

Streszczenie popularnonaukowe

Ludzkie komórki mogą pobierać kwasy nukleinowe, np. kwasy rybonukleinowe (RNA) obcego pochodzenia, np. bakteryjne, drożdżowe, roślinne, wirusowe czy również syntetyczne RNA. Egzogenne RNA jest zaangażowane w regulację proliferacji, różnicowania, rozwoju oraz śmierci komórkowej komórek gospodarza, jak również w odpowiedź immunologiczną. Kluczowe jest rozróżnienie obcego (patogennego) RNA od RNA gospodarza. Co ciekawe, egzogenne RNA może również aktywować komórki spoza układu immunologicznego. Wykazaliśmy, iż stymulacja ludzkich normalnych oraz nowotworowych komórek syntetycznym RNA (siRNA), jak również roślinnym mikroRNA moduluje ich fenotyp sekrecyjny (produkcję cytokin prozapalnych), czemu towarzyszy zmiana ekspresji metylotransferazy DNMT2/TRDMT1 należącej do rodziny metylotransferaz 5-metylocytozyny RNA (m⁵C-RMT). U ludzi, za metylację 5-metylocytozyny w obrębie różnych cząsteczek RNA odpowiadają białka z grupy NSUN z domeną NOL1/NOP2/SUN (NSUN1-7) oraz właśnie metylotransferaza 2 DNA/metylotransferaza 1 tRNA (DNMT2/TRDMT1). Pokazaliśmy również, iż egzogenne RNA, które naśladuje RNA uwalnianie z martwych normalnych oraz nowotworowych komórek podczas chemioterapii może promować heterogenność komórkową oraz knockout (KO) genu *TRDMT1* zmienia profil sekrecyjny oraz aktywność retrotranspozonów w komórkach kostniakomięsaka. W proponowanym projekcie, planujemy testowanie hipotezy, która zakłada, że metylotransferazy 5-metylocytozyny RNA są istotnymi czynnikami odpowiedzi komórkowej na egzogenne oraz pozakomórkowe RNA, a ich aktywność jest istotna podczas nieswoistej odpowiedzi komórek nowotworowych na obce RNA. Chcemy odpowiedzieć na następujące pytania. Która z m⁵C-RMT jest najważniejsza podczas odpowiedzi komórek na egzogenne RNA (bakteryjne, drożdżowe, roślinne)? Czy pozakomórkowe RNA uwalniane z umierających komórek lub komórek starych może zmieniać fenotyp sąsiadujących komórek oraz czy ten efekt jest regulowany przez m⁵C-RMT? Jakie typy pozakomórkowego RNA promują odpowiedź mediowaną przez m⁵C-RMT? Czy obecność funkcjonalnych genów m⁵C-RMT jest istotna dla metabolizmu syntetycznego RNA? Czy egzogenne RNA może indukować aktywność retrotranspozonów poprzez zmiany w poziomie m⁵C-RMT? Zostanie zastosowanych kilka modeli komórkowych. Do oceny wpływu egzogenne RNA (bakteryjny, drożdżowy, roślinny) na aktywację m⁵C-RMT oraz pokrewne odpowiedzi, ludzkie normalne oraz nowotworowe komórki płuc będą użyte jako komórki mające pierwszy kontakt z egzogennym RNA. Do oceny wpływu pozakomórkowego RNA uwalnianego z umierających oraz starych komórek nowotworowych indukowanych chemoterapią na odpowiedź niespecyficzną komórek nowotworowych z aktywnym oraz niefunkcyjnym genem m⁵C-RMT, kilka linii komórkowych kostniakomięsaka zostanie użytych. Protokół knockout'u (KO) genu zostanie zastosowany w celu uzyskania komórek nowotworowych z nieaktywnym genem m⁵C-RMT. Komórki będą stymulowane egzogennym lub pozakomórkowym RNA. Profil sekrecyjny, aktywność wybranych szlaków sygnalizacyjnych, inwazyjność, migracja oraz indukcja starzenia komórkowego będą badane. Zostaną również zidentyfikowani partnerzy (RNA) wiążący się do m⁵C-RMT. Zdolność syntetycznego mRNA do promowania niestabilności genetycznej w komórkach kostniakomięsaka z nieaktywnym genem m⁵C-RMT będzie również badana. Będziemy testować czy m⁵C-RMT mogą modulować metabolizm syntetycznego mRNA i czy komórki pozbawione aktywnego genu m⁵C-RMT mogą używać syntetyczny mRNA jako matrycy do naprawy DNA. Komórki po transfekcji syntetycznym mRNA będą pasażowane przez 30 dni i zmiany genomowe będą analizowane. Odpowiedź na uszkodzenia DNA, aktywność autofagii jako szlaku zaangażowanego w usuwanie kompleksów RNA-białko oraz aktywność retrotranspozonów będą również badane. Jesteśmy przekonani, iż realizacja niniejszego projektu dostarczy nowej wiedzy dotyczącej molekularnych mechanizmów działania m⁵C-RMT w komórkach nowotworowych, zwłaszcza w odniesieniu do odpowiedzi na egzogenne oraz pozakomórkowe RNA. Otrzymane wyniki będą interesujące i przydatne dla przedstawicieli nauk biologicznych oraz medycznych, zwłaszcza dla molekularnych genetyków oraz toksykologów.