

**Tytuł projektu:** Interakcje białka FAST w regulacji śmierci komórki

**Kierownik projektu:** mgr inż. Daria Dawidziak

Celem projektu jest scharakteryzowanie oddziaływań białka FAST (inaczej zwanego serynowo-treoninową fosfoproteiną aktywowaną przez Fas) z innymi makromolekułami w procesie regulacji śmierci komórki. Częsteczką tą jest uznawana za białko przetrwania, ponieważ w warunkach stresu środowiskowego (np. poddania komórek promieniowaniu UV), wędruje do granul stresowych, oddziałuje tam z białkiem TIA-1 i wzmacnia produkcję inhibitorów apoptozy. Częsteczki te, zatrzymują apoptozę – zaprogramowany mechanizm służący usuwaniu zużytych i uszkodzonych komórek, który można porównać do kontrolowanego samobójstwa komórki dla dobra całego organizmu. Białka FAST i TIA-1 spotykają się także w jądrze komórkowym, gdzie wpływają na alternatywny splicing receptora śmierci Fas. Receptor ten może powstać w naszych organizmach w dwóch formach – pro-apoptotycznej (wzmagającej śmierć komórek) lub anty-apoptotycznej (wyciszającej ją). Zarówno FAST jak i TIA-1 promują powstanie pro-apoptotycznej wersji Fas, co pokazuje, że FAST potrafi regulować śmierć komórki na dwa przeciwstawne sposoby. Białko to oddziałuje jednak z jeszcze jedną ważną częsteczką – czynnikiem inicjacji translacji eukariotycznej 4E (eIF4E) – i możliwe, że robi to w taki sam sposób jak białka maskin i cup, czyli poprzez wiązanie do eIF4E oraz TIA-1 i umożliwienie powstania pętli na mRNA. Taka pętla stabilizuje wyciszone mRNA, aż warunki poprawią się i z mRNA będzie bezpiecznie mogło powstać białko.

Co ważne, te interakcje i procesy nie zostały zmapowane razem, aby stworzyć spójny model funkcji FAST w posttranskrypcyjnej regulacji ekspresji genów i nie zostały zbadane w świetle właściwości wiązania RNA przez samego FAST. W tym projekcie chcielibyśmy więc zbadać możliwość powstania wyżej wspomnianej pętli, a także sprawdzić czy FAST pomaga w interakcjach TIA-1 z mRNA receptora śmierci Fas w trakcie alternatywnego splicingu.

W naszym laboratorium jako pierwsi zdołaliśmy wyprodukować rekombinowane białko FAST za pomocą ekspresji w bakteriach i oczyszczania metodami chromatograficznymi. Materiał ten posłużył nam do przeprowadzenia eksperymentów *in vitro*, które potwierdziły zdolność wiązania RNA przez FAST. W tym projekcie sprawdzimy także umiejętność wiązania TIA-1 oraz eIF4E przez FAST, a także wytypujemy krótką częsteczkę RNA najchętniej wiążaną przez FAST. Dodatkowo, sprawdzimy czy FAST ma aktywność kinazy TIA-1, a więc czy potrafi przyłączyć resztę fosforanową do częsteczki TIA-1, która może wpływać na jego aktywność. Badania te zostaną przeprowadzone przy użyciu metod biologii molekularnej, biochemicznych oraz strukturalnych. Wyprodukowany FAST zostanie połączony ze swoimi komórkowymi partnerami, a także z RNA i architekturę takich kompleksów będziemy analizować za pomocą krytalografii rentgenowskiej oraz kriomikroskopii elektronowej.

Sugeruje się, że białko FAST, dzięki swojej zdolności do regulacji śmierci komórki indukowanej przez Fas, bierze udział w kilku formach chorób zapalnych, w których pośredniczy układ odpornościowy. Co ciekawe, ta częsteczka jest nadekspresjonowana u pacjentów z różnymi chorobami o takim pochodzeniu, w tym reumatoidalnym zapaleniem stawów, toczeniem rumieniowatym układowym, cukrzycą autoimmunologiczną i stwardnieniem rozsianym. Nadekspresja lub błędna regulacja FAST może przyczynić się do tych zespołów autoimmunologicznych poprzez regulację apoptozy indukowanej przez Fas, co jest preludium do choroby autoimmunologicznej w kilku systemach eksperymentalnych. Nasze badania poszerzą wiedzę na temat roli FAST w apoptozie i alternatywnym splicingu, które wydają się wpływać na siebie na wielu poziomach regulacji RNA przez tę częsteczkę. Poznanie struktury FAST może umożliwić projektowanie leków skierowanych przeciwko chorobom autoimmunologicznym, takim jak astma czy reumatoidalne zapalenia stawów.