakie są tryby wiązania? Jakie są stabilności kompleksów metali? Jak różne aminokwasy wpływają na wiązanie? Jak mutacje wpływają na wiązanie?
2. Jaka jest różnica w oddziaływaniu między M(II) a samą domeną HRCT, a dłuższą domeną białkową o strukturze drugorzędowej i trzeciorzędowej?
3. Jakie są strukturalne i dynamiczne aspekty oddziaływania jonów M(II) z białkiem?
4. Jaka jest dokładna budowa kompleksów M(II)-GroEL1?
5. Jak eksperymenty *in vitro* odzwierciedlają obserwacje *in vivo*?

Ponieważ wiadomo, że jony metali odgrywają ważną rolę w procesie patogenezy gatunków prątków, bardzo ważne jest zbadanie interakcji jonów metali z potencjalnymi celami białkowymi. W tym konkretnym projekcie określimy zależne od pH właściwości termodynamiczne kompleksów HRCT-M(II), scharakteryzujemy strukturę i dynamikę M(II)-GroEL1 oraz przeprowadzimy eksperymenty na żywych komórkach, aby zobaczyć, jakie są konsekwencje delekcji białka GroEL1 na przeżywalność komórek w różnych warunkach w *Mycobacterium smegmatis*. Chcemy zaproponować unikalne podejście - połączenie (i) podejścia chemii bionieorganicznej do peptydów z (ii) zaawansowanym NMR (peptydy/domeny białka) dający nam informacje o miejscach wiązania wraz z zależnością struktura – dynamika, (iii) krystalografia oraz (iv) w badaniach *in vivo* na komórkach prątków, co daje nam możliwość stworzenia kompleksowego obrazu badanych układów. To jest prawdziwie multidyscyplinarne i nowatorskie podejście, które pozwoli nam stworzyć szczegółowy obraz maszynarii GroEL1 zależnej od metali w prątkach.

Postaramy się połączyć zalety podejścia chemii bionieorganicznej, technik NMR w roztworach, metod krystalografii rentgenowskiej oraz eksperymentów inżynierii genetycznej/mikrobiologicznej, umożliwiając pełne zrozumienie i opisanie, na poziomie molekularnym, interakcji domen wiążących metale i całych białek natywnych z metalami. Podejście naukowe, połączenie najnowocześniejszych metodologii i aktualności tematu sprawiają, że projekt ten jest wysoce pożądany i nowatorski.