

Rak płuca jest jednym z najczęściej występujących i najbardziej śmiertelnych nowotworów na świecie. Przyczyną tak złych statystyk jest bardzo wysokie zróżnicowanie genetyczne w obrębie podtypów tego nowotworu. Dzięki badaniu mechanizmów molekularnych biorących udział w powstawaniu nowotworów możliwe jest zdobycie wiedzy, która być może w przyszłości przyczyni się do rozwoju nowych terapii i leków. Przedmiotem tych badań są krótkie, 22-24 nukleotydowe, jednoniciowe cząsteczki RNA zwane microRNA (miRNA). Poprzez komplementarne przyłączanie do mRNA genu docelowego, mogą wpływać na jego negatywną po-transkrypcyjną regulację ekspresji. Taki mechanizm powoduje "wyciszenie" pewnych genów i tym samym potencjalnie pozwala na zatrzymanie niekorzystnego mechanizmu, aktywowanego np. w komórce nowotworowej. Stąd też wynika duże zainteresowanie jakimi cieszą się te cząsteczki w kontekście terapii przeciwnowotworowych. W badaniach przeprowadzonych na tkankach nowotworowych pobranych od pacjentów z rakiem płuca wykazaliśmy znacznie obniżony poziom ekspresji cząsteczki miR-30a-5p względem zdrowej tkanki płucnej. Ponieważ cząsteczka ta jest określana jako antyonkogen, badania te zbadają jej potencjalnie terapeutyczne działania na komórki raka płuca. Na podstawie analizy bioinformatycznej, gen *DLGAP1* (disks large-associated protein 1), kodujący białko GKAP (guanylate-kinase-associated protein) został określony jako przypuszczalny gen docelowy dla miR-30a-5p. Według najnowszych badań białko to bierze udział w regulacji aktywności receptora NMDAR (N-methyl-D-aspartic acid) występującego w komórkach raka płuca, gdzie może wywierać wpływ na procesy związane z wzrostem i rozwojem komórek nowotworowych.

Celem tego projektu jest określenie czy cząsteczka miR-30a-5p faktycznie ma możliwość potranskrypcyjnego wyciszania ekspresji genu *DLGAP1* oraz czy ma pozytywne - antynowotworowe - działanie w komórkach raka płuca. W celu zbadania ścieżki sygnałowej miR-30a-5p-*DLGAP1*-NMDAR2B zostaną przeprowadzone badania *in vitro* na linii komórkowej raka płuca A549. Komórki zostaną poddane transfekcji syntetycznymi oligonukleotydami RNA, które odpowiednio będą zwiększać lub wyciszać ekspresję badanych genów. Następnie przy zastosowaniu metody qRT-PCR oraz Western Blot, komórki te zostaną poddane badaniom molekularnym, które umożliwią weryfikację procesów i interakcji jakie zaszły na poziomie mRNA oraz białka. Wpływ wyciszania bądź zwiększania ekspresji cząsteczki miR-30a-5p oraz genu *DLGAP1* na proliferację oraz apoptozę komórek rakowych będzie badany przy użyciu testu MTT oraz cytometrii przepływowej. Wiązania cząsteczki miR-30a-5p z genem docelowym zostanie zweryfikowane przy pomocy badania genu reporterowego lucyferazy.

Poznanie funkcjonowania ścieżki sygnałowej miR-30a-5p-*DLGAP1*-NMDAR2B oraz jej roli w rozwoju raka płuca, niewątpliwie przyczyni się do pogłębienia wiedzy i większego zrozumienia patogenezy raka płuca, a być może w przyszłości zaowocuje rozwojem nowych leków i terapii celowanej.