

Badanie sieci enzymów procesu ubikwitynacji na przykładzie ligaz ubikwityny Irc20 i Tfb3 biorących udział w odpowiedzi na uszkodzenia DNA

Dr Ewa Błaszczak
Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKU

W 2004 roku trzej badacze Aaron Ciechanover, Avram Hershko oraz Irwin Rose otrzymali Nagrodę Nobla w dziedzinie chemii za badania nad procesem kontrolowanej degradacji uszkodzonych lub niepotrzebnych komórcie białek z udziałem niewielkiego białka ubikwityny. Pierwotnie uważano, że ubikwityna jest swego rodzaju metką, która przyczepia się do zbędnego komórce białka i naznacza go do zniszczenia. Dziś wiadomo, iż przyłączenie się ubikwityny do danego białka, w procesie nazwanym ubikwitynacją, może wpływać na regulację wielu procesów komórkowych. Zaburzenia w mechanizmie procesu ubikwitynacji są związane z powstawianiem wielu chorób, takich jak nowotwory, choroby neurodegeneracyjne, czy niektóre infekcje wirusowe.

Oprócz ubikwityny, w proces ubikwitynacji zaangażowanych jest wiele innych białek. Są to: enzymy aktywujące ubikwitynę (E1), enzymy koniugujące ubikwitynę (E2) oraz ligazy ubikwityny (E3). Enzymy te mają zdolność do regulacji aktywności i funkcji innych białek poprzez wzajemne oddziaływania ze sobą. U człowieka opisano ponad 30 enzymów koniugujących ubikwitynę oraz ponad 600 ligaz ubikwityny. Ligazy ubikwityny wydają się być szczególnie interesujące z punktu widzenia poszukiwania nowych leków, w tym antynowotworowych. Obecnie około dziesięciu inhibitorów aktywności ligaz ubikwityny jest testowanych klinicznie, ale żaden z nich nie wszedł jeszcze na rynek. Głównym problemem w postępach naukowych nad rozwojem inhibitorów ligaz ubikwityny jest sam mechanizm procesu ubikwitynacji. Enzymy szlaku ubikwityny, E2 i E3 funkcjonują, tworząc złożoną sieć oddziaływań, w której jeden E2 może oddziaływać z kilkoma E3 i odwrotnie. Istnieje możliwość inhibicji systemu ubikwitynacji z użyciem małych cząsteczek blokujących miejsca oddziaływania E2/E3. Niezmiernie istotne jest poznanie, które pary E2-E3 oddziałują ze sobą w komórce i jak wpływa to na jej funkcjonowanie w warunkach fizjologicznych i patologicznych.

Pomimo, że mechanizm przebiegu procesu ubikwitynacji został dokładnie opisany, przewidywanie zachowań i funkcji enzymów E2-E3 wewnątrz komórki stwarza wciąż duży problem ze względu na przejściowy charakter tego procesu. Głównym celem proponowanego projektu jest charakterystyka wybranych par E2-E3 z wykorzystaniem drożdży jako organizmu modelowego. Pragniemy wyjaśnić, w jaki sposób interakcje pomiędzy E2-E3 oraz E3 i substratami białkowymi, wpływają na określone funkcje w komórce, w szczególności w odpowiedzi na uszkodzenia DNA. W badaniach wykorzystamy metodę BiFC (ang. *Bimolecular Fluorescence Complementation*) wcześniej zastosowaną przez nas do badania słabych i przejściowych interakcji E2-E3 w żywych komórkach oraz alternatywną metodę opartą na luminescencji - BiLC (ang. *Bimolecular Luminescence Complementation*). Zamierzamy również wykorzystać metody biochemiczne oraz metody proteomiki ilościowej w celu znalezienia substratów białkowych słabo poznanych dotąd ligaz ubikwityny Irc20 i Tfb3. Poznanie funkcjonalnych par E2-E3 w komórce oraz zrozumienie mechanizmów molekularnych ich funkcjonowania poszerzy obecny stan wiedzy na temat procesu ubikwitynacji. W dalszej perspektywie wyniki zgromadzone i przeanalizowane w trakcie tego projektu mogą przyczynić się do wynalezienia leków antynowotworowych, ukierunkowanych na poszczególne elementy systemu ubikwitynacji. Ponadto mogą pomóc w odkryciu nowych celów interwencji farmakologicznych, kierowanych nie tylko na choroby nowotworowe, ale również inne choroby związane z procesem ubikwitynacji. Metodologia rozwinięta na potrzeby tego projektu może być natomiast wykorzystana przez naukowców do badań nad innymi, równie istotnymi oddziaływaniami pomiędzy białkami w komórce.