

## **Identyfikacja i badanie funkcji izoform wybranych białek powstałych na skutek zmiany składu mRNA przez zmutowany gen *TP53* w nowotworach człowieka**

Promotor : dr hab. Dawid Walerych

Promotor pomocniczy: dr Magdalena Oroń

Źródło finansowania: grant NCN Sonata 17 „Identyfikacja i terapeutyczne wykorzystanie mechanizmów zmiany składu mRNA przez zmutowany gen *TP53* w nowotworach człowieka”

**Projekt doktorancki stanowi część projektu, którego celem jest zbadanie mechanizmu regulacji alternatywnego splicingu mRNA przez zmutowany gen *TP53* w wybranych nowotworach człowieka, identyfikacja i badanie funkcji izoform wybranych białek, a następnie wykorzystanie tej wiedzy do zaprojektowania i przetestowania nowych kombinacji leków.**

Gen *TP53*, kodujący białko p53, jest jednym z kluczowych genów w procesie nowotworzenia. Jego podstawową funkcją jest zapobieganie nowotworom. Mutacje zmiany sensu, które występują u ok. 30% pacjentów, powodują takie zmiany w białku p53, że nie tylko traci ono funkcje supresorowe, ale też uzyskuje nowe właściwości przyspieszające rozwój nowotworów, tzw. mutacje „gain-of-function”. Najnowsze badania wykorzystujące wysokoprzepustowe metody sekwencjonowania RNA (RNA-Seq) i mikromacierze wskazują, że zmutowane formy p53 są zaangażowane m.in. w alternatywny splicing mRNA – proces umożliwiający powstawanie różnych izoform białka z tego samego genu. Jako pierwsi opublikowaliśmy wyniki wykazujące, że zmutowane p53 wpływa na alternatywny splicing w raku piersi. Odkrycie to zostało poparte pracami innego zespołu, pokazującymi rolę zmutowanego p53 w regulacji splicingu w raku trzustki.

W proponowanym projekcie zostanie przeprowadzone sekwencjonowanie całkowitego RNA w liniach komórkowych raka płuca, jelita, trzustki oraz głowy i szyi posiadających mutację w *TP53*, po wyciszeniu tego genu metodą CRISPR-Cas9. Za pomocą narzędzi bioinformatycznych wszystkie dane zostaną nałożone tak, aby wskazać geny, których mRNA podlegają alternatywnemu splicingowi we wszystkich bądź w kilku typach badanych nowotworów. Uzyskane wyniki zostaną potwierdzone z wykorzystaniem linii komórkowych oraz tkanek pobranych od pacjentów, poprzez porównanie poziomu ekspresji alternatywnych mRNA w tkance normalnej i nowotworowej. Następnie zostanie przeprowadzona analiza tych genów pod kątem szlaków molekularnych i procesów biologicznych, w które będą zaangażowane. Wybrane geny zaangażowane w procesy ważne w onkogenezie i wspólne dla wszystkich badanych nowotworów zostaną zbadane pod kątem funkcji pełnionych przez poszczególne izoformy kodowanych przez nie białek. Wyniki tych badań, w połączeniu z prowadzonymi równoległe badaniami mechanizmu kontroli splicingu przez zmutowane p53, zostaną wykorzystane do zaprojektowania i przetestowania *in vitro* na liniach komórkowych i organoidach nowych metod terapii.

### **Wymagania dla kandydata:**

- stopień magistra nauk biologicznych/medycznych/farmaceutycznych lub pokrewnych
- doświadczenie w pracy laboratoryjnej w zakresie biochemii, biologii molekularnej lub hodowli komórek
- mile widziana znajomość narzędzi bioinformatycznych do analizy danych RNA-seq
- umiejętność pracy indywidualnej i zespołowej
- bardzo dobra znajomość języka angielskiego pozwalająca na efektywną komunikację i udział w międzynarodowych konferencjach naukowych oraz przygotowywaniu publikacji naukowych

### **Opis zadań:**

- prowadzenie badań naukowych z wykorzystaniem hodowli komórkowych, w tym: wykonywanie analiz biochemicznych (Western Blot, qPCR, testy migracji, testy żywotności), mikroskopia konfokalna
- opracowywanie wyników badań, analizy statystyczne,
- przygotowywanie sprawozdań i publikacji naukowych,
- prezentacja wyników badań podczas konferencji międzynarodowych

**Warunki zatrudnienia:** Osoba zakwalifikowana do realizacji projektu zostaje przyjęta do Szkoły Doktorskiej Medycyny Translacyjnej. W celu kwalifikacji do projektu, należy przesłać CV na adres moron@imdik.pan.pl, (dr Magdalena Oroń, Pracownia Multiomiki Chorób Człowieka) w terminie do 22 czerwca 2022.