

## **Rola białka Tollip w rozwoju zarodkowym i homeostazie białkowej w modelu danio przęgowanego (*Danio rerio*)**

Komórki organizmu produkują specjalne związki chemiczne – białka, które są nieodzownym elementem każdego procesu zachodzącego w organizmie. Białka mogą pełnić role budulcowe, sygnałowe, a także obronne. Informacja dotycząca rodzaju i składu białka zapisana jest na nici DNA (gen), w której ułożenie poszczególnych nukleotydów (związków chemicznych) determinuje wygląd białka i przyszłe możliwości oddziaływania z innymi molekułami. Należy zaznaczyć, że niepotrzebne organizmowi białka są niszczone, dzięki czemu zachowana jest w organizmie równowaga nazywana homeostazą białkową. Degradacja białek, bo tak nazywany jest ten proces, może być przeprowadzana przez komórki organizmu w specjalnych pęcherzykach (lizosomach). W warunkach stresowych (np. brak substancji odżywczych) następuje rozkład białek na skutek działania innych białek (enzymów). W tym przypadku proste związki chemiczne są odzyskiwane przez komórkę, a cały proces określa się mianem autofagii. Drugim procesem jest degradacja przy udziale systemu ubikwityna-proteasom. W obu przypadkach białka kierowane do zniszczenia muszą być uprzednio wyznakowane, poprzez dołączenie do nich innego białka – ubikwityny. Białko to pełni rolę sygnału do rozpoczęcia procesu degradacji i umożliwia rozkład łańcucha białka na mniejsze fragmenty (polipeptydy i aminokwasy) przy udziale innych białek. Dwa wymienione procesy mogą regulować się wzajemnie. Upośledzenie mechanizmów degradacji szkodliwych białek może prowadzić do ich kumulacji w postaci agregatów, które są często nie tylko oznaką chorób neurodegeneracyjnych, do których zalicza się chorobę Alzheimer, Huntingtona, Parkinsona, ale także chorób spichrzeniowych, w tym choroby Gauchera. Obecność agregatów uniemożliwia prawidłowe funkcjonowanie komórek nerwowych, co wpływa na upośledzenie funkcji życiowych.

Liczne białka zostały dobrze opisane pod względem funkcji, a w przypadku niektórych molekuł wciąż trwają prace badawcze mające na celu ich lepsze scharakteryzowanie. Jednym z takich białek jest białko Tollip. Dotychczasowe doniesienia naukowe dotyczące roli białka Tollip w organizmie skupiają się głównie na jego roli w regulacji procesów odpornościowych, a prace badawcze prowadzone były na liniach komórkowych, czyli komórkach jednego rodzaju np. nabłonkowych, wyizolowanych z organizmu. Na uwagę zasługuje również fakt, iż białko Tollip w swojej budowie posiada miejsce specjalnie dedykowane do związania ubikwityny (tzw. domena CUE) i tym samym może wpływać na proces degradacji innych białek. Nasze ostatnie wyniki prac badawczych pokazały, że białko Tollip może też pełnić rolę negatywnego regulatora ścieżki sygnałowej Wnt, która determinuje losy komórek organizmu, wpływając tym samym na jego rozwój, wygląd i funkcjonowanie. Badania prowadzone przez nas na organizmie modelowym – danio przęgowanym pokazały, że usunięcie białka Tollip na wczesnych etapach rozwoju może mieć poważne konsekwencje dla rozwijającego się organizmu przejawiające się w licznych deformacjach młodego organizmu (zarodka).

Celem naukowym projektu jest zbadanie roli białka Tollip w rozwoju kręgowców ze szczególnym uwzględnieniem funkcji w utrzymaniu równowagi białkowej organizmu. Jednym ze sposobów poznania funkcji danego białka w organizmie jest jego usunięcie, a następnie badanie procesów, które zostały przez brak białka zaburzone. Niniejszy projekt w pierwszej kolejności pozwoli na skonstruowanie linii ryb, w których zostaną wprowadzone takie zmiany w genie kodującym białko Tollip, które uniemożliwią powstanie kompletnej formy białka, a cecha ta będzie przekazywana potomstwu. Nowatorskim aspektem planowanych prac jest stworzenie linii mutantów metodą inżynierii genetycznej CRISPR/Cas9, jak również użycie nowoczesnej mikroskopii SPIM, która jest z powodzeniem wykorzystywana do obrazowania 3D żywych zarodków danio przęgowanego. Kolejne zadania projektu przewidują: szczegółową charakterystykę stworzonych linii ze zmianami w obrębie genu *tollip*, a także zbadanie roli białka Tollip w homeostazie białkowej organizmu ze szczególnym uwzględnieniem systemu ubikwityna-proteasom i autofagii, w których to białko odgrywa rolę. Ponadto, by zgłębić potencjalnie korzystną rolę białka Tollip w usuwaniu agregatów białkowych w badaniach zostanie wykorzystany model rybi choroby Gauchera, w którym obserwuje się m.in. zwiększoną ilość ubikwitynowanych białek w mózgu i zmiany w sposobie poruszania się ryb. Wyniki pozwolą odpowiedzieć na pytanie, czy białko Tollip potrzebne jest w rozwoju zarodkowym, a także procesach autofagii i degradacji białek przez system ubikwityna-proteasom. Ponadto, przewidziane w projekcie badania pozwolą zweryfikować hipotezę o potencjalnie korzystnej funkcji białka Tollip w usuwaniu agregatów białkowych symptomatycznych dla choroby Gauchera w modelowym organizmie kręgowym.