



Hrvatska zaklada za znanost – *Međudjelovanje heterozigotne mutacije gena za ribosomski protein L24 i p53 u patogenezi bolesti*

**Šifra projekta:** IP-2022-10-9967

**Vrijednost projekta:** 199.084,20 EUR

**Trajanje projekta:** 27.12.2023. - 26.12.2027.

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

**Suradnici na projektu:**

Izv. prof. dr. sc. Slađana Bursać – Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

Dr. sc. Milorad Zjalić - Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

Katarina Budić, mag. biotech. in med. - Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

Prof. Stefano Fumagalli, - Institut Necker Enfants Maledes, Pariz, Francuska

Prof. Mikael Lindstrom – Karolinska institut, Stocholm, Švedska

Prof. Jiri Bartek – Karolinska institut, Stocholm, Švedska

Prof. dr. sc. Katarina Vilović – Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

**Suradne institucije na projektu:**

Institut Necker Enfants Maledes, Pariz, Francuska

Karolinska institut, Stocholm, Švedska

Prof. dr. sc. Katarina Vilović – Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

**Sažetak projekta:**

Glavni cilj naših istraživanja otkriti je mehanizme nastanka ribosomopatija, bolesti u ljudi uzrokovanih mutacijama u genima za ribosomske proteine (RP) ili faktore sinteze ribosoma. Pogreške u sintezi ribosoma aktiviraju supresor tumora p53. Dokazali smo da je p53 aktiviran u specifičnim tkivima miševa heterozigotnih za Rpl24 (Rpl24+/-) te da uzrokuje njihov morfološki patološki fenotip. Iznenađujuće, u odsutnosti p53 većina tih miševa ugiba

neposredno nakon okota. Međutim, mehanizmi putem kojih međudjelovanje mutacije Rpl24<sup>+/-</sup> i p53 uzrokuje specifične fenotipove nepoznati su. Naši preliminarni rezultati ukazuju na povezanost gubitaka p53 u MEF-ovima Rpl24<sup>+/-</sup> s ubrzanjem njihove diobe i sinteze proteina te povećanjem količine agregata proteina. Te promjene pozitivno koreliraju s aktivnošću mTORC1 kinaze. Pretpostavljamo da se poremećaj homeostaze proteina i oksidacijski stres u Rpl24<sup>+/-</sup> miševa pogoršava uslijed gubitka p53 zbog nemogućnosti inhibicije mTORC1-ovisne sinteze proteina i aktivacije mTORC1-ovisne autofagije te da se te promjene dodatno intenziviraju u uvjetima fiziološkog gladovanja i oksidacijskog stresa na okotu, što rezultira njihovim ugibanjem. U svrhu testiranja hipoteze, odredit ćemo učinke mutacije Rpl24<sup>+/-</sup> u prisutnosti ili odsutnosti p53 na količinu ribosoma, homeostazu proteina, oksidacijski stres i transkriptom u MEF-ovima. Dobiveni rezultati ukazat će na molekularne promjene u tek okoćenih Rpl24<sup>+/-</sup>:p53<sup>-/-</sup> miševa koje ćemo modulirati upotrebom specifičnih farmakoloških spojeva s ciljem sprječavanja njihovog ugibanja. Osim toga, otkrića u ovom projektu osigurat će smjerokaz za buduća istraživanja ribosomopatija i zloćudnih tumora uzrokovanih pogreškama u sintezi ribosoma, što može rezultirati otkrićem novih ciljeva za razvoj lijekova za te bolesti. Rezultati projekta i suradnja s vrhunskim znanstvenicima u području ribosomopatija, p53 i raka povećat će kapacitet za istraživanja i obrazovanje mladih znanstvenika u Rijeci.

### **Project summary:**

The focus of our research is to gain insights into the mechanisms underlying ribosomopathies, diseases caused by mutations in genes encoding some ribosomal proteins (RPs) or ribosome biogenesis factors. Perturbation of ribosome biogenesis activates the p53 tumor suppressor. We previously showed that p53 activation is responsible for the morphological phenotypes of Rpl24<sup>+/-</sup> mice and surprisingly also promotion of their neonatal survival. However, the underlying mechanisms by which the interplay between Rpl24<sup>+/-</sup> mutation and p53 activity determines phenotypic outcomes are unknown. Our preliminary results suggest that p53 loss in Rpl24<sup>+/-</sup> MEFs not only accelerates their proliferation and protein synthesis rate but also aggravates their intrinsic proteotoxic stress. These changes positively correlate with mTORC1 activity. We hypothesize that in Rpl24<sup>+/-</sup>:p53<sup>-/-</sup> mice elevated intrinsic proteotoxic and oxidative stress, and the inability to downregulate protein synthesis and upregulate autophagy due to high mTORC1 activity, are vulnerabilities that are further exacerbated by physiological nutrient starvation and oxidative stress at birth, leading to neonatal lethality. To test the

hypothesis, and with an eye on potential therapeutic exploitation of the subsequent molecular insights, we will assess the impact of Rpl24 heterozygosity in the presence or absence of p53 on ribosome abundance and function, protein homeostasis, redox balance, and transcription output. We will also identify molecular vulnerabilities of Rpl24+/-:p53-/- neonates and exploit them pharmacologically to try to rescue lethality. This study will provide the foundation for future studies of ribosomopathies, particularly cancers associated with these diseases, which may reveal new therapeutic targets. The project should improve the research capacity and education of young scientists in Rijeka, with collaboration with experts in the field of ribosomopathies and cancer contributing additional benefits.

### **Objavljeni radovi**

1. U pripremi je rad pod naslovom „*The combination of ribosomal protein S6 heterozygosity and p53 inactivation results in cellular reprogramming that promotes tumorigenesis*“ za objavu u kvalitetnom znanstvenom časopisu.
2. Parchure A, Cesarec M, Ivanišević V, Čunko M, **Bursać S**, de Reuver R, Rosani U, **Volarević S**, Naelfait J, Jurak I. *ADAR1 p150 prevents HSV-1 from triggering PKR/eIF2 $\alpha$ -mediated translational arrest and is required for efficient viral replication*. PLOS Pathogens, u postupku recenzije.

### **Održana pozvana predavanja**

1. Prof. dr. sc. Mikael Lindstrom održao je 14.11.2024. predavanje „Targeting Ribosome Biogenesis in Cancer: Current Insights“ na Medicinskom fakultet u Rijeci.
2. Prof. dr. sc. Siniša Volarević održao je 08.11.2024. predavanje „How do cells with impaired ribosome production become malignant?“ na kongresu Hrvatskog društva za istraživanje raka u Zagrebu

### **Sudjelovanje na kongresu/simpoziju**

1. Prof. dr. sc. Siniša Volarević sudjelovao je na kongresu Hrvatskog društva za istraživanje raka „7th meeting of the Croatian Association for Cancer Research with International Participation: Advances in Cancer Research & Treatment“ u Zagrebu u trajanju od 07.11.2024. – 08.11.2024.

## **Posjet suradnom laboratoriju**

1. Doktorandica Katarina Budić je u razdoblju od 05.08.2024. – 30.08.2024. boravila u laboratoriju za nekodirajuće DNA prof. Nevenke Meštrović na Institutu Ruđer Bošković u Zagrebu.