

Skóra jest to narząd, który chroni organizm przed zmiennymi warunkami środowiska zewnętrznego, oraz zapewnia niezmiennie warunki środowiska wewnętrznego (zabezpiecza przed dehydratacją). Naskórek, wierzchnia warstwa skóry, jest zbudowany z keratynocytów, komórek o wysokiej zdolności do proliferacji oraz różnicowania. Utrzymanie integralności naskórka oraz wytworzenie funkcjonalnej bariery zapewnia zachowanie równowagi pomiędzy proliferacją keratynocytów, a ich terminalnym różnicowaniem. Zaburzenia tych procesów są przyczyną wielu chorób skóry, które stanowią poważny problem społeczny gdyż w Polsce żyje obecnie około 5 mln osób z różnymi chorobami dermatologicznymi. Poznanie mechanizmów regulujących prawidłowe funkcjonowanie skóry jest ważne dla zrozumienia przyczyn powstawania chorób skóry, oraz znalezienia nowych, skutecznych metod ich leczenia.

Homeostazę naskórka utrzymuje aktywność wielu genów. Jak sądzimy, jednym z nich jest gen *HSPA2*, kodujący słabo zbadane białko szoku termicznego należące do rodziny HSPA/HSP70, grupującej białka opiekuńcze o właściwościach cytoprotekcyjnych. W odróżnieniu od innych genów HSPA, ekspresja *HSPA2* nie jest pobudzana przez wysoką temperaturę, natomiast jak wykazaliśmy jest bezpośrednio kontrolowana przez czynnik transkrypcyjny indukowany hipoksją 1 (ang. *Hypoxia-Inducible Factor 1*; HIF-1), nadrzędny regulator adaptacji komórek do warunków niedoboru tlenu (tzw. hipoksji). Czynnik HIF-1 pełniąc wielorakie role w skórze, jest ważny dla funkcji naskórka. Dotychczas, ze względu na wysoką ekspresję genu *HSPA2* w jądrach oraz różnego rodzaju nowotworach, badania nad białkiem *HSPA2* koncentrowały się na wyjaśnianiu jego znaczenia dla płodności mężczyzn, oraz w nabywaniu fenotypu złośliwego przez komórki nowotworowe.

W naszych ostatnich pracach wykryliśmy, że znaczne ilości białka *HSPA2* obecne są w różnych nablónkach wielowarstwowych. Szczególnie intrygujący wzór lokalizacji *HSPA2* ujawniliśmy w skórze, w której białko to występuje jedynie w keratynocytach warstwy podstawnej naskórka. Zmienioną lokalizację *HSPA2* obserwowaliśmy w zmianach skórnych pacjentów chorych na łuszczycę, przewlekłą chorobę zapalną skóry, której towarzyszą zaburzenia struktury i funkcji naskórka. W badaniach wstępnych uzyskaliśmy wyniki sugerujące, że *HSPA2* może kontrolować inicjację różnicowania keratynocytów oraz regulować stabilność i aktywność czynnika HIF-1. Wyniki te pozwoliły nam na sformułowanie hipotezy, że *HSPA2* uczestniczy w utrzymywaniu homeostazy ludzkiego naskórka. Sądzimy, że wpływ *HSPA2* na keratynocyty może wyrażać się poprzez jego zdolność, jako białka opiekuńczego, do modulowania aktywności innych białek (czynników transkrypcyjnych, białek sygnalizacyjnych) o kluczowym znaczeniu dla proliferacji i różnicowania tych komórek. Sądzimy, że jednym z białek zależnych od *HSPA2* jest czynnik transkrypcyjny HIF-1, a wzajemne oddziaływania pomiędzy nimi mogą wpływać na utrzymanie homeostazy naskórka. Nadrzędnym celem projektu będzie określenie roli *HSPA2* w fizjologii oraz patofizjologii naskórka. Proponowany projekt posiada trzy cele szczegółowe:

1. Zbadanie wpływu *HSPA2* na utrzymanie homeostazy ludzkiego naskórka.
2. Zidentyfikowanie białek oddziałujących z *HSPA2* w keratynocytach.
3. Zbadanie ekspresji *HSPA2* w skórze łuszczycowej i zbadanie wpływu wybranych cytokin na ekspresję *HSPA2* w keratynocytach.

Do celów niniejszego projektu zastosujemy model rekonstruowanego ludzkiego naskórka (RHE) *in vitro* uzyskany metodą hodowli trójwymiarowej (3D) keratynocytów. Model ten, w połączeniu z technikami manipulacji genetycznych stanowi uznane narzędzie do badań nad wpływem białek na integralność i funkcje ludzkiego naskórka. Badając wpływ *HSPA2* na biologię keratynocytów scharakteryzujemy fenotyp keratynocytów ze zmodyfikowanym poziomem *HSPA2* oraz ocenimy ich zdolność do odtwarzania naskórka. W tym celu wykorzystamy metody modyfikacji genetycznych komórek. Efekt wprowadzonych zmian będzie scharakteryzowany z wykorzystaniem zaawansowanych technik biologii molekularnej, biologii komórki oraz badania oddziaływań międzybiałkowych przystosowanych do badań czynności ludzkiego naskórka w modelu RHE. Wykorzystamy również nowoczesne techniki globalnej analizy ekspresji genów takie jak sekwencjonowanie nowej generacji transkryptomu czy analizy proteomiczne technikami spektrometrii mas.

Efekty realizacji projektu będą miały znaczenie poznawcze oraz implikacje kliniczne. Dzięki zastosowaniu nowoczesnych metod badawczych realizacja projektu umożliwi zrozumienie złożonej roli białka *HSPA2* w utrzymaniu homeostazy naskórka oraz w stanie chorobowym jakim jest łuszczycyca. W przyszłości nasze wyniki mogą zaowocować wytypowaniem nowych celów molekularnych w poszukiwaniach skutecznych sposobów monitorowania/leczenia schorzeń skóry oraz być wykorzystane do konstruowania ekwiwalentów skóry do celów medycyny regeneracyjnej. Wyniki uzyskane w projekcie zostaną opublikowane w czasopismach naukowych o wysokim współczynniku oddziaływania (IF), będą prezentowane na krajowych i międzynarodowych konferencjach oraz będą podstawą pracy doktorskiej.