

Chłoniak Hodgkina (HL) to nowotwór powstający w centrach rozrodczych komórek B, rozwijający się u około 2-3 na 100 000 ludzi. Powstają one podczas rozwoju komórek B, gdzie zyskują nieprawidłowy profil alteracji genetycznych i, przez nadal nie pełnie poznany powód, są w stanie przetrwać zamiast przejść przez typową w tych warunkach programowaną śmierć komórki – apoptozę, w konsekwencji dając typowe dla tej choroby komórki Hodgkina i Reed-Sternberga (HRS). Komórki te różnią się znacznie od zdrowych komórek B, wykazując zaburzenia szlaków sygnałowych. Istotnym aspektem w powstawaniu komórek HRS są istotne zmiany w profilu metylacji DNA, powodujące inaktywację supresorów nowotworowych i deregulację szlaków sygnałowych komórki. Jako że badanie tych supresorów może prowadzić do istotnych odkryć w zakresie biologii nowotworu, to uznaliśmy, że zbadany ten aspekt.

Podczas analizy ekspresji opartej na mikromacierzy i danych na temat metylacji DNA, gen *CXXC5* zwrócił naszą uwagę. Zauważyliśmy jego istotną regulację w dół, w towarzystwie zwiększonej metylacji DNA w jego regionie promotorowym. Zmiany te były obserwowane tylko w próbkach pochodzących z HL, w porównaniu z innymi chłoniakami B-komórkowymi i nienowotworowymi komórkami B. Te dane sugerują, że *CXXC5* może być genem supresorowym, specyficznym dla HL i jego inaktywacja jest powodowana przez hipermetylację DNA. Co jest szczególnie ciekawe to to, że gen *CXXC5* znany jest z jego szerokiego efektu regulatorowego, opartego na wiązaniu niemetylowanych wysp CpG i przyciąganiu dalszych białek regulatorowych. Z tego powodu jego potencjał w kształtowaniu komórek nowotworowych wydaje się wartym przebadania. Naszą hipotezą jest to, że gen *CXXC5* pozytywnie i istotnie wpływa na komórki nowotworowe w rozwoju komórek HRS i późniejszym ich przetrwaniu.

W naszym projekcie planujemy odkryć, czy jego hipermetylacja jest, w istocie, mechanizmem stojącym za wyciszeniu tego genu w HL. W tym celu przeprowadzimy celowaną demetylację DNA tego genu w liniach komórkowych chłoniaka Hodgkina. Poziom spadku metylacji DNA będzie oceniony z pomocą pirosekwencjonowania wodorosiarczynowego i jego efekt – przywrócenie ekspresji genu – będzie potwierdzone na poziomie transkryptomycznym (RT-qPCR) i proteomicznym (Western blot). Do zbadania wpływu *CXXC5* na chłoniaka biologię komórek chłoniaka Hodgkina, przeprowadzimy indukcję stabilnej nadekspresji białka *CXXC5* w liniach komórkowych HL. Będziemy badać efekty jego obecności w komórce z wykorzystaniem testów na proliferację, żywotność i śmierć komórkową. Naszą hipotezą jest, że indukcja ekspresji *CXXC5* będzie mieć negatywny efekt na komórki, powodując spadek proliferacji i żywotności, jak i wzrost potencjału apoptotycznego. Dalej, planujemy poszerzyć naszą wiedzę w zakresie efektów obecności *CXXC5* w funkcjonowaniu komórek HL. Z uwagi na to, że *CXXC5* jest czynnikiem transkrypcyjnym, chcemy zidentyfikować, z którymi regionami DNA wiąże się białko *CXXC5*. By tego dokonać, przeprowadzimy analizę ChIP-seq. Uważamy, że regiony wiązane przez białko *CXXC5* będą wzbogacone w geny supresorowe. W celu dogłębniejszego zbadania tej kwestii przeprowadzimy globalną analizę metylacji DNA z pomocą technologii Oxford Nanopore. Tutaj również spodziewamy się wzbogacenia o ten sam tym genów, przy istotnym pokryciu wyników metylacji DNA i *CXXC5*-ChIP-seq. Kolokalizacja wyróżniających się regionów byłaby mocnym wskaźnikiem za tym, że *CXXC5* to istotny czynnik, którego brak jest powiązany ze zmianami w profilu metylacyjnym, a więc z rozwojem i progresją chłoniaka Hodgkina i przez to może być nowym potencjalnym markerem nowotworowym stosowanym w diagnostyce HL.