

Rola 5-hydroksymetylouracylu w rozwoju przewlekłej białaczki limfocytowej

Cel projektu:

Celem niniejszego projektu jest wyjaśnienie roli 5-hydroksyuracylu, jednej z najbardziej enigmatycznych modyfikacji w ludzkim materiale genetycznym. Przypuszczamy, że 5-hydroksymetylouracyl (hmU) jest epigenetyczną modyfikacją DNA, bezpośrednio zaangażowaną w regulację ekspresji genów, a także stanowi istotny czynnik i/lub biomarker rozwoju przewlekłych białaczek limfocytowych (CLL). W szczególności planujemy opracować nowe narzędzia badawcze do profilowania hmU oraz ustalić, w jaki sposób hmU wpływa na rozwój przewlekłej białaczki limfocytowej.

Opis badań: Zamierzamy przeprowadzić szereg analiz i eksperymentów na materiale klinicznym pochodzących od osób cierpiących na przewlekłą białaczkę limfocytową, wykorzystując jedne z najbardziej zaawansowanych technik badawczych obejmujących m.in.: dwuwymiarową, ustrasprawną chromatografię cieczową z tandemową detekcją mas, pośrednią i bezpośrednią cystometrię przepływową, technikę ilościowej PCR w czasie rzeczywistym (qRT-PCR), sekwencjonowanie DNA. Zaplanowane badania pozwolą na: i) opracowanie narzędzi umożliwiających oznaczenia nie tylko poziomu genomu, ale także na poziomie poszczególnych komórek (analiza single-cell-resolution) i w poszczególnych regionach DNA (techniki MoDIP-MS i CHIP-MS), ii) określenie roli hmU w rozwoju przewlekłych białaczek limfocytowych. W szczególności zaproponowane badania umożliwią poznanie specyficznego fenotypu i genotypu komórek CLL, które charakteryzują się niezwykle wysoką zawartością hmU. Niezwykle istotnym aspektem prowadzonych badań jest ustalenie, czy poziom hmU i jego dystrybucja w genomie pozwala na odróżnienie tych pacjentów z monoklonalną limfocytozą komórek B (MBL) u których istnieje największe ryzyko rozwoju CLL.

Powody podjęcia tej tematyki badawczej: 5-hydroksymetylouracyl to jedna z najbardziej enigmatycznych modyfikacji w ludzkim DNA. Jego źródła, genomowa lokalizacja, jak i mechanizmy wprowadzania i usuwania są jak dotąd słabo poznane. Dotychczasowe badania wskazują, iż hmU ma wszelkie cechy modyfikacji o znaczeniu epigenetycznym, jednakże jego rola i udział w poszczególnych procesach takich jak regulacja ekspresji genów, czy remodelowanie chromatyny pozostają niejasne. Uzyskane przez nasz zespół wyniki wstępne wskazują na bezprecedensowy, około 10-cio krotny wzrost tej modyfikacji DNA u pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytową, która stanowi około 30% wszystkich białaczek, a zaburzenia metylacji DNA są charakterystyczne dla tej jednostki chorobowej. Co ciekawe, w innych nowotworach hematologicznych nie zaobserwowaliśmy znaczących zmian w poziomach hmU, natomiast obserwowaliśmy znaczące spadki w poziomach innych epigenetycznych modyfikacji DNA, takich jak 5-hydroksymetylocytozyna. Wskazuje to na potencjalny udział hmU w rozwoju CLL.

Spodziewane efekty: Zaproponowane badania umożliwią określenie funkcji hmU w ludzkim genomie i jego roli w rozwoju przewlekłej białaczki limfocytowej. Niniejszy projekt umożliwi także nawiązanie współpracy międzynarodowej z wiodącym ośrodkiem naukowym. Ponadto, prowadzone badania w znaczący sposób wpłyną na lokalny poziom opieki nad pacjentami cierpiącymi na przewlekłą białaczkę limfocytową, oferując najnowsze narzędzia diagnostyczne, które nie są rutynowo stosowane w praktyce klinicznej, takie jak: badanie statusu mutacji, ocenę klonalności, czy rozszerzone fenotypowanie.