

Na utrzymanie równowagi wszystkich procesów komórkowych, czyli homeostazę, mają wpływ różnorodne czynniki. Należą do nich mutacje genetyczne, stres oksydacyjny lub temperaturowy, starzenie się komórek czy też infekcje. W efekcie działania takich czynników w komórce regularnie powstają niepoprawnie sfałdowane białka, których znaczna ilość jest kumulowana w retikulum endoplazmatycznym (ER). Eukariotyczny system kontroli jakości białek w ER ma na celu eliminację nieprawidłowo sfałdowanych polipeptydów, wykorzystując do tego ewolucyjnie konserwowany szlak komórkowy, określany mianem ERAD (ang. *endoplasmic reticulum-associated degradation*). Ligazy ubikwityny E3 są uważane za centralny element systemu ERAD ze względu na swoją kluczową rolę w specyficzności substratowej. Ich funkcja polega na katalizowaniu reakcji przyłączenia ubikwityny do substratu, co stanowi sygnał do jego degradacji proteasomalnej. Do tej pory udało się scharakteryzować tylko niewielką część spośród ponad 600 zidentyfikowanych ludzkich ligaz E3. Istnieje wiele genów, których produkty białkowe posiadają domeny typowe dla enzymów E3, jednak ich rola nie została jeszcze zbadana, a tylko niewielką część spośród nich sklasyfikowano do tej pory jako ligazy E3 związane ze szlakiem ERAD.

Wirusy wykształciły możliwości manipulacji szlakiem ERAD. Jednym z przykładów jest bydlęcy herpeswirus 1 (BHV-1, BoHV-1), który posiada unikatową zdolność kierowania transportera antygenowego TAP do degradacji proteasomalnej. Ta aktywność prowadzi do zahamowania prezentacji antygenów za pośrednictwem białek MHC klasy I i w konsekwencji unikania odpowiedzi immunologicznej ze strony limfocytów T CD8⁺. Dokładny mechanizm tego procesu nie został jeszcze poznany. Badania strukturalno-funkcjonalne nad białkiem UL49.5 BoHV-1, indukującym proteasomalną degradację transportera TAP, wskazują na brak w jego budowie domeny o aktywności ligazy ubikwityny E3. Obserwacje te sugerowały, że bydlęcy herpeswirus 1 wykorzystuje białka komórkowe gospodarza do degradacji transportera TAP.

Celem niniejszej pracy doktorskiej była próba identyfikacji czynników komórkowych biorących udział w degradacji kompleksu TAP indukowanej przez białko UL49.5 BoHV-1. W tym celu skonstruowałam i zwalidowałam fluorescencyjny model komórkowy do badania degradacji transportera TAP indukowanej przez UL49.5. Model ten posłużył następnie do przeprowadzenia wysokoprzepustowego badania przesiewowego z wykorzystaniem technologii wyciszania genów przy użyciu siRNA. Spośród 2000 badanych genów należących do biblioteki siRNA ubikwityna-proteasom wybrałam te, które po wyciszeniu cechowały się stabilizacją kompleksu TAP w obecności UL49.5 i poddałam je szczegółowej walidacji. Wyniki badań pozwoliły na określenie roli wybranych białek szlaku ubikwityna-proteasom, w tym maszynierii retrotranslokacyjnej, w degradacji kompleksu TAP, identyfikację komórkowej wieloskładnikowej ligazy E3 kluczowej dla tego procesu oraz przybliżenie mechanizmu, w jaki białko UL49.5 kieruje transporter TAP na ścieżkę degradacji proteasomalnej.