

**Tytuł projektu:** Rola białek zawierających domenę PIN w regulacji niekodujących RNA.

Degradacja RNA jest jednym z mechanizmów kontroli posttranskrypcyjnej ale także stanowi obronę organizmów eukariotycznych przed zakażeniem wirusami, których materiałem genetycznym jest RNA. Generalnie, enzymy zaangażowane w degradację RNA możemy podzielić na: egzonukleazy, które degradują RNA zaczynając od końca 5' lub 3' oraz endonukleazy, które tną matryce w środku, rozpoznając specyficzne sekwencje lub struktury. W ostatnich latach zostało opisanych wiele białek zawierających domenę PIN. Białka zawierające taką domenę występują u eukariontów, bakterii i archeonów. PIN jest domeną katalityczną, odpowiedzialną za endonukleolityczne cięcie RNA (ang. (Pi)T N-terminus).

Nasza grupa ma znaczący wkład w wyjaśnienie roli domeny PIN białka MCPIP1 oraz roli samego białka w regulacji procesów komórkowych. MCPIP1 poprzez degradację mRNA i prekursorowych miRNA reguluje procesy zapalne, jak również podziały komórkowe, angiogenezę, różnicowanie oraz śmierć komórek. Wykazaliśmy, że MCPIP1 ma ogromne znaczenie w regulacji homeostazy skóry oraz procesów patologicznych tego organu, w tym łuszczyca oraz nowotworzenia.

W ramach badań wstępnych wykazaliśmy, że w skórze poza MCPIP1 występuje również inne białko z tej rodziny, MCPIP3. MCPIP1 występuje w warstwie granularnej, natomiast MCPIP3 w warstwie bazalnej. Ponadto, zaobserwowaliśmy zmieniony poziom tych białek w raku kolczystokomórkowym (SCC; ang. *Squamous-Cell Carcinoma*), co w konsekwencji musi się wiązać ze zmienionym poziomem ncRNA. Nowotwór ten jest jednym z najczęściej występujących nowotworów skóry. Obydwa białka funkcjonują jako RNazy. Jak wynika również z naszych badań wstępnych, te RNazy mogą regulować poziom niekodujących RNA (ncRNA), do których zaliczamy: miRNA, koliste RNA i długie niekodujące RNA. Te trzy rodzaje niekodujących RNA mają ogromne znaczenie w regulacji potranskrypcyjnej ekspresji genów. Niekodujące RNA regulują poziom mRNA w komórce, wpływają na syntezę białek ale również regulują się wzajemnie. Na przykład długie niekodujące RNA mogą działać jak „gąbki” wychwytyjące miRNA w komórce. Ponadto, długie niekodujące RNA mogą zawierać w obrębie swojej sekwencji matryce miRNA, a ich ostateczny poziom w komórce zależy od bodźców wewnątrz i na zewnątrz komórki. Stosunkowo nowymi elementami są cząsteczki kolistego RNA. Kolisty RNA jest wynikiem usuwania intronów rRNA oraz tRNA, a także dojrzewania pre-mRNA zawierających introny. Badania wykazały, iż jedną z funkcji kolistych RNA jest modulacja działania miRNA, ale także regulacja posttranskrypcyjna oraz rola w translacji białek.

Celem projektu będzie zbadanie wzajemnych zależności między RNazami a ncRNA i ocena roli tych interakcji w etiologii/rozwoju indukowanych chemicznie guzów myszy. W badaniach wykorzystane zostaną unikatowe modele badawcze – myszy z wyłączonym genem MCPIP1 oraz myszy z wyłączonym genem MCPIP3 w keratynocytach. Myszy z aktywnymi genami będą stanowić kontrolę eksperymentu. W badaniach zastosujemy nowoczesne metody badawcze, takie jak sekwencjonowanie nowej generacji oraz zaawansowane analizy bioinformatyczne. Ponadto, wybrane matryce zostaną poddane analizom funkcjonalnym. Wykorzystując linię ludzkich komórek raka kolczystokomórkowego skóry (A431) oraz nowoczesne metody modulacji ekspresji genów (shRNA, CRISPR/Cas9) sprawdzimy jak wybrane matryce wpływają na właściwości komórek nowotworowych: regulację cyklu komórkowego, genomowe zmiany, inwazyjny wzrost, migrację komórek, chemotaksję, zmiany receptorów powierzchniowych, sekrecję litycznych czynników itp. Projekt jest istotny z wielu powodów. Po pierwsze nie ma zbyt wielu informacji na temat potranskrypcyjnej regulacji ncRNA. Po drugie, realizacja zadań pokaże, czy RNazy MCPIP degradują te same transkrypty. Kolejnym ważnym aspektem projektu jest wykazanie, które ncRNA mają znaczący wpływ na inicjację i rozwój nowotworów. Ponadto, wyniki otrzymane w ramach tego projektu mogą okazać się bardzo istotne w projektowaniu terapii, których celem będą cząsteczki RNA. Ponadto, zidentyfikowane RNA być może będą mogły być wykorzystane jako markery do wykrywania wczesnych etapów nowotworzenia, jak również w predykcji przebiegu choroby nowotworowej.