

Celem projektu jest ustalenie charakteru interakcji pomiędzy żelsoliną, białkiem cytoszkieletu aktynowego, a LamR bądź ILK i określenie jaki te interakcje mają wpływ na adhezję ludzkich melanocytów (komórek pigmentowych) oraz komórek ludzkiego czerniaka do lamininy, białka macierzy pozakomórkowej. Chcemy również ustalić, czy oddziaływania żelsoliny z LamR lub ILK są istotne dla migracji i inwazji badanych komórek, ponieważ zmiany w zdolnościach adhezyjnych komórek mają wpływ na ich zdolność do przemieszczania się.

Zarówno prawidłowe jak i nowotworowe komórki mają **zdolność do przemieszczania się w obrębie tkanek**. Niezwykle ważną kwestią jest pełne zrozumienie procesów, jakie pozwalają komórkom nowotworowym na ruch, a co za tym idzie na tworzenie przerzutów. Białka składające się na szkielet komórki, czyli cytoszkielet można podzielić na trzy grupy: mikrofilamenty, filamenty pośrednie oraz mikrotubule. Podczas gdy mikrotubule odpowiadają głównie za transport organelli oraz prawidłowy podział komórki, a filamenty pośrednie za jej kształt, mikrofilamenty odpowiedzialne są głównie za jej ruch. Te ostatnie struktury są zbudowane z aktyny, która ma unikalną zdolność do tworzenia polimerów. Ponad 200 białek kontroluje bezpośrednio tworzenie polimerów aktynowych i ich fragmentację. Te dynamiczne zmiany są odpowiedzialne m.in. za ruch komórki. **Żelsolina** jest jednym z takich białek. Odpowiada ona za fragmentację, czapeczkowanie wolnych końców filamentów aktynowych, a w pewnych warunkach za nukleację monomerów aktyny. Oprócz tych kanonicznych funkcji żelsolina pełni ważne funkcje w innych procesach takich jak apoptoza czy transport hormonów sterydowych do jądra komórkowego. Szereg danych literaturowych wskazuje na ważny udział żelsoliny w procesach patologicznych np. chorobie Alzheimera, chorobach serca czy też w nowotworach wywodzących się z różnych tkanek.

Żelsolina jest też aktywnie zaangażowana w adhezję komórek do podłoża, choć mechanizm tego procesu nie jest poznany. Wiadomo jedynie, że w leukocytach żelsolina jest odpowiedzialna za kontrolę rozlokowania i aktywności integryny $\beta 1$, białka biorącego udział w adhezji komórek do podłoża.

Z naszych wcześniejszych badań wynika, że **żelsolina oddziałuje** m.in. z białkami biorącymi udział w adhezji w tym z **nieintegrynowym receptorem lamininy (LamR** aka 37LRP, 67LR, Rpsa) oraz **ILK** (integryno-zależna kinaza).

LamR lokalizuje się w jądrze komórkowym, cytoplazmie oraz na powierzchni komórki. Zwiększony poziom tego białka jest obserwowany w różnych nowotworach i wpływa ono na inwazję oraz metastazę komórek nowotworowych. Głównymi białkami obecnymi na powierzchni błony komórkowej odpowiedzialnymi za adhezję komórek do lamininy są integryny. Jak zostało wspomniane już wcześniej, LamR jest nieintegrynowym receptorem lamininy, ale wykazano, że ważnym aspektem funkcjonowania LamR jest także wzmocnienie wiązania się integryn do lamininy. **ILK** natomiast wiąże się z integrynami w obrębie płytki adhezyjnej wewnątrz komórki.

W związku z powyższymi danymi chcemy sprawdzić, jakie są wzajemne zależności pomiędzy LamR a żelsoliną oraz ILK a żelsoliną, skoro wszystkie te białka wydają się być bardzo ważnymi dla adhezji komórek do lamininy. Badania nasze będziemy prowadzić na ludzkich melanocytach i komórkach czerniaka (model *in vitro*) oraz kurzych embrionach (model *in vivo*). Chcemy również ustalić, czy oddziaływania żelsoliny z LamR i ILK są ważne dla migracji i inwazji badanych komórek. Ważnym aspektem będzie także ustalenie, która z odmian (izoforn) żelsoliny tworzy kompleksy z LamR i ILK, i wpływa na zdolności adhezyjne i inwazyjne badanych komórek.

Planujemy następujące zadania badawcze.

1. Uzyskanie rekombinowanych białek potrzebnych do przeprowadzenia części eksperymentów.
2. Przeprowadzenie eksperymentów *in vitro* mających na celu sprawdzenie, jak żelsolina oraz jej interakcje z LamR i ILK wpływają na adhezję i inwazję komórek ludzkiego czerniaka.
3. Sprawdzenie z którymi integrynami GSN tworzy kompleks poprzez kinazę ILK.
4. Przeprowadzenie eksperymentów *in vivo* mających na celu sprawdzenie, jak żelsolina oraz jej interakcje z LamR wpływają na adhezję i migrację komórek kurzego embrionu.