

Białka błonowe pośredniczą w podstawowych procesach biologicznych, takich jak wykrywanie sygnałów chemicznych, przekazywanie sygnału, koordynacja interakcji pomiędzy komórkami, czy transport przez błony biologiczne. Tę ostatnią funkcję pełnią m.in. białka z rodziny ABC (białka z kasetą wiążącą ATP, ang. *ATP – Binding Cassette Protein*). Transportery ABC są powszechne we wszystkich organizmach żywych, jednak w roślinach są one wyjątkowo liczne. Uważa się, że jest to wynik adaptacji roślin do osiadłego trybu życia w środowisku lądowym. Jednym z istotnych elementów tej adaptacji było wytworzenie wyspecjalizowanego, a jednocześnie różnorodnego metabolizmu wtórnego, co wymagało wykształcenia dedykowanego systemu dystrybucji, którego elementem są między innymi transportery ABC.

Przykładem takiego transportera jest ABCG46 z modelowej rośliny bobowatej *Medicago truncatula*. Białko to zaangażowane jest w prawidłowe funkcjonowanie systemu obronnego *Medicago* podczas ataku patogenu poprzez modulację szlaku fenylopropanoidowego, w którym powstaje medikarpina (główna substancja obronna). W naszych wcześniejszych badaniach udało nam się zidentyfikować molekuły transportowane przez MtABCG46. Są to niskocząsteczkowe związki, będące wczesnymi prekursorami medikarpiny – kwas p-kumarowy i likwiritigenina. Co ciekawe, białko MtABCG46 wykazuje dużą selektywność względem transportowanych molekuł. Sprawdziliśmy, że inne związki, pomimo wysokiego podobieństwa strukturalnego do ww. kwasu p-kumarowego i likwiritigeniny, nie są transportowane przez to białko. Wiemy, że jednym z elementów determinujących selektywność białka MtABCG46 jest budowa tuneli wiodących do wnętrza transportera. Jednak wiedza dotycząca bezpośredniego oddziaływania transportowanych molekuł z badanym białkiem podczas transportu przez błony biologiczne wciąż pozostaje zagadką.

Uzyskane wyniki wstępne pokazują, że zaproponowane przez nas rozwiązania, oparte o dedykowane konstrukcje genetyczne, wprowadzone do komórek zawieszinowych tytoniu BY2 dają nadzieję na wydajną produkcję i oczyszczanie białka MtABCG46, tak aby możliwe było przeprowadzenie szczegółowych analiz dotyczących oddziaływań i relacji strukturalnych białko-ligand. Oprócz zwiększania skali produkcji i oczyszczania białka, planujemy rekonstrukcję oczyszczonego MtABCG46 w pęcherzykach lipidowych, co umożliwi nam przeprowadzenie testów aktywności biochemicznej i bezpośrednich eksperymentów transportu, a co za tym idzie określenie wpływu obecności różnych molekuł na aktywność badanego białka. Dodatkowo w oparciu o metody biofizyczne spróbujemy zbadać bezpośrednio interakcje białko-ligand, a wykorzystując mikroskopię krioelektronową chcemy zobrazować strukturę białka MtABCG46 oraz jego kompleksów z ligandami podczas procesu transportu.

Wyniki uzyskane na podstawie proponowanych badań (połączenie analizy strukturalnej i biologii transportu) mogą stać się źródłem szczegółowej wiedzy o mechanizmie działania roślinnych białek ABC, w tym o selektywnym wiązaniu transportowanych molekuł, czy przebiegu zmian konformacyjnych podczas transportu. Co więcej, mogą one również przyczynić się do opracowania nowych rozwiązań, np. w biotechnologicznej produkcji metabolitów wtórnych, czy uzyskania nowych odmian roślin bobowatych posiadających pożądane cechy, takie jak m.in. lepsze wartości odżywcze lub większa naturalna odporność na choroby oparta na zwiększonym wydzielaniu związków fenolowych, bez konieczności wprowadzania GMO.