

Rola oddziaływania niekonwencjonalnej miozyny VI z kompleksem AKAP9-PKA: potencjalny nowy mechanizm regulacji funkcjonowania mięśni szkieletowych i różnicowania komórek miogennych

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Pomimo intensywnych badań nad skurczem mięśni, wciąż nie poznano wszystkich mechanizmów regulujących skurcz oraz proces miogenezy. Jednym z wciąż niepoznanych mechanizmów jest udział miozyn niekonwencjonalnych (tzn. takich, które nie przypominają klasycznych miozyn mięśniowych i nie tworzą filamentów) w działaniu mięśni i różnicowaniu mioblastów. Wyniki uzyskane przez nas w trakcie pionierskich badań nad rolą niekonwencjonalnej miozyny VI (MVI) w komórkach miogennych i mięśniu szkieletowym wykazały, że ta unikalna miozyna nie tylko oddziałuje z AKAP9 (*A Kinase Anchoring Protein 9*), który jest regulatorem aktywności kinazy PKA, ale także jest przez tę kinazę fosforylowana. Obserwacje te wskazują na ważną rolę, jaką może pełnić MVI w szlaku sygnałowym kinazy PKA w mięśniu szkieletowym i w komórkach miogennych, zwłaszcza że AKAP9 i PKA są ważne dla pracy mięśni, a większą ilość MVI obserwowano w biopsjach pacjentów z atrofią mięśni. Nasuwa się więc pytanie o charakter zaangażowania MVI w szlaku sygnałowym kinazy PKA i o funkcjonalne znaczenie tej nowoodkrytej interakcji dla skurczu mięśnia i różnicowania mioblastów. Pragniemy również wyjaśnić, czy MVI działa jako substrat dla kinazy PKA, czy jest zaangażowana w regulację aktywności tejże kinazy, czy też oba mechanizmy mogą być wykorzystywane w zależności od kontekstu molekularnego/fizjologicznego. Odpowiedzi na następujące pytania powinny wyjaśnić charakter tego zaangażowania: (i) czy fosforylacja MVI przez kinazę PKA wpływa na funkcje MVI i jak wpływa na oddziaływanie MVI i PKA z AKAP9 w tym procesie?; (ii) czy MVI działa jako motor dostarczający kompleks AKAP9-PKA do pożądanego miejsca w włóknie mięśniowym, uczestnicząc w ten sposób w regulacji aktywności kinazy i skurczu mięśnia oraz różnicowania mioblastów w miotubach?; oraz (iii) czy MVI, obecna także w jądrach włókien mięśniowych, jest zaangażowana w funkcjonowanie PKA w jądrze i - co się z tym wiąże - w aktywację CREB, czynnika transkrypcyjnego aktywowanego przez cAMP-PKA, pełniącego ważną rolę w ekspresji genów mięśniowych?

Badania będą przeprowadzone na poziomie molekularnym, komórkowym i tkankowym z wykorzystaniem myszy Snell's waltzer, które nie syntetyzują MVI. Do realizacji planów zamierzamy wykorzystać nowoczesne metody i techniki biochemiczne, biologii molekularnej i biologii komórkowej oraz fizjologiczne, ze szczególnym uwzględnieniem najnowszych technik obrazowania takich, jak mikroskopia konfokalna i elektronowa oraz laserowa cytometria skaningowa. Planujemy także zbadać parametry skurczu mięśni SV i kontrolnych za pomocą systemu do analizy *in vitro* skurczu wyizolowanych mięśni i pojedynczych włókien mięśniowych.

Spodziewamy się, że uzyskanie odpowiedzi na powyższe problemy umożliwi poznanie mechanizmu(ów) regulujących skurcz mięśni oraz różnicowanie komórek miogennych, a zwłaszcza znaczenia udziału MVI w fizjologii i patologii mięśni. Sądzymy, również iż uzyskane w trakcie badań informacje poszerzą wiedzę o roli miozyn niekonwencjonalnych w skurczu mięśni i różnicowaniu komórek miogennych oraz rzucają nowe spojrzenie na mechanizmy prowadzące do miopatii. Tak więc rezultaty proponowanych badań poprzez zrozumienie mechanizmów prowadzących do patologii mięśnia mogą mieć potencjalne znaczenie w terapii/diagnostyce chorób mięśniowych.