

„Terapeutyczne wykorzystanie kwasów nukleinowych”

Monika Piwecka

Stypendystka projektu pt. „Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski”, Poddziałanie 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Poszukiwanie skutecznych metod zwalczania infekcji wirusowych oraz chorób nowotworowych stanowi aktualne wyzwanie dla medycyny oraz nauki. Niniejsza praca doktorska dotyczy badań zmierzających do opracowania i wykorzystania kwasów nukleinowych, jako narzędzia do celów terapeutycznych.

W pierwszej części pracy rozpatrywano zastosowanie katalitycznego RNA (leadzym), długiego dsDNA, dsRNA, siRNA, siDNA oraz krótkich oligodeoksynukleotydów o orientacji sens i antysens do inhibicji ekspresji wirusowego RNA *in vivo* w modelu roślinnym. W grupie testowanych cząsteczek, dsDNA okazał się być efektywnym induktorem wyciszenia RNA wirusa mozaiki tytoniu (TMV). dsDNA specyficzny dla RNA TMV powodował skuteczne obniżenie infekcji wirusowej na poziomie zbliżonym do siRNA oraz dsRNA. Obserwacje hydrolizy dsDNA przez nukleazę Dicer oraz w ekstrakcie roślinnym potwierdziły hipotezę o inaktywacji docelowego RNA na drodze interferencji DNA (DNAi). Leadzym anty-TMV wpływał na obniżenie poziomu wirusa w infekowanych liściach tytoniu, co obserwowano, jako spadek ilości symptomów infekcji wirusowej (nekrozy) oraz ilości wirusowego RNA. Przeprowadzone badania są pierwszym przykładem na aktywność leadzimu *in vivo*.

W drugiej części pracy skupiłam się na poszukiwaniu i analizie molekularnych celów terapeutycznych w złośliwych nowotworach glejowych mózgu oraz zastosowaniu dsRNA, jako czynnika do ograniczenia ekspresji wybranego mRNA na drodze procesu interferencji RNA (RNAi). Małe białko szoku cieplnego – α B-kryształina (CRYAB) - zidentyfikowana została, jako czynnik anty-apoptotyczny ulegający znaczącej nadekspresji w guzach glejowych IV stopnia złośliwości biologicznej wg WHO. Otrzymano dsRNA specyficzny dla mRNA α B-kryształiny (ACRY-RNA), który wykorzystano do indukcji RNAi w liniach ludzkich komórek nowotworowych, w tym komórkach wyprowadzonych z glejaka wielopostaciowego. ACRY-RNA transfekowany do hodowli komórkowych efektywnie i specyficznie wyciszał ekspresję CRYAB, co w konsekwencji doprowadzało do wzrostu poziomu apoptozy w

komórkach nowotworowych. Przeprowadzone badania nie wskazały na indukcję ekspresji genów związanych ze szlakami odpowiedzi komórkowej na obecność dsRNA. ACRY-RNA za zgodą Komisji Bioetycznej przy UM w Poznaniu został wdrożony do terapii eksperymentalnej wysokozłośliwych glejaków w Klinice Neurochirurgii i Neurotraumatologii UM im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. 54 pacjentów z guzami glejowymi III i IV stopnia złośliwości poddanych zostało terapii ACRY-RNA poprzez śródoperacyjną aplikację preparatu. Wyniki terapii są w trakcie szczegółowej analizy. Na obecnym etapie badań można stwierdzić, iż zastosowanie ACRY-RNA do wyciszenia ekspresji α B-krystaliny w guzach glejowych ma duży potencjał, jako terapia uzupełniająca interwencję chirurgiczną.

Niniejszy projekt zakłada transfer wiedzy i technologii opracowanej w laboratorium badawczym do celów klinicznych. Połączenie naukowego i klinicznego podejścia przyczynia się do skutecznego poszerzenia wiedzy na temat rozwoju procesów nowotworowych mózgu oraz kreowania innowacyjnych form terapii. Uzyskane wyniki potwierdzają, że zastosowanie technologii opartych o kwasy nukleinowe może doprowadzić do wypracowania innowacyjnej i unikalnej w skali europejskiej terapii nowotworów mózgu, która korzystnie wpłynie na wizerunek Wielkopolski oraz niesie ze sobą możliwość komercjalizacji wyników. Powodzenie realizacji projektu będzie miało duże znaczenie dla rozwoju medycyny molekularnej wykraczające również poza obszar regionu i kraju.