

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

T-komórkowa ostra białaczka limfoblastyczna (T-ALL) stanowi rzadki podtyp ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL), będącej najczęstszym nowotworem złośliwym wieku dziecięcego. Choroba ta charakteryzuje się dużą agresywnością oraz złą prognozą. Jej leczenie oparte jest na chemioterapii, która niesie za sobą szereg poważnych oraz często długotrwałych skutków ubocznych, co ma szczególne znaczenie w przypadku pacjentów pediatrycznych. Ponadto, diagnostyka i leczenie T-ALL generuje wysokie koszty, a mimo to aż w 20% przypadków terapia okazuje się nieskuteczna na skutek oporności na leki lub pojawienia się nawrotu choroby. T-ALL u dzieci to nadal poważny problem medyczny z konsekwencjami psychologicznymi oraz społeczno-ekonomicznymi. Rozwój nauki sprzyja poszukiwaniu nowych, skuteczniejszych rozwiązań terapeutycznych, jednak aby ich opracowanie było możliwe, konieczne jest poszerzenie wiedzy na temat molekularnych mechanizmów T-ALL.

Przez wiele lat badania molekularne nad T-ALL były skoncentrowane na poszukiwaniu zmian w obrębie sekwencji kodujących białka. Dzięki temu wiedza na temat onkogenów i genów supresorowych zaangażowanych w patogenezę T-ALL jest stosunkowo szeroka. Obecnie jednak coraz więcej uwagi poświęca się znaczeniu mechanizmów epigenetycznych w tej chorobie, a także roli cząsteczek miRNA. MiRNA to krótkie fragmenty oligonukleotydowe, których funkcją jest regulacja ekspresji genów z udziałem kompleksu białkowego RISC (*RNA-induced silencing complex*). Istnieją badania pokazujące, że profil ekspresji tych cząsteczek w komórkach białaczkowych jest inny niż w komórkach zdrowych. Ponadto udowodniono, że różnice te mogą mieć wpływ na rozwój choroby, gdyż miRNA ulegające zbyt wysokiej ekspresji mogą wyciszać geny supresji transformacji nowotworowej. Natomiast w przypadku zbyt niskiej ekspresji miRNA, ich mała aktywność może prowadzić do zwiększonej aktywności onkogenów. Interakcje miRNA oraz ich genów docelowych są bardzo złożone. Jedna cząsteczka miRNA może regulować ekspresję wielu genów, a jeden gen może być regulowany przez wiele różnych miRNA. Obecny stan wiedzy na temat roli miRNA w patogenezie T-ALL obejmuje jedynie wycinek złożonej sieci regulatorowej miRNA-mRNA. Z tego powodu konieczne jest prowadzenie dalszych badań na ten temat.

Celem proponowanego projektu jest globalna analiza interakcji wybranych miRNA z ich docelowymi mRNA w liniach komórkowych T-ALL (*in vitro*). Badania prowadzone będą w oparciu o technikę immunoprecypitacji kompleksów RISC-miRNA-mRNA, połączoną z sekwencjonowaniem frakcji mRNA uzyskanej po immunoprecypitacji z użyciem sekwencjonowania nowej generacji (NGS). Metodyka ta pozwoli na poznanie całego spektrum genów docelowych dla badanych miRNA. Połączenie tych technik nie było dotąd wykorzystywane w przypadku badań nad miRNA w T-ALL. Zidentyfikowane interakcje miRNA-mRNA zostaną potwierdzone drugą metodą, testem reporterowym Dual Luciferase Assay. Potencjał onkogenny/supresorowy badanych miRNA zostanie oceniony w testach funkcjonalnych w liniach komórkowych T-ALL (testy zmian żywotności komórek oraz poziomu apoptozy pod wpływem wyciszenia i/lub nadekspresji wybranych miRNA).

MiRNA ulegające nieprawidłowej ekspresji w T-ALL zostaną wytypowane na podstawie już uzyskanych wyników sekwencjonowania nowej generacji miRNA, które przeprowadzono na próbkach uzyskanych od pacjentów z dziecięcą T-ALL. Jak dotąd istnieją nieliczne badania wykorzystujące technologię NGS w badaniach miRNA w T-ALL i żadne z nich nie są podparte analizą funkcjonalną. Stanowi to nowatorski element projektu. Połączenie kilku nowoczesnych podejść badawczych umożliwi znaczne poszerzenie stanu wiedzy na temat występujących w komórkach białaczkowych szlaków i osi regulatorowych kierowanych przez miRNA.

Uzyskane w proponowanym projekcie wyniki przyczynią się do pogłębienia wiedzy na temat zależności regulatorowych miRNA-mRNA w onkogenezie. Zidentyfikowane osi regulatorowe miRNA-mRNA będą mogły stanowić punkt wyjścia do dalszych badań funkcjonalnych (w modelu mysim T-ALL), mających na celu potwierdzenie ich onkogennej/supresorowej roli *in vivo*. Potencjalnie mogą też stanowić punkt wyjścia dla nowych strategii terapeutycznych, celujących w kluczowe ścieżki regulatorowe miRNA-mRNA.