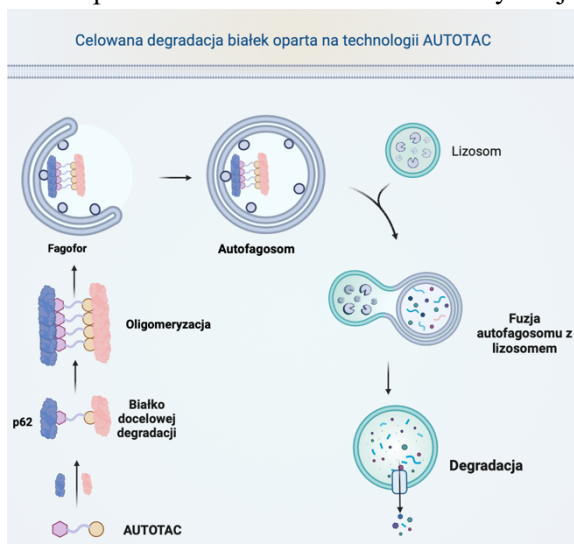


Wspólnym mianownikiem wielu chorób o podłożu zapalnym, takich jak cukrzyca, miażdżyca, reumatoidalne zapalenie stawów czy zapalenie jelita grubego, jest nadmierna aktywacja **inflamasomu**. Jest to duży kompleks białkowy, zaangażowany w regulację stanu zapalnego, którego aktywacja wiąże się z kaskadą **nadekspresji** patogenicznych **białek**, inicjujących produkcję dużej ilości **cytokin prozapalnych IL-1 β i IL-18**. Cytokiny te, mimo że pełnią istotną funkcję obronną podczas krótkotrwałych stanów zapalnych oraz infekcji, w nadmiarze prowadzą do przewlekłego zapalenia i uszkodzenia tkanek. Sugeruje to możliwość wykorzystania inflamasomu jako nowego celu molekularnego w potencjalnych strategiach terapeutycznych nakierowanych na **leczenie chorób o podłożu zapalnym**. Niestety, niektóre z białek ulegających nadekspresji w procesie aktywacji inflamasomu posiadają nawet 3 miejsca wiążące, co utrudnia zastosowanie tradycyjnych inhibitorów.

Rozwiązaniem może być **celowana degradacja białek** (ang. *Targeted Protein Degradation, TPD*), czyli zbiór technik, które mają na celu zbliżenie do siebie białka zaangażowanego w patologię choroby oraz zdolnego do jego **proteolizy** (rozkładu) aparatu komórkowego. Najbardziej rozwijane strategie TPD, takie jak PROTAC (z ang. *PROteolysis Targeting Chimeras*), AUTOTAC (z ang. *AUTOphagy TARgeting Chimeras*) czy LYTAC (z ang. *LYsosome TARgeting Chimeras*) polegają na wykorzystaniu heterobifunkcyjnych, niedużych cząsteczek chemicznych tworzących połączenie pomiędzy wybranym małym, patogenicznym białkiem a większym kompleksem komórkowym, co prowadzi do rozpoznania oraz degradacji białka (Ryc. 1). Główna przewaga tej strategii nad tradycyjnymi inhibitorami polega na możliwości **całkowitej neutralizacji celu molekularnego**, w przeciwieństwie do klasycznych inhibitorów, których działanie jest zwykle ograniczone czasowo. Ponadto, strategia TPD pozwala na przezwyciężenie problemu związanego z obecnością wielu miejsc wiążących, ich słabą dostępnością czy niskim powinowactwem inhibitora do aktywnej kieszeni białka.



Ryc 1. AUTOTAC jako przykład technologii celowanej degradacji białek (TPD)

W ostatnich latach szczególne zainteresowanie budzą badania nad wykorzystaniem technologii TPD (ang. *Targeted Protein Degradation*) w kontekście lizosomów – organellów pełniących kluczową rolę w usuwaniu uszkodzonego DNA, dysfunkcyjnych białek oraz ich nierozpuszczalnych agregatów. Ich działanie jest ściśle związane z procesem **autofagii**, który polega na wchłanianiu elementów cytoplazmy do lizosomalnego pęcherzyka, w którym to następuje degradacja przy wykorzystaniu m. in. enzymów hydrolitycznych.

W niniejszym projekcie skupimy się na strategii indukowanej degradacji wykorzystującej procesy autofagii. Naszym celem jest **neutralizacja wybranego białka zaangażowanego w aktywację inflamasomu oraz patologię schorzeń** charakteryzujących się **przewlekłym stanem zapalnym**, jak np. **zapalenie jelita grubego**.

Otrzymamy nowe cząsteczki chemiczne, które, po wstępnej analizie właściwości fizykochemicznych, poddamy szeregowi badań *in vitro* i *in vivo*. Zbadamy, jak otrzymane związki wpływają na proces degradacji patologicznego białka, co powiążemy również z ich wpływem na wydzielanie prozapalnej cytokiny IL-1 β . Następnie, dla najbardziej obiecujących związków użyjemy linii komórkowej knockdown (w której nie występuje ekspresja wybranego celu biologicznego), aby potwierdzić molekularny mechanizm działania degraderów. Przeprowadzimy szczegółową analizę procesu autofagii indukowanego przez nasze nowe degradery, wykorzystując zaawansowane techniki obrazowania żywych komórek (ang. *live cell imaging*). Ostatnim etapem będą badania *in vivo*, w których potwierdzimy potencjał terapeutyczny nowych cząsteczek w eksperymentalnym modelu zapalenia jelita grubego.

Nasz projekt umożliwi opracowanie nowatorskich narzędzi farmakologicznych opartych na technologii AUTOTAC, co przyczyni się do pogłębienia zrozumienia potencjalnych zastosowań tej technologii oraz rozwoju strategii terapeutycznych opartych na AUTOTAC w leczeniu przewlekłych stanów zapalnych i związanych z nimi chorób. Cząsteczki o charakterze degraderów stanowią obecnie światowy trend w opracowywaniu nowych strategii terapeutycznych w wielu schorzeniach.