

W komórkach w sposób nieustanny toczy się walka o zachowanie równowagi pomiędzy procesami promującymi przeżycie i tymi które prowadzą do jej śmierci. Równowaga ta ma ogromne znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania tkanek i zdrowia całego organizmu. Jednym ze zjawisk, wpływającym na te procesy jest stres oksydacyjny. Stres oksydacyjny towarzyszy wszystkim organizmom przez całe życie, a nasilają go takie czynniki jak promieniowanie ultrafioletowe, toksyny, patogeny. Stres oksydacyjny jest związany ze zwiększoną produkcją reaktywnych form tlenu, z którymi w warunkach fizjologicznych, komórka radzi sobie dzięki systemowi enzymów antyoksydacyjnych oraz cząsteczek o właściwościach przeciwutleniających. Nasilony stres oksydacyjny przyczynia się do powstania w komórce uszkodzeń, które mogą być szczególnie niebezpieczne dla materiału genetycznego, a akumulując się z czasem doprowadzi do rozwoju poważnych schorzeń. Białko, które badam, p66Shc, jest istotnym elementem komórkowych szlaków sygnałowych związanych z inicjacją stresu oksydacyjnego, zaburzeniem opisanej wyżej równowagi oraz regulacji systemów obronnych komórki. W odpowiedzi na niekorzystne warunki środowiska białko to ulega specyficznej modyfikacji, co prowadzi do włączenia kaskady sygnałowej, której efektem jest wzrost produkcji reaktywnych form tlenu. Z tego powodu, od wielu lat badany jest jego udział w rozwoju wielu chorób, których patogenezą lub/i skutkiem są związane z nasilonym stresem oksydacyjnym. Udowodniono, że brak białka p66Shc koreluje z wydłużeniem życia, natomiast jego zwiększona fosforylacja jest obserwowana m.in. w przypadku uszkodzenia nerek wywołanego hiperglikemią oraz uszkodzenia hepatocytów w wyniku działania etanolu. p66Shc jest białkiem „o dwóch twarzach”, ponieważ udział w odpowiedzi komórki na stres oksydacyjny jest tak naprawdę jego drugą funkcją. Jego funkcją podstawową jest udział w przekazywaniu sygnału od receptorów dla czynników wzrostu zlokalizowanych w błonie komórkowej, przez co jest zaliczane do grupy białek adaptorowych. Białka adaptorowe z rodziny Shc dzięki właściwościom domen z jakich są zbudowane umożliwiają przekazywanie sygnału uczestnicząc w regulacji aktywności kaskad sygnałowych związanych m.in. z proliferacją komórek. Dane literaturowe wskazują, że funkcja p66Shc jest związana z jego lokalizacją w komórce. Wisko białka zlokalizowana jest w cytoplazmie oraz siateczce śródplazmatycznej, co wiąże się z funkcją adaptorów białka. W tym celu jakie dotyczy białka związane są z jego funkcją proapoptotyczną. Początkowo sądzono, że pula tego białka, związana z produkcją reaktywnych form tlenu, lokalizuje się w macierzy mitochondrialnej, co później zweryfikowano, wykazując zdolność p66Shc do oddziaływania z cytochromem c, co wskazywałoby na jego umiejscowienie w przestrzeni międzybłonowej mitochondrium. Wyniki eksperymentów przeprowadzonych przez nasz zespół wskazują na to, że p66Shc lokalizuje się we frakcji błon związanych z mitochondriami. Dodatkowo, u zwierząt starych zawartość tego białka jest większa we frakcji błon związanych z mitochondriami niż u zwierząt młodych, co jest skorelowane ze zwiększoną produkcją reaktywnych form tlenu w mitochondriach u starych zwierząt. Frakcja błon związanych z mitochondriami (mitochondria associated membranes, MAM) to frakcja błon komórkowych strukturalnie i funkcjonalnie związanych z zewnętrzną błoną mitochondrium. Frakcja ta charakteryzuje się specyficznym proteomem, stanowi środowisko zachodzenia procesów takich jak synteza fosfolipidów oraz odgrywa znaczącą rolę w homeostazie wapniowej. Ze względu na dane świadczące o dużym znaczeniu tej frakcji dla prawidłowego funkcjonowania komórki, jest ona w ostatnim czasie intensywnie badana w kontekście takich zaburzeń jak choroba Alzheimera. Doniesienia świadczące o znaczącym udziale szlaków związanych z p66Shc w rozwoju chorób związanych ze stresem oksydacyjnym, a także wyniki badań naszej grupy dotyczące lokalizacji białka we frakcji błon związanych z mitochondriami przyczyniły się do wyboru przez mnie zagadnienia badawczego opisanego w projekcie. Projekt ma na celu zidentyfikowanie białek, które oddziałują z białkiem p66Shc we frakcji błon związanych z mitochondriami. Zastosowane metody badania oddziaływań białek w pierwszym etapie doprowadzą do zidentyfikowania polipeptydów z jakimi p66Shc oddziałuje we frakcji błon związanych z mitochondriami. Kolejne zadania badawcze będą skoncentrowane na weryfikacji oddziaływań p66Shc ze zidentyfikowanymi białkami. Ostatnim etapem badań będzie sprawdzenie jak zmiana poziomu i aktywności białek oddziałujących z p66Shc wpływa na produkcję reaktywnych form tlenu oraz na aktywację procesu apoptozy. Otrzymane wyniki mogą przyczynić się do wyjaśnienia sposobu w jaki p66Shc wpływa na mitochondria, prowadząc do zwiększenia produkcji reaktywnych form tlenu. Poznanie białek oddziałujących z p66Shc w MAM może rozszerzyć wiedzę na temat udziału białka p66Shc w szlakach sygnałowych związanych z odpowiedzią komórki na stres oksydacyjny. To z kolei, jest ważne dla badania chorób, u których podłożem jest zaburzenie równowagi pomiędzy procesami promującymi przeżycie i tymi które prowadzą do uszkodzenia lub śmierci komórki. Uzyskane wyniki mogą w przyszłości wskazać cele dla terapii przeciwdziałających szkodliwym skutkom działania stresu oksydacyjnego w komórce i organizmie.