

Rola wielodomenowego białka TRIM28 w mechanizmach utrzymujących populację komórek o fenotypie nowotworowych komórek macierzystych

Nowotwory utworzone są z niejednorodnej populacji komórek, wśród których wyróżnić można obecność komórek zróżnicowanych, tworzących masę guza, jak również komórek niewyspecjalizowanych, charakteryzujących się zdolnością do samoodtwarzania swojej populacji. Komórkom tym, zwanym nowotworowymi komórkami macierzystymi (NKM) przypisuje się zdolność do napędzania wzrostu guza nowotworowego oraz podwyższoną w stosunku do reszty masy guza oporność na stosowane chemio- czy radioterapię, co warunkuje remisję choroby po przeprowadzonym leczeniu. Ponadto, populacja NKM ma kluczowe znaczenie w procesie formowania przerzutów, stąd znalezienie leków swoiście celujących w tę populację jest obecnie bardzo pożądane. W warunkach hodowli *in vitro* populacja komórek nowotworowych, która zachowuje zdolność do wzrostu w podłożu półpłynnym w postaci sfer, stanowi populację posiadającą cechy NKM. Ponadto, hodowle sferyczne w odróżnieniu od hodowli jednowarstwowych, sprzyjają utrzymaniu fenotypu nowotworowych komórek macierzystych.

Celem prowadzonych badań jest analiza roli wielodomenowego białka TRIM28 ze wskazaniem na udział poszczególnych domen tego białka w mechanizmach utrzymywania stanu macierzystego komórek o fenotypie nowotworowych komórek macierzystych (NKM). Z dotychczasowych badań wynika, że białko TRIM28 jest zaangażowane w proces utrzymywania populacji NKM w raku piersi, stąd może stanowić potencjalny cel terapeutyczny. Jednakże, nie został poznany dokładny mechanizm zależnej od TRIM28 regulacji procesu samoodnowy NKM. Ze względu na złożoną budowę białka TRIM28 i posiadaną aktywność enzymatyczną, celem projektu jest wskazanie w jaki sposób białko TRIM28 i jego specyficzne domeny RING i PHD posiadające odpowiednio aktywność E3 ligazy ubikwityny i SUMO, reguluje zdolność populacji NKM do samoodtwarzania i tym samym do napędzania wzrostu guza.

Metodyka w poniżej planowanych zadaniach badawczych obejmuje zarówno wykorzystanie technik inżynierii genetycznej i biologii molekularnej, hodowli komórkowej *in vitro* oraz doświadczeń na laboratoryjnych modelach zwierzęcych z wykorzystaniem modelu mysiego *in vivo*, a także analiz bioinformatycznych w oparciu o wyniki sekwencjonowania transkryptomu czy szeroko-przepustowych analiz białkowych.

Wykorzystanie systemu modyfikacji genetycznej komórek umożliwiającego równoczesne wyciszenie ekspresji endogennego *TRIM28* wraz ze stabilną ekspresją egzogenego zmutowanego białka w komórkach linii czerniaka i glejaka hodowanych w warunkach 3D umożliwi wskazanie specyficznej domeny, a co za tym idzie, aktywności białka TRIM28 odpowiedzialnej za utrzymywanie macierzystości populacji NKM. Wykorzystanie dwóch modeli choroby nowotworowej w oparciu o dotychczasowe dane dla innych typów komórek czy nowotworów, wskaże na potencjalną uniwersalność mechanizmu zależnej od TRIM28 regulacji macierzystości. Ponadto, planowane sekwencjonowanie transkryptomu oraz analizy białkowe, a następnie korelacja uzyskanych wyników z dostępnymi bazami danych, pozwolą na dokładniejsze poznanie mechanizmów regulujących stan pluripotencji populacji NKM. Co więcej, w przyszłości sukces tego projektu może przyczynić się do opracowania swoistego inhibitora blokującego aktywność pronowotworową białka TRIM28. Wyniki projektu zostaną zaprezentowane na konferencjach naukowych oraz w pismach o międzynarodowym zasięgu, a sukces projektu przyczyni się do zwiększenia konkurencyjności i innowacyjności polskiej nauki.