

Popularnonaukowe streszczenie projektu

Mutacje w genach mogą prowadzić do zmiany ich funkcji i złośliwej transformacji komórkowej. Szczególny wpływ na funkcjonowanie organizmu mają zaburzenia pojawiające się w obrębie klasy genów zwanych onkogenami. Rozwój wielu typów nowotworów wiązany jest z mutacjami, występującymi w obrębie genu *BRAF* (ang. *B-raf proto-oncogene*). Białko kodowane przez ten gen jest częścią szlaku sygnałowego MAPK/ERK (ang. *mitogen-activated protein kinases/extracellular signal-regulated kinases*), przekazującego informację z zewnątrz komórki do jej jądra. Głównym zadaniem tej ścieżki jest regulacja wzrostu, migracji, a także proliferacji komórkowej. Najczęściej występującą zmianą w strukturze genu *BRAF* jest mutacja V600E. Powoduje ona ciągłą aktywację i transdukcję sygnału, niezależnie od działania bodźców zewnętrznych. W konsekwencji dochodzi do wzrostu proliferacji i inwazji komórkowej. Występowanie mutacji V600E zostało stwierdzone w przypadku chorych między innymi na czerniaka, raka jelita grubego czy też białaczki szpikowej.

Sekwencjonowanie materiału genetycznego pacjentów ze zdiagnozowanym rakiem wątroby pozwoliło na zidentyfikowanie nowych mutacji w genie *BRAF*. Dotychczas, zmiany w obrębie tego genu nie były związane z rozwojem raka wątroby. Pragniemy zatem określić wpływ nowych mutacji *BRAF* na proces patogenezy hepatocytów. Ponadto zakładamy, iż miejsce występowania mutacji wpływa na zróżnicowany mechanizm przekaźnictwa sygnału w obrębie ścieżki MAPK/ERK. Badania prowadzone przez innych naukowców wykazały, iż mutacje w genie *BRAF* mogą zarówno nadmiernie aktywować działanie kinazy BRAF, jak również prowadzić do jej wyciszenia. Te wyniki ukazują złożoność i różnorodność funkcjonalną występujących mutacji. Konieczny jest zatem rozwój spersonalizowanej terapii przeciwnowotworowej, przeciwdziałającej skutkom konkretnych mutacji.

Analizę funkcjonalną nowo odkrytych mutacji planujemy przeprowadzić w warunkach *in vitro* oraz *in vivo* (model myszy). Odpowiednie mutacje zostaną wprowadzone za pomocą systemu CRISPR/Cas9. Badania będą się opierały na sprawdzeniu wpływu danych mutacji na zdolność do proliferacji, inwazji oraz migracji ludzkich komórek wątroby. W drugim etapie badań mutacje zostaną wprowadzone do zapłodnionej komórki jajowej poprzez mikroiniekcję kompleksu ctRNP (Cas9, crRNA, tracrRNA). W celu możliwości rozwoju raka wątroby, embriion niosący mutacje zostanie wprowadzony do macicy pseudo-ciężarnej myszy. Dalsze badania będą opierały się na analizie materiału pobranego od chorych zwierząt. Określona zostanie ekspresja genów oraz wzajemne oddziaływania białek wchodzących w skład szlaku sygnalizacyjnego MAPK/ERK. Oprócz tego zaplanowana jest analiza immunohistochemiczna wątroby oraz innych narządów objętych procesem nowotworowym.

Wyniki naszych pozwoła na sprawdzenie wpływu nowych, dotąd nie opisanych mutacji genu *BRAF* na proces rozwoju raka wątroby. Ponadto będą stanowić podstawę do dalszych badań nad opracowaniem potencjalnych, spersonalizowanych metod terapeutycznych. Ma to szczególne znaczenie, ze względu na to, iż liczba zachorowań na ten typ nowotworu w ostatnim czasie drastycznie rośnie. Ponadto niewłaściwie dobrana metoda leczenia mogłaby doprowadzić do osiągnięcia przeciwnego efektu.