

MYC jest proto-onkogenem o istotnej roli w patogenezie oraz rozwoju różnych typów nowotworów. Jako czynnik transkrypcyjny, MYC wiąże się do specyficznych sekwencji E-box, by regulować ekspresję docelowych genów. Jednakże, uniwersalny zestaw genów regulowanych przez MYC nie został określony, gdyż zależą one od typu komórki i jej stadium rozwoju. Dotychczas nie przeprowadzono również szczegółowej analizy identyfikującej istotne dla wzrostu komórek nowotworowych geny bezpośrednio regulowane przez MYC.

W badaniach do poniższej pracy przygotowana została lentiwirusowa biblioteka sgRNA (*ang. single guide RNA*), MYC-CRISPR, nakierowana na miejsca wiązania MYC (E-box), by uszkodzić ich sekwencję. Zbiór sekwencji E-box został oparty na dostępnych danych z MYC-ChIP-Seq (*ang. MYC-chromatin immunoprecipitation sequencing*) w czterech liniach nowotworowych zależnych od MYC: MCF7 (rak piersi), K562 (przewlekła białaczka szpikowa), HepG2 (rak wątrobowokomórkowy) oraz linii komórkowych z chłoniaka Burkitta. Przeprowadzono badanie przesiewowe z użyciem biblioteki MYC-CRISPR oraz Brunello, by uszkodzić geny produkujące białka. Wyniki otrzymane z obu bibliotek wskazały sekwencje E-box oraz geny docelowe istotne dla wzrostu wszystkich komórek nowotworowych, jak i specyficzne dla każdego typu nowotworu.

Biorąc pod uwagę łączny efekt wszystkich sgRNA nakierowanych na dany E-box lub gen, 354-1,992 genów oraz 56-97 sekwencji E-box było istotnych dla wzrostu komórek nowotworowych, podczas gdy 3-9 sekwencji E-box i 5-18 genów było wzbogaconych. Co więcej, 20-32% istotnych motywów E-box było zlokalizowanych w pobliżu genów istotnych dla komórek nowotworowych, a 42-49% genów zlokalizowanych w ich pobliżu to znane targety MYC. Analiza procesów, w jakie zaangażowane są istotne geny oraz te położone w pobliżu istotnych sekwencji E-box wykazała m. in. metabolizm, syntezę rybosomów, splicing i translację. Podejście z użyciem biblioteki MYC-CRISPR zostało zwalidowane w linii komórkowej K562. Udowodniono wydajne uszkodzenie sekwencji E-box, co wpłynęło na ekspresję pobliskich genów, wiązanie MYC oraz wzrost komórek. Co więcej, uzyskane wyniki pozwoliły zidentyfikować istotne geny w ścieżkach regulowanych przez MYC, jak również specyficzne cechy sekwencji E-box. Podsumowując, stworzono nowatorskie, dobrze zwalidowane narzędzie do identyfikacji genów regulowanych przez MYC, istotnych do wzrostu komórek nowotworowych. Uzyskane wyniki pogłębiły naszą wiedzę odnośnie roli MYC w komórkach nowotworowych.