

Glikozylacja jest jedną z najważniejszych, molekularnych modyfikacji białek i lipidów w komórce eukariotycznej. Odgrywa ona kluczową rolę w rozwoju oraz wzroście komórek. Ma znaczenie przy fałdowaniu wielu białek, może zwiększać ich rozpuszczalność, jak również stabilizuje ich strukturę trzeciorzędową oraz chroni je przed proteolizą. Dzięki glikozylacji możliwe jest odróżnienie przez organizm komórek obcych od własnych. Warto zauważyć, że glikozylacja jest bardzo powszechna – w niektórych typach komórek większość białek to glikoproteiny. Do glikoprotein należy wiele klas białek, z najbardziej znanych to np.: przeciwciała lub białka lizosomalne. Proces glikozylacji wymaga dostarczenia substratów – są nimi aktywne formy monocukrów, czyli nukleotydo-cukry. W organizmach tkankowych powstają one w cytozolu lub w jądrze komórkowym. Ponieważ modyfikacja glikokoniugatów rozpoczyna się w świetle retikulum endoplazmatycznego, a następnie kontynuowana jest wewnątrz aparatu Golgiego, muszą istnieć mechanizmy transportu aktywowanych form cukrów do wnętrza tych organelli. Uważa się, że taką rolę pełnią wyspecjalizowane białka transporterowe. W retikulum endoplazmatycznym/aparacie Golgiego cukier zostaje następnie oddzielony od nukleotydu i przekazany odpowiedniej glikozylotransferazie, która bezpośrednio odpowiada za dołączenie danej reszty cukrowej do glikozylowanej makrocząsteczki.

Prezentowany projekt bazuje na ostatnich informacjach (także naszej grupy badawczej) o możliwych powiązaniach funkcjonalnych i strukturalnych między procesami biosyntezy nukleotydo-cukrów w cytozolu, transferem tych substratów do wnętrza aparatu Golgiego i retikulum endoplazmatycznego oraz z samym procesem biosyntezy glikokoniugatów, czyli aktywnością specyficznych glikozylotransferaz.

Jako modelowe procesy w badaniu takich powiązań, postanowiliśmy wybrać dwa, prawdopodobnie najlepiej opisane procesy glikozylacyjne – fukozylację i galaktozylację. Dla obu procesów znane są metaboliczne, cytozolowe szlaki biosyntezy aktywnych form tych monocukrów (czyli GDP-fukozy i UDP-galaktozy), co ciekawe, są one nieco podobne - w obu przypadkach istnieje główny szlak nazwany *de novo* i alternatywny *salvage*. Zidentyfikowano również specyficzne transportery GDP-Fuc i UDP-Gal oraz szereg specyficznych fukozylotransferaz oraz galaktozylotransferaz. W ramach prezentowanego projektu planujemy kilka podstawowych zamierzeń, mających na celu zbadanie, czy wszystkie wymienione procesy są ze sobą funkcjonalnie albo strukturalnie powiązane. W tym celu zaproponowaliśmy szereg metod eksperymentalnych: **1)** Nadprodukcja białek uczestniczących w biosyntezie GDP-fukozy i UDP-galaktozy, analiza ich właściwości enzymatycznych, odtworzenie ewentualnych oddziaływań/powiązań funkcjonalnych *in vitro* **2)** Analiza fenotypowa (profile glikozylacji) linii komórkowych z zablokowanymi genami kodującymi enzymy biosyntezy nukleotydo-cukrów w celu wytypowania zablokowanych lub zmniejszonych albo ew. indukowanych transporterów/glikozylotransferaz, obecnych w tak zmienionych genetycznie liniach komórkowych **3)** Analiza oddziaływań między badanymi białkami z wykorzystaniem metod *in vitro* i *in vivo* **4)** Badanie zmian w zmienionych genetycznie komórkach na poziomie genetycznym.

Spodziewane wyniki mogą mieć bardzo duże znaczenie w wyjaśnieniu procesów glikozylacji komórkowej, przede wszystkim regulacji i wzajemnych powiązań funkcjonalnych i strukturalnych między nimi, a więc dotyczą badań podstawowych. Jednakże warto zaznaczyć, że uzyskane rezultaty mogą mieć też aspekt bardziej praktyczny, ze względu na istnienie chorób genetycznych człowieka, powiązanych z niedoborami w fukozylacji i galaktozylacji. Schorzenia te, wywołane są mutacjami w genach kodujących transportery nukleotydo-cukrów (SLC35C1 i SLC35A2) albo w białkach, uczestniczących w biosyntezie aktywnych form cukrów. Tego typu zaburzenia, w pewnych sytuacjach mogą być łagodzone dodaniem do diety odpowiednich monocukrów, jednakże podstawy molekularne takich eksperymentalnych terapii są nadal słabo opisane.