

Bakterie produkują różnorodne białka, które muszą zostać wydzielone poza komórkę, aby pełnić funkcję biologiczną. Wśród nich wiele białek uczestniczy w patogenezie, będąc szkodliwymi cząsteczkami dla zaatakowanego organizmu (również ludzi) i powodując rozwój chorób. Jako że bakterie Gram-ujemne są otoczone dwoma błonami biologicznymi, proces sekrecji wymaga specyficznych i często złożonych, białkowych kompleksów (nazywanych systemami sekrecji) tworzących kanał w błonie. Dotychczas zostało odkrytych jedenaście różnych typów systemów sekrecji i są one intensywnie badane, gdyż wydają się idealnym celem terapii antybakteryjnych.

Bakterie należące do gromady Bacteroidetes zamieszkują niemal wszystkie ekosystemy na Ziemi. Występują licznie w glebie, oceanach czy wodach słodkich, ale również w przewodach pokarmowych zwierząt, w tym człowieka. Bakterie te często spełniają pożyteczne funkcje, pomagając w przyswajaniu złożonych związków pokarmowych, które nie mogłyby być inaczej metabolizowane przez człowieka. Niektóre bakterie z tej gromady mogą stać się jednak szkodliwe, gdy wydostaną się poza układ pokarmowy, inne są patogenne z natury. Zarówno pożyteczne jak i patogenne bakterie z gromady Bacteroidetes wykorzystują zróżnicowany repertuar białek na powierzchni błony zewnętrznej, aby przystosować się do środowiska zewnątrzkomórkowego. Liczne z tych białek są wydzielane przez System Sekrecji Typu 9 (ang. *Type 9 Secretion System*, T9SS), który występuje tylko w obrębie tej gromady. Wydzielanie wielu białek jest niezależne od T9SS, jednakże mechanizm ich sekrecji jest całkowicie niepoznany. Wśród nich wymienić można lipoproteiny powierzchniowe (ang. *surface lipoproteins*, SLPs) – cząsteczki posiadające różnorodne funkcje i aktywności i będące przyłączone do błony zewnętrznej poprzez kotwicę lipidową. Ponieważ SLPs spełniają fundamentalną rolę w fizjologii bakterii z gromady Bacteroidetes, zrozumienie mechanizmu ich sekrecji jest niezwykle istotne. W niniejszym projekcie zidentyfikowaliśmy system sekrecji lipoprotein (ang. *lipoprotein secretion system*, LSS) w Bacteroidetes, dlatego też głównym celem tego projektu jest scharakteryzowanie pod względem strukturalnym i funkcjonalnym tego systemu.

*Porphyromonas gingivalis* – patogenna bakteria należąca do gromady Bacteroidetes, posłużyła jako organizm modelowy do odkrycia LSS. Bakteria ta produkuje szereg czynników wirulencji mających wpływ na rozwój paradontozy i innych chorób takich jak reumatoidalne zapalenie stawów, choroby naczyniowe, choroba Alzheimera czy zachłystowe zapalenie płuc. Wśród istotnych czynników wirulencji tej bakterii znajdują się fimbrie – długie włókna wystające z błony zewnętrznej i pozwalające na adhezję do komórek innych bakterii lub komórek gospodarza. Fimbrie są złożone z podjednostek wydzielanych jako lipoproteiny, dlatego przypuszczaliśmy, że system umożliwiający ich sekrecję, będzie również umożliwiał sekrecję innych SLPs. Dzięki naszym badaniom mutagenicznym zidentyfikowaliśmy LSS w *P. gingivalis*, który okazał się szeroko rozpowszechniony w innych bakteriach z gromady Bacteroidetes.

W tym projekcie rozwiążemy strukturę przestrzenną LSS, aby pokazać z atomowymi szczegółami mechanizm sekrecji. Określimy również funkcję poszczególnych składników LSS i zidentyfikujemy nowe białka biorące udział w biosyntezie lipoprotein. Wiele lipoprotein spełnia swoje funkcje biologiczne wewnątrz komórki, więc sekrecja jest zależna od specyficznego sygnału w ich sekwencji aminokwasowej. Dlatego też określimy aminokwasowy sygnał do eksportu lipoprotein (ang. *lipoprotein export signal*, LES) umożliwiający sekrecję przez LSS i na podstawie LES oraz spektrometrii mas zidentyfikujemy wszystkie SLPs produkowane przez *P. gingivalis*.

Wyniki uzyskane w tym projekcie przyczynią się do lepszego zrozumienia fundamentalnego procesu biogenezy i sekrecji lipoprotein w Bacteroidetes. Jako że SLPs są często używane jako antygeny w szczepionkach, ten projekt ułatwi identyfikację nowych SLPs i może przyczynić się do odkrycia obiecujących kandydatów na antygeny do szczepionek opartych na SLPs. Co więcej, białka zaangażowane w biogenezę i sekrecję SLPs są unikatowe dla bakterii i nie występują w organizmach wyższych, dlatego te procesy są atrakcyjnymi celami do odkrywania nowych związków antybakteryjnych.