

Udział białka PgFur w wirulencji bakterii

Porphyromonas gingivalis

Choroby przyzębia zaliczane są do najczęstszych chorób infekcyjnych człowieka. Charakteryzują się one obniżeniem linii dziąseł i kości wyrostka okołozębowego, degradacją tkanek podporowych zębów, co w konsekwencji prowadzi do krwawienia i wypadania zębów. Choroby te zostały powiązane z wieloma chorobami układowymi, takimi jak: osteoporoza, choroby układu krążenia, cukrzyca, reumatoidalne zapalenie stawów. Za główny czynnik etiologiczny przewlekłych chorób przyzębia uważa się bakterię *Porphyromonas gingivalis*. Bakteria ta produkuje wiele czynników wirulencji, w tym białko HmuY, gingipainy oraz hemaglutyniny. Wpływają one na odpowiedź immunologiczną gospodarza wobec bakterii oraz są niezbędne do pozyskiwania substancji odżywczych ze środowiska zewnętrznego.

Zdolność bakterii *P. gingivalis* do wzrostu i wirulencji jest zależna od dostępu hemu i żelaza w środowisku zewnętrznym. Wśród wielu bakterii za regulację pobierania i homeostazy żelaza odpowiada białko Fur (z ang. *Ferric uptake regulator*). Bakteria *P. gingivalis* koduje homolog tego białka, określony w tej pracy jako PgFur. Białko to posiada niski stopień homologii w porównaniu do znanych przedstawicieli tej rodziny. Nie posiada również typowych reszt aminokwasowych zaangażowanych w wiązanie jonów żelaza. W pracy wykazano, iż białko PgFur posiada miejsce wiązania jonów cynku, które pełnią funkcję strukturalną i są koordynowane przez reszty cysteiny w pozycji 107, 110, 148 i 151. Pokazano również, iż białko PgFur posiada nietypowy, dodatnio naładowany C-koniec niezbędny do prawidłowego działania białka.

Analizę funkcji białka przeprowadzono z wykorzystaniem dwóch szczepów bakterii *P. gingivalis* wykazujących różny fenotyp i porównano je z fenotypem wykazywanym przez szczepy pozbawione funkcjonalnego genu *pgfur*. Uzyskane wyniki pokazały, iż białko PgFur nie reguluje ekspresji typowych genów zaangażowanych w pobieranie żelaza i hemu. Reguluje ono natomiast ekspresję genów związanych ze wzrostem bakterii, wpływa na jej zdolność do tworzenia biofilmu oraz oddziaływanie z innymi periodontopatogenami. Białko PgFur reguluje m.in. ekspresję genów *kgp*, *rgpA*, *rgpB*, a także genów operonu *hmu*, kodujących główne czynniki wirulencji bakterii *P. gingivalis*. Stwierdzono także udział białka PgFur w regulacji procesu glikozylacji, hemolizy oraz wykazano jego potencjalny udział w odpowiedzi bakterii na stres oksydacyjny. Białko PgFur wpływa także na zdolność bakterii

do oddziaływania z makrofagami i ich infekcji, a także na zdolność do przeżycia bakterii w ich wnętrzu oraz rozprzestrzeniania się między nimi.

W szczepach pozbawionych funkcjonalnego białka PgFur wykazano zmianę w ekspresji genów kodujących białko regulatorowe OxyR, dwuskładnikowe systemy regulatorowe (TCS), alternatywne czynniki sigma, a także dwa białka regulatorowe z rodziny Crp/Fnr o nieznannej dotąd funkcji, nazwane w tej pracy PgCrp oraz PgCrp/Fnr. Ze względu na powiązanie homologów tych ostatnich białek z wirulencją innych bakterii, postanowiono zbadać ich wpływ na fenotyp bakterii *P. gingivalis*. W tym celu skonstruowano szczepy pozbawione funkcjonalnego genu *pgcrp* lub *pgcrp/fnr* i porównano ich fenotyp z fenotypem szczepu dzikiego A7436. Białko PgCrp wydaje się być zaangażowane w regulację ekspresji genów odpowiedzialnych za wzrost bakterii *P. gingivalis* oraz ich odpowiedź na stres oksydacyjny. Szczep ten wykazywał również zwiększenie stopnia formowania biofilmu oraz oddziaływania z innymi periodontopatogenami, a także obniżoną zdolność do infekowania makrofagów. Wykazano, że białko PgCrp/Fnr wpływa na zdolność bakterii do wiązania hemu, a także na oddziaływanie bakterii z makrofagami oraz reguluje ekspresję genów kodujących główne czynniki wirulencji bakterii *P. gingivalis*. Funkcja tego białka jest skorelowana z fazą wzrostu oraz dostępnością hemu w środowisku zewnętrznym.

Badania przeprowadzone w ramach niniejszej pracy pokazały, iż białko PgFur jest zaangażowane w regulację ekspresji genów kodujących czynniki wirulencji bakterii *P. gingivalis*. Wykazano, iż usunięcie genu *pgfur* wpływa w różnym stopniu na fenotyp szczepów bakterii *P. gingivalis* o odmiennym tle genetycznym. Najprawdopodobniej białko PgFur inicjuje siatkę oddziaływań pomiędzy czynnikami transkrypcyjnymi, w tym PgCrp oraz PgCrp/Fnr prowadząc do regulacji wirulencji bakterii *P. gingivalis*.