

Mechanizmy regulacji szlaków sygnałowych receptora cytozolowego RIG-I przez ligazę ubikwityny Pellino3

Streszczenie

Receptory z rodziny RLR (ang. RIG-I-like receptor) są bardzo ważnym elementem wrodzonej odpowiedzi immunologicznej odpowiedzialnym za rozpoznanie infekcji wirusowej w komórce. W obrębie tej grupy jedynymi członkami rodziny zdolnymi do inicjacji przeciwwirusowej kaskady sygnałowej są: RIG-I (ang. retinoic acid-inducible gene I) i MDA5 (ang. melanoma differentiation-associated protein 5). Niniejsza praca koncentruje się na badaniach mechanizmu regulacji RIG-I odpowiedzialnego za rozpoznawanie dwuniciowego RNA obecnego w cytoplazmie podczas infekcji wirusowej. W następstwie związania przez RIG-I wirusowego RNA sygnał przekazywany jest na białko adaptorowe MAVS (ang. mitochondrial antiviral-signaling protein), co inicjuje kaskady sygnałowe skutkujące aktywacją czynników transkrypcyjnych IRF3/7 (ang. interferon regulatory factor) oraz NF- κ B (ang. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells). Wynikiem tego jest rozpoczęcie produkcji interferonu typu I oraz innych cytokin, takich jak IP-10 (ang. C-X-C motif chemokine 10) lub TNF α (ang. tumor necrosis factor).

Celem pracy było zbadanie wpływu białka Pellino3 na regulację szlaku sygnałowego inicjowanego przez receptor RIG-I. Pellino3 jest ligazą ubikwityny, która zaangażowana jest w regulację wielu szlaków sygnałowych wrodzonej odpowiedzi immunologicznej m.in. zależnej od TLR3, TLR2 (ang. toll like receptor), czy TNFR.

W pierwszym etapie pracy ustalono, że wirusem, który najefektywniej pobudza zależną od RLR produkcję interferonu typu I w komórkach BMDM (ang. bone-marrow-derived macrophage) jest VSIV (ang. vesicular stomatitis Indiana virus). W kolejnych eksperymentach potwierdzono główną rolę RIG-I w badanym szlaku sygnałowym. Następnie pokazano, że białko Pellino3 bierze udział w regulacji kaskady sygnałowej

aktywowanej przez VSIV/RIG-I. Wykazano, że Pellino3 negatywnie reguluje ścieżkę aktywacji czynników transkrypcyjnych IRF3/7 oraz nie wpływa na szlak NF-κB. Wykazano również, że brak białka Pellino3 w komórkach nie wpływa na poziom ekspresji receptorów RIG-I i MDA5 oraz białka adaptorowego MAVS.

Dalsze badania pokazały, że brak białka Pellino3 skutkuje brakiem produkcji biologicznie aktywnego interferonu typu I oraz cytokin prozapalnych. Dodatkowo zaobserwowano, że w komórkach BMDM *Peli3*^{-/-} po infekcji VSIV nie dochodzi do aktywacji kinaz ERK1/2 (ang. mitogen-activated protein kinase 1 and 2), jak ma to miejsce w komórkach typu dzikiego. Wpływ kinaz ERK1/2 na indukowaną wirusem produkcję cytokin potwierdzono również przy wykorzystaniu farmakologicznego inhibitora tych kinaz – FR180204. Poszukiwanie rozwiązań problemu rozbieżności między zależną od Pellino3 aktywacją transkrypcji genów *Ifnβ*, *Cxcl10* oraz *Tnfa*, a brakiem wydzielania tych cytokin doprowadziło do rozpoczęcia badań nad czynnikami inicjacji translacji. Wykazano, że zaburzenie fosforylacji ERK1/2 skutkuje brakiem aktywacji kinazy p90RSK (ang. ribosomal s6 kinase). Dodatkowo pokazano, że zaburzenie ścieżki sygnałowej ERK1/2-p90RSK skutkuje brakiem aktywacji czynników inicjacji translacji eIF4B oraz eIF4E (eIF4 ang. eukaryotic initiation factor 4).

Przedstawione w pracy doktorskiej wyniki pozwoliły na sformułowanie hipotezy, w której ligaza Pellino3 pełni rolę przełącznika molekularnego między transkrypcją, a translacją w procesie odpowiedzi przeciwwirusowej inicjowanej przez VSIV w makrofagach.