

Streszczenie

Temat:

Rola produktu genu *pro* bakteriofaga P1 w morfogenezie wirionów

Aktywność białek proteolitycznych zwanych inaczej proteazami jest niezbędna podczas procesu dojrzewania główek wielu bakteriofagów o dwuniciowym DNA. Kierując się pierwszymi doniesieniami mogącymi świadczyć o proteolitycznej funkcji białka Pro podczas formowania się wirionów bakteriofaga P1, na podstawie obecności charakterystycznych motywów sekwencji jak i struktury, przyporządkowano białko Pro do rodziny S77, klanu peptydaz SH wg klasyfikacji MEROPS. Doświadczalnym potwierdzeniem udziału białka Pro w proteolitycznym procesowaniu białek preglówki bakteriofaga P1, była konstrukcja mutantów niezdolnych do syntezy białka Pro, których potomstwo charakteryzowało się zaburzoną morfologią wirionów (brak połączenie główek i ogonków), a przez to było defektywne w infekowaniu komórek bakteryjnych. Mutanty niosące nieaktywną wersję genu *pro*, okazały się natomiast zdolne do lizy komórek po indukcji rozwoju litycznego profaga P1. Na podstawie analiz składu białkowego wirionów wykazano, iż u mutantów nie dochodzi do procesowania trzech białek wirionu – gp23, DarA oraz DdrB, będących substratami dla proteazy Pro. Geny *gp23*, *darA* i *pro* sklonowano, a także oczyszczono ich produkty. Aby pozyskać proteazę Pro w jej aktywnej formie opracowano metodę nadprodukcji umożliwiającą redukcję toksycznego wpływu Pro na komórkę. Funkcjonalność syntetyzowanej na matrycy plazmidu proteazy Pro potwierdzono konstruując dwa systemy *in vivo*.

W pierwszym aktywność proteazy Pro komplementuje funkcje bakteriofaga P1 ze inaktywowanym genem *pro*. W drugim proteoliza odbywa się bez udziału białek P1 innych niż Pro i białka substratowe. Na podstawie wyż. wym. doświadczeń zademonstrowano, iż białko Pro jest jedyną proteazą pełniącą funkcje morfogenetyczne podczas rozwoju litycznego bakteriofaga P1. Dodatkowo pokazano, iż proteaza Pro, do swojej aktywności nie wymaga wolnych końców, co czyni z niej atrakcyjne narzędzie biotechnologiczne np. do oczyszczania rekombinowanych białek. Co więcej jej synteza równoległe z substratami istotnie obniża toksyczność.