

Identyfikacja produktów genów *ZDHHC* w komórkach hematopoetycznych oraz w komórkach nowotworowych pochodzenia hematopoetycznego i nabłonkowego. Wpływ białek DHHC na cykl komórkowy komórek erytroidalnych

STRESZCZENIE

Współczesna literatura wskazuje na to, że palmitoilotransferazy należące do rodziny białek DHHC są niezmiernie istotne dla poprawnej funkcji komórek, ponieważ są to enzymy katalizujące palmitoilację - jedną z najpowszechniejszych posttranslacyjnych modyfikacji białek poprzez lipid. Wykazano, że mutacje w genach kodujących niektóre palmitoilotransferazy DHHC, które znoszą ich aktywność enzymatyczną, są przyczyną wielu poważnych anomalii. Mutacje te są związane zarówno z zaburzeniami psychicznymi takimi, jak niedorozwój umysłowy (DHHC9, DHHC15), choroba Huntingtona (DHHC17), schizofrenia i choroba afektywna dwubiegunowa (DHHC8), jak i z procesem kancerogenezy o różnej etiologii i umiejscowieniu ogniska pierwotnego (DHHC2, DHHC9, DHHC11, DHHC17). Do dziś szczątkowe pozostają jednak informacje o tym, jakie skutki mogą powodować mutacje w genach kodujących takie palmitoilotransferazy, jak DHHC1, DHHC4, DHHC6, DHHC16, DHHC18, DHHC19, DHHC20, DHHC22, DHHC23, czy DHHC24.

Zgodnie z danymi piśmiennictwa, jak do tej pory nie oznaczono, które z ludzkich genów palmitoilotransferaz ulegają ekspresji w komórkach z poszczególnych etapów erytropoezy. Szczątkowe są również dane na temat ekspresji genów tych enzymów w komórkach innych typów. W związku z tym skonstruowano nową bibliotekę oligonukleotydowych starterów zapewniających selektywną amplifikację nie tylko transkryptów poszczególnych genów *ZDHHC*, ale również wszystkich („aktywnych”) izoform tych genów. Ponadto, dobrano system detekcji produktów genów kontrolnych o stale niskim oraz stale wysokim poziomie ekspresji w komórce oraz system swoistej detekcji w określonej populacji komórek hematopoetycznych zanieczyszczeń komórkami innymi niż oczekiwane w efekcie danej izolacji. Doświadczenia prowadzone w niniejszej pracy wykazują przede wszystkim, które z genów *ZDHHC* ulegają ekspresji w ludzkich komórkach linii erytroidalnej. W toku badań ustalono także, że jedynym erytrocytarnym białkiem należącym do rodziny DHHC jest palmitoilotransferaza DHHC17. Wykazano ponadto, że wśród komórek

hematopoetycznych enzym ten występuje jedynie w komórkach erytroidalnych oraz płytkach krwi, które podczas hematopoezy różnicują się ze wspólnej komórki prekursorowej MEP (progenitor megakariocytowo-erytrocytowy, ang. megakaryocyte/erythrocyte progenitor).

Na uwagę zasługuje także fakt, że komórki w których, za pomocą specyficznej sekwencji wyciszającej (DNAzymu), obniżono poziom ekspresji genów należących do rodziny *ZDHHC*, charakteryzują się zaburzeniem normalnego rozkładu faz cyklu komórkowego. Pod względem morfologicznym komórki te charakteryzują się zwiększeniem średnicy w stosunku do komórek kontrolnych. Ponadto w toku badań wykazano, że komórki poddane transfekcji DNAzymem wykazują mniejsze tempo proliferacji w porównaniu z komórkami kontrolnymi.

Kolejnym zadaniem niniejszego projektu była detekcja transkryptów poszczególnych genów *ZDHHC* w różnorodnych, innych niż erytroidalne, komórkach hematopoetycznych, co pozwoliło wnioskować, które z genów *ZDHHC* ulegają w nich ekspresji. Przeprowadzono także analizę ekspresji genów kodujących poszczególne palmitoilotransferazy w komórkach wybranych ludzkich linii nowotworowych wywodzących się ze wszystkich trzech listków zarodkowych. Zatem, w wyniku tych badań uzyskano jakościowe „profile” badanych enzymów DHHC w komórkach wielu różnych typów.

Biorąc pod uwagę dostępne w literaturze informacje na temat związku defektów genów kodujących enzymy DHHC z różnorodnymi stanami patologicznymi, ich detekcja może okazać się kluczową w poznaniu molekularnych podstaw niektórych schorzeń, a co za tym idzie, do postępu w terapii chorób z nimi związanych.