

Popularnonaukowe streszczenie projektu

1. Cel prowadzonych badań/hipoteza badawcza

Rzęski to krótkie, przeważnie kilkumikrometrowe wypustki komórek, posiadające mikrotubularny cytoszkielet. Rzęski ruchome oprócz 9 par mikrotubul obwodowych mają również dwie centralnie położone mikrotubule oraz powtarzające się cyklicznie wzdłuż mikrotubul struktury takie jak zewnętrzne i wewnętrzne ramiona dyneinowe, promienie łączące i połączenia neksynowe. Obecność tych dodatkowych struktur jest niezbędna do tego, by rząski mogły się poruszać.

Promienie łączące występują w rząsce jako triplety i są niezbędne do prawidłowego poruszania się rząsek. Poszczególne promienie łączące tripletu, tj. RS1, RS2 i RS3 mają nieco inną morfologię, zwłaszcza promień RS3. Promienie łączące pośredniczą w przekazywaniu mechanicznych i chemicznych sygnałów od centralnie położonych mikrotubul do ramion dyneinowych umocowanych na mikrotubulach obwodowych u podstawy promieni.

W oparciu o badania na *Chlamydomonas*, przypuszcza się, że promienie łączące zbudowane są z 23 białek nazwanych RSP1-23. W porównaniu z innymi organizmami, promień RS3 *Chlamydomonas* jest nietypowy. Jest on znacznie krótszy niż promienie RS1 i RS2, a budujące go białka są nieznane. W przeciwieństwie do *Chlamydomonas*, u człowieka i *Tetrahymena* promień RS3 jest strukturą o takiej samej wielkości jak RS1 i RS2, ale różni się od nich kształtem.

Różnice w architekturze promienia RS3 sugerują, że promień ten jest zbudowany z innych białek niż RS1 i RS2 i że może pełnić inną rolę w regulacji ruchu rząski niż pozostałe promienie. Naszym celem jest identyfikacja białek budujących promień RS3 oraz zbadanie jego roli w regulacji ruchu rząski. Zbadamy również, rolę białek RSP posiadających domeny białkowe świadczące o zaangażowaniu w przekazywanie sygnału od pary centralnej w regulacji ruchu rząski. Dodatkowo przeprowadzimy analizy bioinformatyczne w poszukiwaniu ludzkich ortologów zidentyfikowanych białek RS3 i zweryfikujemy, czy lokalizują się one w rząskach ruchomych.

2. Zastosowana metoda badawcza/metodyka

Orząsek *Tetrahymena thermophila* jest uznanym modelem w badaniach nad budową i regulacją bicia rząsek. Białka budujące RS3 będą identyfikowane przy użyciu metody proximity labeling z wykorzystaniem zmutowanej formy ligazy BirA* przyłączonej do znanych już białek specyficznych wyłącznie dla promienia RS3. Biotynylowane białka będą identyfikowane przy pomocy spektrometrii masowej. Potencjalne białka promieni będą poddane ekspresji jako białka fuzyjne z metką HA i lokalizowane w komórkach szczepu dzikiego oraz mutantach *Tetrahymena* pozbawionych poszczególnych promieni lub ich fragmentów. Oddziaływania pomiędzy białkami promieni będą badane za pomocą metod biochemicznych i mikroskopowych.

Mutanty *Tetrahymena* pozbawione odpowiedniego genu lub produkujące białka z metką HA pod kontrolą natywnego promotora, będą otrzymane wg standardowych metod. Fenotyp mutantów białek promienia RS3, zostanie przeanalizowany pod względem zmian w sposobie pływania (trajektorie ruchu) i kształtu wygięć poruszającej się rząski.

3. Wpływ spodziewanych rezultatów na rozwój nauki

Nasze badania poszerzą wiedzę podstawową na temat budowy struktur rząskowych oraz molekularnych podstaw ruchu rząski (poznanie białek budujących promień RS3 oraz wyjaśnienie roli RS3 w przekazywaniu sygnałów regulujących ruch rząski od pary mikrotubul centralnych do ramion dyneinowych).

Rząski ruchome pełnią bardzo ważne funkcje w organizmie człowieka a ich brak lub wadliwe funkcjonowanie powodują zespół chorobowy zwany pierwotną dyskinezą rząsek (ang. primary ciliary dyskinesia, PCD), objawiający się m. in. niepłodnością mężczyzn i kobiet, nawracającymi chorobami dróg oddechowych, zaburzeniami lewo-prawostronnej asymetrii ciała i rzadziej wodogłowiem. Zdiagnozowanie PCD jest często utrudnione. Poznanie nowych białek budujących struktury rząskowe może w przyszłości umożliwić opracowanie nowych markerów genetycznych tej choroby (diagnostyka) i opracowania terapii genowej.