

Rak płuc należy do najczęściej występujących i najbardziej śmiertelnych nowotworów na świecie. W ostatnich latach, statystyki 5-letniej przeżywalności niedrobnokomórkowego raka płuca (NDRP) znacząco się poprawiły, między innymi dzięki szerokiemu dostępowi do nowoczesnych terapii biologicznych, np. wykorzystujących przeciwciała anty-PD-1 lub anty-PD-L1. Niestety wielu pacjentów, u których komórki nowotworowe wykazują ekspresję białka PD-L1 nie odpowiada na tego typu immunoterapie. Nowotwory drobnokomórkowe (DRP), stanowią zaś mniejszość wykrywanych przypadków, ale ich metody leczenia są jeszcze mniej zaawansowane. Mając na uwadze powyższą nieskuteczność terapii, konieczność wczesnego wykrywania nowotworów oraz monitorowania ich zmian metastatycznych, poszukuje się nowych metod diagnostycznych i potencjalnych terapii. Nowoczesnym podejściem jest teranostyka – diagnostyka połączona z terapią celowaną. W poniższym projekcie za cel postawiliśmy sobie opracowanie i przetestowanie multifunkcjonalnego systemu bioczułnikowego do efektywnej diagnostyki raka płuc, wykazującego jednoczesny potencjał terapeutyczny. System ten oparty jest o wykrywanie, występujących w komórkach nowotworowych specyficznych cząsteczek RNA – onkomiRNA, które wykazują działanie stymulujące progresję i inwazję nowotworów płuc, np. miRNA-20a oraz miRNA-661.

W tym celu, do wyżej wymienionych oncomiRNA, zaprojektujemy dwie komplementarne sondy oligonukleotydowe (**AntagomiR Molecular Beacon, ARMB**), znakowane na jednym końcu barwnikiem fluorescencyjnym, a na drugim wygaszaczem. W wyniku hybrydyzacji komplementarnych nukleotydów sondy oraz celowanego onkomiRNA, pętla otwiera się i wygaszany dotychczas fluorofor oddala się od wygaszacza, powodując wzrost sygnału fluorescencyjnego. Obie sondy zawierają różne fluorofory, których spektrum emisji nie pokrywa się ze sobą, więc jako jeden system bioczułnikowy umożliwiają one pomiary intensywności sygnałów pochodzących od obu onkomiRNA niezależnie. Wprowadza to nowy, multifunkcyjny wymiar badań, ponieważ jeden miRNA odpowiada za wzrost ekspresji białka PD-L1 w komórkach nowotworów płuc, drugi zaś jest biomarkerem zmian prometastatycznych nowotworów i jego obecność może wskazywać na zwiększoną inwazyjność i agresywność nowotworu. Tak skonstruowany system pozwala na jednoczesne monitorowanie zmian ekspresji kluczowego białka PD-L1, które umożliwia komórkom nowotworowym wymykać się spod nadzoru układu immunologicznego, a także śledzenie zmian agresywności badanego nowotworu i potencjału do przerzutowania. Przygotowana platforma bioczułnikowa niesie także wysoki potencjał terapeutyczny. Hybrydyzacja sondy z wybranymi onkomiRNA w komórkach raka płuc może hamować aktywność biologiczną takich onkomiRNA, potencjalnie przyczyniając się do wygaszenia ich aktywności biologicznej, skutkiem czego mogłoby być np. osłabienie ekspresji PD-L1 lub zmniejszenia ekspresji białek odpowiedzialnych za zjawisko przejścia epitelialno-mezenchymalnego (EMT), które ma kluczowy wpływ na proces powstawania przerzutów. Takie podejście jest szczególnie ciekawe w kontekście często występującej niewrażliwości na leczenie biologiczne oraz pogłębi wiedzę w tematyce onkogenicznych procesów komórkowych, co może mieć ścisły związek ze stężeniem onkomiRNA w komórkach nowotworowych płuc. W tym celu, oprócz standardowo stosowanych metod spektroskopii fluorescencyjnej i fluorescencyjnej mikroskopii konfokalnej, zastosujemy komórkowe testy funkcjonalne oraz automatyczną kapilarną elektroforezę białek, co pozwoli na wgląd w zmiany molekularne zachodzące w wyniku działania sondy ARMB w komórkach. Przygotowane biosensory sprawdzimy pod kątem specyficzności na syntetyzowanych oligonukleotydach, lizatach komórkowych oraz w hodowlach komórkowych zdrowej linii pęcherzyków płucnych i liniach nowotworowych.