



ΕΛΙΔΕΚ.
Ελληνικό Ίδρυμα Έρευνας & Καινοτομίας

Περιγραφή Χρηματοδοτούμενου Ερευνητικού Έργου
2η Προκήρυξη Ερευνητικών Έργων ΕΛ.ΙΔ.Ε.Κ. για την
ενίσχυση Μεταδιδακτορικών Ερευνητών/τριών

Τίτλος Ερευνητικού Έργου: Λύνοντας το Γόρδιο Δεσμό της ρύθμισης του Συστήματος Έκκρισης Τύπου III από παθογόνα με οικονομικό ενδιαφέρον

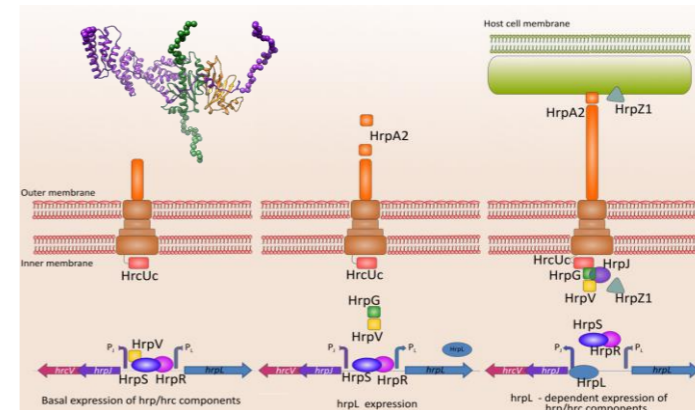
Επιστημονικός/ή Υπεύθυνος/η: Ευστράτιος Μυλωνάς

Φιλικός προς τον αναγνώστη τίτλος: RegSecSy

Επιστημονική Περιοχή: Επιστήμες Ζωής

Φορέας Προέλευσης και Χώρα: Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας, Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής, ΕΛΛΑΔΑ

Φορέας Υποδοχής: Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας, Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής



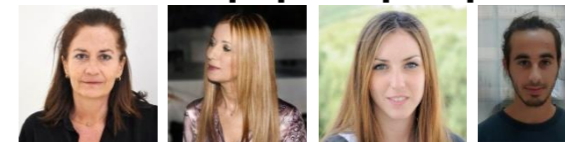
EY



Μ/Δ Ομάδας



Βοηθητικά μέλη



Ποσό Χρηματοδότησης: 180000€

Διάρκεια Χρηματοδότησης: 36 μήνες

Σύνοψη Ερευνητικού Έργου

Το εκκριτικό σύστημα τύπου III (Type 3 Secretion System, T3SS) είναι μια πολυπρωτεϊνική κατασκευή που χρησιμοποιείται από πολλά παθογόνα βακτήρια για επιμόλυνση μιας πληθώρας ευκαρυωτικών ξενιστών, ζωικών και φυτικών, μέσω της μεταφοράς μολυσματικών πρωτεϊνών-«τελεστών». Η ρύθμιση του T3SS λαμβάνει χώρα στο επίπεδο της μεταγραφής και της έκκρισης και πραγματοποιείται μέσω πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων, ενδοκυττάριας μεταφοράς συστατικών, με «μοριακούς διακόπτες» κλπ. Πρόσφατα ανακαλύψαμε την ύπαρξη μιας σύνδεσης της έκφρασης και της έκκρισης του T3SS στα οικονομικού ενδιαφέροντος φυτοπαθογόνα *Pseudomonas syringae* και *Erwinia amylovora*. Οι πρωτεΐνες HrpV και HrpG δρουν ως μεταγραφικοί ρυθμιστές (αρνητικά και θετικά, αντίστοιχα), ενώ ταυτόχρονα όταν βρεθούν σε σύμπλοκο με την πρωτεΐνη «θυροφύλακα» HrpJ, εμποδίζουν την πρόωρη έκκριση των «τελεστών».

Στόχος της προτεινόμενης έρευνας είναι η εκτενής διερεύνηση του δικτύου διαμοριακών αλληλεπιδράσεων που ελέγχουν την ενεργοποίηση του T3SS. Στο επίπεδο της μεταγραφής, στοχεύουμε στον δομικό χαρακτηρισμό του συμπλόκου των μεταγραφικών πρωτεϊνών «ενισχυτή» (Enhancer Binding Proteins, EBP) και στη μελέτη της επίδρασης του αρνητικού ρυθμιστή HrpV και του θετικού HrpG επί του EBP. Καθώς η λειτουργία του θυροφύλακα δεν είναι καλά κατανοητή, θα εξετάσουμε σε βάθος ενδεχόμενες αλληλεπιδράσεις με εκκρινόμενες χαρπίνες. Η βιοπληροφορική ανάλυση της «νησίδας παθογένειας» του T3SS θα αποκαλύψει πιθανές ρυθμιστικές δομές RNA και πιθανά «κρυφά» ανοικτά πλαίσια ανάγνωσης. Τέλος, η ανάλυση του μεταγραφώματος θα βοηθήσει στην αποσαφήνιση της επικοινωνίας του T3SS με άλλες λειτουργίες κρίσιμες για την επιμόλυνση του ξενιστή, όπως πχ. η αντίληψη του εξωγενούς pH, ο σχηματισμός βιοϋμενίων, η κινητικότητα κλπ.

Πρωτοτυπία του Ερευνητικού Έργου

Το RegSecSy έχει ως βασικό στόχο την εξιχνίαση, μέσω της ανάλυσης της ρύθμισης του T3SS σε φυτοπαθογόνα, το δίκτυο διαμοριακών αλληλεπιδράσεων που ελέγχουν την ενεργοποίηση του T3SS και την εμπλοκή τους σε άλλα μονοπάτια που σχετίζονται με τη βακτηριακή μόλυνση. Με αυτόν τον τρόπο, θα καταδείξουμε πως η πρωτεϊνική έκφραση και έκκριση στο T3SS, εξίσου σημαντικές για τη βακτηριακή παθογονικότητα, δεν είναι δύο ξεχωριστές αλλά, αντίθετα, δύο στενά συσχετιζόμενες διαδικασίες.

Η παρουσία των πρωτεϊνών του συμπλόκου του T3SS θυροφύλακα στο σταυροδρόμι της ρύθμισης του T3SS τις καθιστά εξαιρετικούς στόχους για ανάλυση πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων. Πιθανότατα συμμετέχουν και στο συντονισμό άλλων βακτηριακών διεργασιών κατά τη διάρκεια της μόλυνσης μέσω T3SS (όπως ο σχηματισμός βιοϋμενίων, η κινητικότητα και η αντίληψη του εξωγενούς pH) ρυθμίζοντας την πρωτεϊνική έκφραση σε μεταγραφικό και μεταφραστικό επίπεδο.

Ενώ οι φαινοτυπικές παρατηρήσεις *in vivo* και η βιοπληροφορική ανάλυση του μεταγραφώματος μπορούν να φωτίσουν πτυχές της ρύθμισης του T3SS σε κυτταρικό επίπεδο, η κατανόηση σε βάθος απαιτεί πληροφορία σε μοριακό και ατομικό επίπεδο και η Δομική Βιολογία είναι η καταλληλότερη και ακριβέστερη προσέγγιση για τη μελέτη λειτουργίας πρωτεϊνών και πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων. Η ταυτοποίηση πρωτεϊνικών διεπιφανειών θα μπορούσε να οδηγήσει και σε εφαρμογές, ως πιθανούς στόχους αντιβακτηριακών παραγόντων.

Αναμενόμενα αποτελέσματα & Αντίκτυπος του Ερευνητικού Έργου

Η *Pseudomonas syringae* και η *Erwinia amylovora* είναι δύο από τα σημαντικότερα βακτηριακά φυτοπαθογόνα και επηρεάζουν πλήθος σημαντικών καλλιεργειών όπως η τομάτα, η φασολιά, το καλαμπόκι, το σιτάρι, ο σφένδαμος, τα κραμβοειδή, η μηλιά, η αχλαδιά κλπ. Με τον αυξανόμενο ανθρώπινο πληθυσμό, η τροφική επάρκεια είναι ένα σημαντικό παγκόσμιο πρόβλημα. Η απώλεια σοδειάς λόγω ασθενειών, ένας συνεχώς αυξανόμενος κίνδυνος λόγω της παγκοσμιοποίησης του εμπορίου, μπορεί να έχει καταστροφικά αποτελέσματα. Σκοπός του RegSecSy είναι να ρίξει φως στις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της ενεργοποίησης του T3SS. Η στόχευση των πρωτεϊνικών διεπιφανειών με φάρμακα μπορεί να είναι μια πολύ καλή στρατηγική για την καταπολέμηση των παθογόνων, και τέτοιες προοπτικές θα εξετασθούν όταν έχουμε διαθέσιμη δομική πληροφορία (TRL 1/2).

Οι ξενιστές των παθογόνων που χρησιμοποιούν το T3SS δεν περιορίζονται στα φυτά. Ζωοπαθογόνα όπως η *Salmonella* και η *Yersinia pestis* (πανώλη) μπορούν να έχουν ολέθριες ανθρώπινες συνέπειες. Ενώ το T3SS κάθε βακτηρίου είναι προσαρμοσμένο ώστε να μολύνει έναν περιορισμένο αριθμό ξενιστών, με κατάλληλες αλλαγές στον έλεγχο της ρύθμισής του, στην αποφυγή της άμυνας του ξενιστή κλπ, υπάρχουν σημαντικότερες ομοιότητες και κοινές στρατηγικές μεταξύ παθογόνων ζώων και φυτών. Με το παρόν ερευνητικό έργο σκοπεύουμε να διευρύνουμε τη γνώση στα λιγότερο καλά χαρακτηρισμένα φυτοπαθογόνα και να συμβάλουμε ουσιαστικά στην κατανόηση του ελέγχου της ρύθμισης του T3SS.

Η σημασία της χρηματοδότησης

Η χρηματοδότηση θα μου δώσει την ευκαιρία να εφαρμόσω την εξειδίκευσή μου στη Δομική Βιολογία για την παραγωγή νέας γνώσης που θα απαντήσει σε καίρια ερωτήματα σχετικά με τη ρύθμιση φυτοπαθογόνων βακτηρίων σε μοριακό και ατομικό επίπεδο.

Η σύλληψη, η εκτέλεση και η επιτυχής ολοκλήρωση του RegSecSy θα επιδείξει σαφώς την ωριμότητά μου ως επιστήμονα και τη δυνατότητα να καθοδηγήσω και να επιβλέψω μια ερευνητική ομάδα προς την επίτευξη συγκεκριμένων στόχων. Είναι ένα σημαντικό βήμα προς την επιστημονική ανεξαρτησία που θα με βοηθήσει να συμμετέχω σε ανταγωνιστικά διεθνή προγράμματα χρηματοδότησης και ερευνητικές συνεργασίες, στο πλαίσιο του Horizon Europe και άλλων μελλοντικών προκηρύξεων της ΕΕ στις θεματικές περιοχές της Βιοτεχνολογίας, Σχεδιασμού Φαρμάκων, Ασφάλειας Τροφίμων κλπ.



ΕΛΙΔΕΚ.
Ελληνικό Ίδρυμα Έρευνας & Καινοτομίας

ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑ

Λ. Συγγρού 185 & Σάρδεων 2
ΤΚ. 17121, Νέα Σμύρνη, Ελλάδα
210 64 12 410, 420
communication@elidek.gr
www.elidek.gr