

Autofagia jest naturalnym procesem, którego celem jest degradacja uszkodzonych organelli oraz zbędnych lub zmienionych makrocząsteczek, a produkty tej degradacji mogą być wykorzystane do pozyskiwania energii lub materiału do tworzenia nowych struktur. Uważa się, że zaburzenia autofagii mogą odgrywać istotną rolę w nowotworach choć rola autofagii w procesie nowotworzenia jest niejednoznaczna. Autofagia przyczyniając się do usuwania zbędnych, uszkodzonych i szkodliwych elementów komórkowych zapobiega powstawaniu nowotworów. Z drugiej jednak strony w zaawansowanych nowotworach narażonych na niedobór składników odżywczych, sprzyja ich przetrwaniu i wzrostowi. Dokładne określenie mechanizmów leżących u podstaw procesu autofagii i jej roli w nowotworzeniu jest bardzo ważne z punktu widzenia możliwości projektowania nowych terapii przeciwnowotworowych. Ostatnie badania wskazują, że istotną rolę w regulacji procesu autofagii mogą odgrywać czynniki epigenetyczne, wpływające na ekspresję genów poprzez modyfikacje chemiczne histonów. Jednym z ważnych regulatorów epigenetycznych jest kompleks PRC1, odpowiedzialny za zahamowanie ekspresji wielu genów poprzez modyfikacje histonu H2A. **Celem projektu jest określenie roli białek BMI-1 i RING, będących składnikami kompleksu PRC1 w procesie autofagii w komórkach raka endometrium i piersi. Ponadto zbadana zostanie efektywność przeciwnowotworowa inhibitorów kompleksu PRC1 w kombinacji z innymi modulatorami autofagii.** Planowane badania będą przeprowadzone z wykorzystaniem czterech linii komórkowych. Komórki kontrolne oraz komórki z wyciszoną metodą interferencji RNA lub zahamowaną przez inhibitory ekspresją/aktywnością BMI-1 i RING1 będą hodowane w warunkach optymalnego wzrostu, jak i warunkach stresowych (głodzenia). W komórkach tych określona zostanie ekspresja genów związanych z mechanizmem autofagii na poziomie mRNA i białka oraz sprawdzony zostanie poziom modyfikacji histonu H2A w regionach promotorowych tych genów. Intensywność procesu autofagii zostanie zbadana przy użyciu fluorescencyjnej mikroskopii konfokalnej wykorzystując obecność receptora p62 skoniugowanego z białkiem GFP oraz barwnika fluorescencyjnego lizosomów LysoTracker Red. Zahamowania aktywności kompleksu PRC1 wraz z modulatorami autofagii zostanie sprawdzone przy użyciu testu na proliferację/żywołność, a także metodą cytometrii przepływowej. Dodatkowo zbadany zostanie wpływ modulatorów (induktorów i inhibitorów) autofagii na mechanizm apoptozy i nekroptozy poprzez detekcję charakterystycznych dla tych procesów markerów. Zaplanowane w tym projekcie badania pozwolą na poznanie roli kompleksu PRC1 w procesie autofagii co może w przyszłości przyczynić się do opracowania skuteczniejszych strategii terapii przeciwnowotworowych.