

Elżbieta Anna Sarnowska

AUTOREFERAT

Rola podjednostek kompleksu remodelującego chromatynę typu SWI/SNF w rozwoju, homeostazie hormonalnej i metabolicznej u organizmów wyższych oraz w procesie nowotworzenia.

1. Imię i nazwisko Elżbieta Anna Sarnowska

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania – oraz tytuł rozprawy doktorskiej:

12.10. 2006 – doktor nauk medycznych, Centrum Onkologii Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie Warszawa. Tytuł rozprawy doktorskiej „Identyfikacja i charakterystyka czynnika białkowego Hax-1 oddziałującego z fragmentem 3'UTR transkryptu szczurzej polimerazy DNAβ” (rozprawa wyróżniona). Promotor w przewodzie doktorskim prof. dr hab. n. med. Janusz Siedlecki.

23.07. 2003 – magister inżynier, w zakresie biotechnologia molekularna i biokataliza, Wydział Chemiczny Politechniki Wrocławskiej kierunku biotechnologia. Promotor prof. dr hab. n. med. Janusz Siedlecki

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

2006- obecnie – adiunkt w Zakładzie Onkologii Molekularnej i Translacyjnej w Centrum Onkologii w Warszawie

06.2008- 08.2010 – staż badawczy w Instytucie im. Maxa Plancka w Kolonii

01.08.2003- 2006 – asystent w Zakładzie Biologii Molekularnej Centrum Onkologii w Warszawie

4. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

a) tytuł osiągnięcia naukowego

Cykl publikacji monotematycznych pt.: „ **Rola podjednostek kompleksu remodelującego chromatynę typu SWI/SNF w rozwoju, homeostazie hormonalnej i metabolicznej u organizmów wyższych oraz w procesie nowotworzenia**”.

b) publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego/artystycznego (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa)

1. Elżbieta Sarnowska, Michał Szymanski, Natalia Rusetska, Marcin Ligaj, Iga Jancewicz, Paweł Cwiek, Marta Skrodzka, Marcin Leszczynski, Joanna Szarkowska, Alicja Chrzan,

Malgorzata Stachowiak, Jaroslaw Steciuk, Anna Maassen, Lech Galek, Tomasz Demkow, Janusz A. Siedlecki, Tomasz J. Sarnowski (2017) Evaluation of the Role of Downregulation of SNF5/INI1 Core Subunit of SWI/SNF Complex in Clear Cell Renal Cell Carcinoma Development. *Am J Cancer Res* 7(11):2275-2289.

2. Sarnowska E, Gratkowska DM, Sacharowski SP, Cwiek P, Tohge T, Fernie AR, Siedlecki JA, Koncz C, Sarnowski TJ (2016) The Role of SWI/SNF Chromatin Remodeling Complexes in Hormone Crosstalk. *Trends Plant Sci.*;21(7)

3. Sacharowski SP, Gratkowska DM, **Sarnowska EA**, Kondrak P, Jancewicz I, Porri A, Bucior E, Rolicka AT, Franzen R, Kowalczyk J, Pawlikowska K, Huettel B, Torti S, Schmelzer E, Coupland G, Jerzmanowski A, Koncz C, Sarnowski TJ. (2015) SWP73 Subunits of Arabidopsis SWI/SNF Chromatin Remodeling Complexes Play Distinct Roles in Leaf and Flower Development. *Plant Cell.* 27(7):1889-906.

4. Sarnowska EA, Rolicka AT, Bucior E, Cwiek P, Tohge T, Fernie AR, Jikumaru Y, Kamiya Y, Franzen R, Schmelzer E, Porri A, Sacharowski S, Gratkowska DM, Zugaj DL, Taff A, Zalewska A, Archacki R, Davis SJ, Coupland G, Koncz C, Jerzmanowski A, Sarnowski TJ. (2013) DELLA-interacting SWI3C core subunit of switch/sucrose nonfermenting chromatin remodeling complex modulates gibberellin responses and hormonal cross talk in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 163(1):305-17.

5. Archacki R, Buszewicz D, Sarnowski TJ, **Sarnowska E**, Rolicka AT, Tohge T, Fernie AR, Jikumaru Y, Kotlinski M, Iwanicka-Nowicka R, Kalisiak K, Patryn J, Halibart-Puzio J, Kamiya Y, Davis SJ, Koblowska MK, Jerzmanowski A. (2013) BRAHMA ATPase of the SWI/SNF chromatin remodeling complex acts as a positive regulator of gibberellin-mediated responses in arabidopsis. *PLoS One.* 8(3):e58588. doi: 10.1371/journal.pone.0058588.

c) omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania:

Wstęp:

DNA znajdujący się w jądrze komórki eukariotycznej jest upakowany wraz z białkami histonowymi w chromatynie, kompleksie nukleoproteinowym, który umożliwia

przechowywanie znacznych ilości genomowego DNA na względnie małej przestrzeni. W związku z takim sposobem upakowania czynniki regulatorowe i transkrypcyjne mają w znacznym stopniu ograniczony dostęp do sekwencji docelowych znajdujących się w DNA. Aby udostępnić materiał genetyczny komórka eukariotyczna wykształciła różnorodne mechanizmy kontrolujące dostęp do DNA. Jednym z najważniejszych sposobów udostępniania chromatyny jest proces zwany remodelingiem chromatyny dokonywany przez maszynę wielobiałkową. Ich zadaniem jest rozluźnienie lub zamknięcie struktury chromatyny a co za tym idzie, precyzyjna kontrola dostępu czynników regulatorowych do odpowiednich sekwencji docelowych znajdujących się w DNA. Jedną z maszyn remodulujących chromatynę jest wielobiałkowy kompleks typu SWI/SNF. Wykorzystuje on energię pochodzącą z hydrolizy ATP do przebudowy chromatyny. Kompleks ten został opisany po raz pierwszy u drożdży, jako kompleks zaangażowany w metabolizm glukozy oraz zmianę typu koniugacyjnego u drożdży piekarskich *Saccharomyces cerevisiae*. Jest on zachowany w ewolucji u wszystkich Eukariota, począwszy od drożdży, muszki owocowej, ludzi oraz roślin wyższych (Tab.1.). **Co ciekawe, drożdżowy kompleks typu SWI/SNF wydaje się być raczej uproszczonym prototypem jego odpowiedników u organizmów wyższych, natomiast właściwym odpowiednikiem ludzkiego kompleksu typu SWI/SNF jest kompleks występujący u rośliny *Arabidopsis thaliana* (Rzodkiewnika pospolitego).** Klasyczny kompleks SWI/SNF zbudowany jest z kilkunastu podjednostek, przy czym 4 podjednostki [u człowieka BRG1 lub BRM (ATPazy- centralny motor, dostarczający energię z hydrolizy ATP), INI1 (SNF5) oraz BAF155 i BAF170 (SWI3)] tworzą tzw. rdzeń kompleksu, zdolny przebudowywać chromatynę *in vitro*.

Tab.1. Skład podjednostkowy kompleksu typu SWI/SNF u różnych organizmów Sarnowska i in. 2016 zmodyfikowane.

	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Drożdże	<i>Homo sapiens</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
ATPaza	Swi2/Snf2	hBRM (<i>SMARCA2</i>) BRG1(<i>SMARCA4</i>)	Brahma	BRM, SYD, CHR12/MINU1, CHR23/MINU2

SWI3	Swi3	BAF155 (<i>SMARCC1</i>) BAF170 (<i>SMARCC2</i>)	Moira/BAP155	SWI3A,B,C,D
SNF5	Snf5	hSNF5/BAF47 /INI1 (<i>SMARCB1</i>)	SNR1/BAP45	B5H
SWI1	Swi1/Adr6	BAF250a (<i>ARID1A</i>) BAF250b (<i>ARID1B</i>)	OSA	?
Polybromo	---	BAF180/PBRM1	Polybromo/BA P180, BAP170	?
SWP73	Swp73	BAF60a (<i>SMARCD1</i>) BAF60b (<i>SMARCD2</i>) BAF60c (<i>SMARCD3</i>)	BAP60	SWP73A,B
---	---	BAF57 (<i>SMARCE1</i>) BAF200 (<i>ARID2</i>)	BAP111	? ?
Aktyna	---	B- actin	Actin/BAP47	
Białka pochodne aktyny	Arp7, Arp9	BAF53A/ACTL6A BAF53B/ACTL6B	BAP55	ARP4, ARP7

Białka specyficzne dla drożdży	Swp82			
	Snf6			
	Snf11	---	---	---
	Taf14			
Białka, które nie występują u drożdży	---	SS18/SYT		AN/GIF
		BRD9		BRD
		BCL7A; BCL7B; BCL7C		BCL7B
		GLTSCR1		GLTSCR
				LFR
				G2481-1
				LUH
				Dentin-sialophospho
		BAF45A;BAF45B; BAF45C; BAF45D		?
		BCL11		?
	BRD7		BRD	

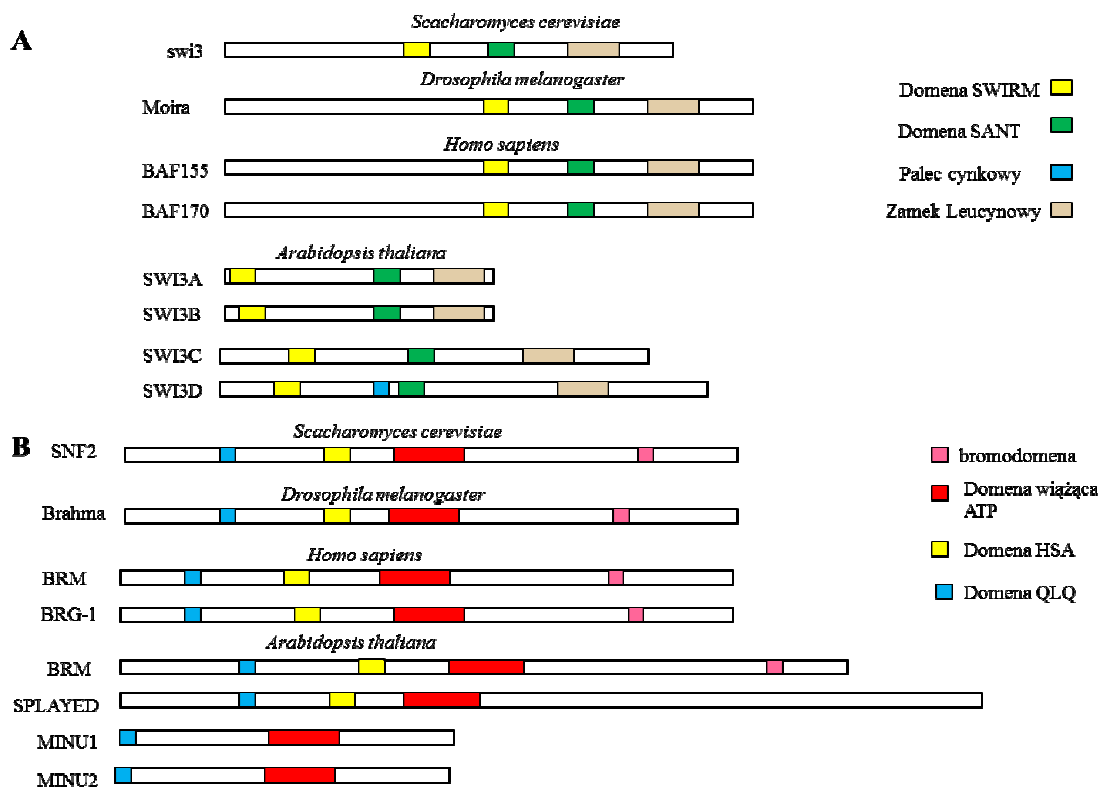
Kompleks SWI/SNF jest zaangażowany w proces różnicowania, proliferację i wzrost komórek, odpowiedź na hormony, embriogenezę, adhezję, regulacje cyklu komórkowego oraz regulacje epigenetyczne. Ponadto, geny kodujące podjednostki tego kompleksu są często zmutowanymi genami w wielu typach nowotworów [Masliah-Planchon i wsp. 2014]. Przykłady nowotworów, w których mutacji ulega jedna lub więcej podjednostek kompleksu SWI/SNF zebrano w Tabeli 2.

Tab. 2. Niektóre nowotwory z inaktywacją poszczególnych podjednostek kompleksu SWI/SNF.

podjednostka kompleksu	nowotwór	referencje
SMARCB1/INI1/BAF47	Nowotwór rabdoidalny u dzieci ; Oponiak; mięsak epithelioidny; chrzęstniak; rak rdzeniasty nerki;	Versteeg i wsp. 1998; Schimitz i wsp. 2001; Hornic i wsp. 2009; Mobley i wsp. 2010; Calderaro i wsp. 2012;
SMARCA2/BRM SMARCA4/BRG1	Drobnokomórkowy rak jajnika; rak płuc;	Jelinic i wsp. 2016; Marquez-Vilendrer i wsp. 2016;
ARID1A/BAF250a ARID1B/BAF250b	Rak jasnokomórkowy jajnika; rak endometrialny jajnika; rak trzustki; rak pęcherza	Bitler i wsp. 2015; Miller i wsp. 2016; Santen i wsp. 2014;
PBMR/BAF180	Rak nerki;	Ho i wsp. 2015;
SS18/SYT	Synovial sarcoma;	Ren i wsp. 2013;

Badanie funkcji tego kompleksu u człowieka jest w znacznym stopniu utrudnione, gdyż nie opisano jak dotąd mutacji homozygotycznych u ludzi, natomiast u myszy mutacje homozygotyczne w genach kodujących podjednostki kompleksu SWI/SNF powodują letalność na wczesnych stadiach embriogenezy lub w stadium preimplantacyjnym. W związku z tym, że u *Arabidopsis thaliana* (rośliny) zidentyfikowano żywotne rośliny niosące mutacje w genach kodujących następujące podjednostki BRM, SYD (ATPazy) SWI3C, SWI3D oraz SWP73 stanowią one atrakcyjny i aktualnie jedyny dostępny model badawczy pozwalający na badanie funkcji tych kompleksów *in vivo*. W związku z tym, we współpracy z Instytutem Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie oraz Instytutami Maxa Plancka w Kolonii i Gólm wykorzystałam ten model w badaniach nad funkcją i mechanizmem działania kompleksu SWI/SNF. Następnie, dane uzyskane podczas badania funkcji/mechanizmu działania kompleksu SWI/SNF u roślin wykorzystałam jako podstawę do badań nad rolą tego kompleksu w procesie nowotworzenia.

W pracy zatytułowanej „The Role of SWI/SNF Chromatin Remodeling Complexes in Hormone Crosstalk” (nr 2) opublikowanej w opiniotwórczym czasopiśmie Trends in Plant Science podsumowana została dotychczasowa wiedza na temat kompleksów remodelujących chromatynę typu SWI/SNF w różnych organizmach. **W pracy tej wykazano, że ludzkie kompleksy SWI/SNF są o wiele bardziej podobne do ich roślinnych odpowiedników niż jak wcześniej sądzono do ich drożdżowych prototypów.** Wykazano także, że drożdżowe kompleksy SWI/SNF mają bardzo uproszczoną budowę i skład podjednostkowy w stosunku do kompleksów zidentyfikowanych u wyższych eukariontów. Kompleksy te są w wysokim stopniu zachowane w ewolucji nie tylko jeżeli chodzi o ich skład podjednostkowy ale również zachowana jest homologia sekwencji aminokwasowej oraz układ domen w poszczególnych



podjednostkach wchodzących w skład tzw. rdzenia remodelującego chromatynę u drożdży, muszki owocowej, roślin i człowieka (Rys.1.).

Rys.1. Charakterystyczny układ domen w białkach typu SWI3 u drożdży, muszki owocowej, człowieka i Arabidopsis (A). Układ domen w białkach o aktywności ATPazy będącymi główną podjednostką rdzenia kompleksu remodelującego chromatynę typu SWI/SNF (B).

Rdzeń kompleksu SWI/SNF ma zawsze w ściśle określonej budowę. Składa się on z jednej podjednostki posiadającej aktywność ATPazową- w przypadku człowieka to BRG1

lub BRM, oraz dwóch podjednostek typu SWI3 - u człowieka to białka BAF155 i BAF170 i jednej podjednostki typu SNF5 (białko INI1 u człowieka). Utratę INI1 obserwuje się w różnych typach nowotworów np. niektórych typach mięsaka, a szczególnie w nowotworze rabdoidalnym (MRT ang. Malignant Rhabdoid Tumor) u dzieci. Badania genetyczne pozwoliły na stwierdzenie, że przyczyną MRT u dzieci jest bialleliczna utrata genu *SMARCB1*, kodującego białko INI1. Co ciekawe, w większości opisanych przypadków uszkodzony allel *SMARCB1* był wynikiem mutacji germinalnych, jednak w niektórych przypadkach rodzic był nosicielem mutacji w genie *SMARCB1*. Nowotwory te mogą mieć różną lokalizację, jednak najczęściej powstają w nerkach. W MRT nie obserwuje się dużych zaburzeń genetycznych, a jednocześnie jest to jeden z najagresywniejszych nowotworów, które jak dotąd zostały opisane.

Nieprawidłowości w funkcjonowaniu kompleksów typu SWI/SNF są również przyczyną zespołu Coffin-Siris (CSS, Coffin -Siris Syndrome) i Nicolaides-Baraitser (NBS, Nicolaides-Baraitser Syndrome). U osób z CSS i NBS wykryto mutacje heterozygotyczne w genach kodujących niektóre podjednostki kompleksu SWI/SNF np. *ARID1A*, *ARID1B*, *SMARCA2*, *SMARCA4*, *SMARCB1* lub *SMARCE1*. CSS i NBS charakteryzują się również występowaniem takich zmian fenotypowych jak np. deformacja paliczków, paznokci, opóźnienie umysłowe, zmiany dysmorficzne twarzy, zaburzenia owłosienia itp. Zespołom tym często towarzyszy padaczka.

U rośliny modelowej *Arabidopsis* osobniki niosące mutacje całkowicie inaktywujące geny kodujące niektóre podjednostki kompleksu SWI/SNF obumierają na wczesnym etapie rozwoju embrionalnego. Tak jest w przypadku genów *SWI3A* i *SWI3B* kodujących podjednostki rdzeniowe typu SWI3. Natomiast osobniki, u których wyłączone są geny kodujące podjednostkę BRM, SYD, SWI3C, SWI3D lub SWP73B charakteryzują się silnymi zmianami fenotypowymi, takimi jak: deformacja liści, karłowatość, bezpłodność, deformacja kwiatów, defekty w na poziomie embrionalnym i zaburzona morfogenezę. Szczegółowe analizy wykazały także, że te mutanty charakteryzują się zaburzeniami w szlakach przekazywania sygnału za pomocą fitohormonów. a suplementacja fitohormonem mutantów *brm* i *swi3c* powodowała częściowe zniesienie charakterystycznych zmian fenotypowych. Analiza rozmieszczenia podjednostek kompleksu SWI/SNF na chromatynie *Arabidopsis* wykazała, że kompleks ten reguluje poziom ekspresji genów, których produkty uczestniczą w biosyntezie fitohormonów jak i w odpowiedzi na hormony.

Podobnie jest u ludzi. Przeprowadzona analiza dostępnych baz danych m.in. bazy ENCODE wykazała, że u człowieka kompleks SWI/SNF również wiąże się do promotorów

genów kodujących enzymy szlaków biosyntezy hormonów sterydowych oraz do promotorów genów odpowiedzi na hormony m. in. estrogeny, insulinę, androgeny. U dzieci z syndromem Nicolaides-Baraitser (NBS) opisano obniżenie poziomu hormonu wzrostu a suplementacja tym hormonem analogicznie, jak to było obserwowane u roślin, poprawiała stan kliniczny pacjenta. Obserwacje te potwierdzają zachowany w ewolucji związek kompleksu SWI/SNF z utrzymaniem równowagi hormonalnej zarówno u roślin jak i u człowieka, czyli najbardziej rozwiniętych przedstawicieli dwóch Królestw. Wskazuje to, że remodeling chromatyny dokonywany przez kompleksy SWI/SNF jest najbardziej optymalnym i jednym z najpierwotniejszych mechanizmów kontroli ekspresji genów eukariotycznych.

W pracy nr 2 zebrano i opracowano na podstawie dostępnych danych modele działania kompleksu SWI/SNF. Modele te stworzono bazując na danych uzyskanych z prac omawiających kontrolę ekspresji genów przez kompleks SWI/SNF u drożdży, muszki owocowej, człowieka i roślin. Jest to pierwsza taka synteza dostępna w literaturze międzynarodowej. Dodatkowo, postulujemy, że mechanizmy te mogą być wykorzystywane w komórkach wszystkich powyżej opisanych organizmów i najprawdopodobniej mechanizmy te mogą funkcjonować równolegle w tej samej komórce.

Warto w tym miejscu wspomnieć, że oryginalne dane transkryptomyczne uzyskane z analiz mutantów niosących insercję T-DNA inaktywującą geny kodujące podjednostki kompleksu SWI/SNF u Arabidopsis posłużyły jako podstawa do wysunięcia wniosków i tez zawartych w tej pracy. Dane te zostały zdeponowane w ogólnodostępnej bazie danych ArrayExpress.

Główny przekaz pracy: kompleks SWI/SNF integruje i utrzymuje homeostazę hormonalną na poziomie komórkowym jak również całego organizmu zarówno w roślinach jak i u człowieka- najbardziej rozwiniętych przedstawicieli dwóch Królestw. **Roślinny kompleks SWI/SNF jest dużo bardziej podobny do ludzkiego niż drożdżowy, którego budowa i skład podjednostkowy jest uproszczony i w których występują podjednostki charakterystyczne wyłącznie dla komórek drożdży.** W pracy tej wykazano, że model roślinny z Arabidopsis niosące mutacje inaktywujące kompleks SWI/SNF może zostać wykorzystany jako atrakcyjny i nowoczesny model do badania pierwotnych, zachowanych ewolucyjnie mechanizmów takich jak: remodeling chromatyny, odpowiedź hormonalna, kontrola metabolizmu czy kontrola cyklu komórkowego oraz mechanizmów epigenetycznych a badania te mogą dostarczyć wartościowych informacji na temat funkcjonowania tych procesów w komórkach ludzkich.

W pracach nr 3, 4 oraz 5 do badań nad funkcją kompleksów SWI/SNF i rolą remodelingu chromatyny użyty został model roślinny. W pracach tych oceniono wpływ inaktywacji rdzeniowych podjednostek kompleksu SWI/SNF (BRM, SWI3C oraz SWP73A i SWP73B) na rozwój, morfogenezę, regulację hormonalną oraz kontrolę cyklu komórkowego.

Wykazano, że kompleks SWI/SNF bierze udział w bezpośredniej regulacji ekspresji genów, których produkty enzymatyczne uczestniczą w biosyntezie fitohormonu – giberelin, oraz receptorów dla tego fitohormonu. Zidentyfikowano oddziaływania podjednostki rdzeniowej kompleksu SWI/SNF - SWI3C będącej homologiem ludzkiej podjednostki BAF155/BAF170, z białkami z rodziny DELLA - roślinnymi represorami transkrypcji oraz białkiem SPY (SPYNDLY), które jest homologiem ludzkiej O-GlcNAc transferazy - OGT. Białko OGT przyłącza reszty O-GlcNAc (N-acetyloglukozaminowej) do reszt treoniny i seryny w białkach docelowych powodując zmianę ich aktywności. Transferaza OGT jest nadaktywna w wielu typach nowotworów. Dodatkowo, nadmierna O-GlcNAcylocja prowadzi do zahamowania autofagii, co uniemożliwia degradację wielkocząsteczkowych struktur cytoplazmy lub organelli. W komórkach roślinnych homolog OGT - białko SPY poprzez oddziaływanie i modyfikacje białek DELLA wzmacnia ich represorową funkcję uczestnicząc w regulacji odpowiedzi hormonalnej. **Badania te stanowiły podstawę do przeprowadzenia analogicznych analiz w komórkach ludzkich, które wykazały, że zależność pomiędzy kompleksami SWI/SNF i transferazami O-GlcNAc zachowana jest w ewolucji i występuje również w komórkach ludzkich.** (Sarnowska, dane w przygotowaniu do publikacji).

Ponadto pokazano również, że brak funkcjonalnego kompleksu SWI/SNF u roślin powoduje obniżenie ekspresji genów kodujących inhibitory cyklu komórkowego i nadmierną proliferację komórek. Dane te są w pełni zgodne z obserwacjami przeprowadzonymi dla komórek ludzkich, gdzie kompleks SWI/SNF również zaangażowany jest w regulację cyklu komórkowego poprzez oddziaływanie z cyklinami – cykliną E jak również poprzez regulację ekspresji inhibitora cyklu komórkowego – białka p21.

Wykazano też, że u *Arabidopsis* kompleks SWI/SNF związany jest także procesem morfogenezy u *Arabidopsis*. Białko SWP73 jest roślinnym homologiem ludzkich białek BAF60, nie rdzeniowych składników kompleksu SWI/SNF. U drożdży *Saccharomyces cerevisiae* występuje jedno białko SWP73, w roślinach – *Arabidopsis* występują dwa białka SWP73A i SWP73B, które mają częściowo redundantne funkcje, natomiast w komórkach ludzkich homologami drożdżowego SWP73 są trzy białka BAF60 a, b i c. U człowieka białka BAF60 są zaangażowane w rozwój mięśni w czasie embriogenezy, oddziałują z receptorem

estrogenów, dodatkowo regulują metabolizm lipidów w komórkach wątroby. U *Arabidopsis* utrata białka SWP73B skutkuje ostrymi zmianami fenotypowymi, takimi jak: karłowatość, zmiana morfologii, bezpłodność, zmiany w strukturze komórek skórki. Natomiast brak białka SWP73A nie powoduje zmian rozwojowych. Mutacja *swp73a*, powoduje natomiast zmiany na poziomie molekularnym, jednak nie są one znaczące z uwagi na plastyczność organizmów. Niezwykle interesujące jest to, że rośliny niosące podwójną mutację *swp73a/swp73b* obumierają, co wskazuje na istotną funkcję podjednostki SWP73A, która ujawnia się dopiero przy braku funkcjonalnej podjednostki SWP73B. Takie obumieranie organizmu określa się mianem syntetycznej letalności.

Główny przekaz prac: Kompleksy SWI/SNF kontrolują tak podstawowe procesy regulacyjne w komórce i organizmie jak sygnalizacja za pomocą hormonów, biosynteza hormonów, metabolizm, cykl komórkowy, rozwój organizmu, proliferacja itp. Istnieją klasy kompleksów SWI/SNF o różnym składzie podjednostkowym, które są odpowiedzialne za kontrolę różnych procesów, jednakże mogą się one do pewnego stopnia zastępować. Natomiast usunięcie kilku klas kompleksów SWI/SNF prowadzi do śmierci organizmu, będącej wynikiem mechanizmu syntetycznej letalności (śmierci indukowanej). Ta część badań wykazała, że **kompleksy SWI/SNF pełnią podobną, zachowaną ewolucyjnie funkcję u człowieka i u roślin.**

W pracy nr 1 zatytułowanej „Evaluation of the Role of Downregulation of SNF5/INI1 Core Subunit of SWI/SNF Complex in Clear Cell Renal Cell Carcinoma” przeprowadzono analizę ilości białka INI1 –rdzeniowej podjednostki typu SNF5 kompleksu SWI/SNF w próbkach klinicznych jasnokomórkowego raka nerki (ccRCC). Zaobserwowaliśmy, że w komórkach raka nerkowokomórkowego ilość białka INI1 zmniejsza się znacząco w porównaniu do komórek kanalików proksymalnych nerek. Spadek ten był niezależny od stopnia złośliwości, wieku pacjenta oraz płci. Dodatkowo, zaobserwowano znaczący spadek ekspresji genu *SMARCB1* kodującego podjednostkę INI1 w komórkach raka w porównaniu do tkanki zdrowej. Analiza danych wielkoskalowych dostępnych w publicznym repozytorium wykazała, że INI1 a tym samym kompleks SWI/SNF kontroluje ekspresję wielu genów, których transkrypcja ulega zaburzeniu w jasnokomórkowym raku nerki. Analiza ontologiczna genów (GO) bezpośrednio regulowanych przez INI1 oraz genów wykazujących nadekspresję w ccRCC wykazała, że należą one do klasy genów związanych głównie z proliferacją, migracją, apoptozą i angiogenezą. Natomiast geny regulowane przez INI1, których ekspresja

była znacząco obniżona w ccRCC należały głównie do klasy genów związanych z różnicowaniem komórek, rozwojem i morfogenezą epitelium oraz odpowiedzią na związki chemiczne. Co ciekawe, wśród genów bezpośrednio regulowanych przez kompleks SWI/SNF, zidentyfikowałam geny kodujące białka CXCR4, CXCR7 oraz CXCL12. Białka te są bezpośrednio zaangażowane w proces przerzutowania. Następnie wykazałam, że wymuszona nadekspresja białka INI1 w komórkach ccRCC (linia A498) powoduje znaczące obniżenie ekspresji tych genów w porównaniu z linią kontrolną.

Główny przekaz pracy: W jasnokomórkowym raku nerki obserwuje się zmniejszony poziom ekspresji podjednostki rdzeniowej kompleksu SWI/SNF – INI1 (SNF5) i zaburzenie ekspresji klas genów związanych m.in. z proliferacją i przerzutowaniem. Może to być jedna z pierwotnych przyczyn powstawania tego typu raka nerki oraz występowania przerzutów.

Dalsze badania i wyniki

W związku z tym, że badania prowadzone na roślinach wykazały, że kompleks SWI/SNF jest zaangażowany w kontrolę metabolizmu do dalszych badań wybrane zostały dwa typy nowotworów, które charakteryzują się rozregulowaniem procesów metabolicznych: jasnokomórkowy rak nerki (ccRCC) oraz potrójnie ujemny rak piersi (TNBC).

Interdyscyplinarne badania prowadzone na dwóch układach modelowych: *Arabidopsis* oraz liniach ludzkich komórek nowotworowych pokazały, że kompleks SWI/SNF uczestniczy w kontroli metabolizmu komórki poprzez oddziaływanie w jądrze komórkowym z głównymi kinazami odpowiedzialnymi za homeostazę metaboliczną komórki – mTOR i AMPK, która jest miernikiem metabolizmu. Hiperaktywacja szlaku mTOR występuje w wielu typach nowotworów m. in. w ccRCC oraz TNBC. Dodatkowo, wyłączenie SWI3C, homologa BAF155 w *Arabidopsis* skutkowało przyspieszeniem glikolizy (m.in. w wyniku obniżenia ekspresji fruktozo 1,6- bisfosfatazy, FBP1) i rozregulowaniem cyklu Krebsa, zaburzeniami w biosyntezie aminokwasów – nadprodukcją aminokwasów, głównie seryny i glutaminy. Przyspieszenie glikolizy oraz rozregulowanie cyklu Krebsa opisywano w ccRCC, natomiast komórki TNBC są zależne od szlaku biosyntezy seryny *de novo* [Kim i wsp. 2014]. Dodatkowo, w linii *Arabidopsis* niosącej mutację *swi3c* obserwuje się nadaktywność szlaku kinazy TOR i zahamowanie szlaku AMPK. Niezwykle interesujące jest to, że mutant ten jest nadwrażliwy na wysoki poziom glukozy i sacharozy w pożywce, co manifestuje się bardzo

skróconym i rozgałęzionym korzeniem w porównaniu do roślin kontrolnych. Natomiast na pożywce bez dodatku sacharozy lub glukozy korzeń tego mutantu przypomina korzeń rośliny dzikiej, co wykazuje iż mamy do czynienia z częściowym odwróceniem fenotypu. Może to świadczyć, że kompleks SWI/SNF jest zaangażowany w utrzymanie homeostazy metabolicznej. **Biorąc pod uwagę silne zachowanie funkcji kompleksów SWI/SNF w ewolucji, obserwacja ta była bardzo poważną przesłanką sugerującą zaangażowanie ludzkiego kompleksu SWI/SNF w kontrolę procesów metabolicznych.**

Analiza ekspresji podjednostek kompleksu SWI/SNF: INI1, BAF155, BAF170 oraz ATPazy BRG1 i BRM w jasnokomórkowym raku nerki wykazała, że w komórkach raka występuje obniżenie ekspresji niektórych podjednostek (BAF155, BRG1 i/lub BRM oraz INI1) zarówno na poziomie mRNA jak i białka. Dodatkowo, obniżenie to nie koreluje ze stopniem zaawansowania klinicznego oraz stopniem złośliwości. Wydaje się więc, że dysfunkcja kompleksu SWI/SNF może być jedną z pierwotnych przyczyn rozwoju ccRCC. Warto też dodać, że gen *SMARCC1* kodujący białko BAF155 leży na krótkim ramieniu chromosomu 3 pomiędzy najczęściej zmutowanymi genami w ccRCC: *VHL*, *BAP1* oraz *PBRM1*. Dodatkowo, w komórkach ccRCC ekspresja genu *FBPI* (fruktozo-1,6- bisfosfatazy) jest wyłączona, co powoduje znaczące przyspieszenie glikolizy, podobnie jak było to obserwowane w przypadku *Arabidopsis* z uszkodzonym kompleksem SWI/SNF. W naszych badaniach wykazaliśmy, że w komórkach A498 ccRCC białko BRM oraz kinaza mTOR wiążą się do promotora genu *FBPI* w tym samym obszarze promotorowym, co może być związane z jego supresją, gdyż kompleksy typu SWI/SNF mogą regulować ekspresję genów zarówno pozytywnie jak i negatywnie. Takie hamowanie ekspresji genów przez kompleks zawierający ATPazę BRM opisano w pracy w *Trends in Plant Science* (nr 2).

Analiza ekspresji ATPazy BRM oraz białka BAF155 w 102 próbkach od pacjentek z rozpoznany TNBC wykazała znacząco obniżoną ekspresję obu tych podjednostek kompleksu w około 10% próbek. U około 20% pacjentów obserwowano natomiast znaczący wzrost ekspresji BRM i BAF155. Ponadto, wykazano, że w linii MDA-MB-231 odpowiadającej potrójnie ujemnemu rakowi piersi, podjednostki te podlegają degradacji w proteasomie. Zastosowanie inhibitora proteasomu MG132 powodowało znaczący wzrost ilości białka BRM i BAF155 w komórkach tego typu raka.

Powyższe dane zostały zaprezentowane na wielu konferencjach krajowych jak i międzynarodowych i są aktualnie przygotowywane do publikacji:

Sarnowska E., Jancewicz I., Rusetska N, Leszczynski M , Pogoda K., Olszewski W., Niwinska A , Nowecki Z, Sarnowski T.J. , Siedlecki JA. The role of SWI/SNF ATP-dependent chromatin remodeling complex in triple negative breast cancer (TNBC) development. IV Kongres Onkologii Polskiej , Łódź 12-15 października 2016

Sarnowska E., Leszczynski M., Rusetska N., Jancewicz I., Szymański M., Gos A. , Chrzan A. , Ligaj M., Demkow T., Siedlecki J.A., Sarnowski T.J. Loss of SWI/SNF core subunits correlates with metabolic switch in clear cell renal cellular carcinoma (ccRCC). IV Kongres Onkologii Polskiej , Łódź 12-15 października 2016

Sarnowska E.*, Cwiek P*, Rolicka A.T., Bucior E., Araújo W.L., Tohge T., Klepacz A., Balcerak A., Macech- Klicka E., Sacharowski S.P., Gratkowska D., Kondrak P., Leszczynski M., Szymanski M., Maassen A., Iga Jancewicz I., Gos A., Myslewicz J., Fernie A.R., Koncz C., Siedlecki J.A., Sarnowski T.J. * equal contribution, „The role of ATP-dependent chromatin remodeling complexes in control of metabolic processes.” 2nd Congress of Polish Biochemistry, Cell biology, Biotechnology and Bioinformatics “Bio2016 – Expanding beyond the limits” Wroclaw, Poland 13-16 September 2016

Jancewicz I, **Sarnowska EA**, Rusetska N, Sarnowski TJ, Siedlecki JA. SWI/SNF remodelling complex promotes triple negative breast cancer progression 2nd Congress of Polish Biochemistry, Cell biology, Biotechnology and Bioinformatics “Bio2016 – Expanding beyond the limits” Wroclaw, Poland 13-16 September 2016

Sarnowska E, Jancewicz I, Rusetska N, Leszczyński M, Macech E, Kondrek P, Pogoda K, Olszewski W, Niwinska A, Sarnowski TJ, Siedlecki JA The role of SWI/SNF ATP-dependent chromatin remodeling complex in triple negative breast cancer (TNBC) development. 42nd Congress of International Society of Oncology and Biomarkers ISOBM, Zakopane, Poland, 3-7 October 2015

Sarnowska E., Cwiek P., Rolicka A.T., Bucior E., Araújo W.L., Tohge T., Klepacz A., Balcerak A., Macech E., Sacharowski S.P., Gratkowska D.M., Kondrak P., Leszczyński M., Fernie A.R., Koncz C., Siedlecki J.A., Jerzmanowski A.J., Sarnowski T.J. Global control of eukaryotic gene expression depends on chromatin remodeling by SWI/SNF complexes. 42nd Congress of International Society of Oncology and Biomarkers ISOBM, Zakopane, Poland, 3-7 October 2015

Elzbieta Sarnowska, Pawel Cwiek, Marcin Leszczynski, Natalia Rusetska, Aleksandra Gos, Michal Szymanski, Marcin Ligaj, Alicja Chrzan, Dominika M. Gratkowska, Anna T. Rolicka, Anna Balcerak, Iga Jancewicz, Ewelina Macech-Klicka, Wagner L. Araújo, Takayuki Tohge, Sebastian P. Sacharowski, Szymon Kubala, Bruno Huettel, Anna Maassen, Joanna Myslewicz, Alisdair R. Fernie, Csaba Koncz, Janusz A. Siedlecki, Tomasz J. Sarnowski The role of SWI/SNF ATP-dependent chromatin remodeling complexes in the control of metabolic processes. Cell Symposium Hallmarks of Cancer, Ghent, 2016, Ghent

E. Sarnowska, N. Rusetska, M. Szymanski, I. Jancewicz, M. Chmielarczyk, R. Konopinski, M. Leszczynski, A. Chrzan, M. Ligaj, A. Maassen, T. Sarnowski, J. Siedlecki Downregulation of BRCA1 protein in clear cell renal cellular Carcinoma ESMO2017, 8-12 September Madrid Annals of Oncology Volume 28 | Supplement 5 | September 2017 doi:10.1093/annonc/mdx391 | - nagroda “Best poster”

M. Szymanski, E. Sarnowska, A. Ornoch, N. Rusetska, S. Abramowicz, A. Chrzan, M. Ligaj, A. Maassen, J. Siedlecki, T. Sarnowski Loss of SWI/SNF chromatin remodelling complex is linked to advanced urinary bladder cancer ESMO2017, 8-12 September Madrid Annals of Oncology Volume 28 | Supplement 5 | September 2017 doi:10.1093/annonc/mdx391 |

Ponadto, z badań przeprowadzonych na Arabidopsis wynika, że kompleks SWI/SNF oddziałuje białkami z rodziny DELLA, z represorami transkrypcji, przez co kontroluje ekspresję wielu genów. Białka DELLA są charakterystyczne tylko dla roślin i nie mają sekwencyjnych homologów u człowieka. U człowieka natomiast występują inne represory transkrypcji – białka z rodziny SNAIL, które nie mają homologów w świecie roślinnym. Białka te są akumulowane w komórkach nowotworowych i indukują proces przejścia epitelialno-mezenchymalnego (EMT). Proces ten jest kluczowy w tworzeniu przerzutów odległych. W związku z dużym podobieństwem w pełnionych funkcjach pomiędzy białkami DELLA i SNAIL przeprowadziliśmy analizę oddziaływań białek SNAIL (SNAIL1 oraz SLUG) z kompleksem SWI/SNF. Wyniki potwierdziły naszą hipotezę, że białka SNAIL oddziałują bezpośrednio z kompleksem SWI/SNF w komórkach ludzkich, co sugeruje, że kompleks SWI/SNF może być bezpośrednio zaangażowany w proces EMT w nowotworach.

Komórki nowotworowe do wzrostu i proliferacji wykorzystują energię pochodzącą głównie z glikolizy, pomimo dostatecznej ilości tlenu. Dodatkowo, oprócz glukozy do produkcji energii w komórkach raka wykorzystywana jest glutamina (w procesie glutaminolizy) i kwasy tłuszczowe. W tak przełączonych metabolicznie komórkach dochodzi do hiperaktywacji szlaku kinazy mTOR i zahamowania aktywności AMPK. Istnieją dane wskazujące, że utrata funkcjonalności kompleksu SWI/SNF następuje w pewnych nowotworach charakteryzujących się przełączeniem metabolicznym np. jasnokomórkowym raku nerki. Jednak rola jaką pełni kompleks SWI/SNF w kontroli homeostazy metabolicznej nie została jak dotąd poznana. **Przeprowadzone przez nas badania z wykorzystaniem modelu opartego o Arabidopsis i ludzkie linie komórkowe stanowią doskonałą i unikalną podstawę do zaproponowania mechanizmu opisującego zachowaną w ewolucji funkcję kompleksów w kontroli przełączenia metabolicznego, które obserwowane jest w niektórych typach raka.**

Wnioski:

Większość dostępnych danych literaturowych dotyczących procesu nowotworzenia uzyskana została w wyniku badań próbek otrzymanych od pacjentów lub badań

prowadzonych na liniach komórkowych, które są izolowanym układem doświadczalnym. Linie komórkowe są najczęściej nieśmiertelne lub nowotworowe. W związku z tym bardzo trudno jest badać i weryfikować obserwowane zmiany molekularne a także często niemożliwe jest rozróżnienie zmian istotnych od nieistotnych, głównie ze względu na brak odpowiedniej kontroli jak również trudność w uchwyceniu zmian fenotypowych. Dlatego też znaczny odsetek zmian, które wydają się istotne w tym układzie doświadczalnym w rzeczywistości może mieć tylko marginalne znaczenie biologiczne. Potwierdza to teoria „driving i passenger mutation” w procesie nowotworzenia. Dodatkowo, badania przeprowadzone z wykorzystaniem rośliny modelowej *Arabidopsis thaliana* potwierdzają powyższą tezę, gdyż ich wyniki wskazują na to, że nie każda zmiana obserwowana na poziomie molekularnym ma bezpośrednie przełożenie na odpowiedź biologiczną i zmiany fenotypowe. Biorąc pod uwagę plastyczność organizmów i względną łatwość dostosowywania się do zmian środowiskowych /adaptację do warunków stresu tylko niektóre zmiany na poziomie molekularnym będą miały znaczenie biologiczne.

Dlatego w pełni uzasadnione było użycie żywotnych i stabilnych linii *Arabidopsis* pozbawionych głównych podjednostek kompleksu SWI/SNF jako modelu badawczego w doświadczeniach mających na celu głębsze zrozumienie mechanizmów działania i procesów w jakie może być zaangażowany kompleks SWI/SNF. Wyniki uzyskane z wykorzystaniem tego układu modelowego zweryfikowane zostały na komórkach ludzkich oraz na próbkach pochodzących od pacjentów z wybranymi typami nowotworów charakteryzującymi się podobnymi zaburzeniami w kontroli procesów metabolicznych.

Referencje:

- Bitler B.G., K.M. Aird, A. Garipov, H. Li, M. Amatangelo, A.V. Kossenkov, D.C. Schultz, Q. Liu, I.-M. Shih, J.R. Conejo-Garcia, *et al.* Synthetic lethality by targeting EZH2 methyltransferase activity in ARID1A-mutated cancers Nat Med. 2015 Mar;21(3):231-8. doi: 10.1038/nm.3799
- Calderaro J, Moroch J, Pierron G, Pedoutour F, Grison C, Maillé P, Soyeux P, de la Taille A, Couturier J, Vieillefond A, Rousselet MC, Delattre O, Allory Y. SMARCB1/INI1 inactivation in renal medullary carcinoma. Histopathology. 2012 Sep;61(3):428-35. doi: 10.1111/j.1365-2559.2012.04228.x. Epub 2012 Jun 11.
- G.W.E. Santen, J. Clayton-Smith, M. Adachi-Fukuda, A. AlKindy, A. Baban, K. Berry, N. Canham, A. Collins, K. Chrzanowska, A. Gardham, *et al.* The ARID1 B phenotype: what we have learned so far Am J Med Genet Part C Semin Med Genet, 166 (2014).
- Ho TH, Kapur P, Joseph RW, Serie DJ, Eckel-Passow JE, Parasramka M, Cheville JC, Wu KJ, Frenkel E, Rakheja D, Stefanius K, Brugarolas J, Parker AS. Loss of PBRM1 and BAP1 expression is less common in non-clear cell renal cell carcinoma than in clear cell renal cell

carcinoma. *Urol Oncol.* 2015 Jan;33(1):23.e9-23.e14. doi: 10.1016/j.urolonc.2014.10.014. Epub 2014 Nov 24.

Hornick JL, Dal Cin P, Fletcher CD. Loss of INI1 expression is characteristic of both conventional and proximal-type epithelioid sarcoma. *Am J Surg Pathol.* 2009 Apr;33(4):542-50. doi: 10.1097/PAS.0b013e3181882c54.

Jelinic P, J.J. Mueller, N. Olvera, F. Dao, S.N. Scott, R. Shah, J. Gao, N. Schultz, M. Gonen, R.A. Soslow, *et al.* Recurrent SMARCA4 mutations in small cell carcinoma of the ovary. *J Clin Oncol.* 2016 Jan;34(1):10-17. doi:10.1200/JCO.2015.31.3711. Epub 2015 Nov 13.

Jelinic P, Schluppe BA, Conlon N, Tseng J, Olvera N, Dao F, Mueller JJ, Hussein Y, Soslow RA, Levine DA. Concomitant loss of SMARCA2 and SMARCA4 expression in small cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic type. *Mod Pathol.* 2016 Jan;29(1):60-6. doi:10.1038/modpathol.2015.129. Epub 2015 Nov 13.

Kim SK, Jung WH, Koo JS. Differential expression of enzymes associated with serine/glycine metabolism in different breast cancer subtypes. *PLoS One.* 2014 Jun 30;9(6):e100099. doi:10.1371/journal.pone.0100099. Epub 2014 Jun 30.

Marquez-Vilendrer SB, Rai SK, Gramling SJ, Lu L, Reisman DN. Loss of the SWI/SNF ATPase subunits BRM and BRG1 drives lung cancer development. *Oncoscience.* 2016 Nov 1;5(11):1111-1119. doi:10.1016/j.pscn.2016.09.001. Epub 2016 Nov 1.

Miller R.E R. Brough, I. Bajrami, C.T. Williamson, S. McDade, J. Campbell, A. Kigozi, R. Rafiq, H. Pemberton, R. Natrajan, *et al.* Synthetic lethal targeting of ARID1A-mutant ovarian clear cell tumors with dasatinib. *Mol Cancer Ther.* 15 (2016), pp. 1472-1484

Mobley BC, McKenney JK, Bangs CD, Callahan K, Yeom KW, Schneppenheim R, Hayden MG, Cherry AM, Gokden M, Edwards MS, Fisher PG, Vogel H. Loss of SMARCB1/INI1 expression in poorly differentiated chordomas. *Acta Neuropathol.* 2010 Dec;120(6):745-53. doi: 10.1007/s00401-010-0767-x. Epub 2010 Oct 30

Nat Genet, 46 (2014), pp. 424-426

Nat Med, 21 (2015), pp. 231-238

Ren T, Lu Q, Guo W, Lou Z, Peng X, Jiao G, Sun Y. The clinical implication of SS18-SSX fusion gene in synovial sarcoma. *Br J Cancer.* 2013 Oct 15;109(8):1171-1176. doi:10.1038/bjc.2013.447. Epub 2013 Oct 15.

Schmitz U, Mueller W, Weber M, Sévenet N, Delattre O, von Deimling A. INI1 mutations in meningiomas at a potential hotspot in exon 9. *Br J Cancer.* 2001 Jan;84(2):199-201. doi:10.1054/bjoc.2001.1611. Epub 2001 Jan 15.

Versteeg I, Sévenet N, Lange J, Rousseau-Merck MF, Ambros P, Handgretinger R, Aurias A, Delattre O. Truncating mutations of hSNF5/INI1 in aggressive paediatric cancer. *Nature.* 1998 Jul 9;394(6689):203-6. doi:10.1038/394203a. Epub 1998 Jul 9.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych.

Oprócz badania mechanizmu działania i funkcji kompleksów SWI/SNF zajmowałam się także funkcją białka HAX-1. Pierwotnie białko to zidentyfikowane zostało jako partner białka HS1. W komórkach ludzkich jak i szczurzych występuje w wielu wariantach. Związane jest to z tzw. alternatywnym splicingiem transkryptu powstającego w wyniku transkrypcji z genu *HAX-1*. Badania prowadzone nad białkiem HAX-1 wykazały, że jest to białko wiążące mRNA m.in. polimerazy DNA beta oraz wimentyny. HAX-1 wiąże się do motywu tzw. szpilki do włosów na regionach nie ulegających translacji tzw. 3'UTR. Białko HAX-1 lokalizuje się przy błonie komórkowej i mitochondriach we frakcji cytoplazmatycznej jednakże ma zdolność przemieszczania się pomiędzy jądrem a cytoplazmą. W jądrze związane jest ono z macierzą jądrową, co sugeruje, że może być elementem maszyny zaangażowanej w obróbkę/edytowanie mRNA. Białko HAX-1 jest transportowane do jądra

komórkowego na drodze transportu aktywnego przez eksportynę 1 (XPO1). W białku tym zidentyfikowano dwie sekwencje pozwalające na eksport do jądra komórkowego tzw. NES-ang. nuclear export signal. HAX-1 jest również jednym z białek wchodzących w skład tzw. P-bodies- ciałek, w których w stanie stresu komórka przechowuje ważne transkrypty. Dodatkowo, HAX-1 determinuje ilość P-bodies w pojedynczej komórce w zależności od dostępności mRNA. Z powyższych badań wynika, że białko HAX-1 może być związane z procesem edytowania, obróbki i stabilności mRNA w komórce.

W moich badaniach zainteresowałam się również zagadnieniami związanymi z kontrolą metabolizmu w komórce. Główną przesłanką ku temu było zidentyfikowany przeze mnie, w ramach projektu realizowanego we współpracy z Instytutem Biochemii i Biofizyki PAN oraz Instytutem Maxa Plancka w Golm i Kolonii, udział kompleksu SWI/SNF w kontroli metabolizmu glukozy oraz bezpośredniego oddziaływania tego kompleksu z kinazami kontrolującymi stan energetyczny komórki AMPK i mTOR. W związku z przeprowadzoną szczegółową analizą zagadnień dotyczących kontroli procesów metabolicznych powstał artykuł poglądowy zatytułowany „AMP-activated protein kinase (AMPK) as therapeutic target”. Zaburzenia w prawidłowym funkcjonowaniu AMPK są opisywane w wielu chorobach np. cukrzyca typu II, karcinogenezie, w stanie zapalnym jak również w udarze mózgu czy zawale mięśnia sercowego dlatego kinaza ta stanowi doskonały cel terapeutyczny. Należy również dodać, że po raz pierwszy kinaza ta została odkryta i opisana w roślinach (SnRK1) poprzez Zespół współpracujący z nami. Dalsze badania wykazały, że AMPK jest kinazą zachowaną w ewolucji i występuje u wszystkich Eukariota a u ludzi określana jest mianem ‘starożytnego miernika metabolizmu’.

W drugiej pracy poglądowej pt. „Zaburzenia metabolizmu i funkcji enzymów metabolicznych a proces nowotworzenia” zebrane zostały informacje dotyczące przełączenia metabolizmu i funkcji enzymów glikolizy w procesie nowotworzenia. Inspiracją, dzięki której powstała ta praca była obserwacja Otto Warburga, która została dokonana na początku XX wieku. Otto Warburg zaobserwował, że komórki nowotworowe wytwarzają ATP w procesie glikolizy produkując mleczan podobnie jak ma to miejsce w przypadku komórek w stanie deficytu tlenowego. Zjawisko to nazwano ‘efektem Warburga’ lub glikolizą tlenową. Nowotwór aby uzyskać materiały budulcowe i energię potrzebną do wzrostu i ekspansji korzysta z wielu źródeł energii. Niektóre nowotwory są zależne od szlaku biosyntezy seryny *de novo*, inne wykorzystują glutaminę w procesie glutaminolizy i/lub tzw. hybrydowy cykl Krebsa. Dodatkowo wiadomo, że niektóre enzymy w komórkach nowotworowych mają nieprawidłową budowę. Jednym z najlepiej opisanych przykładów takiego enzymu jest

zmutowana forma IDH – dehydrogenazy izocytrynianowej, która przekształca α -ketoglutaran do 2-hydroksyglutaranu (2-HG). Z kolei 2-HG hamuje dioksygenazy, enzymy które zaangażowane są m.in. w demetylację histonów i DNA. Powoduje to zmiany epigenetyczne i zaburzenia w ekspresji genów. Badania przeprowadzone w ostatnich latach wykazały, że niektóre enzymy glikolizy pełnią dodatkowe funkcje, np. FBP1 – fruktozo-1,6- bisfosfataza ulega translokacji do jądra komórkowego, gdzie pełni funkcję inhibitora czynnika transkrypcyjnego indukowanego hipoksją HIF1 α .

Nasze badania potwierdzają, że kompleks SWI/SNF jest bezpośrednio zaangażowany w kontrolę ekspresji genów, których produkty uczestniczą w metabolizmie glukozy. Sugeruje to, że utrata funkcjonalności kompleksu SWI/SNF może być przyczyną zaburzeń metabolicznych w komórkach nowotworowych.

Elżbieta Ferenc