

Synteza białek jest złożonym procesem obejmującym wiele etapów, a błędy na dowolnym z nich mogą prowadzić do nieprawidłowo sfałdowanych, fragmentarycznych lub źle zlokalizowanych białek, które są нефunkcjonalne lub nawet toksyczne. W komórkach rozwinęły się zatem mechanizmy ochronne, które zapewniają ich wydajną syntezę, zwijanie i składanie, jednocześnie usuwając nieprawidłowo sfałdowane białka, które mogłyby zakłócić funkcjonowanie komórki. Bakterie Gram-ujemne posiadają błonę komórkową i dodatkową półprzepuszczalną błonę zewnętrzną otaczającą przestrzeń zwaną peryplazmą. Kontrola jakości w tym przedziale jest szczególnie ważna, ze względu na duży przepływ białek błony zewnętrznej (ang. *Outer Membrane Proteins*, OMP) eksportowanych z cytoplazmy, które muszą przejść przez peryplazmę w postaci rozwiniętych prekursorów OMP (pOMP), zanim zostaną wbudowane do błony zewnętrznej za pomocą systemu zwanego BAM (ang. *β -Barrel Assembly Machinery*). Sprawny przepływ OMP przez peryplazmę zapewniają białka peryplazmatyczne zwane białkami opiekuńczymi (chaperonami), które zapobiegają przedwczesnemu sfałdowaniu lub agregacji pOMP, równocześnie utrzymując je w stanie gotowym do wbudowania do błony zewnętrznej. Chaperony współpracują z enzymami trawiącymi białka (proteazami) wyłapującymi niesfałdowane białka, które wymknęły się spod opieki chaperonów. Najważniejszą proteazą jest DegP, która występuje w peryplazmie zwykle w postaci mieszaniny heksamerów i trimerów. Jednakże, gdy ilość pOMP wzrasta, DegP oligomeryzuje w duże struktury, które wychwytyują i degradują pOMP. Charakteryzując enzymy proteolityczne wytwarzane przez *Porphyromonas gingivalis*, ważny patogen odpowiedzialny za choroby dziąseł (zapalenie przyzębia), wykryliśmy duże białko z domeną przypominającą proteazę znaną jako zuzalizyna (aktywny składnik toksyn wytwarzanych przez szczepy *Escherichia coli* i *Citrobacter freundii* wywołujące u ludzi biegunkę). Potwierdziliśmy, że białko *P. gingivalis* ma aktywność proteolityczną, czyli trawi białka i nazwaliśmy je zuzalizyną. Porównując sekwencję zuzalizyny z białkami zakodowanymi w genomach bakteryjnych, znaleźliśmy podobne białka w 12 z 41 głównych bakteryjnych grup taksonomicznych (gromad) i występujące szczególnie licznie u gatunków należących do gromady Bacteroidota. Dokładniejsza charakterystyka zuzalizyny wykazała, że enzym zlokalizowany jest w peryplazmie i jest przyczepiony do błony zewnętrznej. Wstępna analiza strukturalna otrzymana metodą kriomikroskopii elektronowej oraz dyfrakcji rentgenowskiej kryształów białka ujawniła unikatową dla proteaz strukturę pentameryczną oraz bipentamery i dodekapentamery (struktury kuliste zbudowane z 12 pentamerów). Te ostatnie, będące częściami o masie cząsteczkowej 6-MDa, są największymi znanymi dotychczas strukturami metaloproteaz degradujących białka. Korzystając z programu sztucznej inteligencji o nazwie AlphaFold-3 potwierdziliśmy, że rzeczywiście zuzalizyna i jej pochodne z innych organizmów tworzą pentamery, w których centrum katalityczne znajduje się w wewnętrznej komorze pentameru. W oparciu o te niezwykle, fascynujące wyniki proponujemy, że zuzalizyna w postaci pentamerów kontroluje jakość białek peryplazmatycznych i degraduje oligopeptydy w periplazmie i/lub może być uwalniana jako czynnik zjadliwości, który pomaga bakteriom inicjować infekcje. W ramach proponowanego projektu zostaną zatem sprawdzone następujące hipotezy: (i) zuzalizyna jest eksportowana do peryplazmy, gdzie działa jako aktywny homopentamer lub nieaktywny bipentamer; (ii) w przypadku naruszenia błony komórkowej zuzalizyna jest eksportowana do przestrzeni zewnątrzkomórkowej, gdzie tworzy dodekapentamery degradujące białka; (iii) białka podobne do zuzalizyny innych członków gromady Bacteroidota mają taką samą skłonność do tworzenia struktur oligomerycznych, które regulują ich aktywność proteolityczną; oraz (iv) zuzalizyna pośrednio (pomaga bakteriom przeżyć w środowisku kieszonek przyzębnych objętych stanem zapalnym), albo bezpośrednio poprzez rozkład peptydów bakteriobójczych) jest ważnym czynnikiem zjadliwości *P. gingivalis*.