

Vloga Centra odličnosti CIPKeBiP: Sodelujoča organizacija
Naslov projekta: **Vloga legumaina pri infekciji in vnetju**
Koordinator projekta: **Prof.dr. Fonović Marko**
ARRS šifra projekta: J7-9435 (E)

Osnovnimi podatki o financiranju

Obdobje financiranja: 1.7.2018—30.6.2021

Obseg financiranja: 50000 EUR/leto

Sodelujoče raziskovalne organizacije

ARRS šifra	Raziskovalna organizacija	Status
0106	Institut Jožef Stefan	Javni raziskovalni zavod
2990	Center odličnosti za integrirane pristope v kemiji in biologiji proteinov	Zasebni raziskovalni zavod

Sestava projektne skupine

Priimek in ime	ARRS šifra	raziskovalno področje	vloga
Dr. Vidmar Robert	33762	biokemija in molekularna biologija	raziskovalec
Dr. Vizovišek Matej	32171	biokemija in molekularna biologija	raziskovalec
Dr. Vasiljeva Olga	21619	biokemija in molekularna biologija	raziskovalec
Dr. Turk Boris	07561	biokemija in molekularna biologija	raziskovalec
Dr. Taler-Verčič Ajda	29544	biokemija in molekularna biologija	raziskovalka
Dr. Fonović Marko	18801	biokemija in molekularna biologija	vodja

Vsebinski opis projekta

Legumain ali asparaginilna endopeptidaza (AEP) pripada klanu CD cisteinskih proteaz in cepi svoje substrate izključno za asparaginom in (v manjši meri) za aspartatno kislino. Legumain je evolucijsko visoko ohranjen protein in ga najdemo v številnih živalskih vrstah. Znano je, da sodeluje pri lizosomski homeostazi, predstavitvi antigenov, imunskemu odzivu in signalizaciji pa tudi pri apoptozi in zorenju osteoklastov.

Najbolj zanesljivi eksperimentalni podatki o njegovih fizioloških funkcijah temeljijo na fenotipu miši z izbitim genom za legumain, ki je pokazal hemofagocitni sindrom, okvarjeno delovanje ledvic in kopičenje makromolekul v lizosomih, kar je značilno za lizosomske bolezni shranjevanja (ang. storage disorder disease). V zadnjih letih je več raziskav povezovalo legumain tudi z različnimi patološkimi stanji kot sta rak in Alzheimerjeva bolezen, izjemno pomembna fiziološka vloga legumaina je sodelovanje pri imunskem odzivu. Prvotno se je domnevalo, da legumain v imunskem odzivu sodeluje le pri procesiranju tujih proteinov za njihovo predstavitev s kompleksom MHCII, v zadnjem desetletju pa je bilo dokazano, da aktivira Tollu-sorodne receptorje prirojenega imunskega sistema in sodeluje tudi pri procesiranju drugih membranskih receptorjev.

V nasprotju z mnogimi drugimi proteazami se fizioloških substratov legumaina na nivoju organizma do sedaj še ni poskušalo identificirati s sistemskimi pristopi, temveč so bili vsi znani substrati odkriti posamezno. Čeprav legumain postaja fiziološko in klinično vedno bolj relevantna tarča, večina njegovih funkcij ostaja neznana predvsem zaradi pomanjkljivih podatkov o njegovih fizioloških substratih. To kaže na potrebo po sistemski identifikaciji substratov na nivoju celotnega organizma, kar bi predstavljalo pomemben znanstveni dosežek, ki bi odgovoril na številna vprašanja glede njegove splošne fiziološke vloge, še posebej pa glede njegove vloge pri imunskem odzivu.

Pred kratkim smo opravili proteomsko analizo mišjih makrofagov z izbitim genom za legumain in naši preliminarni rezultati so pokazali, da odsotnost legumaina v makrofagih povzroči močno zvišanje prisotnosti dveh peroksidaz, ki imata ključno vlogo pri protimikrobnemu imunskem odzivu (mieloperoksidaza in eozinofilna peroksidaza). Obe peroksidazi tvorita hipoklorovno kislino, ki je močan protimikrobni reagent in sodeluje pri uničevanju patogenih organizmov, pri vnetnih stanjih kot sta

astma in hipereozinofilni sindrom pa hipohalogene kisline povzročajo tudi poškodne tkiva. To nakazuje, da bi legumain lahko preko regulacije tvorbe hipohalogenih kislin vplival tudi na vnetne procese, seveda pa molekularni mehanizem tega procesa ostaja neznan. Naš preliminarni eksperiment je pokazal, da predlagana raziskava lahko na molekularnem nivoju pojasni fenotip miši z izbitim genom za legumain in ponudi popolnoma nov vpogled v vlogo legumaina v imunskem odzivu in vnetju, pa tudi v splošno regulacijo teh dveh procesov.

V predlaganem projektu nameravamo raziskavo nadgraditi s sistematično proteomsko analizo različnih vrst tkiva mladih in staranih miši z izbitim genom za legumain, kar bo omogočilo boljše razumevanje molekularnega mehanizma preko katerega legumain regulira fiziološke procese. Pridobljene rezultate bomo dopolnili s podatki kvantitativne PCR analize in mrež s protitelesi, kar bo tvorilo osnovo za nadaljno biokemijsko in biološko validacijo identificiranih procesov in fizioloških poti. V zadnji fazi projekta bomo na živalskem modelu opravili in vivo testiranje vpliva legumaina na protimikrobno aktivnost imunskih celic preko tvorbe hipohalogenih kislin. Zmožnost legumaina, da z uravnavanjem tvorbe hipohalogenih kislin zviša protimikrobno aktivnost imunskih celic bi lahko omogočila razvoj popolnoma novih terapevtskih pristopov za boj proti okužbam.

Faze projekta in njihova realizacija

Projekt se je pred kratkim začel in trenutno smo v prvi fazi eksperimentalnega dela.

Bibliografske reference

Publikacije bomo začeli pripravljati ko bomo pridobili primerne eksperimentalne rezultate.