

CCDC96, nowe białko rzęskowe lokalizacja i rola w powstawaniu i funkcjonowaniu rzęski

Cel badań/Hipoteza

Rzęski to drobne wypustki komórkowe, wsparte na mikrotubularnym cytoszkielecie, obecne w niemal każdej komórce eukariotycznej. Ze względu na budowę i zdolność do poruszania się rzęski dzielą się na nieruchome czuciowe rzęski pierwotne oraz na rzęski ruchome, które umożliwiają ruch organizmom jednokomórkowym, a u organizmów wielokomórkowych są odpowiedzialne za przesuwanie drobin lub płynów wzdłuż powierzchni orzęsionego nabłonka. U człowieka nieprawidłowa budowa lub złe funkcjonowanie rzęsek prowadzi do wielu poważnych chorób nazywanych ogólnie ciliopatiami.

W powstaniu i działaniu rzęsek bierze udział nawet kilkaset białek. W przypadku wielu z tych białek nie wiemy, czy a jeśli tak, to gdzie są wbudowane w rzęskę i jaka rolę pełnią. A przecież bez poznania szczegółowej budowy rzęsek, trudno będzie zrozumieć w jaki sposób funkcjonuje ta złożona struktura. Dlatego uważam, że kolejnym krokiem mogącym przybliżyć pełne zrozumienie mechanizmów regulujących funkcjonowanie rzęsek jest analiza białka CCDC96. Dlatego chcę zbadać jaką rolę to białko odgrywa w rzęsce, a także zidentyfikować jego partnerów.

Białko CCDC96 zostało odkryte jako potencjalne białko rzęskowe w trakcie moich badań nad rzęskowym białkiem CCDC113. Z badań wstępnych wynika, że u *Tetrahymena* białko CCDC96 lokalizuje się wzdłuż całej rzęski i może oddziaływać z białkiem CCDC113. Ponieważ brak białka CCDC113 w komórkach *Tetrahymena* powoduje upośledzenie ruchu rzęsek, można przypuszczać, że również CCDC96 współdziałając z CCDC113, może wpływać na ruch rzęsek.

Jak pokazali inni badacze, białko CCDC96 lokalizuje się w strukturach biorących udział w powstawaniu rzęsek pierwotnych. Sugeruje to, że CCDC96, pełni rolę w regulowaniu tworzenia rzęsek pierwotnych i / lub wpływać na ich stabilność.

Zastosowana metoda badawcza

Aby osiągnąć postawione cele, uzyskam szczepy *Tetrahymena*, pozbawione białka CCDC96 i porównam je z komórkami dzikimi pod kątem tempa: podziału komórek (ruch rzęsek wspomaga rozdzielenie komórek pod koniec cytokinezy), pobierania pokarmu z otoczenia (ruch rzęsek przesuwa drobinę pokarmu w kierunku aparatu gębowego), odbudowy rzęsek po ich eksperymentalnym usunięciu, poruszania się komórek oraz charakterystycznych parametrów ruchu rzęsek (częstotliwość uderzenia i amplituda wygięcia). W celu poznania partnerów białka CCDC96, otrzymam komórki *Tetrahymena* produkujące białko CCDC96-3HA lub CCDC96-BirA i wykonam immunoprecypitację przy użyciu przeciwciał anti-HA lub streptawidyny unieruchomionych na odpowiednim złożu. W celu identyfikacji otrzymanych oczyszczonych białek zostanie wykonana spektrometria mas.

Aby poznać rolę białka CCDC96 w komórkach ssaczy tworzących rzęskę pierwotną, wprowadzę do komórek mIMCD-3 plazmid umożliwiający produkcję białka CCDC96-HA i zbadam jego lokalizację, następnie zbadam wpływ podwyższonego i obniżonego poziomu białka CCDC96 na powstawanie rzęsek pierwotnych analizując komórki wyznakowane przeciwciałami.

Wpływ rezultatów.

Uzyskane wyniki pozwolą na poszerzenie podstawowej wiedzy dotyczącej budowy rzęski, w jaki sposób powstają te struktury oraz jak jest regulowana ich funkcja. Być może w przyszłości, pomogą w identyfikacji lub zwalczaniu chorób powodowanych przez niewłaściwe funkcjonowanie rzęsek. Otrzymane wyniki będą częścią mojej rozprawy doktorskiej a także będą prezentowane na konferencjach krajowych i zagranicznych oraz przygotowane do publikacji w czasopiśmie naukowym.