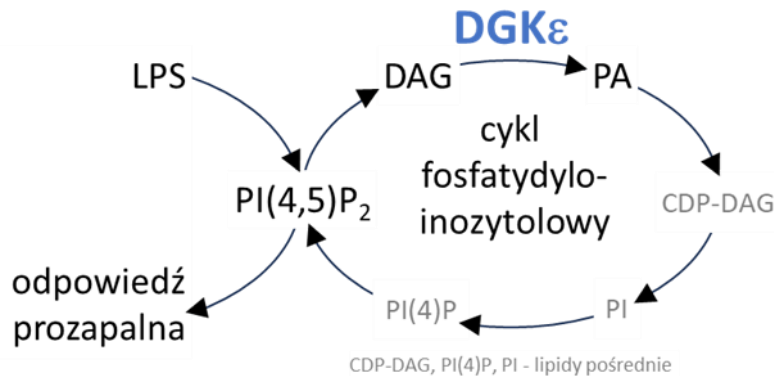


Lipidy (tłuszcze) kojarzą nam się zwykle jako źródło energii, a ich nadmiar może odkładać się w organizmie prowadząc do otyłości. Jednak na poziomie komórkowym, lipidy są także składnikami budulcowymi błon biologicznych, a niektóre z nich są przekaźnikami informacji. Do lipidów o charakterze sygnałowym należą pochodne fosfatydyloinozytolu (PI), w szczególności PI(4,5)P<sub>2</sub> znajdujący się w błonie komórkowej. Pod wpływem określonych bodźców PI(4,5)P<sub>2</sub> ulega hydrolizie. Do takich bodźców należy bakteryjny lipopolisacharyd (LPS) wywołujący odpowiedź zapalną makrofagów, która ułatwia zwalczenie infekcji ale też prowadzi w określonych warunkach do sepsy. W efekcie hydrolizy PI(4,5)P<sub>2</sub> powstają dwie cząsteczki sygnałowe aktywujące szereg procesów w komórce. Jedną z tych cząsteczek jest diacyloglicerol (DAG), który ulega ponownemu przekształceniu w PI(4,5)P<sub>2</sub> przez szereg lipidów pośrednich w przebiegu tak zwanego cyklu fosfatydyloinozytolowego. Przedstawiony projekt skupiony jest na kinazie diacyloglicerolowej-ε (DGKε), która przekształca DAG w przebiegu tego cyklu i jest niezbędna do odpowiedzi makrofagów na LPS. Kinaza DGKε jest też zaangażowana w metabolizm lipidów, a jej dysfunkcja wiąże się z otyłością. Ponadto, mutacje genu kodującego kinazę DGKε prowadzą do choroby nerek. Wszystkie te czynniki uzasadniają podjęcie badań nad mechanizmami regulującymi aktywność tej ważnej kinazy.



Projekt zmierza do wyjaśnienia mechanizmów molekularnych, które kontrolują aktywność kinazy DGKε w makrofagach. Zakładam, że jest ona kontrolowana przez dwie odwracalne modyfikacje, którym ulega kinaza DGKε - izomeryzację (zmianę struktury) jednego z jej aminokwasów, prolina, oraz niedawno wykrytą przez naszą grupę palmitoilację (przyłączanie lipidu do cząsteczki kinazy). Ponadto aktywność DGKε może być regulowana przez interakcję z cholesterolem w błonie komórkowej.

W badaniach wykorzystane będą linie nieśmiertelnionych komórek makrofagopodobnych pozbawione kinazy DGKε oraz wyposażone w zmutowane formy tej kinazy, a także komórki modelowe produkujące różne formy kinazy wraz z enzymami katalizującymi jej wspomniane modyfikacje. Zmierzam do wykrycia, która prolina ulega izomeryzacji istotnej dla aktywacji kinazy DGKε, jaki enzym katalizuje tę reakcję i jak współdziała ona z palmitoilacją kinazy. Zweryfikuję też tezę, że za wiązanie cholesterolu odpowiada motyw aminokwasowy zidentyfikowany przez mnie w obrębie fragmentu transbłonowego kinazy DGKε, w sąsiedztwie aminokwasów ulegających dwóm badanym modyfikacjom. Równoległe zbadam jak zaburzenia mechanizmów regulujących aktywność kinazy DGKε wpływają na odpowiedź prozapalną makrofagów wywołaną przez LPS.

Jak dotąd, żaden z proponowanych mechanizmów regulacji aktywności kinazy DGKε (z wyjątkiem palmitoilacji, którą niedawno odkryliśmy) ani ich biologiczne znaczenie nie było badane. W wyniku proponowanych badań zidentyfikowane zostaną nieznane wcześniej czynniki kontrolujące ważny szlak prozapalny w makrofagach. Ponadto, wykryte mechanizmy zapewne regulują aktywność kinazy DGKε w innych komórkach i są potencjalnie powiązane z rozwojem szeregu schorzeń wynikających z jej dysfunkcji.