

Znaczenie N-koowego fragmentu podjednostki G_{i3} w procesie lokalizacji błonowej trimerycznego białka G

Trimeryczne białka G, zbudowane z podjednostki G oraz dimera G, stanowią grupę ważnych partnerów receptorów sprzężonych z białkami G (GPCR). Te receptory metabotropowe ze względu na swoją liczbę oraz znaczenie w procesach takich jak regulacja zachowania i nastroju, homeostazy (np. balansu wodnego), aktywności układu immunologicznego i stanu zapalnego, aktywności autonomicznego układu nerwowego, zmysłów (wzroku, smaku, zapachu) oraz znaczenie w nowotworzeniu stanowią ważny cel farmakologiczny. W związku z tym funkcjonowanie białek G w komórkach również w znaczącym stopniu rzutuje na funkcjonowanie organizmów. Błona komórkowa stanowi środowisko w którym białka G wraz z receptorami spełniają swoją funkcję sygnalizacyjną. Złożoność tego układu wpływa na całościową odpowiedź komórki na bodziec poprzez interakcje lipid-lipid, białko-lipid, białko-białko. Wpływa również na cechy fizykochemiczne układu, w którym ww. oddziaływania występują. Wpływ dwuwarstwy lipidowej jest większy w przypadku białek transbłonowych, jak receptory GPCR, jednak ma on również znaczenie w przypadku białek zakotwiczonych w błonie, jak białka G. Obecność białek G na powierzchni wewnętrznej błony jest możliwa dzięki lipidacjom podjednostek G oraz G. Dodatkowo w obu tych białkach można wyodrębnić region łańcucha polipeptydowego obdarzony dodatnim ładunkiem znajdujący się blisko miejsc wprowadzenia kotwic lipidowych. Lokalizacja błonowa tych białek wynika więc z współistnienia kilku sygnałów promujących asocjacje w określonych regionach błony. W pracy zbadano znaczenie oraz wpływ każdego z tych sygnałów dla jednego z przedstawicieli trimerycznych białek G – G_{i3} . Obrazowanie białek fuzyjnych G_{i3} w żywych komórkach z wykorzystaniem mikroskopii konfokalnej i techniki FLIM-FRET wykazało duże znaczenie obecności obu kotwic w procesie ich asocjacji z błoną komórkową oraz modulacji lokalizacji błonowej przez region polizasadowy. Znaczenie sygnałów asocjacji do błony sprawdzono również poprzez pomiary wewnątrzkomórkowego stężenia cAMP dla białka G_{i3} w układach pozbawionych lipidacji i ze zniesionym cząsteczkowo ładunkiem dodatnim w regionie N-koowej helisy. Dodatkowo znaczenie regionu polizasadowego G_{i3} sprawdzono w warunkach *in vitro* poprzez zbadanie interakcji z liposomami zawierającymi różne fosfolipidy, sfingomielin, cholesterol. Rezultaty porównano do bioinformatycznej analizy dokowania białka G_{i3} z 4 fosfolipidami. Zaprezentowane badania uzupełniają analizę układów w obecności różnych białek G oraz G. W podobny sposób zbadano również znaczenie lipidacji oraz regionu polizasadowego dla

białka G_s. Wyniki przedstawione w pracy pokazują różnice pomiędzy przedstawicielami dwóch klas białek G : nadzadne znaczenie lipidacji dla lokalizacji błonowej w przypadku G_{i3} oraz większe znaczenie dimera G_i i regionu polizasadowego dla białka G_s.