

Utrzymanie integralności genomu jest niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania i przeżycia organizmów. Komórki stale narażone są na działanie różnych endo- i egzogennych czynników powodujących uszkodzenia DNA. W celu wyeliminowania szkodliwych skutków zmian materiału genetycznego, komórki rozwinęły skuteczne mechanizmy rozpoznawania i usuwania uszkodzeń DNA. Zaburzenia tych mechanizmów prowadzą do niestabilności genomowej, a w konsekwencji do transformacji nowotworowej. W procesy komórkowej odpowiedzi na uszkodzenia DNA zaangażowanych jest wiele białek, wśród których kluczową i nadrzędną rolę pełni kinaza ATM (ataxia-telangiectasia mutated). Kinaza ATM jest kodowana przez gen położony na długim ramieniu chromosomu 11 (11q22.3). Mutacje obu alleli genu są przyczyną zespołu ataksji teleangiaktazji (AT). AT jest chorobą neurodegeneracyjną z postępującą ataksją mózdkową. Choroba przebiega z niedoborami odporności, zmianami naczyniowymi spojówek oraz predysponuje do nowotworów. Komórki z uszkodzonym genem *ATM* wykazują nadwrażliwość na promieniowanie jonizujące. Ryzyko rozwoju raka u chorych z AT jest ponad 100-krotnie większe niż ryzyko obserwowane w populacji ogólnej, najczęściej diagnozowane są nowotwory układu limfatycznego.

Pomimo dużej wiedzy na temat procesów naprawy DNA, szczegóły mechanizmów rozpoznawania i sygnalizowania uszkodzeń DNA wciąż nie są w pełni poznane. Ostatnie badania sugerują, że długie niekodujące RNA (lncRNA, ang. long non-coding RNA) są ważnym czynnikiem uczestniczącym w odpowiedzi komórki na uszkodzenia DNA. LncRNA to klasa regulatorowych RNA o długości powyżej 200 nukleotydów, charakteryzująca się brakiem zdolności kodowania białek. Spośród ponad 15 tysięcy znanych lncRNA, jak dotąd tylko dla kilku potwierdzono udział w naprawie uszkodzeń DNA. **W niniejszym projekcie chcemy zweryfikować hipotezę, że długie niekodujące RNA zależne od ATM są ważnym czynnikiem zaangażowanym w proces rozpoznawania i naprawy uszkodzeń DNA.** Zostały postawione trzy cele: **identyfikacja lncRNA indukowanych przez napromieniowanie, identyfikacja lncRNA oddziałujących z ATM oraz funkcjonalna charakterystyka wybranych lncRNA w kontekście odpowiedzi na uszkodzenia DNA.** Materiał do badań stanowić będą immortalizowane limfoblastoidalne linie komórkowe (LCL) wyprowadzone od 4 pacjentów z AT oraz od 4 osób zdrowych. Uszkodzenia DNA będą indukowane w komórkach poprzez promieniowanie jonizujące. Komórki będą zbierane po 1 i 8 godzinach od napromieniowania, aby zidentyfikować lncRNA uczestniczące we wczesnej i późnej odpowiedzi na uszkodzenia DNA. Dla wybranych lncRNA ulegających indukcji po napromieniowaniu w sposób zależny od kinazy ATM i lncRNA oddziałujących z ATM przeprowadzone zostaną testy funkcjonalne pozwalające na ocenę ich roli w odpowiedzi komórek na uszkodzenia DNA.

Podjęcie zastosowane w projekcie, wykorzystujące linie komórkowe wyprowadzone od chorych z AT, umożliwi globalną identyfikację zależnych od ATM lncRNA o kluczowej roli w odpowiedzi na uszkodzenia DNA. **Uzyskane wyniki przyczynią się do poszerzenia wiedzy w zakresie lncRNA zaangażowanych w proces rozpoznawania i naprawy uszkodzeń DNA, a co za tym idzie do lepszego zrozumienia mechanizmów odpowiedzi komórki na uszkodzenia DNA.** Ponadto, **wyniki badań funkcjonalnych uzyskane w projekcie mogą też wskazać lncRNA jako nowy czynnik modulujący wrażliwość komórek na radioterapię, co może stanowić wstęp do dalszych zastosowań aplikacyjnych.**