

Streszczenie popularnonaukowe

Pojęcie „epigenetyka” wyjaśnia się jako zmiany w ekspresji genów nie związane ze zmianą sekwencji nukleotydów w DNA. Modyfikacje epigenetyczne, takie jak metylacja DNA czy modyfikacje histonów, wpływają na dostępność DNA i strukturę chromatyny, a tym samym regulują ekspresję genów. Jedną z najczęściej badanych modyfikacji DNA jest metylacja cytozyny do 5-metylocytozyny (5-mCyt). Metylacja może również dotyczyć innych nukleotydów. Metylacja deoksyadenozyny została zidentyfikowana i jest dobrze opisaną cechą epigenetyczną u prokariotów. Powstawanie N6-metylo-2'-deoksyadenozyny (6-mdA) odgrywa istotną rolę w wielu różnych procesach biologicznych u bakterii m. in. w replikacji DNA, segregacji nukleotydów, naprawie błędnie sparowanych zasad (mismatch repair), transkrypcji oraz translacji. Przez długi czas uważano, że 6-mdA nie występuje w DNA u eukariotów, w tym u ludzi. W ostatnich kilku latach stwierdzono obecność 6-mdA w DNA u niższych eukariotów, kręgowców oraz ssaków. W kilku opublikowanych niedawno publikacjach stwierdzono obecność tej modyfikacji w tkankach ludzkich.

Zaburzenie wzorca epigenetycznego uważane jest za jedną z przyczyn rozwoju i progresji nowotworów. Większość badań naukowych skupiała się na globalnych i lokalnych zmianach poziomu 5-mCyt. Cechą charakterystyczną wielu nowotworów jest globalna hipometylacja (obniżenie poziomu metylacji) DNA oraz towarzysząca jej nadmierna metylacja (hipermetylacja) dotycząca promotorów genów supresorowych. Procesy te mogą przyczyniać się do powstawania raka. Rola innych metylowanych modyfikacji DNA w rozwoju raka pozostaje niejasna. Tylko kilka prac zajmowało się analizą poziomu 6-mdA w DNA u chorych z nowotworami. Rak żołądka, wątroby, płuc oraz nowotwory piersi charakteryzowały się istotnie niższym poziomem 6-mdA w porównaniu do tkanki zdrowej. Co ciekawe, przeciwne tendencje zaobserwowano w przypadku raka płaskonabłonkowego przełyku, raka wątrobowokomórkowego, raka płaskonabłonkowego języka oraz glejaka (tkanki zmienione nowotworowo - wyższy poziom 6-mdA). Jednakże najnowsze wyniki badań mówią, że poziom tej modyfikacji jest istotnie niższy w glejakach w porównaniu do zdrowej tkanki mózgu. Inną charakterystyczną cechą komórek nowotworowych jest znaczne obniżenie poziomu 5-hydroksymetylocytozyny, produktu demetylacji 5-mCyt. Co ciekawe, opublikowane ostatnio wyniki sugerują obecność N6-(hydroksymetylo)-2'-deoksyadenozyny (6-hmdA) w DNA ssaków. Poziom tej modyfikacji był znacznie wyższy w materiale z raka płuca w porównaniu do normalnych tkanek przylegających do guza.

N6-metyloadenozyna (6-mrA) jest jedną z najczęstszych modyfikacji obserwowanych w matrycowym RNA (mRNA), wykazano również, że odgrywa ona istotną rolę w wielu procesach fizjologicznych. Metylacja adenozyny jest procesem dynamicznym i odwracalnym w komórkach ssaków i może pełnić rolę jako kolejna warstwa regulacji epigenetycznej, podobnie jak zmiany metylacji DNA i modyfikacje białek histonowych. Za powstawanie 6-mrA w mRNA odpowiada kompleks enzymów (6-mrA methyltransferase complex), w którego skład wchodzi METTL3, METTL14 oraz WTAP. Natomiast za jej usuwanie odpowiadają demetylazy takie jak FTO czy ALKBH5. Metylacja 6-mrA jest zaangażowana we wszystkie etapy cyklu życiowego RNA. Zaburzenie poziomu 6-mrA i związanych z nią białek przyczynia się do inicjacji, progresji, przerzutów i odpowiedzi na leczenie w przypadku wielu nowotworów (m.in. nowotworów hematologicznych).

Z tego powodu głównym celem projektu jest poszukiwanie biologicznej roli N6- metyloadenozyny i jej pochodnych. Procesy metylacji i demetylacji adeniny mają podobne mechanizmy katalityczne jak metylacja/demetylacja cytozyny. Przypuszczamy, że poziom tych modyfikacji w nowotworach zmienia się w sposób podobny do obserwowanego w przypadku 5-mCyt i produktów jej utleniania. Z tego powodu N6-metyloadenina i jej pochodne mogą odgrywać rolę w rozwoju nowotworów hematologicznych. W celu oznaczenia wyżej wymienionych modyfikacji w kwasach nukleinowych posłużymy się wysoce zaawansowaną techniką badawczą: dwuwymiarową ultrasprawną chromatografią cieczową z tandemową spektrometrią mas (2D-UPLC/MS/MS). Metoda ta umożliwi nam wiarygodną ocenę ilościową N6- metyloadeniny i jej pochodnych w materiale uzyskanym od pacjentów z białaczkami (ostra białaczka szpikowa – AML, przewlekła białaczka limfocytowa – CLL), szpiczakiem mnogim (MM) jak również w grupie kontrolnej. Dodatkowo będziemy analizować materiał od pacjentów z zespołem mielodysplastycznym (MDS) (może transformować w AML), osoby z gammopatią monoklonalną o nieustalonym znaczeniu (MGUS) (prawie zawsze poprzedza MM), jak również pacjentów z przedrakową monoklonalną limfocytozą B (MBL) o największym ryzyku rozwoju w pełni rozwiniętej CLL. Wyniki naszych badań mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia procesów metylacji/demetylacji adeniny oraz roli N6- metyloadeniny i jej pochodnych w rozwoju nowotworów. Ponadto nasze wyniki mogą stanowić podstawę do opracowania stosunkowo prostych i niedrogich testów laboratoryjnych, a oznaczanie poziomu pochodnych adeniny może w przyszłości stać się standardowym narzędziem diagnostycznym w medycynie spersonalizowanej.