

Proces sfałdowania białek, prowadzący do osiągnięcia przez nie odpowiedniej struktury, a co za tym idzie funkcji spełnianej w komórce, jest bardzo skomplikowany i podatny na błędy. Wpływa na to wiele różnorodnych czynników, takich jak mutacje genetyczne, stres czy też infekcje wirusowe lub bakteryjne. W rezultacie, w komórce regularnie powstają niepoprawnie sfałdowane białka, których znaczna część trafia do siateczki śródplazmatycznej. Akumulacja w komórce źle sfałdowanych białek może być przyczyną wielu chorób, takich jak choroba Alzheimera, Parkinsona, mukowiscydoza czy nowotwory. Komórkowy system kontroli ma na celu utrzymanie homeostazy w komórce poprzez eliminację nieprawidłowo sfałdowanych białek, wykorzystując do tego szlak komórkowy określany mianem ERAD, czyli degradacji białek związanej z siateczką śródplazmatyczną.

Jednym z kluczowych elementów szlaku ERAD są ligazy ubikwityny E3 - Zadaniem tych enzymów jest przyłączenie małego białka – ubikwityny, która jest molekularną metką, znakującą białka mające ulec degradacji. W ten sposób maszyneria komórkowa rozpoznaje nieprawidłowo sfałdowane białka i może je natychmiastowo degradować. Różnorodność wśród ligaz ubikwityny E3 jest ogromna; jak dotąd zidentyfikowano ponad 600 różnych enzymów E3, jednak tylko niewielka część z nich została scharakteryzowana. Rola pozostałych enzymów w komórce nadal pozostaje nieznana.

Wirusy znane są ze swoich zdolności manipulacji systemem ERAD. Jednym z takich przykładów jest bydłęcy herpeswirus 1, blisko spokrewniony z takimi ludzkimi herpeswirusami, jak wirus ospy wietrznej i półpaśca czy wirus opryszczki pospolitej. Bydłęcy herpeswirus 1 stanowi bezpieczny model weterynaryjny do badań nad wirusami infekującymi człowieka. Co więcej, wirus ten posiada, unikatową wśród herpeswirusów, zdolność kierowania transportera antygenowego TAP do degradacji, co prowadzi do unikania odpowiedzi układu odpornościowego ze strony limfocytów cytotoksycznych. Te właściwości immunomodulujące bydłęcego herpeswirusa 1 oraz białko wirusowe UL49.5 za nie odpowiedzialne, zostały odkryte wiele lat temu. Od tego czasu, pomimo intensywnych badań, nie udało się jeszcze poznać dokładnego mechanizmu działania UL49.5.

Celem mojej pracy doktorskiej jest poznanie białek komórkowych szlaku ERAD, w szczególności ligaz ubikwityny E3, biorących udział w degradacji kompleksu TAP indukowanej przez białko UL49.5 bydłęcego herpeswirusa 1. Drugim aspektem jest badanie, niepoznanej jak dotąd, maszynerii komórkowej biorącej udział w degradacji transportera TAP w komórkach zmienionych nowotworowo.

W pierwszym etapie swojej pracy doktorskiej skonstruowałam i zoptymalizowałam fluorescencyjny model komórkowy do badania degradacji transportera TAP, zarówno w normalnych warunkach, jak i w obecności wirusowego białka UL49.5. Model ten posłużył mi do potwierdzenia udziału maszynerii szlaku ERAD w proteasomalnej degradacji kompleksu TAP. Finalizacja pracy doktorskiej zakłada nowatorskie podejście polegające na przeprowadzeniu wysokoprzepustowego badania przesiewowego opartego na systemie edycji genów CRISPR-Cas9. Zadanie to będzie wykonane w ramach współpracy z prof. Ronem Kopito z Uniwersytetu Stanforda, czołowego badacza degradacji białek, współodkrywcę szlaku ERAD oraz pioniera wykorzystania tej nowatorskiej technologii w identyfikacji unikatowego zestawu białek komórkowych zaangażowanych w degradację różnorodnych substratów szlaku ERAD.

Kompleksowe badania prowadzone wielokierunkowo w ramach mojej pracy doktorskiej mogą przyczynić się do rozwoju nauki w trzech aspektach. Po pierwsze, pozwolą one lepiej poznać biologię herpeswirusów, a w szczególności ich właściwości immunomodulacyjne, co może być pomocne w projektowaniu szczepionek oraz wykorzystaniu wirusów jako wektorów w terapii onkologicznej. Moje badania mogą przyczynić się również do wyjaśnienia niezbadanej dotąd proteostazy kompleksu TAP, bardzo istotnego białka komórkowego, którego zaburzenia prowadzą do rozwoju wielu poważnych chorób, w tym autoimmunologicznych czy nowotworowych. Trzecim aspektem jest wykorzystanie białka wirusowego jako narzędzia do lepszego poznania maszynerii degradacji oraz potencjalnej identyfikacji nowych, niepoznanych dotąd białek komórkowych zaangażowanych w szlak ERAD.