

Obrazloženje prijedloga s opisom znanstvene vrijednosti predloženog rada i njegov doprinos području istraživanja

Melanom je najagresivniji oblik raka kože. Unatoč značajnom napretku u liječenju posljednjeg desetljeća, otpornost na protutumorske lijekove često predstavlja izazov. Upravo zbog toga su potrebna daljnja istraživanja staničnih puteva i proteina uključenih u odgovor melanoma na terapiju. Tumor-supresorski protein p53 je transkripcijski faktor koji u stresu usmjerava stanicu u zaustavljanje staničnog ciklusa ili staničnu smrt, a uključen je i u autofagiju, senescenciju i DNA popravak. Zbog svega navedenog i činjenice da je promijenjen u više od 50% tumora, naziva se i čuvar genoma. Zanimljivo je da je p53 rijetko mutiran u melanomu, međutim, ne obavlja svoju tumor-supresorsku funkciju. p53 je dio veće porodice p53 koja sadrži i transkripcijske faktore p73 i p63, a u novije vrijeme, istraživači su počeli cijeniti važnost izoformi ove porodice kao potencijalnih modulatora p53-ovisnih staničnih odgovora. Naime, korištenjem alternativnih promotora te alternativnim prekrajanjem *TP53* eksprimira 12, a p73 teoretski 35 izoformi različitih struktura i funkcija. U predloženom radu analizirali smo gensku i proteinsku ekspresiju izoformi p53 i p73 u panelu melanomskih stanica čovjeka različitih mutacijskih statusa gena *TP53* i *BRAF*. Uočili smo da stanične linije melanoma izražavaju široki spektar izoformi p53 i p73, s $\Delta 160p53\alpha$ kao najvarijabilnijom. Također, pokazali smo da terapijski pristupi koji oštećuju DNA, kao što su kemoterapeutici cisplatina, etopozid, doksorubicin, dakarbazin ili γ -zračenje, mogu utjecati na promjenu njihove ekspresije. Dodatno smo željeli istražiti najmanje p53 izoforme $\Delta 160p53\alpha$, $\Delta 160p53\beta$ i $\Delta 160p53\gamma$ uz pomoć stabilnih klonova p53 nul-stanica H1299 s *de novo* ekspresijom koje smo generirali uz pomoć lentivirusnih vektora. Naši pokusi su pokazali po prvi put da se $\Delta 160p53\alpha$, i u manjoj mjeri $\Delta 160p53\beta$, mogu regrutirati na kromatin, te da se $\Delta 160p53\gamma$ može smjestiti u perinuklearnim žarištima; štoviše, sve izoforme $\Delta 160p53$ mogu potaknuti proliferaciju i *in vitro* migraciju. Na kraju, kontinuiranim izlaganjem dviju melanomskih staničnih linija čovjeka BRAF-inhibitoru razvili smo otporne linije i utvrdili da imaju promijenjenu ekspresiju izoformi p53 i p73, točnije, povećanu ekspresiju potencijalno proonkogenog $\Delta 40p53\beta$ i smanjenu ekspresiju tumor-supresivnog TAp73 β .

Razina ekspresije izoformi članova porodice p53 bi mogle biti informativne kod pacijenata oboljelih od raka, posebice melanoma, pa bi se njihova analiza mogla smatrati bitnom u personaliziranoj medicini. Promjene razine ekspresije specifične izoforme (tj. visok $\Delta 40p53\beta$ ili nizak TAp73 β) mogle bi biti koristan biomarker u predviđanju djelotvornosti liječenja. Konačno, u klinici bi se mogle upotrebljavati male molekule za blokiranje translacije s alternativnog promora ili za smanjenje količine specifične onkogene izoforme za koju se pokazalo da je visoko eksprimiran u tumorskim tkivima.