

Glikozylacja jest jedną z najważniejszych modyfikacji posttranslacyjnych zachodzących w komórce eukariotycznej. Polega ona na kowalencyjnym dołączeniu reszt cukrowych do białek lub lipidów. Modyfikacja ta odgrywa kluczową rolę w rozwoju oraz wzroście komórek. Zwiększa ona rozpuszczalność białek, jak również stabilizuje ich strukturę trzeciorzędową oraz chroni je przed proteolizą. Dzięki glikozylacji możliwe jest odróżnienie przez organizm komórek obcych od własnych.

Proces glikozylacji rozpoczyna się w świetle retikulum endoplazmatycznego, a następnie kontynuowany jest wewnątrz aparatu Golgiego. Substratami w tym procesie są aktywowane formy monosacharydów - nukleotydocukry. Ich biosynteza zachodzi w cytozolu lub jądrze komórkowym. Błony retikulum endoplazmatycznego i aparatu Golgiego same w sobie nie są przepuszczalne dla tych związków, ale zawierają wyspecjalizowane białka, które pełnią rolę transporterów nukleotydocukrów i to dzięki ich obecności możliwe jest dostarczenie aktywowanych form monosacharydów do wnętrza tych organelli. W retikulum endoplazmatycznym/aparacie Golgiego cukier zostaje oddzielony od nukleotydu i przekazany odpowiedniej glikozylotransferazie, która bezpośrednio odpowiada za dołączenie danej reszty cukrowej do glikozylowanej makrocząsteczki.

Transportery nukleotydocukrów to multitransmembranowe białka, które charakteryzują się parzystą ilością domen śródbłonowych, a ich N- oraz C-koniec znajdują się po cytozolowej stronie błony retikulum endoplazmatycznego/aparatu Golgiego. Na podstawie podobieństwa sekwencji aminokwasowej zostały one podzielone na sześć podrodzin, nazwanych kolejno SLC35A-SLC35F. Do podrodziny SLC35A przyporządkowano pięć homologicznych białek, ale tylko trzy z nich (SLC35A1, A2 oraz A3) zostały funkcjonalnie scharakteryzowane. Pozostałe dwa potencjalne transportery (SLC35A4 oraz A5) cechuje wysoki procent podobieństwa oraz identyczności sekwencji aminokwasowej, w porównaniu do pozostałych członków podrodziny SLC35A, jednak dotychczas ich rola w procesie glikozylacji nie została określona.

Celem prezentowanego projektu jest poznanie funkcji dwóch hipotetycznych transporterów nukleotydocukrów - SLC35A4 i SLC35A5. Aby zrealizować to założenie zostanie przeprowadzony szereg eksperymentów, polegających między innymi na delecji genów kodujących te białka w celu określenia wpływu takiej modyfikacji genetycznej na glikozylację. Zostanie także zbadana lokalizacja subkomórkowa SLC35A4 oraz SLC35A5 - jako transportery aktywowanych form monosacharydów powinny one występować w błonach retikulum endoplazmatycznego i/lub aparatu Golgiego.

Dotychczas opublikowane doniesienia literaturowe wyraźnie pokazują, że transportery nukleotydocukrów tworzą homooligomery, jak również oddziałują z innymi transporterami, a także znajdują się w bliskości określonych glikozylotransferaz. Dlatego w ramach przedstawionego projektu zaplanowano szereg eksperymentów, które umożliwią zweryfikowanie, czy białka SLC35A4 oraz SLC35A5 homooligomeryzują, a także czy tworzą kompleksy z innymi enzymami związanymi z procesem glikozylacji. W tym celu zostaną wykorzystane nowatorskie metody, takie jak FLIM-FRET, *in situ* PLA oraz BiFC.

Zaplanowane prace powinny doprowadzić do poznania funkcji dwóch białek - SLC35A4 oraz SLC35A5, które prawdopodobnie pełnią rolę transporterów nukleotydocukrów. W wyniku przeprowadzonych badań zostanie określona ich lokalizacja subkomórkowa oraz specyficzność substratowa. Dodatkowo, otrzymane wyniki pomogą w zidentyfikowaniu partnerów białkowych tych dwóch hipotetycznych transporterów nukleotydocukrów.