

Komórki zmienione nowotworowo w odróżnieniu od komórek prawidłowych silnie uzależniają swój metabolizm energetyczny od glukozy. Zmiany te mają związek z zaburzeniem prawidłowej pracy mitochondriów, które stanowią centra energetyczne eukariotycznych komórek. W mitochondriach w wyniku procesu oddychania komórkowego zachodzącego z udziałem kompleksów łańcucha oddechowego powstaje większość energii użytecznej biologicznie zmagazynowanej w postaci ATP. Tempo produkcji ATP w tych organellach jest regulowane aktywnością porów mitochondrialnych tzw. megakanałów powstających na styku zewnętrznej i wewnętrznej błony mitochondrialnej. Obserwowane w nowotworach zaburzenia powodują dysfunkcję mitochondriów i zwiększają produkcję ATP w procesie fermentacji, który zachodzi w cytoplazmie komórek. Niski zysk energetyczny fermentacji prowadzi do wzmożonej konsumpcji glukozy przez komórki nowotworowe z której część jest przekształcana w związek będący substratem dla O-GlcNAc transferazy (OGT). Enzym ten katalizuje przyłączenie pojedynczej reszty N-acetyloglukozaminy (GlcNAc) do białek. Według opublikowanych w ostatnich latach badań dysfunkcja mitochondriów może mieć związek z hiperglikemią, ale molekularne mechanizmy leżące u podstaw tej zależności są wciąż słabo poznane. Zaobserwowany w wielu badaniach silny związek zewnątrzkomórkowego stężenia glukozy z poziomem wewnątrzkomórkowej O-GlcNAcytacji białek, sugeruje, że ta potranslacyjna modyfikacja może stanowić sensor metaboliczny komórki oraz odgrywać istotną rolę w jej adaptacji do zmian statusu energetycznego. W związku z powyższym proponowane badania, będące kontynuacją naszych zainteresowań dotyczących zaburzeń O-GlcNAcytacji w nowotworach, koncentrują się wokół słabo dotąd poznanej funkcji mitochondrialnej izoformy OGT (mOGT). Wyniki przeprowadzonych przez nas badań wstępnych wskazują na zależny od glukozy poziom ekspresji enzymu OGT w mitochondriach komórek raków piersi. Przesłanki literaturowe oraz wyniki badań własnych skłoniły nas do sformułowania hipotezy badawczej według której mitochondrialna izoforma O-GlcNAc transferazy uczestniczy w adaptacji komórek piersi do zmian stężenia glukozy w środowisku i reguluje jej konsumpcję. Celem naszych badań będzie określenie wpływu zależnej od mOGT O-GlcNAcytacji na aktywność kompleksów łańcucha oddechowego i megakanałów mitochondrialnych oraz zależne od tych kompleksów tempo metabolizmu glukozy. Planowane w projekcie badania zostaną przeprowadzone z wykorzystaniem linii komórkowych raków piersi oraz nienowotworowych komórek gruczołu sutkowego. W celu określenia roli mOGT w zależności od zewnątrzkomórkowego stężenia glukozy badania będą prowadzone w komórkach hodowanych w środowisku o różnej zawartości glukozy tj. hipo-, normo- i hiperglikemii. W tych warunkach korzystając z wektorów ekspresyjnych będziemy sztucznie zmieniać ekspresję mOGT w komórkach a następnie oceniać wpływ tych zmian między innymi na: lokalizację mOGT w komórce, status metaboliczny mitochondriów, O-GlcNAcytację poszczególnych białek kompleksów łańcucha oddechowego oraz aktywność tych kompleksów, O-GlcNAcytację białek budujących megakanały mitochondrialne a także konsumpcję glukozy. Uzyskane wyniki badań mogą przyczynić się do poszerzenia wiedzy odnośnie molekularnych mechanizmów leżących u podłoża związku hiperglikemii z powstawaniem i progresją nowotworów.