



Hrvatska zaklada za znanost - *Uloga heterozigotnosti gena za ribosomski protein S6 u zloćudnoj preobrazbi stanica*

**Vrijednost projekta:** 1.000.000,00 kn

**Trajanje projekta:** 08.05.2017. - 07.05.2021.

**Voditelj projekta:** prof. dr. sc. Siniša Volarević, dr. med.

**Suradnici na projektu:**

Doc. dr. sc. Slađana Bursać – Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

Dr. sc. Ines Oršolić - Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

Deana Jurada, mag. sanit. ing - Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

Ylenia Prodan, mag.mikrobiol. – Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

Ivana Matušić, mag.med. lab.ing. – Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

Miljna Uzelac, bacc.med.lab.diagn. – Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

Prof. Moshe Oren – Weizmann Institute of Science, Izrael

Prof. Andre Gerber – Faculty of Health and Medical Sciences, School of Biosciences and Medicine, University of Surrey

Prof. Aristides Eliopoulos - National and Kapodistrian University of Athens, Greece

**Suradne institucije na projektu:**

Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

Weizmann Institute of Science, Izrael

Faculty of Health and Medical Sciences, School of Biosciences and Medicine, University of Surrey

National and Kapodistrian University of Athens, Greece

**Sažetak projekta:**

Istraživanja tijekom proteklih desetak godina dokazala su da heterozigotne mutacije specifičnih ribosomskih proteina (RP) uzrokuju patološke promjene u životinjskim pokusnim modelima i

nekoliko bolesti u ljudi, uključujući 5q- mijelodisplastični sindrom, anemiju Diamond-Blackfan i brojne vrste zloćudnih tumora. Međutim, molekularni mehanizmi putem kojih heterozigotne mutacije RPs uzrokuju bolesti najvećim dijelom su nepoznati. Proizveli smo genetički modificiranog miša u kojemu se gen za RpS6 može izrezati pomoću rekombinaze Cre. Upotrebom toga životinjskog modela dokazano je da heterozigotnost za RpS6 u stanicama koštane srži uzrokuje patološke promjene koje su slične premalignom sindromu 5q- u ljudi. U pripremi za ovaj projekt HRZZ dokazali smo da heterozigotnost za RpS6 u fibroblastima iz embrija miša (MEF) značajno doprinosi njihovoj zloćudnoj preobrazbi. Temeljem tih rezultata postavljamo hipotezu da heterozigotnost za RpS6 uzrokuje molekularne promjene koje potiču zloćudnu preobrazbu normalnih stanica. Predlažemo sljedeće specifične ciljeve istraživanja koji će omogućiti testiranje te hipoteze: 1. Proizvesti MEF-ove u kojima se može uvjetno odstraniti jedan alel gena za RpS6 i gen p53 2. Testirati onkogeni potencijal MEFova heterozigotnih za RpS6 3. Odrediti učinak heterozigotnosti za RpS6 gen i gubitka gena p53 na morfološka obilježja jezgrice i njene funkcije, stabilnost genoma, strukturu kromatina i globalnu regulaciju izražaja gena. 4. Identificirati mRNA čija je translacija na ribosomima poremećena. Ovaj prijedlog projekta pravovremen je i inovativan. Predloženo istraživanje razjasnit će zagonetku kako sniženi izražaj RP, ključnih sastavnica staničnih strojeva koji omogućuju rast stanice, uzrokuju zloćudne tumore. Osim toga, projekt će unaprijediti istraživački kapacitet, obrazovanje mladih znanstvenika i podići razinu kvalitete istraživanja u Hrvatskoj putem suradnje s vrhunskim svjetskim istraživačima.

### **Proposal summary:**

An abundance of evidence from animal models and human disease has shown that inherited and acquired heterozygous mutations of a number of ribosomal proteins can lead to cancer development as well as a variety of other diseases. However, the underlying molecular mechanisms are still largely unknown. We have previously generated a mouse model in which one allele of the RpS6 gene can be conditionally deleted. By employing this model it was shown that RpS6 heterozygosity in bone marrow recapitulates key features of a premalignant condition in humans, the 5q- syndrome. Our preliminary results have shown that RpS6 heterozygous mouse embryonic fibroblasts (MEFs) in the absence of p53 show much greater tumorigenicity than p53 null MEFs, further supporting the view that RpS6 heterozygosity is an oncogenic event. Thus, we hypothesize that RpS6 heterozygosity may lead to molecular alterations that could facilitate malignant transformation. In order to test this hypothesis, we propose the following specific aims: 1. Generate conditional MEFs for inducible deletion of one RpS6 allele alone or in combination with p53 gene 2. Assess tumorigenic potential of RpS6 heterozygosity 3. Determine the impact of RpS6 heterozygosity and p53 loss on nucleolar structure and function, maintenance of genome stability, chromatin structure and global regulation of gene transcription. 4. Characterize the mRNA translation landscape of RpS6 heterozygous MEFs. This is innovative and timely proposal. Our studies will elucidate a long standing conundrum, how hypomorphic mutations in RP genes, essential components of the cell's growth machinery can lead to cancer. The project should positively impact the research capacity, education and science in Croatia via scientific cooperation with world-renowned scientists abroad.

## Objavljeni radovi:

1. Ines Oršolić, Slađana Bursać, Deana Jurada, Irena Drmić Hofman, Zlatko Dembić, Jiri Bartek, Ivana Mihalek i **Siniša Volarević**, "Small-Scale Mutations in the Ribosomal Protein L5 Gene Dysregulate the Impaired Ribosome Biogenesis Checkpoint in Human Cancers", podneseno za objavu svibanj 2019.
2. Lindström MS, Jurada D, Bursać S, Oršolić I, Bartek J, **Volarević S**. Nucleolus as an emerging hub in maintenance of genome stability and cancer pathogenesis. **Oncogene**, 2018, 37 (18): 2351 – 2366.
3. Bursać S, Jurada D, **Volarević S**. New insights into HEATR1 functions. *Cell Cycle*, 2018, 2:1 – 2.
4. Pelletier J, Thomas G, **Volarević S**. Ribosome biogenesis in cancer: new players and therapeutic avenues. **Nat Rev Cancer**, 2018, 18(1): 51 – 63.

## Održana pozvana predavanja:

1. Prof.dr.sc. Siniša Volarević održao je 26. ožujka 2019.godine predavanje u sklopu simpozija "Apoptoza i novotvorine" na Hrvatskoj akademiji znanosti i umjetnosti u ožujku 2019. pod nazivom "Uloga nadzora biogeneze ribosoma u supresiji tumora".
2. Prof.dr.sc. Siniša Volarević održao je 28. rujna 2019. predavanje na kongresu Hrvatskog genetičkog društva "4 th Congress of Croatian Geneticists with International Participation" na otoku Krku pod nazivom "The role of ribosomal proteins L5 and L11 in tumor suppression".
3. Prof.dr.sc. Siniša Volarević održao je 22. rujna 2017. na 7. Hrvatskom kongresu hematologa u Šibeniku pozvano predavanje pod nazivom "The role of ribosomal proteins L5 and L11 in tumor suppression".
4. Prof.dr.sc. Siniša Volarević održao je 27. rujna 2017. godine pozvano predavanje na IDIBELL institutu u Barceloni pod nazivom "The interplay between impaired ribosome biogenesis and p53"

## Sudjelovanje na kongresu/simpoziju:

1. Doc.dr. sc. Slađana Bursać i dr.sc. Ines Oršolić sudjelovale su na kongresu Hrvatskog genetičkog društva "4 th Congress of Croatian Geneticists with International Participation" na otoku Krku u trajanju od 26.09.2018. – 29.09.2018.
2. Prof.dr.sc. Siniša Volarević sudjelovao je od 17.10.2017. do 21.10.2017. na kongresu EMBO-a u Heilderbergu, Njemačka.

**Posjet suradnom laboratoriju:**

1. Deana Jurada je u razdoblju od 23.04.2019. do 27.04.2019. boravila u laboratoriju prof. Barteka na Danish Cancer Society Research Center-u. u Kopenhagenu, Danska.