

## **WPLYW LOKALIZACJI WEWNĄTRZKOMÓRKOWEJ I TRANSPORTU ENDOCYTARNEGO RECEPTORA LIMFOTOKSYNY $\beta$ (LT $\beta$ R) NA ZALEŻNE OD NIEGO SZLAKI SYGNAŁOWE**

Endocytoza to proces, w trakcie, którego komórki pobierają ze środowiska różne ważne dla życia substancje takie jak składniki odżywcze, hormony, neuroprzekaźniki, czy też cząsteczki sygnałowe związane z zakotwiczonymi w błonie komórkowej receptorami. Pobierany materiał zamykany jest w pęcherzykach będących wpukleniami błony komórkowej, które po odcięciu od powierzchni komórki łączą się z kolejnymi pęcherzykami zwanymi wczesnymi endosomami. Szczególny rodzaj substancji pobieranych przez komórkę stanowią receptory, które po związaniu cząsteczki sygnałowej (ligandu) aktywują kolejno specyficzne białka odpowiedzialne za najczęściej wieloetapowe przekazywanie sygnału od receptora do wnętrza komórki. Uruchomienie takiej kaskady prowadzi do zmian w ekspresji różnych genów, których produkty regulują rozmaite procesy biologiczne takie jak: podział komórkowy, migracja komórek, czy specyficzne procesy metaboliczne. Pobrane przez komórkę receptory albo wracają na błonę komórkową z wczesnych endosomów (recykling), aby związać ponownie cząsteczki sygnałowe, albo wędrują w kierunku wyspecjalizowanych organelli zwanych późnymi endosomami i lizosomami, w których są degradowane. Co więcej, znane są przykłady receptorów błonowych pobieranych do wnętrza komórki pomimo braku ligandu w środowisku. Obecnie uważa się, że endocytoza ma dwojaki wpływ na przekazywanie sygnałów w komórce. Z jednej strony ogranicza propagowanie sygnału poprzez degradację aktywnych receptorów emitujących sygnał z błony komórkowej i uruchamiających różne kaskady sygnałowe, a z drugiej podtrzymuje wewnątrzkomórkową emisję sygnału umożliwiając aktywację zaangażowanych w ten proces białek na powierzchni endosomów. Poprzez wyciszenie, lub przeciwnie aktywowanie kaskad sygnałowych, endocytoza wpływa na odpowiedź komórki wywoływaną przez daną cząsteczkę sygnałową. Co więcej, możliwe są różne drogi transportu wewnątrzkomórkowego, a wybór konkretnych spośród nich dodatkowo decyduje o ostatecznej odpowiedzi komórkowej wywoływanej przez dany receptor.

Interesujący przykład stanowi receptor limfotoksyny  $\beta$  (LT $\beta$ R), należący do receptorów cytokin, który reguluje ważne procesy biologiczne takie jak namnażanie czy śmierć komórki, a jego główne role fizjologiczne dotyczą procesów związanych z odpornością organizmu. Dane uzyskane przez nasz Zespół badawczy wskazują na unikalną zdolność tego receptora do emitowania sygnału z powierzchni endosomów pod nieobecność ligandu. Zaskakujący jest również wysoki poziom tego typu błonowego receptora we wnętrzu komórek niestymulowanych. Ponadto, LT $\beta$ R oddziałuje z licznymi białkami, co może mieć znaczenie dla lokalizacji wewnątrz komórki oraz dla funkcjonowania zarówno receptora jak i jego partnerów. Rola fizjologiczna LT $\beta$ R na poziomie organizmu została stosunkowo dobrze poznana, podczas gdy jego lokalizacja wewnątrzkomórkowa jak również transport endocytarny pozostają zagadkowe. Ze względu na istotny udział tego receptora w rozwoju wielu chorób autoimmunologicznych jak również raka, oraz proponowane zastosowanie w terapii przeciwnowotworowej czynników wiążących LT $\beta$ R, poznanie mechanizmów regulujących jego aktywność ma kluczowe znaczenie.

**Celem projektu jest określenie lokalizacji wewnątrzkomórkowej oraz dróg transportu endocytarnego LT $\beta$ R w obecności i pod nieobecność ligandu oraz ich wpływu na szlaki sygnałowe zależne od tego receptora.** Projekt obejmuje następujące zadania: (1) charakterystykę rozmieszczenia LT $\beta$ R w komórkach niestymulowanych; (2) określenie dynamiki oraz dróg transportu LT $\beta$ R; (3) ustalenie genów regulowanych w odpowiedzi na stymulację receptora ligandem; (4) określenie wpływu różnych ścieżek endocytozy LT $\beta$ R oraz jego partnerów na: (a) białka zaangażowane w szlaki sygnałowe od niego zależne, (b) ekspresję genów docelowych, oraz (c) odpowiedź komórkową.

Badania będą prowadzone w komórkach raka płuca, które jak wcześniej wykazaliśmy odpowiadają na stymulację ligandem LT $\beta$ R poprzez aktywację białek zaangażowanych w różne kaskady sygnałowe, jak również poprzez ekspresję wybranych genów. W proponowanych badaniach posłużymy się nowoczesnymi metodami biologii molekularnej i komórkowej, m.in.: mikroskopią konfokalną, czy sekwencjonowaniem następnej generacji.

Biorąc pod uwagę brak systematycznych danych charakteryzujących LT $\beta$ R na poziomie biologii komórki, proponowany projekt ma charakter nowatorski, a wyniki badań **dostarczą szczegółową wiedzę na temat endocytozy i regulacji szlaków sygnałowych zależnych od LT $\beta$ R. Może być ona w przyszłości wykorzystana do badań nad innymi słabo zbadanymi receptorami cytokin z rodziny TNFRSF, do której należy LT $\beta$ R.**