

Wpływ mutacji genu *TP53* na składanie mRNA genu *FGFR1* - analiza konsekwencji procesu dla rozwoju nowotworów oraz możliwości terapeutycznych

Pomimo postępów w dziedzinie technik diagnostycznych i strategii terapeutycznych, rak nadal pozostaje główną przyczyną śmiertelności na świecie, według danych Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization WHO). Do jednych z najczęściej występujących typów nowotworów należą rak płuc, jelita grubego, trzustki oraz nowotwory głowy i szyi. Dlatego konieczne jest poszerzanie naszej wiedzy na temat molekularnych ścieżek zaangażowanych w rozwój nowotworu oraz opracowywanie nowych metod leczenia. **Projekt ma na celu zbadanie, w jaki sposób mutacje w genie *TP53* wpływają na alternatywne składanie mRNA, które jest istotnym procesem w rozwoju nowotworów.** Mutacje w genie *TP53* są jednymi z najczęściej występujących w różnych typach nowotworów. Mogą one powodować zmiany w białku p53, które skutkują utratą jego funkcji hamujących rozwój nowotworu i nabyciem nowych właściwości, które przyspieszają rozwój choroby. Białko p53, które nabiera nowych funkcji nazywane jest mutantem nabycia funkcji (*gain-of-function*, *GOF*) p53. Jednym z procesów, na które wpływa zmutowane białko p53 GOF jest alternatywne składanie mRNA. Proces ten umożliwia powstawanie różnych wersji białka - izoform z tego samego genu. Powstałe izoformy mogą mieć różne funkcje – na przykład jedna może wykazywać działanie pronowotworowe, a druga przeciwnowotworowe. Wykazano, że mutant p53 GOF poprzez wpływ na składanie mRNA może promować powstawanie izoform białek sprzyjających tworzeniu naczyń krwionośnych w guzie lub modyfikować szlaki sygnałowe komórek. **Celem tego projektu jest wyjaśnienie, jak mutant p53 może zmieniać składanie mRNA genu kodującego receptor czynnika wzrostu fibroblastów (*Fibroblast Growth Factor Receptor 1*, *FGFR1*), który odgrywa kluczową rolę w różnych procesach komórkowych.**

Alternatywne składanie mRNA genu *FGFR1* jest powszechnym zjawiskiem w nowotworach i pozwala na powstawanie różnych wersji białka FGFR1. Na przykład, izoformy FGFR1 alpha i FGFR1 beta powstają na skutek włączenia lub wyłączenia egzonu 3 z transkryptu mRNA. Natomiast powstanie izoform FGFR1 IIIb i FGFR1 IIIc jest uzależnione od włączania wykluczających się wzajemnie egzonów 8 i 9. Powstawanie różnych izoform białka FGFR1 wpływa na jego funkcje np. na powinowactwo do cząsteczek sygnalizacyjnych – ligandów, które aktywują FGFR1. Może to wpływać na zachowanie komórek nowotworowych, progresję choroby, a nawet odpowiedź na terapię przeciwnowotworową. Podsumowując, alternatywne składanie mRNA genu FGFR1 odgrywa ważną rolę w rozwoju raka i jego oporności na terapię.

Wstępne wyniki z analizy sekwencjonowania RNA (RNA seq), które uzyskaliśmy w projekcie SONATA, w ramach, którego realizuję mój projekt doktorski w Pracowni Multiomiki Chorób Człowieka (IMDiK, PAN), wykazały, że mutant p53 ma wpływ na czynniki splicingowe bogate w serynę/argininę (Serine/Arginine Rich Splicing Factors, SRSFs) oraz kinazę białkową SRPK1. Czynniki SRSFs regulują proces składania mRNA, natomiast kinaza SRPK1 reguluje aktywność tych czynników poprzez ich fosforylację. Wykazałam eksperymentalnie interakcje pomiędzy mutantem p53 a czynnikami SRSFs oraz kinazą SRPK1. Ponadto wyniki RNA-seq wykazały również, że mutant p53 wpływa na włączanie egzonów 3, 4 i 11 do transkryptu mRNA genu *FGFR1*. Wynik ten także został potwierdzony eksperymentalnie.

W projekcie zbadany zostanie wpływ mutantu p53 na składanie mRNA genu *FGFR1* i wpływ powstających na skutek tego procesu białek na komórki nowotworowe. Uzyskane wyniki pozwolą na zaprojektowanie nowego protokołu terapeutycznego. Zbadana zostanie interakcja pomiędzy wspomnianymi czynnikami splicingowymi a izoformami genu *FGFR1*, jak i również wpływ powstałych izoform na cechy charakterystyczne nowotworów takich jak migracja, inwazja czy nadmierna proliferacja. Ponadto, leki celujące w mutantu p53, FGFR1 oraz proces składania mRNA zostaną przetestowane zarówno na nowotworowych liniach komórkowych, jak i na hodowlach organoidowych. W tym eksperymencie zostanie wykorzystane zjawisko syntetycznej letalności, które polega na celowaniu w dwa białka lub dwa szlaki molekularne równocześnie w celu uzyskania lepszego efektu terapeutycznego. Dodatkowo sprawdzony zostanie wpływ izoform białka FGFR1 na powstawanie lekooporności. Docelowo wiedza uzyskana w projekcie ma przyczynić się do znalezienia skuteczniejszych sposobów leczenia chorób nowotworowych.