

Transportery ABC (ATP-binding cassette) są odpowiedzialne za uzyskiwanie oporności wielolekowej w wielu liniach komórek nowotworowych. Oporność wielolekowa pojawia się w kolejnych cyklach chemioterapii i prowadzi do obniżenia jej skuteczności, co jest niezwykle istotnym problemem podczas prowadzenia intensywnej terapii. Jest to związane ze zwiększoną ekspresją genów kodujących transportery ABC (ATP-binding cassette), które usuwają cytostatyki na zewnątrz komórki.

W przeprowadzonych do tej pory przeze mnie badaniach udało się wykazać, że w linii komórkowej MDA-MB-231 opornego na doksorubicynę potrójnie ujemnego raka piersi ADP-rybozylacja zależna od seryny jest odpowiedzialna za nadekspresję niektórych białek rodziny ABC. ADP-rybozylacja jest procesem, który jest katalizowany przez polimerazę poli(ADP-rybozy)1 (PARP1).

Do tej pory tworzenie oraz aktywność kompleksu PARP1/HPF1 oraz ADP-rybozylacja reszt serynowych były przede wszystkim przypisywane naprawie uszkodzeń DNA, ponieważ białko C4orf27/HPF1 reguluje aktywność PARP1/PARP2 podczas wczesnej odpowiedzi na uszkodzenia DNA i prowadzi do rozluźnienia chromatyny w miejscach uszkodzeń. HPF1 jest odpowiedzialny za identyfikację miejsc uszkodzeń i wiązanie się z katalityczną domeną PARP, co umożliwia rozpoczęcie procesu ADP-rybozylacji.

Moje badania wykazały, że funkcjonalna interakcja pomiędzy HPF1 i PARP1 w linii odpornej na doksorubicynę zachodzi bez indukcji uszkodzeń DNA, a ekspresja genów transporterów ABC jest kontrolowana przez kompleks PARP1/HPF1.

Celem projektu jest zatem zidentyfikowanie na chromatynie regionów funkcjonalnych, które prowadzą do formowania kompleksu PARP1/HPF1 oraz zidentyfikowanie czynników transkrypcyjnych i/lub kofaktorów transkrypcji, które pozwolą na odkrycie białka odpowiedzialnego za zależną od kompleksu nadekspresję transporterów ABC w komórkach raka piersi opornych na doksorubicynę.

Badania w ramach projektu zostaną przeprowadzone na opornym na doksorubicynę potrójnie ujemnym raku piersi (TNBC/MDA-MB-231). Zaplanowany projekt obejmuje następujące etapy: zastosowanie metody ChIP-Seq w celu zlokalizowania miejsca kodystrybucji PARP1 oraz HPF1 na genomie, zidentyfikowanie czynników transkrypcyjnych lub enzymów remodelujących chromatynę, które są odpowiedzialne za konstituowanie kompleksu PARP-1/HPF1. Wybrany zostanie tylko jeden, który może odgrywać kluczową rolę w wiązaniu kompleksu do miejsc regulatorowych chromatyny. Następnie wybrane zostaną motywy DNA typowe dla tworzenia kompleksu PARP1/HPF1 w linii komórkowej MDA-MB-231 oraz (ko)czynniki transkrypcyjne na poziomie molekularnym, które mogą odgrywać kluczową rolę w regulacji ekspresji transporterów ABC oraz staną się celem farmakologicznym. Z pełnej listy czynników wybrany zostanie jeden oraz zweryfikowana zostanie jego rola w utrzymaniu kompleksu PARP1/HPF1 na chromatynie w linii odpornej na doksorubicynę. Dodatkowo zweryfikowana zostanie hipoteza dotycząca ADP-rybozylacji HPF1 zależnej wybranego „czynnika”, która może mieć wpływ na nadekspresję transporterów ABC.

Do tej pory nie udało się osiągnąć pełnego sukcesu w walce z opornością wielolekową nowotworów. Problem ten zmotywował mnie do przeprowadzenia badań, które pozwolą na pogłębienie wiedzy na temat regulacji ekspresji transporterów ABC oraz określenie potencjalnego celu farmakologicznego podczas walki z nowotworami.