

Żelazo jest istotnym elementem procesów metabolicznych oraz immunologicznych. Pierwiastek ten służy jako kofaktor wielu enzymów uczestniczących w podstawowych procesach komórkowych takich jak replikacja i naprawa DNA, redukcja rybonukleotydów czy transport elektronów w mitochondriach. Zachowanie równowagi pomiędzy pobieraniem żelaza z pożywienia, a jego transportem i magazynowaniem jest niezwykle ważne i wymaga współdziałania wielu genów. W ciągu ostatnich kilkunastu lat u ssaków część z nich została odkryta i opisana, przykładowo hepcydyna, transferryna czy receptory transferryny. W przeciwieństwie do ssaków, u niższych kręgowców, na przykład karpia (*Cyprinus carpio* L.) rola genów związanych z metabolizmem żelaza oraz zależności pomiędzy nimi nie została jeszcze szerzej poznana. Ponadto u karpia jako organizmu tetraploidalnego część z tych genów uległa duplikacji. Z drugiej jednak strony, fakt ten sprawia, że *C. carpio* jest unikatowym modelem w badaniach ewolucyjnych nad funkcjonalnymi rozbieżnościami zduplikowanych genów. Celem tego projektu jest określenie roli białek zaangażowanych w metabolizm żelaza z uwzględnieniem mechanizmów obronnych układu odpornościowego u karpia. Badania będą koncentrowały się na procesach wewnątrz- i zewnątrzkomórkowego transportu, redukcji, akumulacji i uwalniania tego pierwiastka. W tym celu określony zostanie wzór ekspresji genów związanych z metabolizmem żelaza to jest: transportera metali dwuwartościowych (DMT1), ferroportyny (FPN), ferrytyny (FER), transferryny (TF), receptorów transferryny (TFRs), hepcydyny (HEP), metaloreduktazy (SEAP3) oraz białek regulatorowych żelaza 1 i 2 (IRP 1, 2). Analiza ekspresji tych genów będzie przeprowadzona dwukierunkowo. W pierwszej części projektu badania będą skupiać się na wyjaśnieniu interakcji zachodzących pomiędzy pasożytem, który pozyskuje żelazo od infektowanego organizmu, a gospodarzem, którego działanie polega na immobilizacji tego pierwiastka. Prześledzone zostaną zmiany ekspresji wyżej wymienionych genów. W tym celu przeprowadzona zostanie reakcja PCR w czasie rzeczywistym (RTq-PCR) w próbach różnych tkanek pobranych w kolejnych punktach czasowych ryb zainfekowanych pasożytem krwi (*Trypanoplasma borreli*). W drugiej części projektu postaramy się wyjaśnić udział genów związanych z metabolizmem żelaza podczas odpowiedzi immunologicznej. Wiadomym jest fakt, że niektóre z tych genów np. ferrytyna, reagują zmianą swojej ekspresji nie tylko pod wpływem zmieniającej się koncentracji żelaza, ale również podczas odpowiedzi immunologicznej. Aby wyjaśnić mechanizmy tych zmian przeprowadzone zostanie doświadczenie, w którym osobniki *C. carpio* zostaną poddane iniekcji stymulantami - LPS (lipopolisacharyd) i HSA (albumina z surowicy ludzkiej) w celu wywołania odpowiedzi immunologicznej. Następnie w określonych punktach czasowych pobrane zostaną próbki organów, na których będzie wykonana reakcja RTq-PCR z interesującymi nas starterami. Ponadto zostanie również określona aktywność makrofagów (wyizolowanych z nerki głowowej karpia) poprzez kolorymetryczne zmierzenie produkcji tlenu azotu, aktywności arginazy i produkcji rodników tlenowych. Otrzymane wyniki pokażą, jak zakażenie/zapalenie wpływa na aktywność genów związanych z metabolizmem żelaza i wyjaśnią ich rolę w odporności. Ponadto uzyskane dane pozwolą lepiej zrozumieć interakcje zachodzące pomiędzy gospodarzem a patogenem podczas infekcji.