

Scharakteryzowanie wpływu hamowania funkcji białek opiekuńczych HSPA, ze szczególnym uwzględnieniem białka HSPA2, na wybrane cechy fenotypowe komórek niedrobnokomórkowego raka płuca

Słowa kluczowe: białka szoku termicznego, HSP70, HSPA1, HSPA2, niedrobnokomórkowy rak płuca, chemiooporność

Białka szoku cieplnego (HSP; ang. *heat shock proteins*) należą do grupy białek opiekuńczych (czaperonów) odpowiadających za utrzymanie proteostazy komórkowej w warunkach fizjologicznych oraz stresowych. Białka te wchodząc w interakcje z innymi białkami komórkowymi będącymi ich klientami uczestniczą m.in. w fałdowaniu białek syntezowanych *de novo*, a w warunkach stresowych zapobiegają tworzeniu się agregatów białkowych oraz kierują nieodwracalnie uszkodzone białka do degradacji. Liczne dane uzyskane na modelach *in vitro* i *in vivo* wskazują, że HSP sprzyjają nowotworzeniu oraz podtrzymują agresywny fenotyp komórek nowotworowych.

Białka HSP podzielono na kilka rodzin biorąc pod uwagę ich funkcje oraz masę molekularną. Najliczniejszą stanowi rodzina HSPA (HSP70) grupująca czaperony o masie ok. 70 kDa, które wykazują bardzo wysoką homologię sekwencji aminokwasowej. Wśród przedstawicieli tej rodziny znajdują się białka syntezowane powszechnie i konstytutywnie; inne tzw. indukowalne HSPA (np. HSPA1) są aktywowane w odpowiedzi na stres, a niektóre cechują się komórkowo-swoistą ekspresją (np. HSPA2). Białko HSPA2 przez wiele lat uznawano za swoiste dla komórek spermatogenicznych o kluczowym znaczeniu dla procesu spermatogenezy. Późniejsze badania wykazały, że HSPA2 jest syntezowane również w wybranych populacjach komórek somatycznych (m.in. w nabłonku oskrzeli), a także w rozmaitych komórkach nowotworowych. Znaczenie białka HSPA2 dla biologii komórek somatycznych pozostaje bardzo słabo poznane, natomiast w piśmiennictwie naukowym postuluje się, że HSPA2 jest istotne dla zachowania wysokiego potencjału wzrostowego i agresywności komórek nowotworów różnego pochodzenia histologicznego.

Pomimo wielu lat intensywnych badań nadal nie ma jasności, czy oraz w jakim stopniu wysoce homologiczne białka rodziny HSPA wykazują selektywność w oddziaływaniach z białkami-klientami, czy też zestaw ich klientów jest identyczny. Należy zauważyć, że właśnie takie selektywne interakcje poszczególnych HSPA z klientami (lub grupą klientów) mogą leżeć u podstaw ich zróżnicowanego wpływu na fenotyp komórek. Selektywność oddziaływań

poszczególnych HSPA z klientami potwierdza część danych literaturowych pokazujących, że skutkiem niedoboru białka HSPA1 lub HSPA2 są radykalne zmiany fenotypu komórek nowotworowych. Dane pokazujące odmienną korelację pomiędzy czasem przeżycia chorych a poziomem białek HSPA1 i HSPA2 w guzach niedrobnokomórkowego raka płuca (NDRP) także sugerują zróżnicowanie funkcjonalne zachodzące pomiędzy tymi białkami. Biorąc pod uwagę powyższe, głównym celem niniejszej pracy doktorskiej było zbadanie, czy wybrane białka HSPA, a w szczególności białko HSPA2, mogą w sposób zróżnicowany modulować wybrane cechy fenotypu komórek NDRP oraz prawidłowego nabłonka oskrzeli.

Posługując się zweryfikowanymi metodami badawczymi, które pozwoliły na selektywną inhibicję ekspresji genów kodujących białka HSPA2 oraz HSPA1 a także gwarantowały ich swoistą immunodetekcję wykazałem, że badane białka nie mają znaczącego wpływu na wzrost komórek NDRP. Dopiero hamowanie aktywności grupy homologicznych białek HSPA przy użyciu chemicznych inhibitorów skutkowało zahamowaniem wzrostu tych komórek. Co ważne, łączna aktywność białek rodziny HSPA może zmieniać chemiowrażliwość komórek NDRP na niektóre leki przeciwnowotworowe. Ważnym wynikiem mojej pracy jest wykazanie, że białko HSPA2 moduluje fenotyp komórek nienowotworowych wywodzących się z nabłonka oskrzeli.

Otrzymane przeze mnie wyniki sugerują, że w komórkach nowotworowych, białka rodziny HSPA wykazują bardzo wysoki stopień funkcjonalnej redundancji. Efekty niedoboru białka HSPA2 ujawniły się jedynie w unieśmiertelnianych komórkach nabłonka oskrzeli. Natomiast w komórkach nowotworowych jego aktywność była w pełni zastępowalna przez pozostałe białka z rodziny HSPA. W oparciu o moje wyniki, można również postulować, że grupa białek HSPA jest atrakcyjnym celem molekularnym dla nowych leków przeciwnowotworowych. Dalsze badania przedkliniczne powinny być nakierowane na znalezieniu selektywnego inhibitora tej grupy białek.