

STRESZCZENIE

Białka PUM to rodzina potranskrypcyjnych regulatorów ekspresji genów zaangażowana między innymi w morfogenezę oraz rozwój komórek gametogenicznych różnych organizmów. Białka PUM posiadają domenę oddziałującą z RNA zwaną PUF. Domena ta rozpoznaje motyw PBE UGUANAUA (ang. *PUM Binding Element*), w regionie 3' mRNA nie ulegającym translacji (3'UTR). W funkcji regulacyjnej PUM rekrutuje dodatkowe białka odgrywające rolę kofaktorów, np. NANOS. Skład rybonukleoproteinowego (RNP) kompleksu przesądza ostatecznie, czy dany mRNA ulega translacji, represji prowadzącej do deadenytacji i magazynowania w cytoplazmie, czy degradacji. Efektem regulacji jest odpowiedni poziom poszczególnych białek w komórce, zapewniający homeostazę. Celem rozprawy było poznanie znaczenia paralogów PUM1 i PUM2 w rozrodzie człowieka, z zastosowaniem komórek TCam-2 pochodzących z nasieniaka, reprezentujących gametogeniczne komórki męskie we wczesnym etapie rozwoju prenatalnego. Podjęto trzy zagadnienia badawcze: 1/wpływ paralogów PUM1 i PUM2 poprzez ich docelowe mRNA na zjawiska istotne dla płodności, apoptozę, podziały oraz cykl komórkowy, 2/mechanizm represji przez białka PUM, w powiązaniu z wybranymi białkami kofaktorowymi, oraz 3/ funkcjonalna odmienność paralogów PUM1 i PUM2.

Immunoprecypitacja RNA, RT-qPCR i testy lucyferazowe uwidocznily represję, poprzez region 3'UTR zawierający motyw PBE nowego docelowego mRNA kodującego kinezyne KIF18A, przez białka PUM1 i PUM2. Z kolei test MTS oraz cytometria przepływowa pokazały, że poprzez represję mRNA KIF18A, białka PUM1 i PUM2 modulują proliferację, apoptozę oraz cykl życiowy. Kinezyne KIF18A miała przeciwny wpływ na proliferację, apoptozę oraz cykl komórek TCam-2, niż białka PUM. Badaniom poddano dwa nowe docelowe mRNA białek PUM, kodujące odpowiednio SPIN1 i SPIN3. Pokazano rolę SPIN1 jako proto-onkogenu a SPIN3 supresora nowotworowego. Nadekspresja SPIN1 powodowała obniżenie liczby komórek apoptotycznych, podczas gdy nadekspresja SPIN3 miała wpływ odwrotny. W teście lucyferazowym, pokazano, że mRNA SPIN1 oraz SPIN3 ulegają represji pod wpływem białek PUM1 i PUM2, w której zaangażowane są regiony 3'UTR tych mRNA. Ponadto, sam PUM1, w odróżnieniu od PUM2, silnie stymulował apoptozę oraz w pewnym stopniu spowalniał cykl komórkowy TCam-2. Może to oznaczać, że PUM1 tak samo jak SPIN3 pełni rolę supresora nowotworowego. Zatem poprzez regulację apoptozy i cyklu komórkowego w tym represję SPIN1 i SPIN3, białko PUM1 może przeciwdziałać procesowi nowotworzenia.