

W codziennym życiu jesteśmy narażeni na ciągłe działanie wielu czynników chorobotwórczych, takich jak wirusy, bakterie, pasożyty czy też powstawanie komórek nowotworowych w naszych ciałach. By uchronić nas przed tymi wrogami, ewolucja wyposażyła nas w niewiarygodnie potężne narzędzie jakim jest układ immunologiczny. Złożony jest on ze skomplikowanej siatki cząsteczek, komórek i tkanek, które w zorganizowany sposób współdziałają razem w całym organizmie w celu zwalczania infekcji i nowotworów. Jednocześnie, by uniknąć nadmiernej reakcji immunologicznej oraz zapobiec rozwinięciu się chorób autoimmunologicznych, układ immunologiczny musi być odpowiednio regulowany oraz stabilizowany. W jaki sposób uzyskać wymagany balans? Sekretem do sukcesu jest odpowiednia komunikacja pomiędzy wszystkimi komórkami. Rozmawiają one ze sobą za pomocą wysyłania cząsteczek sygnałowych. Przykładem takiej cząsteczki jest interferon gamma ($IFN\gamma$), który jest białkiem o różnorodnym działaniu, zaangażowanym w szerokie spektrum reakcji immunologicznych. Komórki otrzymujące sygnał są w ten sposób informowane o aktualnie istniejącej sytuacji w ich otoczeniu. Takie sygnały mogą również działać jako stymulacje, które inicjują działanie komórek skierowane na zwalczanie zagrożeń. Każde zagrożenie jest zwalczane za pomocą innego zestawu stymulacji.

Można by więc pomyśleć, że percepcja, czy też wyczuwanie takich sygnałów (stymulacji) jest precyzyjnie regulowane i że konkretne stężenie danego stymulanta prowadzi do bardzo powtarzalnej odpowiedzi komórkowej w każdej pojedynczej komórce. Co ciekawe jednak, zaobserwowano, że identyczne pojedyncze komórki (poprzez 'identyczne', wg. najlepszej możliwej wiedzy, rozumiemy komórki takie same genetycznie i tego samego typu) oraz w identycznych warunkach środowiskowych kultury *in vitro*, odpowiadały na taką samą stymulację $IFN\gamma$ w bardzo odmienny, różnorodny sposób. **Różnorodność ta była na tyle duża, że komórki niestymulowane miały podobną odpowiedź co komórki stymulowane maksymalną dawką $IFN\gamma$.** Fenomen ten nazywany jest zmiennością międzykomórkową i opisany jest dla wielu procesów biologicznych. **Jednakże nie znamy przyczyn wysokiej zmienności odpowiedzi komórkowej na $IFN\gamma$.** Nie wiemy w jaki sposób mogą być wykonywane skoordynowane funkcje immunologiczne organizmu, skoro identyczne komórki odpowiadają na identyczny sygnał w tak niejednorodny sposób. Czy różnorodność odpowiedzi komórkowej ma znaczenie biologiczne? Do jakiego stopnia odpowiedź ta jest czysto losowa? By odpowiedzieć na te pytania, powinniśmy poznać naturę zjawiska zmienności międzykomórkowej odpowiedzi komórkowej na $IFN\gamma$.

Głównym celem niniejszego projektu jest wyjaśnienie źródeł obserwowalnej zmienności oraz zidentyfikowanie procesów komórkowych, które mają największy wpływ na odpowiedź powodowaną przez $IFN\gamma$.

W tym celu, postaram się zbadać rolę cyklu komórkowego oraz cyklu dobowego, dwóch nadrzędnych procesów komórkowych, na odpowiedź komórkową powodowaną przez $IFN\gamma$. Użyję do tego celu mikroskopii razem z automatyczną analizą pojedynczych komórek w hodowli *in vitro*. Dodatkowo, sprawdzę do jakiego stopnia poziom białek komórki zmienia odpowiedź komórkową na $IFN\gamma$. Odpowiedź taka jest najczęściej reprezentowana jako poziom aktywacji białka STAT1 oraz jego transportu do jądra. W moich badaniach, odpowiedź na $IFN\gamma$ będę więc mierzył jako stężenie aktywowanego białka STAT1 w jądrze komórkowym.

Podczas **pierwszego zadania**, rozróżnię komórki będące w różnych fazach cyklu komórkowego oraz porównam powstałe w ten sposób grupy pod względem odpowiedzi komórkowej na $IFN\gamma$. W **drugim zadaniu**, przeprowadzę synchronizację cyklu dobowego w całej populacji komórek i porównam odpowiedź na $IFN\gamma$ takiej populacji, do populacji komórek niesynchronizowanych. Podczas **zadania trzeciego**, połączę dwie identyczne komórki (identyczne wg. wspomnianej wyżej definicji identyczności), scalając ich cytoplazmy i membranę, ale nie jądra. W takich wielojądrzastych komórkach (nazywanych syncytium), oba jądra będą dzielić wspólne czynniki cytoplazmatyczne i błonowe. Przygotuję populację takich syncytiów oraz sprawdzę, czy odpowiedź na $IFN\gamma$ w obu jądrach jest taka sama. Na koniec jako **zadanie czwarte**, razem z moimi opiekunami, przygotuję model matematyczny, oparty na otrzymanych danych eksperymentalnych, który będzie symulował stymulację komórek przez $IFN\gamma$ i starał się wyjaśniać obserwowalną wysoką zmienność odpowiedzi komórkowej na $IFN\gamma$.

Badania zmienności odpowiedzi immunologicznej są szczególnie ważne, jako że nieprawidłowe wyczuwanie cząsteczek sygnałowych i zaburzone odpowiedzi na takie sygnały są cechami charakterystycznymi dla nowotworów i chorób immunologicznych. Co więcej, wstępne badania kliniczne związane z $IFN\gamma$ napotkały pewne problemy, takie jak występowanie efektów ubocznych czy niepewność co do ustalenia standardowej dawki leku. Niektóre z tych przeszkód mogłyby być ominięte oraz tym samym medycyna spersonalizowana mogłaby być bardziej precyzyjna, gdyby natura fenomenu wysokiej zmienności pojedynczych komórek została by poznana. Mogłoby to w przyszłości pomóc w bardziej precyzyjnym kontrolowaniu układu immunologicznego pacjentów poprzez podawanie $IFN\gamma$ w odpowiedniej dawce w odpowiednim miejscu.