

Rozszyfrowanie "kodu nukleosomalnego" zmian dostępności chromatyny w komórkach guzów mózgu w odpowiedzi na terapię epigenetyczną

W wyniku coraz większej wiedzy na temat nowotworów, dostępnych jest coraz więcej technik medycyny celowanej. Ostatnio wzrosło zainteresowanie substancjami farmakologicznymi powodującymi zmiany w strukturze chromatyny, tzn. zmian dotyczących oddziaływań na łańcuch DNA. Obiecujące są zwłaszcza wyniki stosowania takich substancji jako terapii dodatkowej, wspierającej terapię już stosowane np. immunoterapie. Jednak mechanizmy epigenetyczne biorące udział w odpowiedzi komórki na terapię epigenetyczną nie są dobrze poznane. Aby uzupełnić tę lukę chcemy przeprowadzić charakterystykę zmian aktywności chromatyny wywołanymi przez epigenetyczne substancje farmakologiczne. **Stawiamy hipotezę, że zidentyfikowanie cało-genomowych profili dostępności chromatyny może dostarczyć nowych narzędzi do oceny potencjalnej aktywacji lub wyciszenia wybranych miejsc w genomie.** Głównym celem tego projektu jest wskazanie funkcjonalnych i mechanistycznych zmian w strukturze chromatyny wywołanych wybranymi lekami oddziałującymi z wybranymi enzymami i opracowanie uniwersalnego sposobu charakterystyki takich oddziaływań.

Cele tego projektu zostaną osiągnięte dzięki zastosowaniu opracowanych już technik, które nie były jeszcze zastosowane do analizy odpowiedzi chromatyny na traktowanie substancją farmakologiczną wywołującą zmiany epigenetyczne. Zamierzamy zastosować autorską, innowacyjną metodą mierzenia dostępności chromatyny (Mieczkowski, J. *et al. Nat. Commun.* 2016, MACC) pozwalającą na analizę fizycznych i biochemicznych właściwości chromatyny oraz zaawansowane techniki biologii molekularnej. Nasza metoda pozwala na jednoczesną analizę dostępności chromatyny, pozycjonowania nukleosomów oraz interakcji DNA z nie-histonowymi białkami. Dodatkowe informacje o wywołanych zmianach epigenetycznych będą zebrane dzięki pogłębionej analizie histonów, tzn. białek zaangażowanych w upakowanie łańcucha DNA. Analizie poddane zostaną profile kowalencyjnych modyfikacji histonów oraz pozycjonowanie wariantów histonów. Modyfikacje histonów wykorzystywane są do wskazywania aktywności lub braku aktywności chromatyny. Z kolei warianty histonów zmieniają fizyczne właściwości chromatyny i wpływają na ekspresję genów. Jednocześnie, niemal wszystkie warianty histonów wydają się brać udział w odpowiedzi komórki na zewnętrzną stymulację. Profilowanie modyfikacji i wariantów histonów, połączone z profilami dostępności chromatyny i pozycjonowania nukleosomów pozwoli na wskazanie regionów DNA aktywowanych w odpowiedzi na epigenetyczną stymulację.

Analiza struktury chromatyny w modelach guzów mózgu dostarczy informacji na temat epigenetycznych szlaków sygnałowych i fizycznych właściwości chromatyny związanych z odpowiedzią komórek na stymulację epigenetyczną. Nasz projekt zakłada nowatorskie podejście, nigdy wcześniej nie wykorzystywane do analizy mechanizmów odpowiedzi komórki. Nasze wyniki dostarczą nowych danych na temat kształtowania potencjału odpowiedzi komórek i pełniejszego zrozumienia procesów stojących za sukcesami wspierających terapii.