

Celem projektu jest **badanie dróg szybkiego przemieszczania się koronawirusów pomiędzy komórkami w zakażonym organizmie**. Wirusy mogą zakażać wrażliwe komórki od zewnątrz, poprzez wiązanie z receptorami obecnymi na powierzchni komórki i stopniowe wnikanie do jej wnętrza. Tam następuje otwarcie cząstek wirusowych, uwolnienie materiału genetycznego (DNA lub RNA), który jest powielany w procesie replikacji, produkcja białek wirusowych i składanie nowopowstałych cząstek wirusowych, które następnie wydostają się na zewnątrz i zakażają następne komórki. Jednak niektóre wirusy potrafią też przenikać do sąsiednich komórek bez uwalniania do środowiska zewnątrzkomórkowego. Wykorzystują w tym celu miejsca bezpośredniego kontaktu sąsiadujących komórek lub różnego rodzaju połączenia międzykomórkowe. Dzięki takiej bezpośredniej drodze transmisji wirusy mogą rozprzestrzeniać się szybciej i unikają kontaktu z przeciwciałami i komórkami układu immunologicznego. Dla niektórych wirusów posiadających osłonkę (np. wirusa HIV, wirusa odry i ludzkiego wirusa białaczki) pokazano, że ten typ ukrytej szybkiej transmisji wirusa (ang. "cell-to-cell spread") może stanowić ponad 60% infekcji. Uważa się, że **celowane hamowanie bezpośredniej transmisji międzykomórkowej wirusów stwarza nowe, znaczące możliwości terapeutyczne**, szczególnie w chorobach neurologicznych, a dla niektórych herpeswirusów zwierzęcych mutanty wirusowe pozbawione genów niezbędnych do szybkiej transmisji są od lat używane jako szczepionki.

Dotychczas nie pokazano, że koronawirusy również mogą być przenoszone między komórkami drogą „uproszczonej” szybkiej transmisji. Jednak biorąc pod uwagę ogromną wydajność infekcji SARS-CoV2 oraz różnorodność organów – płuca, ale także jelita, nerki, serce – które mogą ulec zakażeniu, można założyć, że ten wirus także wykorzystuje taki sposób przemieszczania się w organizmie. W ubiegłych latach badaliśmy szczegółowo mechanizm procesu transmisji „cell-to-cell” dla herpeswirusów i wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV). Wykazaliśmy, że taki proces częściej zachodzi w komórkach pierwotnych niż w typowych hodowlanych komórkach i wykryliśmy, że herpeswirusy mogą przemieszczać się pomiędzy odległymi od siebie komórkami poprzez długie wypustki zbudowane z aktyny, tzw. nanorurki („tunneling nanotubes”), specjalistyczne mostki, które zidentyfikowano w ostatnich latach. Co więcej, pokazaliśmy, że obecność wirusa stymuluje powstawanie takich połączeń międzykomórkowych i że zaangażowana jest w ten proces jedna z kinaz wirusowych. **W planowanym projekcie doktorskim chcemy przeprowadzić podobne badania dla wirusa SARS-CoV2 w celu poszukiwania ukrytych dróg transportu wirusa pomiędzy bliskimi i odległymi komórkami.** W tym celu badany będzie proces wnikania koronawirusów do komórek różnego typu i tempo tworzenia tysinek (odzwierciedlające skuteczność transmisji wirusa). Posługując się technikami mikroskopii konfokalnej i immunofluorescencji, będziemy poszukiwać połączeń pomiędzy komórkami zakażonymi i niezakażonymi, sprawdzając, czy wirus przenosi się przez takie połączenia, w szczególności przez długie i cienkie nanorurki, czy preferuje bezpośrednie kontakty pomiędzy komórkami (podobne do „synaps wirusologicznych” opisanych dla wirusa HIV). Kolejnym zagadnieniem, na które będziemy poszukiwać odpowiedzi, to pytanie, czy i w jaki sposób SARS-CoV-2 może przenosić się pomiędzy komórkami różnego typu i pochodzenia, np. pomiędzy komórkami krwi obwodowej i komórkami epitelialnymi. Taką drogą wirus mógłby przedostać się nawet do komórek nie posiadających odpowiednich receptorów (takich jak ACE2). Do tego typu eksperymentów wykorzystane zostaną ko-kultury, oparte na jednoczesnej hodowli komórek takich jak komórki nabłonkowe i limfocyty lub komórki pochodzenia neuronalnego. Do badań zostaną także wykorzystane hodowle 3D (organoidy), w szczególności do analizy mniej poznanych zakażeń jelitowych. Poprzez ekspresję indywidualnych genów SARS-CoV-2 będziemy poszukiwać czynników wirusowych wpływających na zmiany cytoskieletu komórki, prowadzące do powstania wypustek komórkowych potrzebnych do transportu wirusa. Ważnym etapem pracy będzie poszukiwanie inhibitorów międzykomórkowej transmisji wirusa, które mogłyby mieć potencjalne zastosowanie terapeutyczne.