

Streszczenie

Potranskrypcyjne kowalencyjne modyfikacje cząsteczek RNA odpowiadają za kontrolę ekspresji genów, wpływając na inicjację i szybkość translacji, a także wiązanie mikroRNA, stabilność RNA i jego degradację. Poznanie mechanizmów molekularnych leżących u podstaw tego procesu jest obecnie przedmiotem wielu opracowań naukowych. Jednym z aspektów związanych z epitranskryptomiką jest poznanie mechanizmów kontroli, celów molekularnych enzymów metylujących cząsteczki RNA, a także efektów fizjologicznych ich działania. Charakterystyka białek odpowiedzialnych za modyfikację epitranskryptomu jest szczególnie interesująca w odniesieniu do takich procesów jak starzenie komórkowe czy mechanizmów związanych z progresją i rozwojem lekooporności komórek nowotworowych. Otrzymane wyniki mogą być pomocne m.in., w: a) poszukiwaniu nowych strategii terapeutycznych ograniczających negatywne skutki chemio- oraz radioterapii, b) poszukiwaniu nowych celów terapeutycznych, które mogą być wykorzystywane do usuwania komórek nowotworowych, w tym opornych na konwencjonalne chemioterapeutyki, c) zidentyfikowaniu genów oraz szlaków odpowiedzialnych m.in., za progresję nowotworu czy lekooporność.

W świetle obecnej wiedzy, w tym wcześniejszych prac badawczych prowadzonych przez zespół z Uniwersytetu Rzeszowskiego interesujący z punktu znaczenia dla projektowania w przyszłości nowych strategii terapeutycznych, wydaje się być gen metylotransferazy m⁵C RNA, *TRDMT1*. TRDMT1 odgrywa bowiem istotną rolę w procesie nie tylko odpowiedzi na stres komórkowy czy embriogenezie, ale również w starzeniu komórkowym, w tym kontroli długości życia organizmu. Co ciekawe, jak dotąd nie było kompleksowych badań na temat funkcji jaką pełni TRDMT1 podczas starzenia komórek nowotworowych. W literaturze nie było także informacji dotyczących efektów braku funkcjonalnego genu *TRDMT1* na zmiany genetyczne w komórkach nowotworowych podczas progresji oraz starzenia indukowanego chemioterapeutykami.

Dlatego w pracy podjęto próbę określenia roli TRDMT1 zarówno podczas długoterminowej hodowli *in vitro* komórek nowotworowych gruczolaka szyjki macicy HeLa, gruczolaka piersi MDA-MB-231, kostniakomięsaka U-2 OS, glejaka U-251 MG, a także w indukowanym chemioterapeutykami starzeniu. W szczególności w pracy oceniono znaczenie braku funkcjonalnego genu *TRDMT1* w odniesieniu do takich procesów jak proliferacja komórek, śmierć komórkowa, uszkodzenia DNA, aktywność ścieżki odpowiedzi na uszkodzenia DNA, kontrola długości telomerów, autofagia, stres oksydacyjny oraz zdolność

powstawania wtórnych zmian chromosomowych. Podczas realizacji pracy doktorskiej oceniono także zastosowanie inhibitorów metylotransferaz DNA/RNA w komórkach pozbawionych białka TRDMT1.

Na podstawie otrzymanych wyników wykazano, iż brak białka TRDMT1 prowadzi do zmian w długościach telomerów podczas kolejnych pasażów komórek nowotworowych, a także promuje w nich wtórne zmiany chromosomowe. Zaobserwowano również, że białko TRDMT1 jest zdolne do interakcji z telomerazą badanych komórek nowotworowych podczas stresu indukowanego doksorubicyną. Dodatkowo wykazano, że poziom telomerowych powtórzeń RNA TERRA ulega zmianie w komórkach nowotworowych bez funkcjonalnego genu *TRDMT1*. Udowodniono także, że brak funkcjonalnego genu *TRDMT1* moduluje proces przyspieszonego starzenia komórkowego poprzez zmiany aktywności szlaków związanych m.in., z apoptozą, odpowiedzią na stres oksydacyjny, naprawą DNA zależną od RNA, autofagią i sekrecją czynników prozapalnych. Ponadto wykazano, że brak białka TRDMT1 w komórkach z zaindukowanym starzeniem moduluje poziom enzymów z rodziny NSUN odpowiedzialnych za modyfikacje potranskrypcyjne RNA. Tym samym otrzymane wyniki wskazują, że brak funkcjonalnego genu *TRDMT1* może promować zmienność międzykomórkową w obrębie subpopulacji komórek nowotworów, a także modulować wrażliwość komórek nowotworowych na stosowane chemioterapeutyki. Przedstawione wyniki pozwolą lepiej zrozumieć złożone wewnątrzkomórkowe mechanizmy molekularne odpowiedzialne za plastyczność genomów oraz zmienność komórek nowotworowych człowieka.