

**Analiza mechanizmów molekularnych kontrolujących bicie rzęsek
- wokół i wewnątrz "czarnej skrzynki" N-DRC"
- streszczenie popularnonaukowe**

Rzęski ruchome oraz dłuższe od nich, ale podobne w budowie wici, to cienkie, długie wypustki typowe dla komórek eukariotycznych. Złożona budowa tych organelli umożliwia im wyginanie się i poruszanie. Ruch tych mikrometrowych „nanomaszyn” odgrywa niezwykle ważną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu wielu organizmów. U człowieka rzęski ruchome tworzone są przez komórki nabłonkowe wyściełające drogi oddechowe, komory mózgu, u kobiet – jajowody, natomiast wici tworzone są przez męskie komórki rozrodcze - plemniki. Poruszanie się specyficznych rzęsek ruchomych, tzw. rzęsek nodalnych, powstających na wczesnym etapie rozwoju zarodka, powoduje, że narządy wewnętrzne naszego ciała takie jak serce, wątroba czy trzustka ułożone są asymetrycznie. Brak lub uszkodzenie rzęsek i wici, lub ich wadliwe funkcjonowanie spowodowane mutacjami w genach kodujących białka rzęskowe, prowadzi do m.in. pierwotnej dyskinezy rzęsek (PCD, z ang. primary ciliary dyskinesia). Do typowych objawów tego schorzenia należą chroniczne infekcje dróg oddechowych, niepłodność, zaburzone położenie narządów wewnętrznych i czasem wodogłowie. Mimo coraz lepszej diagnostyki PCD, stosunkowo często genetyczna przyczyna rozwoju tej choroby pozostaje nieznana. Bardziej szczegółowa wiedza na temat budowy rzęsek i regulacji ich funkcjonowania pozwoli na lepsze zrozumienie przyczyn PCD oraz na wskazanie dodatkowych markerów genetycznych umożliwiających zdiagnozowanie tej rzadkiej choroby genetycznej.

Szacuje się, że do powstania i funkcjonowania tych kilku – kilkudziesięciu mikrometrowych organelli potrzebnych jest aż kilkaset białek, przy czym w przypadku blisko połowy z tych białek, nie wiadomo w jaki sposób wpływają one na powstanie lub ruch rzęsek i wici. Rzęski ruchome i wici, choć różnią się długością, mają bardzo zbliżoną budowę. Ich szkielet zbudowany jest z mikrotubul; dwóch znajdujących się w części centralnej rzęski oraz dziewięciu par mikrotubul rozmieszczonych równomiernie na obwodzie tych organelli, zwanych parami obwodowymi. Do mikrotubul par obwodowych przyłączone są białka motoryczne, tzw. dyneiny, umożliwiające przesuwanie się mikrotubul względem siebie, co powoduje ugięcie rzęski. By ugięcie rzęski mogło przekształcić się w ruch rzęsek, aktywność dynein musi być skoordynowana. W regulację aktywności dynein i ich koordynację zaangażowane są pozostałe struktury rzęskowe, przyłączone do mikrotubul centralnych lub obwodowych. Do tych ostatnich należą m. in. promienie łączące i kompleks neksynowy (N-DRC).

Kompleks neksynowy zbudowany jest z jedenastu białek i pełni dwie ważne funkcje. Po pierwsze łączy dwie sąsiednie pary obwodowe i ogranicza wielkość przesunięcia spowodowanego aktywnością dynein. Po drugie, N-DRC wydaje się być swoistym „pośrednikiem” pomiędzy dyneinami i promieniami łączącymi i koordynować aktywność sąsiadujących z nim struktur. Co istotne trzy białka kompleksu N-DRC zostały do tej pory powiązane z PCD. Na razie nie jest jasne w jaki sposób N-DRC „komunikuje się” z i koordynuje poszczególne struktury rzęskowe oraz jakie procesy zachodzą w obrębie N-DRC, tj. jak modyfikacje potranslacyjne białek budujących N-DRC oraz wiązanie różnych czynników sygnałowych, jak jony wapnia, kalmodulina lub ATP, wpływa na aktywność kompleksu N-DRC.

Nasze ostatnie badania wykazały, że N-DRC może „komunikować się” z dyneinami i promieniami łączącymi nie tylko bezpośrednio, lecz także za pośrednictwem „łączników”, drobnych kompleksów białkowych. Dlatego naszym celem jest identyfikacja białek łączących N-DRC z innymi strukturami rzęskowymi a także określenie roli tych łączników i zmian w obrębie N-DRC w regulacji ruchu rzęski.

Badania przeprowadzimy z użyciem orzęska *Tetrahymena thermophila*, organizmu, którego rzęski budową i składem przypominają rzęski człowieka. Białka łączące N-DRC z innymi kompleksami będą identyfikowane metodą BioID, immunoprecypitacji i spektrometrii mas, z użyciem komórek produkujących białka kompleksu N-DRC jako białka fuzyjne z dołączoną zmutowaną ligazą biotynylową lub metką 3HA. Lokalizację zidentyfikowanych białek potwierdzimy z użyciem metod genetycznych, biochemicznych i mikroskopowych. Zbadamy również funkcje poszczególnych białek N-DRC i łączników, analizując fenotyp komórek pozbawionych poszczególnych białek oraz funkcję domen białkowych oraz modyfikacji potranslacyjnych wybranych białek N-DRC. Ponadto podejmiemy próbę identyfikacji kinaz fosforylujących białka N-DRC.

Nasze badania nie tylko znacząco poszerzą wiedzę na temat regulacji ruchu rzęski, ale również przyczynią się do poprawy diagnostyki PCD, lepszego zrozumienia podłoża tego schorzenia, a tym samym umożliwią w przyszłości opracowanie terapii genowej dla osób dotkniętych tym schorzeniem.