

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Macierz zewnątrzkomórkowa (ECM) jest niekomórkowym elementem obecnym we wszystkich tkankach i organach, stanowiącą strukturalne i biochemiczne rusztowanie dla obecnych w niej komórek, umożliwiając ich adhezję i migrację. Macierz jest złożoną siecią białek fibrylarnych, uzupełnioną miejscowo wydzielanymi polisacharydami i białkami produkowanymi przez obecne w niej adherentne komórki. Zachowanie homeostazy w tkankach jest złożonym procesem wymagającym zaangażowania i współpracy pomiędzy komórkami epitelialnymi, endotelialnymi i fibroblastami a jej osiągnięcie jest możliwe między innymi dzięki działaniu proteaz. Proteazy są kluczowymi enzymami w macierzy zewnątrzkomórkowej, niezbędnymi dla jej rearanżacji oraz aktywacji ligandów dla receptorów błonowych komórek, zapewniając właściwe działanie szlaków transdukcji sygnału. Główne grupy proteaz zewnątrzkomórkowych obecnych w macierzy stanowią metaloproteazy macierzy zewnątrzkomórkowej (MMPs) i proteazy serynowe (kalikreiny tkankowe – KLKs). Obie rodziny odgrywają ważną rolę w kontroli prawidłowej budowy i rearanżacji sieci białek w macierzy zewnątrzkomórkowej. W zdrowych tkankach aktywność MMPs jest niska ze względu na ścisłą kontrolę na trzech poziomach: aktywacji transkrypcji, obróbki postranslacyjnej oraz inhibicji aktywności dojrzałych białek przez specyficzne, produkowane lokalnie inhibitory tkankowe (TIMPs). Regulację aktywności proteaz z rodziny kalikrein zapewniają obecne w przesączu surowiczym inhibitory z grupy serpin oraz tkankowo specyficzne inhibitory proteaz serynowych (SPINKs - Kazal-type serine protease inhibitor). W trakcie rearanżacji tkanek oraz rozwoju stanów patologicznych czy stanu zapalnego, dochodzi do znacznego podniesienia poziomu ekspresji proteaz. Wskazuje to na ważną rolę tych białek w zachodzących procesach i sugeruje, że kontrola ich ekspresji/wydzielania i aktywności jest niezbędna dla zachowania funkcji tkanek. Deregulacja procesów proteolizy może prowadzić do zachodzenia procesów patologicznych wpływających m.in. na prawidłowe gojenie ran, rozwój stanu zapalnego lub procesy nowotworzenia. Dotychczasowy stan wiedzy opisujący kaskadową aktywację proteaz w obrębie rodzin jest całkiem rozległy, jednak niewiele wiadomo o możliwości krzyżowej aktywacji proteaz z omawianych rodzin. Celem tego projektu jest zbadanie potencjału kalikrein tkankowych do aktywacji lokalnie występujących w ECM metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej (MMPs).

Projekt zakłada znalezienie wśród wszystkich 23 proMMPs substratów dla kalikrein, zbadanie możliwości ich potencjalnej aktywacji oraz określenie biochemicznej i biologicznej konsekwencji tego zjawiska. W pierwszym etapie badań zostanie określone, które sekwencje aktywacyjne dla MMPs są podatne na proteolizę przez dostępne kalikreiny. Zadanie to zostanie zrealizowane przy użyciu biblioteki białek fuzyjnych niosących sekwencje aktywacyjne reprezentatywne dla proMMPs. Następnie uzyskane wyniki zostaną potwierdzone dla natywnych proform białek MMPs, umożliwiając szczegółową analizę parametrów aktywacji, co jest niezbędne dla pełnego potwierdzenia danych uzyskanych przy użyciu biblioteki białek fuzyjnych. Ostatecznie użyty zostanie model komórkowy, w którym obserwowany potencjał kalikrein do aktywacji MMPs zostanie potwierdzony na poziomie biologicznym, umożliwiając ocenę wpływu tej aktywacji na degradację białek macierzy zewnątrzkomórkowej. Wyniki jakie zostaną uzyskane w tym projekcie pozwolą na rozszerzenie obecnego stanu wiedzy o oddziaływaniach zachodzących pomiędzy enzymami z rodziny kalikrein i MMPs, dwóch grup proteaz kluczowych dla prawidłowego funkcjonowania macierzy zewnątrzkomórkowej. Do tej pory niewiele jest wiadomości o możliwości aktywacji proMMPs przez kalikreiny tkankowe, dlatego projekt ten stanowi nowy i interesujący temat badawczy. Wyniki uzyskane w ramach tego projektu mogą rzucić dodatkowe światło na charakter interakcji zachodzącej pomiędzy ludzkimi kalikreinaми i MMPs w macierzy zewnątrzkomórkowej, a tym samym pomóc w zrozumieniu złożonych mechanizmów jakie zachodzą w tkankach w trakcie przejścia od stanu fizjologicznego do patologicznego obserwowanego w przebiegu wielu schorzeń.