

Mateusz Wawro

## **Rola biologiczna białek z rodziny MCPIP.**

Stan zapalny ma na celu obronę organizmu przed endogennymi lub egzogennymi czynnikami uszkodzającymi. Proces ten musi być bardzo ściśle kontrolowany, gdyż zarówno za słaba jak i zbyt agresywna odpowiedź może prowadzić do utraty homeostazy organizmu. O ile dawniej w badaniu odpowiedzi komórek na czynniki prozapalne skupiano się głównie na aktywacji transkrypcji przez określone czynniki transkrypcyjne, to obecnie uważa się, iż nie mniej ważną rolę odgrywa regulacja post-transkrypcyjna polegająca na modyfikacji czasu półtrwania transkryptów jak i stopnia translacji tychże cząsteczek.

Jednym z niedawno odkrytych negatywnych regulatorów stanu zapalnego jest białko MCPIP1. Białko to, dzięki swej aktywności RNazowej, powoduje degradację transkryptów różnych cząsteczek prozapalnych, w tym tak istotnych dla przebiegu zapalenia cytokin jak IL-6, IL-1 $\beta$  czy IL-2. Aktywność RNazowa białka MCPIP1 zależna jest od obecności domen NYN/PIN-podobnej i palca cynkowego typu CCCH. Oprócz MCPIP1 znane są jeszcze trzy inne białka, w budowie których wyróżnić można domeny wykazujące wysoki stopień podobieństwa do tych obecnych w MCPIP1. Białka te wraz z MCPIP1 tworzą rodzinę białek MCPIP i noszą kolejno nazwy MCPIP2, MCPIP3 oraz MCPIP4. Pomimo dużego zainteresowania białkiem MCPIP1 i gwałtownie rosnącej liczbie publikacji na jego temat, pozostałe białka rodziny MCPIP są stosunkowo słabo poznane, a ich rola pozostaje w większości enigmatyczna.

W niniejszej pracy podjęto próbę zidentyfikowania funkcji biologicznej mało poznanych białek rodziny MCPIP: MCPIP2, MCPIP3 oraz MCPIP4. W pierwszym etapie skupiono się na sprawdzeniu czy białka te powodują destabilizację transkryptów będących substratami dla MCPIP1. Zastosowanie wektora reporterowego kodującego lucyferazę z dołączonym regulatorowym rejonem 3'UTR z mRNA dla IL-6 wskazuje, że wszystkie te białka powodują dawkozależną destabilizację takiego transkryptu. Obserwowana aktywność jest specyficzna, gdyż białka MCPIP2-4 nie wpływają na poziom lucyferazy, powstającej na bazie transkryptu z dołączoną sekwencją 3'UTR *VEGFA* czy bez dodatkowego rejonu 3'UTR (pusty wektor). Regulacja ta jest ponadto zależna od obecnej w obrębie białek MCPIP2-4 funkcjonalnej domeny NYN/PIN-podobnej jak i struktury typu 'spinka do włosów' obecnej w regulowanym przez nie substracie mRNA. Uzyskane w tej pracy wyniki wskazują, iż także

transkrypt dla MCPIP1 jest substratem dla wszystkich białek z rodziny MCPIP. Udało się to potwierdzić przy użyciu wektorów reporterowych jak i z zastosowaniem immunofluorescencji połączonej z metodą smRNA-FISH.

Drugi etap pracy miał na celu zdefiniowanie ekspresji i funkcji biologicznej jednego z członków rodziny MCPIP – białka MCPIP2. Wyniki uzyskane z zastosowaniem ludzkich tkankowych paneli cDNA, ogólnie dostępnych baz danych jak i danych literaturowych wskazują, iż jednym z organów w których mRNA dla MCPIP2 jest szczególnie liczny jest mózg. Analiza poziomu mRNA *MCPIP2* wśród przebadanych ludzkich linii komórkowych pochodzenia nerwowego wykazała, iż najwyższą ekspresję wykazują komórki linii SH-SY5Y. Poziom mRNA dla MCPIP2 w tych komórkach ulega dodatkowo podwyższeniu w wyniku traktowania estrami forbolu i mieszaniną czynników prozapalnych. Również indukowane kwasem retinowym różnicowanie komórek SH-SY5Y do komórek podobnych do neuronów jest skorelowane ze wzrostem ekspresji MCPIP2. Ponadto stwierdzono, iż nadekspresja MCPIP2 powoduje zahamowanie proliferacji komórek linii 293T, a aktywność ta jest zależna od obecności funkcjonalnej domeny NYN/PIN-podobnej.