

## Streszczenie popularno-naukowe

Neutrofile to białe komórki krwi, których głównym zadaniem jest obrona organizmu przeciwko patogenom chorobotwórczym. W tym celu komórki te wykorzystują duży arsenał czynników, do których należą m.in. enzymy proteolityczne. Neutrofilowe serynowe proteazy (NSPs) są w stanie hydrolizować („ciąć”) wiele naturalnie występujących peptydowych substratów uruchamiając różne kaskady reakcji. Enzymy te są zlokalizowane w granulach neutrofilii już w formie aktywnej, gotowe do niszczenia patogenów, czy komórek nowotworowych. Fizjologicznie, aktywność NSPs jest regulowana przez inhibitory zawarte w organizmie, tzw. endogenne inhibitory. Czasami dochodzi jednak do zaburzeń równowagi między enzymami, a ich endogennymi inhibitorami, co prowadzi do wielu chorób. Przykładowo nadmierna aktywność NSPs została powiązana z chorobami płuc, a także nowotworami. Neutrofile oprócz posiadania dużej ilości czynników niszczących wroga, wykorzystują różne techniki jego destrukcji. Komórki te są produkowane w szpiku kostnym, skąd dostają się do krwi obwodowej, w której cyrkulują przez kilka godzin. W odpowiedzi na czynniki zapalne, komórki te zbliżają się do ścian naczyń krwionośnych, toczą się, następnie przylegają do nabłonka naczynia krwionośnego i migrują/wnikają do tkanek. Tam, w zależności od czynnika zapalnego, wykorzystują różne techniki likwidowania problemu (zapalenie, bakterie) takie jak (1) fagocytoza, czyli wchłonięcie np. bakterii i wewnątrzkomórkowa destrukcja, (2) wydzielenie granuli z aktywnymi enzymami, czyli zewnątrzkomórkowa destrukcja patogenu. Co więcej, neutrofile mogą (3) wydzielać zawartość swojego jądra komórkowego, tworząc tzw. pułapkę z DNA, w której bakterie są zatrzymywane i nie rozprzestrzeniają się. Ze względu na to, iż neutrofile pełnią zróżnicowane funkcje używając właśnie proteaz uważamy, że różnią się one ilością tych enzymów obrębie całej populacji. Zjawisko to nazywa się heterogenicznością komórek tego samego typu. Fakt istnienia heterogenicznych neutrofilii był wcześniej opisany przez naukowców i został powiązany z obecnością receptorów znajdujących się na membranie komórek. Nie pozwoliło to jednak na dokładną identyfikację subpopulacji. Dotychczas proponowana przez nas analiza subpopulacji w kontekście zarówno ilości, jak i aktywności NSPs nie była nigdy przeprowadzona. W naszym projekcie planujemy określić na jakie subpopulacje, różniące się ilością NSPs, dzielą się neutrofile oraz czy poszczególne ich grupy mają znaczenie w organizmie. Uważamy, że ma to szczególne znaczenie w biologii neutrofilii i pełnionych przez nie roli. Do badań wykorzystamy uzyskane przez nas cząsteczki chemiczne, unikalne ze względu na to, iż w przeciwieństwie do innych dostępnych narzędzi do badań enzymów, pozwalają na detekcję aktywnej formy enzymu. Co więcej są selektywne, czyli wiążą się tylko z określonym enzymem. Cząsteczki te zostaną użyte do badań przy użyciu mikroskopu konfokalnego, który pozwala na dokładną analizę tak małych komórek (około 7-10 uM), a także ich granuli, a także cytometru przepływowego, który pozwoli na dokładną analizę zależności między subpopulacjami. Dokładna analiza całej populacji neutrofilii u zdrowych ludzi posłuży jako matryca w diagnostyce chorób związanych w sposób pośredni lub bezpośredni z ilością NSPs. Dlatego też, w projekcie planujemy porównać subpopulacje neutrofilii zdrowego dawcy z subpopulacjami tych komórek i chorego pacjenta. Może to przyczynić się to do szybszej diagnozy chorób, a także ulepszenia terapii celowanych.