

Wpływ onkogennych mutacji na przepływ informacji w szlaku sygnałowym MAPK

Szlaki sygnałowe przetwarzają i przekazują zewnątrzkomórkowe sygnały, np. pochodzące od czynników wzrostu, i w odpowiedzi na nie regulują komórkowe procesy fizjologiczne, takie jak podziały komórkowe, apoptoza czy ruchliwość. Postulujemy, że pulsacyjna stymulacja cytokinami jest fizjologicznie najbardziej rozpowszechniona z powodu lokalnej sekrecji cytokin oraz ich endocytozy (wraz ze związanymi z nimi receptorami) oraz umożliwia największy przekaz informacji (mierzony liczbą bitów na godzinę dla pojedynczej komórki). Postulujemy również, że mutacje onkogenne zmniejszają zdolność szlaków sygnałowych do poprawnego przekazu sygnałów. W projekcie tym skupimy się na stymulacji pulsacyjnej i użyjemy teorii informacji do analizy wpływu mutacji onkogennych na przekaz sygnału.

Głównym celem projektu jest ustalenie wpływu dwóch częstych onkogennych mutacji KRAS-G12V oraz PI3K-H1047R na tempo przekazu informacji w szlakach sygnałowych prowadzących do kinaz ERK i AKT odpowiedzialnych za regulację podziałów komórkowych, apoptozę oraz ruchliwość komórek. Wstępne dane pokazują, że w komórkach rakowych przekaz informacji jest zakłócony poprzez spontaniczną aktywację szlaków ERK i AKT, co może skutkować niepożądanymi podziałami komórek, lub też chronić uszkodzone komórki przed apoptozą. Przeanalizujemy zatem spontaniczną aktywację szlaków ERK i AKT w niezmutowanych komórkach, oraz w komórkach posiadających mutacje onkogenne. W szczególności zbadamy czy aktywacja ta jest skorelowana pomiędzy sąsiednimi komórkami, co wskazywałoby na międzykomórkową sygnalizację aktywującą.

Eksperymenty będą prowadzone w oparciu o linie komórek nabłonka gruczołu piersiowego, zmodyfikowane przez partnera projektu prof. Oliviera Pertza ze Szwajcarii (Uniwersytet Berneński). Modyfikacja polega na wprowadzeniu do komórek aktywowanego pulsami światła receptora czynników wzrostu, co pozwala na stymulację komórek według niemal dowolnych pulsacyjnych protokołów, naśladujących stymulację *in vivo*. Dodatkowo komórki posiadają fluorescencyjne markery aktywacji ERK i AKT, co umożliwi obserwację aktywacji tych kinaz w czasie rzeczywistym pod mikroskopem konfokalnym.

Wyniki doświadczalne posłużą do konstrukcji dwóch modeli matematycznych. Pierwszy model, wykorzystujący formalizm równań różniczkowych cząstkowych posłuży do opisu aktywacji szlaków ERK i AKT z rozdzielczością przestrzenną. W oparciu o ten model zbadamy formowanie się klastrów aktywnego białka błonowego RAS (białka które odpowiedzialne jest za aktywację ERK i AKT). Doświadczalnie aktywacja RAS będzie badana w oparciu o dodatkowy reporter wprowadzony do komórek. Celem drugiego modelu będzie analiza propagacji fal aktywności ERK, obserwowanych w pojedynczej warstwie komórek. Fale te odgrywają istotną rolę w inicjacji procesu gojenia rany. Do konstrukcji tego modelu użyjemy modelowania agentowego, tj. opisu w którym sygnalizacja pomiędzy komórkami tworzącymi mono-warstwę (agentami) modyfikuje procesy wewnątrzkomórkowe.

Spodziewamy się, że mutacje onkogenne w szlakach sygnałowych ERK i AKT, oprócz zwiększenia ogólnej aktywności ERK i AKT, obniżają precyzję sterowania komórek przez sygnały zewnętrzne. Jest to istotną przeszkodą dla terapii, ukierunkowanych wyłącznie na obniżenie aktywności szlaków ERK i AKT.