

STRESZCZENIE

Komórki macierzyste w mózgu zajmują niszę na granicy pomiędzy normalnymi procesami różnicowania oraz nowotworowej transformacji, prowadzącej do rozwoju śmiertelnego raka mózgu - glejaka. Dlatego ukierunkowanie nowotworowych komórek macierzystych (ang. *cancer stem cells* - CSCs) w stronę różnicowania powoduje osłabienie ich agresywności.

Jedną z nowych strategii terapeutycznego różnicowania CSCs jest dostarczanie małych cząsteczek RNA (microRNA), które są odpowiedzialne za terminalne różnicowanie, a które są często utracone w procesie nowo-tworzenia, także w glejakach. Wniosek ten oparty jest na naszych obserwacjach z ponad 10-letnich badan, że jednoczesne dostarczenie wielu utraconych microRNA do komórek glejaka natrafia na znaczne przeszkody związane z dawkowaniem, stabilnością, efektywnością dostarczania, a także możliwymi niespecyficznymi efektami. Dlatego aby skutecznie przywrócić wiele cząsteczek microRNA jednocześnie, skupiliśmy się na badaniach powodu, dla którego microRNA są utracone w komórce. W pewnym sensie proponujemy poznać i naprawić przyczynę problemu, raczej niż walczyć z jego skutkami.

W naszych wstępnych badaniach przeanalizowaliśmy mechanizm procesowania microRNA w celu zidentyfikowania źródła problemu i stwierdziliśmy że zaburzone jest kluczowy etap przekształcanie prekursorów microRNA w ich postać dojrzałą. Udało nam się znaleźć cząsteczkę niekodującego RNA – *circ2082*, która hamuje enzymatyczny kompleks białkowy odpowiedzialny za ten etap dojrzewania microRNA. Postawiliśmy więc hipotezę że zablokowanie *circ2082* w CSCs przywróci procesowanie microRNA.

Circ2082 należy do niedawno odkrytej rodziny kolistego RNA (ang. *circular RNA*) i, jak sama nazwa wskazuje, powstaje z linearnego RNA jako kłosa cząsteczka pozbawiona wolnych końców. W rezultacie takiej cyrkularyzacji powstaje unikalna sekwencja. Te cechy pozwalają na zaprojektowanie krótkiego antysensownego inhibitora *circ2082* bez homologii do znanych linearnych RNA, co zapewnia wysoką specyficzność, a jednocześnie nadaje tej cząsteczce wyjątkową stabilność. Zarówno w warunkach hodowli *in vitro* jak i używając modeli zwierzęcych udało nam się bardzo wydajnie dostarczyć inhibitor *circ2082* do komórek nowotworowych. Ale co najważniejsze, zahamowanie *circ2082* przywróciło powstawanie utraconego microRNA.

Użycie cząsteczek RNA zarówno jako terapeutycznego celu jak i czynnika wspomagającego specyficzne celowanie jest obecnie jednym z bardziej obiecujących strategii nie tylko w onkologii. Mając unikalne możliwości (*circ2082*-inhibitor) „odblokowania” powstawania microRNA w CSCs, naszym nadrzędnym celem jest zbadanie jego zastosowania w terapii glejaka. Dlatego proponujemy lepsze poznanie tego narzędzia na poziomie komórkowym w celu „odblokowania” potencjału CSCs do różnicowania *in vitro* (cel 1) oraz w nowotworach powstałych z CSCs (cel 2), a także na poziomie molekularnym w celu wyjaśnienia mechanizmów towarzyszących uwolnieniu blokad zmieniających los komórek (cel 3). Przekierowanie losu komórek nowotworowych poprzez przywrócenie funkcjonalnych microRNA komórki, którego powstawanie jest zaburzone w procesie nowotworowym, stanowiłoby zatem potężne narzędzie, za pomocą którego moglibyśmy przekierunkować CSCs glejaka w stronę różnicowania, zamieniając terapeutycznie oporną komórkę niezróżnicowaną na podatną na terapię komórkę zróżnicowaną.