

Zrozumienie wieloskalowych mechanizmów antybakteryjnej odporności wrodzonej na poziomie pojedynczych komórek

Śsaki nabyły wrodzony układ odpornościowy, który broni organizm gospodarza przed infekcjami bakteryjnymi. Jednak aktywacja odpowiedzi immunologicznych jest z natury procesem niejednorodnym, co powoduje że interakcje typu gospodarz-patogen na poziomie pojedynczej komórki charakteryzują się różnymi i losowymi skutkami. W jaki sposób, pomimo tej heterogeniczności populacje komórek odpornościowych odpowiadają w sposób skoordynowany i funkcjonalny pozostaje jednym z najważniejszych i wciąż otwartych problemów w podstawowych badaniach biologii systemów i immunologii.

W tym projekcie zbadamy oddziaływania pomiędzy makrofagami układu wrodzonej odporności z bakterią *Listeria monocytogenes* (*Lm*), która powoduje wysoką zachorowalność i śmiertelność u ludzi. Nasze dane pokazują, że oddziaływania między *Lm* i makrofagami, kluczowe dla przebiegu ogólnej infekcji, krytycznie zależą od niewielkiej części patogenów, które replikują i rozprzestrzeniają się w populacji komórek gospodarza. Podczas gdy strategia bakterii polega na zakłócaniu odpowiedzi gospodarza, postulujemy, że efektywna odpowiedź immunologiczna wynika z wieloskalowej koordynacji pomiędzy pojedynczymi i heterogenicznymi komórkami gospodarza poprzez nowe mechanizmy typu „quorum-like sensing” oraz adaptacje na podwyższoną temperaturę (gorączkę).

CELE PROJEKTU: Głównym celem projektu jest ilościowe zrozumienie mechanizmów koordynacji wrodzonych odpowiedzi immunologicznych na infekcje bakteryjne na poziomie pojedynczych komórek. W przeciwieństwie do poprzednich badań, skupimy się na oddziaływaniach charakteryzowanych poprzez fizjologicznie niskie wielkości infekcji oraz efektu podwyższonej temperatury (gorączki), które powodują niejednorodne i stochastyczne efekty w zakażonej populacji gospodarza. Naszymi głównymi celami są:

- 1) Wyjaśnienie, w jaki sposób dynamiczne odpowiedzi ścieżek NF- κ B/STAT/IRF kodują informacje o zachowaniu bakterii i wyniku infekcji. Używając mikroskopii przyżyciowej, przeanalizujemy odpowiedzi gospodarza w zakażonych komórkach jako funkcję gęstości i temperatury, i zrozumiemy, w jaki sposób regulują one różne (i pozornie losowe) wyniki oddziaływań gospodarz-patogen.
- 2) Zrozumienie populacyjnych strategii obronnych gospodarza. Zbadamy, w jaki sposób sygnalizacja parakrynną oraz adaptacja na zmiany temperatury koordynują reakcje zapalne na poziomie całej populacji. W szczególności zbadamy rolę sygnalizacji TNF α , IL1 β , IL6 i IFN α/β w tym procesie.
- 3) Ustalenie czy zmienność odpowiedzi gospodarza i patogenu jest współregulowana jako podstawowy mechanizm odpornościowy. Wykorzystamy metody smFISH i immunofluorescencje, aby zmierzyć odpowiedzi makrofagów gospodarza, a także mikroskopie przyżyciową, aby monitorować aktywację regulonu PrfA w *Lm* z rozdzielczością pojedynczej bakterii.
- 4) Opracowanie predykcyjnych modeli matematycznych odpowiedzi immunologicznej na *Lm* z wykorzystaniem perturbacji genetycznych i chemicznych, w celu manipulacji wyników infekcji.

METODY: Aby kompleksowo zrozumieć niejednorodny i dynamiczny charakter infekcji, zastosujemy podejście biologii systemów na poziomie pojedynczych komórek. Wykorzystamy mikroskopia konfokalną do monitorowania aktywacji NF- κ B/STAT/IRF w czasie rzeczywistym wraz z wirulencją regulonu PrfA i zachowaniem *Lm*. smFISH i immunofluorescencja posłuży do pomiarów ekspresji genów zależnych w różnych subpopulacjach komórek gospodarza. Stochastyczne i deterministyczne modele matematyczne opiszą ilościowo strategię obronę gospodarza i dostarczenia nowych predykcji.

ZNACZENIE WYNIKÓW BADAŃ: Projekt ten zapewni nowe mechanistyczne i ilościowe zrozumienie interakcji między makrofagami gospodarza a *Lm*, a także posłuży jako paradygmat do zrozumienia odpowiedzi na podobne bakterie. Kompleksowe modele matematyczne pozwolą wyjaśnić mechanizmy wrodzonego układu odpornościowego zaangażowanego w reakcje przeciwbakteryjne. Opracowane narzędzia i podejścia eksperymentalne będą miały szerokie zastosowanie w przypadku innych patogenów i systemów ekspresji genów, np. rozwoju i raka, na poziomie pojedynczych komórek.