

Komórki eukariotyczne do prawidłowego funkcjonowania potrzebują składników odżywczych, które pobierają ze środowiska zewnętrznego. Jednym z procesów umożliwiających im internalizację tych składników i cząsteczek regulatorowych, jest endocytoza zależna od klatryny (*ang. clathrin mediated endocytosis* CME). Proces ten składa się z kilku etapów: (1) selekcja i grupowanie pobieranego ładunku (cargo), (2) formowanie zagłębienia w błonie komórkowej (tzw. dołka), (3) tworzenie pęcherzyka opłaszczonego klatryną, (4) oddzielenie pęcherzyka od błony komórkowej, (5) transport pęcherzyka do wnętrza komórki. W kolejnych etapach CME uczestniczą różne białka, takie jak klatryna, dynamina, kompleks Arp2/3 i wiele innych. Jednak kluczową rolę odgrywa kompleks adaptorowy AP2, który tworzy mostek pomiędzy cząsteczkami klatryny, a błoną komórkową. Składa się on z czterech podjednostek: $\alpha 2$, $\beta 2$, $\mu 2$ i $\sigma 2$. Poszczególne podjednostki mogą ulegać modyfikacjom potranslacyjnym, co znacząco wpływa na pełnione przez nie funkcje i tym samym reguluje działanie całego kompleksu AP2. Jedną z takich modyfikacji jest fosforylacja, czyli reakcja przyłączenia reszty fosforanowej do treoniny 156 podjednostki $\mu 2$. Według niektórych źródeł ta fosforylacja może wpływać na aktywację kompleksu AP2. Jednak badania wstępne przeprowadzone w naszym laboratorium wykazały, że istnieją inne miejsca ulegające fosforylacji: seryna 45 i seryna 309 białka $\mu 2$. Nasze wyniki wskazują, że reakcja ta zachodzi w sposób zależny od kinazy białkowej p70S6K. Co więcej, wykazaliśmy, że fosforylacja seryny 45 wpływa na intensywność procesu endocytozy zależnej od klatryny. Jednak dotychczas nie wykazano roli tych modyfikacji potranslacyjnych w regulacji kompleksu adaptorowego AP2 oraz nie wiadomo jak dokładnie wpływają na proces endocytozy zależnej od klatryny.

Celem niniejszego projektu jest sprawdzenie hipotezy, iż fosforylacja seryny 45 i seryny 309 reguluje zmiany konformacyjne kompleksu AP2 i w wyniku tego przyczynia się do modulacji endocytozy zależnej od klatryny. Jednocześnie planujemy sprawdzić, rolę p70S6K w regulacji funkcji AP2, poprzez te fosforylacje.

Proponowane badania zostaną przeprowadzone na dwóch poziomach złożoności. Na początku zbadamy rolę fosforylacji seryny 45 i seryny 309 na poziomie molekularnym (pojedynczych cząsteczek), a następnie zajmiemy się charakterystyką funkcji fizjologicznych, na poziomie komórkowym.

W wyniku realizacji niniejszego projektu badawczego spodziewamy się przede wszystkim opisanie nowego mechanizmu regulacji kompleksu AP2 oraz endocytozy zależnej od klatryny poprzez fosforylację seryn 45 i 309 białka $\mu 2$.