

Prawidłowa komunikacja między komórkami warunkuje poprawne funkcjonowanie całego organizmu. W błonie komórkowej wszystkich komórek występują liczne wyspecjalizowane białkowe receptory, które wiążą cząsteczki sygnałowe wydzielane przez inne komórki lub odbierają bodźce płynące ze środowiska. Pobudzone receptory uruchamiają rozmaite wewnątrzkomórkowe ścieżki sygnałowe, które decydują o właściwej reakcji komórki na docierające do niej sygnały.

Adhezyjne receptory sprzężone z białkami G (aGPCR, *adhesion G protein-coupled receptors*) to niedawno wyodrębniona grupa receptorów GPCR aktywowanych przez białka błonowe oraz białka macierzy zewnątrzkomórkowej. aGPCR regulują szereg istotnych procesów, w tym migrację, proliferację oraz różnicowanie komórek. Mutacje aGPCR jak również nadekspresja aGPCR leżą u podstaw rozwoju chorób układu nerwowego, odpornościowego, układu krążenia, jak również rozwoju i progresji różnych typów nowotworów. Cechą charakterystyczną aGPCR jest obecność domeny GAIN (*GPCR autoproteolysis-inducing*) w regionie zewnątrzkomórkowym, zawierającej miejsce autoproteolizy, która zachodzi podczas dojrzewania białka w siateczce śródplazmatycznej. W wyniku tego procesu powstają dwa fragmenty: N-końcowy (NTF, *N-terminal fragment*) oraz siedmiokrotnie przebijający błonę – C-końcowy (CTF, *C-terminal fragment*). Fragmenty te pozostają niekowalencyjnie związane ze sobą i są jako kompleks eksponowane na zewnątrz komórki. Związanie liganda do NTF prowadzi do zmian konformacyjnych w kompleksie NTF-CTF, co skutkuje zerwaniem wiązań niekowalencyjnych i oddysocjowaniem NTF. W konsekwencji dochodzi do odsłonięcia wewnątrzcząsteczkowego agonisty obecnego w strukturze CTF i aktywacji aGPCR.

Badania ostatnich lat wskazują, że do uwalniania NTF może dochodzić dzięki aktywności innych proteaz. Nie jest jednak jasne: (i) czy jest to zjawisko powszechne, czy ograniczone do niewielkiej liczby aGPCR, (ii) jakie proteazy są w ten proces zaangażowane, (iii) jaki jest skutek tej proteolizy – aktywacja czy inaktywacja receptorów.

Wstępne wyniki naszych badań pokazują, że w pewnym obszarze mózgu larwy *Drosophila melanogaster* zachodzi proteoliza jednego z aGPCR, Cirl, a także że niektóre ssacze aGPCR mogą być substratami dla proteaz z rodziny ADAM (*A Disintegrin And Metalloprotease*) – ADAM17 lub ADAM10. Do substratów tych proteaz należą m.in. błonowe prekursorzy czynników wzrostu i cytokin a także różne receptory i cząsteczki adhezyjne. Uwolnienie zewnątrzkomórkowych fragmentów tych białek w wyniku proteolizy silnie moduluje ich aktywność biologiczną i wpływa na takie procesy komórkowe jak proliferacja i różnicowanie. Zmiany w poziomie aktywności ADAM17 i ADAM10 obserwuje się w wielu stanach patologicznych, w tym chronicznych stanach zapalnych czy nowotworach.

Celem projektu jest zbadanie procesu uwalniania fragmentów NTF receptorów aGPCR w wyniku proteolizy prowadzonej przez zewnątrzkomórkowe proteazy. Dwie strategie badań obejmują: (i) identyfikację proteaz zaangażowanych w uwalnianie NTF Cirl i zbadanie *in vivo* fizjologicznego znaczenia tego procesu z wykorzystaniem modelu *D. melanogaster*, a także (ii) identyfikację substratów proteaz ADAM17 i ADAM10 wśród tych ssaczych aGPCR, które mają udokumentowaną rolę w rozwoju stanów patologicznych oraz ocenę wpływu proteolizy na ich aktywność biologiczną. Dla aGPCR będących substratami ADAM17 lub ADAM10 zostanie określone miejsce proteolizy, zostanie wyjaśniona zależność proteolizy od obecności charakterystycznych dla ADAM17 lub ADAM10 białek towarzyszących (iRhom, tetraspaniny) oraz od wcześniejszej autoproteolizy w obrębie domeny GAIN. Wyniki badań odpowiedzą także na pytanie, jakie konsekwencje dla aktywności aGPCR ma uwolnienie ich fragmentów zewnątrzkomórkowych: czy jest to dodatkowy mechanizm odsłaniający wewnątrzcząsteczkowy ligand aktywujący aGPCR, czy raczej proces prowadzący do ich inaktywacji przez usunięcie NTF wiążących ligandy. Wyjaśnią też, czy uwolnione ektodomeny aGPCR mogą pełnić funkcję inhibitorów oddziaływań pomiędzy błonowymi aGPCR i ligandami.

Jeśli otrzymane wyniki potwierdzą istotną rolę ADAM17 lub ADAM10 w regulacji aktywności aGPCR, wówczas proteazy te mogą stanowić potencjalne nowe cele terapeutyczne w leczeniu chorób, u podłoża których leży zaburzona aktywacja aGPCR.