

Przetrwalniki bakterii *Bacillus subtilis* są nieaktywnymi metabolicznie formami spoczynkowymi i wyróżniają się wysoką odpornością na szkodliwe czynniki środowiskowe. Gdy warunki środowiskowe stają się bardziej korzystne inicjowany jest proces kiełkowania przetrwalnika, który prowadzi do powstania formy wegetatywnej. Sygnałem biochemicznym dla rozpoczęcia germinacji może być wzrost stężenia specyficznych induktorów — germinantów — w środowisku spora. Inicjacja procesu przebiega przy udziale receptorów kiełkowania.

Jednym ze scharakteryzowanych receptorów kiełkowania jest receptor GerA, który był głównym przedmiotem niniejszej pracy badawczej. Receptor GerA indukuje proces kiełkowania w odpowiedzi na L-alaninę i/lub L-walinę i zbudowany jest z trzech podjednostek: A, B i C. Dane literaturowe pokazują, że wszystkie podjednostki są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania receptora. Receptor GerA, na którym skupia się ta praca doktorska zlokalizowany jest w wewnętrznej błonie przetrwalnika, a dwie z jego podjednostek – GerAA i GerAB – są integralnymi białkami błonowymi. Struktura receptora oraz mechanizm przekazywania sygnału inicjującego proces germinacji, pomimo licznych badań, jest nieznany.

Głównym celem pracy było opracowanie modelu teoretycznego receptora GerA oraz zbadanie potencjalnych miejsc oddziaływania germinantów inicjujących proces kiełkowania. Model ten, biorąc pod uwagę silny związek między strukturą a funkcją biologiczną makromolekuł, może posłużyć do dalszych badań, mających na celu wyjaśnienie mechanizmu inicjacji kiełkowania.

W pierwszym kroku zbudowałam modele teoretyczne podjednostek receptora (białek GerAA, GerAB oraz GerAC). Przeprowadziłam modelowanie homologiczne cząsteczek białka. Uzyskane modele podjednostek kompleksu posłużyły mi następnie do zbudowania modeli receptora oraz określenia potencjalnych miejsc oddziaływania germinantów. Przygotowałam również modele mutantów białka GerAA, za pomocą których wyjaśniłam wpływ struktury na fenotyp mutantów.

Aby przewidzieć potencjalne miejsca oddziaływania germinantów z receptorem wykorzystałam metody dokowania molekularnego. Ponieważ w literaturze nie ma wzmianek o tym, gdzie dokładnie znajduje się kieszeń wiążąca ligandy, a jedynie mówi się ogólnie o podjednostkach A i B jako potencjalnie wiążących germinanty, w badaniach wykorzystałam dokowanie globalne, które dostarczyło informacji o lokalizacji potencjalnych miejsc oddziaływania.

Na podstawie obserwacji podobieństw procesu łączenia się receptorów chemotaksji oraz receptorów kiełkowania, a także homologów użytych do modelowania podjednostek, podczas badań przyjąłam, że podjednostki mogą formować homodimery lub homotrimery, które następnie, przy udziale białka GerD łączą się, tworząc w receptor.

Na podstawie uzyskanych wyników zaprezentowane zostały dwa modele receptora GerA. Pierwszy zbudowany z wykorzystaniem monomerów podjednostek, natomiast drugi model zbudowany jest z dimerów, a zatem tworzy, podobnie jak receptory chemotaksji, trimer dimerów. Dokowanie germinantów do podjednostek oraz kompleksu receptora wskazuje kilka potencjalnych miejsc interakcji, które odpowiadają za inicjację procesu kiełkowania.