

Charakterystyka białek kodowanych przez operon *hmu* z *Porphyromonas gingivalis* innych bakterii

STRESZCZENIE

Celem pracy doktorskiej była charakterystyka białek kodowanych przez operon *hmu* z *Porphyromonas gingivalis* oraz innych bakterii. Szczegółowe cele obejmowały dalszą charakterystykę białka HmuY w aspekcie przyswajania hemu przez bakterie *P. gingivalis* oraz zapoczątkowanie badań nad mechanizmami przyswajania hemu z udziałem wybranych homologów białka HmuY z innych periodontopatogenów na przykładzie bakterii *Prevotella intermedia* (białka PinA i PinO) i *Tannerella forsythia* (białka Tfo).

Białko HmuY z bakterii *P. gingivalis* wiąże nie tylko hem, ale również pochodne hemu, Fe(III)MPIX (mezohem) i Fe(III)DPIX (deuterohem), a także hem, w którym żelazo zastąpiono innymi metalami: Ga(III)PPIX, Mn(III)PPIX, Cu(II)PPIX, Co(III)PPIX, Zn(II)PPIX, Ni(II)PPIX. Jednakże wiązanie metaloporfiryn zawierających inne metale niż żelazo zachodzi w odmienny sposób w porównaniu z wiązaniem hemu, mezohemu i deuterohemu. Uzyskane wyniki wskazują na koordynację z wykorzystaniem dwóch reszt histydyny jedynie w przypadku Co(III)PPIX, jednak z mniejszą siłą w porównaniu do wiązania hemu. W przypadku pozostałych metaloporfiryn stwierdzono występowanie wiązania jedynie z udziałem jednej reszty H134 lub H166. Analiza stabilności wariantów białka HmuY, w których pojedyncze reszty tryptofanu zastąpiono resztami alaniny lub tyrozyny, wykazała zmiany struktury trzeciorzędowej białka zachodzące pod wpływem wiązania hemu.

W odróżnieniu od bakterii *P. gingivalis* i *T. forsythia*, które posiadają tylko jedną kopię genu kodującego białko (odpowiednio HmuY i Tfo), u bakterii *P. intermedia* 17 zidentyfikowano dwa geny kodujące homologi białka HmuY (PinA i PinO). Nie wykazano obecności homologów białka HmuY u bakterii *T. denticola*, będących trzecim składnikiem "czerwonego kompleksu". Skorygowano sekwencję nukleotydową oraz aminokwasową białka Tfo. Badane homologi białka HmuY w porównaniu z białkiem z bakterii *P. gingivalis* wykazują nie tylko różnice w sekwencji aminokwasowej, przewidywanej strukturze trzeciorzędowej białka, ale także nie posiadają dwóch reszt histydyny zaangażowanych

w białku HmuY z bakterii *P. gingivalis* w koordynację żelaza obecnego w hemie. Badane homologi białka HmuY wiążą hem, ale w sposób odmienny w porównaniu z białkiem HmuY z bakterii *P. gingivalis*. W odróżnieniu od białka HmuY, badane homologi nie są w stanie pozyskiwać hemu obecnego w hemoproteinach gospodarza. Białko HmuY z bakterii *P. gingivalis* jest w stanie nie tylko wychwytywać efektywnie hem obecny w hemoproteinach gospodarza, ale także hem związany przez białka PinA i PinO. Przeprowadzone próby analizy struktury trzeciorzędowej badanych białek doprowadziły do uzyskania satysfakcjonujących kryształów jedynie w przypadku białka HmuY ze skompleksowanym hemem oraz do uzyskania sferolitów w przypadku białka PinO, ale tylko w kompleksie z hemem.

Wydaje się, że w środowisku gospodarza homologi białka HmuY produkowane przez inne periodontopatogeny biorą udział w przyswajaniu hemu. Jednakże białko HmuY z bakterii *P. gingivalis* może wykorzystywać mechanizmy przyswajania hemu innych bakterii, występujących w wielobakteryjnym biofilmie jamy ustnej, w celu zapewnienia podstawowych związków odżywczych, jakimi są żelazo i pierścień PPIX oraz nasilenia własnej wirulencji.