

Homeostaticzna plastyczność mitochondrialnego proteomu i lipidomu pod wpływem stresu

Mitochondria to organelle, które znajdują się w naszych komórkach i są niezbędne do zapewnienia ich prawidłowego funkcjonowania. Zajmują się one przetwarzaniem tlenu z naszych płuc i glukozy z naszego pożywienia w walutę energetyczną każdej komórki zwaną ATP, przez co powszechnie określane są mianem „elektrowni komórkowych”. Intensywne badania nad tymi organellami dowodzą, iż zaangażowane są one również w wiele innych procesów zachodzących w organizmie takich jak komunikacja czy produkcja metabolitów. Ze względu na kluczową rolę mitochondriów w funkcjonowaniu komórki, nieprawidłowe działanie tych organelli może negatywnie wpływać na zdrowie człowieka i powodować wiele groźnych chorób. W powszechnym rozumieniu „zdrowie” może być zdefiniowane jako system, który jest utrzymywany w równowadze – często używa się w tym celu greckiego terminu homeostaza („pozostawanie bez zmian”). Niemniej jednak każdego dnia nasz organizm poddawany jest różnorodnym czynnikom stresowym, które mogą powodować zaburzenia homeostazy, co w konsekwencji może prowadzić do rozwoju chorób. Stres w mitochondriach może występować na wszystkich etapach życia poczynając od noworodków, u których może być spowodowany np. dziedzicznymi zaburzeniami genetycznymi, po ludzi starszych w trakcie procesu starzenia się, kiedy to mogą rozwijać się zaburzenia neurodegeneracyjne.

Niezwykle istotne jest więc zrozumienie tego, co dzieje się na poziomie molekularnym w mitochondriach podczas stresu, gdyż pozwoli to na skuteczne wyeliminowanie/leczenie patologii mitochondrialnych. Wiele grup badawczych skupiło swoją uwagę na tej kwestii, porównując zdrowe komórki do komórek poddanych stresowi, w ten sposób uzyskując ważne informacje na temat cząsteczek, których ekspresja zmienia się (rośnie lub maleje) pod wpływem działającego na komórki stresu. Jedną z grup takich cząsteczek, którymi szczególnie interesują się naukowcy, są białka. Białka, to kluczowe cząsteczki biologiczne, z których wiele działa jako enzymy katalizujące reakcje w naszych komórkach, m.in. białka tworzące łańcuch transportu elektronów, zaangażowane w najważniejszą funkcję mitochondriów.

Oprócz białek w naszym projekcie planujemy skupić się również na lipidach, które stanowią kolejną, liczną grupę cząsteczek występujących w mitochondriach. Lipidy, lepiej znane jako tłuszcze, to cząsteczki stanowiące główny budulec błon biologicznych: zarówno błony komórkowej, jak i błon mitochondriów. Co ciekawe, niektóre lipidy, poza funkcjami budulcowymi, pełnią również funkcje sygnalizacyjne i hormonalne. Zarówno błony mitochondrialne, jak i te otaczające komórkę, zawierają w sobie wiele takich samych lipidów, jednak poznane zostały również unikalne cząsteczki charakterystyczne tylko dla mitochondriów, przykładem których jest kardiolipina. Dokonując pomiarów zarówno białek, jak i lipidów podczas naszych eksperymentów, będziemy w stanie lepiej zrozumieć, w jaki sposób stres oddziałuje na oba rodzaje tych cząsteczek.

W naszym projekcie użyjemy technologii spektrometrii mas, która pozwoli zarówno zidentyfikować, jak i zmierzyć ilość wielu cząsteczek biologicznych równocześnie. Spektrometr mas działa jak molekularna waga, pozwalająca na określenie dokładnej masy każdej biocząsteczki w próbce. Precyzyjny pomiar masy każdej z obecnych w próbce cząsteczek umożliwi poznanie jej unikalnego składu, a co za tym idzie pozwoli na identyfikację białka lub lipidu. Dodatkowo intensywność sygnału każdej cząsteczki jest proporcjonalna do jej ilości w próbce, co w konsekwencji umożliwi porównanie różnych próbek.

W naszym projekcie planujemy przeanalizować dynamiczną adaptację komórek do stresu mitochondrialnego za pomocą specyficznego systemu, wykorzystującego technologię CRISPR-Cas9, umożliwiającą wprowadzenie w komórkach (na poziomie genomu) „molekularnego przełącznika” pozwalającego włączać i wyłączać stres. Stres w przypadku naszych badań osiągnięty będzie poprzez wyłączanie kluczowych genów, które w konsekwencji nie będą w stanie wyprodukować odpowiedniego białka – przypominać to będzie uszkodzenia spowodowane procesami zwyrodnieniowymi lub zaburzeniami genetycznymi. Ten odwracalny system pozwoli na dokładniejsze modelowanie odpowiedzi komórkowej na stres, aż do stanu przywrócenia równowagi homeostaticznej. Dzięki niniejszemu projektowi badawczemu chcemy zidentyfikować biocząsteczki ważne dla utrzymania homeostazy mitochondrialnej. Mogą to być pojedyncze białka lub lipidy, większe kompleksy różnych białek, jak również kompleksy białek, które oddziałują z lipidami.

Po zidentyfikowaniu poszczególnych cząsteczek biologicznych dokonamy dalszej analizy z wykorzystaniem specjalnej techniki spektrometrii mas, która pozwala na zachowanie wielkocząsteczkowych kompleksów w ich natywnym stanie. Zastosowanie metodologii natywnej spektrometrii mas pozwoli nam określić korelacje między cząsteczkami tworzącymi kompleksy i zrozumieć role jaką pełnią. Poznanie poszczególnych ścieżek odpowiedzi na stres, w tym molekularne zrozumienie procesu radzenia sobie ze stresem przez komórki, ma ogromne znaczenie nie tylko ze względu na rozwój nauki. Przede wszystkim może mieć ono wielki wpływ na ludzkie zdrowie, przyczyniając się do opracowania nowych metod leczenia i prowadzenia profilaktyki wielu chorób.