

*Helicobacter pylori* jest powszechnie występującą u ludzi bakterią, powodującą chroniczne stany zapalne żołądka. Nielezione infekcje mogą doprowadzić do wystąpienia choroby wrzodowej, a nawet raka żołądka. *H. pylori* atakuje komórki nabłonka żołądka, wykorzystując różnorodne czynniki zjadliwości. Wśród nich można wyróżnić białka umożliwiające przyleganie do komórek gospodarza (adhezyny), proteazy niszczące połączenia między komórkami nabłonka, toksynę wakuolizującą VacA. Wymienione czynniki zjadliwości są białkami, które aby osiągnąć docelową lokalizację (błona zewnętrzna bakterii lub środowisko pozakomórkowe) są transportowane z cytoplazmy (miejsce syntezy) przez błonę wewnętrzną do periplazmy za pomocą specjalnej maszyny translokacyjnej Sec. W procesie tym bardzo ważną rolę pełni białko SecA, które wprowadza prekursor białka do kanału transbłonowego Sec i aktywnie bierze udział w jego przenoszeniu, czerpiąc energię z hydrolizy ATP. Ponieważ transportowane białka opuszczają kanał Sec w formie rozwiniętej, są narażone na wytworzenie niewłaściwych oddziaływań, mogących prowadzić do powstania szkodliwych dla komórki agregatów. Temu zjawisku przeciwdziała pozacytoplazmatyczny system kontroli jakości białek (PSKJB), który grupuje białka opiekuńcze, katalizatory zwijania i proteazy. Łącznie białka te zapobiegają agregacji białek, zapewniają ochronę białkom wędrującym do błony zewnętrznej lub opuszczającym komórkę, zapewniają periplazmatycznym substratom osiągnięcie prawidłowej struktury i usuwają błędnie zwinięte i nieprawidłowe białka poprzez ich degradację. Przypuszcza się także, że niektóre składniki PSKJB mogą także współdziałać z maszyną Sec w procesie uwalniania białek z kanału transportującego, co mogłoby zwiększać wydajność eksportu z cytoplazmy. Translokacja białek przez błonę wewnętrzną, a następnie ich zwijanie lub przemieszczanie do błony zewnętrznej jest relatywnie dobrze opisane u modelowej bakterii *Escherichia coli*. Natomiast w przypadku bakterii *H. pylori* proces ten jest bardzo słabo poznany. Nie został scharakteryzowany system PSKJB u *H. pylori*. Większość składników tego systemu została wytypowana na podstawie analiz *in silico* sekwencji genomów tych bakterii, natomiast brak jest analiz genetycznych, proteomicznych, biochemicznych i funkcjonalnych PSKJB. Należy tu zaznaczyć, że *H. pylori* znacząco się różni od *E. coli* i nie można przypisać funkcji przypuszczalnym składnikom PSKJB u *H. pylori* na zasadzie analogii do ich odpowiedników u *E. coli*. W związku z tym celem niniejszego projektu jest zbadanie działania PSKJB u bakterii *H. pylori*. W szczególności planujemy uzyskać zmutowane szczepy *H. pylori*, niezdolne do syntezy wybranych składników PSKJB, i określić efekty mutacji. Sprawdzimy, czy delekcje pojedynczych genów lub ich kombinacji wpłyną na wzrost bakterii w warunkach fizjologicznych i stresowych. Zbadamy wydajność translokacji przez Sec stosując modelowe białka reporterowe, określimy zmiany, jakie zachodzą w błonie zewnętrznej zmutowanych komórek, porównamy skład białkowy komórek zmutowanych do niezmutowanych. Podejmiemy próbę identyfikacji białek, które są substratami wybranych periplazmatycznych białek opiekuńczych. Zbadamy, jakie są fizjologiczne efekty mutacji w SecA, białku będącym motorem maszyny Sec, i czy obniżenie aktywności SecA wpływa na działanie PSKJB. Wreszcie, sprawdzimy jak zaburzenia procesu translokacji i działania PSKJB przekładają się na wirulencję bakterii *H. pylori*. Ostatnie zadanie przeprowadzimy we współpracy z profesorem Silją Wessler z Uniwersytetu w Salzburgu (Austria), która jest niekwestionowanym specjalistą w badaniach wirulencji *H. pylori* i oddziaływaniami tej bakterii w komórkami gospodarza. Zakładamy, że pomyślna realizacja zaplanowanych zadań badawczych umożliwi przedstawienie modelu funkcjonowania PSKJB i jego współdziałania z maszyną Sec u bakterii *H. pylori*. Scharakteryzujemy własności wybranych periplazmatycznych białek opiekuńczych i określimy ich substraty. Pogłębienie wiedzy w tym zakresie pozwoli także na lepsze zrozumienie mechanizmów transportu i dojrzewania czynników wirulencji u tej bakterii. Zgodnie z naszą wiedzą, niniejszy projekt jest pierwszą próbą poznania substratów, partnerów i funkcji periplazmatycznych białek opiekuńczych u *H. pylori* i powiązania ich roli z działaniem maszyny translokacyjnej Sec oraz wirulencją tych bakterii.