

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU (W JĘZYKU POLSKIM)

Interferony (**IFN**) stanowią rodzinę białek sygnałowych syntetyzowanych i uwalnianych przez komórki gospodarza w reakcji na obecność patogenów takich jak wirusy, bakterie czy pasożyty ale także komórek nowotworowych. Interferon pobudza zainfekowaną komórkę, oraz inne z nią sąsiadujące, do wydzielania białek zdolnych hamować rozwój patogenu w ich wnętrzu. W ten sposób namnażanie wirusa, a co za tym idzie dalsza infekcja zostają zatrzymane. Interferony pełnią również ważne funkcje immunoregulacyjne – potrafią hamować nadmierną aktywację limfocytów B, pobudzać aktywność limfocytów T oraz nasilać działania cytotoksyczne komórek NK.

Interferony są cytokinami, które można podzielić na trzy grupy: interferony typu I (**IFN-I**), interferony typu II i interferony typu III. IFN-I u człowieka reprezentują IFN- α , IFN- β , IFN- ϵ , IFN- κ i IFN- ω , które produkowane są przez fibroblasty i monocyty w odpowiedzi na obecność wirusa w organizmie. Uwolnienie IFN-I ma na celu zahamowanie procesu replikacji wirusowego DNA bądź RNA, ekspresję szeregu białek mających na celu m.in. uszczelnienie błon i wywołanie w komórkach niezainfekowanych stanu gotowości do obrony przeciwko patogenowi, do momentu rozbudzenia się swoistej odpowiedzi immunologicznej. IFN-II jest syntetyzowany przez komórki NK i limfocyty T w odpowiedzi na infekcje i obecność komórek nowotworowych. Jego głównym zadaniem jest zasygnalizowanie układowi odpornościowemu potrzeby interwencji przeciw patogenowi lub komórkom nowotworowym. Najmłodszą grupą są IFN-III, które odgrywają istotną rolę w infekcjach wirusowych np. wirusem zapalenia wątroby.

Poprzez interakcje ze specyficznymi receptorami na powierzchni komórki interferony zdolne są do aktywacji białek należących do rodziny przekaźników sygnału i aktywatorów transkrypcji (**STAT**). Rolą białek STAT jest regulowanie ekspresji szeregu genów związanych z odpowiedzią immunologiczną organizmu. Aktywacja STAT inicjuje rozpoczęcie klasycznej kaskady sygnalizacyjnej dla IFN – klasycznego szlaku sygnałowego: kinazy Janus - białka STAT (**JAK-STAT**). Szlak ten prowadzi do ekspresji genów indukowanych interferonem (**ISGs**) i rozpoczyna się gdy IFN-I i -II wywołują fosforylację białek STAT1 i/lub STAT2 w której pośredniczą kinazy Janus (**JAK**). Powstałe w wyniku tego homodimery STAT1 (odpowiedź na IFN-I i -II) lub heterodimery STAT1-STAT2 (odpowiedź wyłącznie na IFN-I) bezpośrednio aktywują geny zawierające miejsce wiązania **GAS** (miejsce aktywacji indukowane IFN-II). Równie ważną jest zdolność do łączenia się w odpowiedzi na IFN-I, heterodimerów STAT1-STAT2 lub homodimerów STAT2 z czynnikiem **IRF9** i tworzenia w ten sposób kompleksu **ISGF3**, co rozszerza pulę miejsc aktywacji transkrypcji regulowanych przez szlak sygnalizacyjny JAK-STAT o element **ISRE** (stymulowany interferonem element regulujący transkrypcję). Ponadto ekspresja genów indukowanych przez interferon może być regulowana w podobny sposób przez samodzielne białko **IRF1**, które wiąże się bezpośrednio z sekwencjami ISRE bądź wrażliwym na białko IRF elementem regulującym transkrypcję (**IRE**). Cechy wspólne i różnice w funkcji biologicznej IFN-I i -II mogą być odzwierciedleniem podobieństw i różnic w aktywacji szlaków sygnalizacji, a w efekcie regulacji transkrypcyjnej różnych zestawów genów.

Aby dokładniej poznać i zrozumieć złożoność i zasady działania tego systemu, w tym projekcie prezentujemy strategię wykonania jednocześnie obejmujących cały genom eksperymentów z zakresu biologii molekularnej takich jak sekwencjonowanie nowej generacji (**NGS**) czy immunoprecypitacja chromatyny połączona z sekwencjonowaniem (**ChIP-Seq**). Techniki te pozwolą na identyfikację interakcji poszczególnych białek z rodzin IRF i STAT z chromatyną, ich właściwości regulacyjnych względem ISGs w odniesieniu do czasu ekspozycji i typu interferonu. Wykorzystując systemy komórkowe wykazujące nadekspresję lub wyciszenie poszczególnych białek lub miejsc regulatorowych oraz techniki pozwalające identyfikować wiązania się poszczególnych czynników do DNA planujemy scharakteryzować mechanizmy regulujące transkrypcję nowoodkrytej grupy genów posiadających moduł miejsc wiązania składający się z elementów ISRE i GAS, ich odpowiedzi na IFN-I i -II w różnych liniach komórkowych. Przewidujemy również dostarczenie dowodów na istnienie pozytywnego sprzężenia zwrotnego w regulacji genów dla STAT1, STAT2, IRF9 oraz IRF1, a także faktu, że jest to główny mechanizm odpowiedzialny za przedłużoną odpowiedź komórkową na IFN. Kolejnym krokiem będzie wykonanie eksperymentów sprawdzających komórkową aktywność antywirusową, proliferacyjną oraz pro-apoptotyczną, by uściślić jaką rolę biologiczną pełni nowoodkryta grupa genów w odniesieniu do funkcji biologicznych interferonu. Wyniki otrzymane podczas realizacji tego projektu pozwolą rzucić nowe światło na dotychczas niewyjaśnione aspekty dotyczące złożonych szlaków sygnalizacyjnych wrodzonej odpowiedzi immunologicznej, dadzą podłoże dla stworzenia nowych, skuteczniejszych leków przeciwwirusowych oraz identyfikacji biomarkerów pozwalających na śledzenie rozwoju infekcji wirusowych i postępów w ich leczeniu.