

Popularnonaukowy opis badań

Wiele funkcji kluczowych dla życia komórek i całych organizmów zależy od białka nazywanego aktyną. W warunkach fizjologicznych aktyna ma zdolność do polimeryzacji, czyli składania pojedynczych, globularnych cząsteczek w dwułańcuchowe filamenty. Filamenty aktynowe mogą tworzyć bardzo skomplikowane struktury geometryczne, które ulegają ciągłej przebudowie. Aktyna jest białkiem bardzo konserwatywnym, co oznacza, że w toku ewolucji ulegała niewielu zmianom, a to sprawiło, że struktura aktyny pochodzącej z różnych organizmów jest bardzo podobna. Pomimo swej niewielkiej zmienności, aktyna pełni ogromną liczbę różnorodnych funkcji. Między innymi bierze udział w skurczu, nadaje kształt komórkom, umożliwia ich podział, napędza endocytozę (transport pęcherzyków błonowych), jak również pełzanie pojedynczych komórek. Tę funkcjonalną różnorodność zapewnia aktynie zdolność do oddziaływań z innymi białkami, które między innymi kontrolują dynamikę filamentu, czyli polimeryzację, fragmentację, skracanie i wydłużanie filamentu na jego końcach. Do białek regulujących dynamikę filamentów należą białka z rodziny tropomiozyny i ADF/kofiliny. Członkowie tych rodzin to izoformy, białka które nieco różnią się strukturą oraz lokalizacją w tkankach i różnych rejonach pojedynczej komórki. W komórkach ssaków jest obecnych aż czterdzieści izoform tropomiozyny i dwie izoformy kofiliny. Jeszcze do niedawna naukowcy uważali, że wiążąc się z filamentem aktynowym tropomiozyny i kofiliny wywierają przeciwstawne efekty. Wydawało się, że tropomiozyny stabilizują istniejące filamenty, a kofiliny powodują fragmentację i przyspieszają depolimeryzację. Opisano jednak przypadki izoform tropomiozyny, które stymulują wiązanie kofiliny do aktyny i przez to wzmagają fragmentację i depolimeryzację filamentów. Ponieważ w literaturze naukowej informacje na temat wzajemnej regulacji działania tropomiozyn i kofilin są bardzo skąpe, postanowiłam uzupełnić tę lukę w wiedzy i sprawdzić, czy tropomiozyny i kofiliny są antagonistami, czy współpracownikami. A może jedno i drugie?

Celem badań jest weryfikacja hipotezy zakładającej, że specyficzna dla różnych typów komórek dynamika filamentów aktynowych jest regulowana przez odpowiednią kompozycję izoform tropomiozyny i kofiliny obecnych w tych komórkach.

Badania są prowadzone na białkach ssaków wyizolowanych z komórek mięśni szkieletowych oraz produkowanych metodami biologii molekularnej w komórkach bakteryjnych. Wyizolowane i oczyszczone filamenty aktynowe są łączone w różnych kombinacjach z siedmioma izoformami tropomiozyny oraz dwoma izoformami kofiliny i poddawane analizom, które mają wykazać, czy tropomiozyny w różny sposób decydują o tym jak na filamenty aktynowe mają działać kofiliny. Izofornie tropomiozyny i kofiliny używane w badaniach pochodzą z komórek mięśniowych oraz niemięśniowych. Do analiz są stosowane różne techniki biochemiczne i mikroskopowe.

Analizy wiązania kofilin do kompleksu aktyny z izoformami tropomiozyny potwierdziły wcześniej opublikowane dane, że kofiliny współzawodniczą z tropomiozynami o wiązanie do aktyny – im bardziej kofiliny wiążą się z filamentem, tym mniej znajduje się na nim tropomiozyny. Jednak mięśniowa i niemięśniowa kofilina bardzo różnią się efektywnością usuwania różnych tropomiozyn z filamentu. Oznacza to, że przy odpowiednich stężeniach kofiliny i tropomiozyny mogą wspólnie wiązać się do filamentu i razem regulować jego dynamikę.

Z drugiej strony, większość badanych tropomiozyn hamuje aktywność kofilin, która polega na fragmentowaniu i depolimeryzacji filamentów. Tropomiozyny działają jak antagoniści kofiliny, chociaż niektóre tropomiozyny są bardziej, a inne mniej skuteczne w chronieniu filamentów przed działaniem kofiliny. Ta zasada została jednak złamana przez dwie niemięśniowe izoformy tropomiozyny, które występują obficie w komórkach nerwowych. Izofornie te nie tylko nie chronią aktyny, ale wręcz przyspieszają jej fragmentację przez kofiliny.

Dynamika filamentów to nie tylko ich skracanie, ale również wzrost. Dlatego sprawdzono jak tropomiozyny i kofiliny wpływają na szybkość polimeryzacji. Okazało się, że izoformy kofiliny w różny sposób regulują polimeryzację. Podczas gdy kofilina-1 nie wpływa na szybkość polimeryzacji samej aktyny, kofilina-2 znacznie wydłuża czas potrzebny do osiągnięcia maksymalnej wielkości filamentów. Gdy aktyna polimeryzuje w obecności tropomiozyn, wówczas kofilina-1 zaczyna hamować szybkość polimeryzacji, natomiast kofilina-2 działa tak samo jak pod nieobecność tropomiozyn. Zatem, w zależności od kompozycji izoform tropomiozyn i kofilin w określonej komórce lub nawet przedziale komórkowym szybkość polimeryzacji aktyny może być różna, a to pociąga za sobą zróżnicowanie tempa ruchliwości komórkowej.

Rozwinięciem badań prowadzonych w ramach rozprawy doktorskiej będzie analiza regulacji wiązania koroniny, białka które w komórkach do bardziej sprawnego działania kofiliny. Ponieważ kofiliny i koroniny istnieją wspólnie z tropomiozynami, zamierzam przeanalizować mechanizmy regulatorowe sprawdzając jak izoformy tropomiozyny wpływają na oddziaływania koroniny z filamentem oraz jakie zmiany strukturalne w aktynie powodują tropomiozyny i koroniny. Badania te będą przeprowadzone na Uniwersytecie Kalifornijskim w Los Angeles.