

Fenotypowanie mikrogleju i makrofagów infiltrujących glejaki, poprzez jednoczesne sekwencjonowanie transkryptomu oraz białek powierzchniowych w pojedynczej komórce

Glejak wielopostaciowy jest najbardziej agresywnym guzem mózgu, który wiąże się ze złym rokowaniem pacjenta, a średnia przeżywalność wynosi 15 miesięcy od momentu diagnozy. Glejaki charakteryzują się wysokim napływem mikrogleju i makrofagów- komórek układu odpornościowego, które powinny stanowić pierwszą linię obrony. Jednakże, pod wpływem sygnałów wysyłanych przez komórki glejaka, mikroglej i makrofagi przekształcają się w komórki wspierające rozwój guza (**Glioma Associated Macrophages – GAMs**) i zamiast przeciwdziałać namnażaniu się komórek nowotworowych wspomagają ich inwazję oraz powstawanie naczyń krwionośnych unaczyniających guz. Przeprowadzono wiele badań nad rolą mikrogleju i makrofagów w rozwoju glejaka, jednakże kwestią sporną pozostaje pytanie czy mikroglej – rezydentne makrofagi mózgu, i makrofagi – infiltrujące mózg tylko w przypadku stanów chorobowych takich jak nowotwór, pełnią tą samą bądź odmienną funkcję w rozwoju glejaka. Rozbieżności w tej kwestii wynikają z braku specyficznych markerów, które pozwoliłyby jednoznacznie odróżnić mikroglej i makrofagi w środowisku guza.

Pierwszym celem niniejszego projektu jest znalezienie markerów – białek występujących na powierzchni komórki, które umożliwiłyby specyficzną identyfikację mikrogleju i makrofagów infiltrujących guz oraz ich izolację. Po drugie, planujemy przeprowadzić dogłębną analizę bioinformatyczną ścieżek sygnałowych regulowanych w populacji GAM, pod kątem zbadania specyficznych funkcji mikrogleju i makrofagów w procesie nowotworzenia.

Do tego celu zamierzamy wykorzystać nowoczesną technologię sekwencjonowania RNA na poziomie pojedynczej komórki (scRNA-seq z ang. *single-cell RNA sequencing*), z jednoczesnym oznaczeniem białek powierzchniowych. scRNA-seq pozwala na określenie profilu ekspresji genów dla każdej pojedynczej komórki w mieszaninie różnych komórek. Dzięki temu, będziemy w stanie określić i scharakteryzować podgrupy podobnych komórek w populacji GAM. Ta technika przewyższa standardową procedurę RNA-seq w której ekspresja genów jest uśredniona dla całej populacji, a informacja o różnicach pomiędzy podgrupami zostaje stracona.

Ze względu na dużą ilość danych generowanych przy technologii scRNA-seq, analiza bioinformatyczna będzie kluczowym etapem niniejszego projektu. Analiza danych jest pracochłonnym zadaniem, które często wykracza poza zakres umiejętności biologa. Jednocześnie wiedza biologiczna jest niezbędna do zawężenia dużej ilości wyników uzyskanych z sekwencjonowania do istotnych procesów biologicznych, które mogą zostać następnie potwierdzone innymi metodami biochemicznymi. Planujemy zaangażować doświadczonego bioinformatyka oraz biologa potrafiącego programować na poziomie średnio-zaawansowanym, którzy będą realizować cele projektu w bliskiej współpracy. Poprzez zapewnienie dobrej komunikacji pomiędzy dwoma specjalistami, zamierzamy wesprzeć proces analizy by poprzez odpowiednio dobrane metody informatyczne odpowiedzieć na pytania biologiczne.

Nasza badania pomogą lepiej poznać rolę komórek odpornościowych w rozwoju glejaka. Na ten moment brak jest badań na temat immunopatologii występującej w glejaku z użyciem technologii RNA-seq. Badania transkryptomu na poziomie pojedynczej komórki oraz nowe markery pozwalające na izolację mikrogleju i makrofagów wspomogą dalsze badania nad immunopatologią guza. Poznanie specyficznych funkcji mikrogleju i makrofagów, pomoże lepiej zrozumieć ich rolę w procesie nowotworzenia co może przełożyć się na odkrycie nowych leków immunoterapeutycznych w przyszłości.