

Błona plazmatyczna (PM) zawiera ogromną różnorodność lipidów i białek, które są dynamicznie i przestrzennie zorganizowane w lateralne domeny/subdomeny błony, czego przykładem są spoczynkowe tratwy błonowe. Tratwy błonowe to wysoce uporządkowane subdomeny o średnicy < 200 nm, bogate w cholesterol, sfingolipidy, gangliozydy i niektóre białka, takie jak stomatyna i flotyliny. Te ostatnie łączą się w oligomery, tworząc rusztowania molekularne, które regulują organizowanie się i aktywność wielu receptorów błonowych, w tym EGFR, WNT i HER2, oraz kinaz z rodziny src, białek G i innych składników dróg sygnałowych. Wiele procesów komórkowych zaangażowanych w adhezję komórek, migrację i tworzenie platform sortujących do ukierunkowanego transportu białek zależy od precyzyjnej organizacji domen błonowych.

Przerzuty komórek nowotworowych z guza pierwotnego do odległych narządów wymagają nie tylko wytworzenia nowych naczyń krwionośnych w celu dostarczenia składników odżywczych i tlenu, ukierunkowanej migracji, migracji przez śródbłonek (z ang. transendothelial migration, TEM), ale także zwiększonej ruchliwości komórkowej wynikającej z przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (z ang. epithelial-mesenchymal, EMT).

EMT to proces biologiczny umożliwiający spolaryzowanej komórce nabłonkowej, normalnie oddziałującej z błoną podstawną, aktywację wielu procesów biochemicznych, które prowadzą do przyjęcia fenotypu komórki mezenchymalnej, związanego ze zwiększonym potencjałem migracyjnym, inwazyjnym, zwiększoną odpornością na apoptozę i znacznie zwiększoną produkcją składników macierzy zewnątrzkomórkowej (z ang. extracellular matrix, ECM). W wielu nowotworach, w tym w raku piersi, EMT wiąże się z ekspansją przerzutów i pojawianiem się komórek nowotworowych o właściwościach komórek macierzystych, które odgrywają główną rolę w oporności na leczenie. W ostatnich latach wykazano, że EMT towarzyszą liczne zmiany w różnych szlakach sygnałowych, które są inicjowane w PM, oraz że zaburzenie tratw lipidowych przez czynniki obniżające poziom cholesterolu w błonie ogranicza dynamikę procesu EMT w raku.

Ponieważ główną funkcją tratw błonowych jest modulacja szlaków sygnałowych inicjowanych w PM, zakładamy, że zmiany obserwowane podczas EMT mogą być skorelowane ze zmianami w organizacji i regulacji tratw błonowych.

Biorąc pod uwagę rolę flotylin w kotwiczeniu specyficznych białek aktywowanych przy powierzchni komórki, spodziewamy się zaobserwować różnice w puli białek wiążących flotylinę pomiędzy komórkami o fenotypie nabłonkowym i mezenchymalnym reprezentowanym odpowiednio przez linie raka sutka MCF-7 i MDA-MB-231.

Dlatego pytanie, które stawiamy w tym projekcie, brzmi: Czy różnice obserwowane w wymienionych typach komórek odzwierciedlają cechy EMT korelują ze zmianami w organizacji domen błonowych?

W celu odpowiedzi na to pytanie proponujemy trzy podejścia eksperymentalne: 1. analiza lateralnej organizacji tratw błonowych, w tym charakterystyka biochemiczna (zawartość cholesterolu i białek) i biofizyczna (stopień uporządkowania błony plazmatycznej), 2. analiza porównawcza interaktomu flotylin z zastosowaniem techniki BioID (z ang. *Proximity*-dependent biotin identification) w komórkach MCF-7 vs MDA-MB-231 oraz 3. badania kinetyczne *in vitro* najbardziej znaczących interakcji pomiędzy flotylinami a jej białkowymi partnerami.

Analiza porównawcza białek oddziałujących z flotylinami w komórkach nabłonkowych i mezenchymalnych powinna dostarczyć cennych danych, które pomogą zrozumieć rolę zależnych od flotylin domen błonowych w kaskadach sygnałowych związanych z przerzutowaniem, w szczególności towarzyszących EMT.

Zrozumienie związku między specyficznymi właściwościami biofizycznymi tratw błonowych a EMT może mieć kluczowe znaczenie dla przyszłych podejść terapeutycznych mających na celu ograniczenie procesów prometastatycznych.