

## Streszczenie

Czynnik transkrypcyjny Nrf2 pełni rolę pro-przyżyciową i ochronną po ekspozycji komórek na bodźce stresowe wewnątrz- i zewnątrzkomórkowe. Nrf2 zawiaduje szeregiem komórkowych procesów takich jak proliferacja, różnicowanie, apoptoza, autofagia, homeostaza czy metabolizm aminokwasów. W warunkach braku stresu, poziom Nrf2 w komórkach jest niski ze względu na konstytutywną degradację przez kompleks E3 ligazy ubikwityny Keap1-Cul3. Jednak jeśli ścieżka Nrf2 ulega rozregulowaniu (w przypadku aktywacji onkogenów albo mutacji), czynnik transkrypcyjny staje się konstytutywnie aktywny i promuje kancerogenezę, przerzutowanie oraz chemowrażliwość nowotworów. Przejściowa aktywacja Nrf2 w komórkach prawidłowych działa więc protekcyjnie, podczas gdy ciągła aktywność podtrzymuje proliferację komórek nowotworowych. Ze względu na to, że ścieżki onkogenne oraz odpowiedzi immunologicznej są ze sobą powiązane, w projekcie doktorskim badałam czy Nrf2 ma wpływ na ekspresję cząsteczek głównego układu zgodności tkankowej klasy I (ang. Major Histocompatibility Complex class I, MHC-I), które prezentują 'swoje' i 'obce' antygeny komórkom układu immunologicznego. Projekt doprowadził również do identyfikacji stabilnej izoformy Nrf2, regulowanej na drodze nie-kanonicznej, która nie pełni roli czynnika transkrypcyjnego.

W pierwszej części projektu pokazaliśmy że knockdown Nrf2 w normalnych fibroblastach płuca oraz w linii niedrobnokomórkowego raka płuca A549 zredukował zarówno całkowitą ilość MHC-I, jak i poziom MHC-I na powierzchni komórek. Ilość transkryptów MHC-I nie uległa jednak obniżeniu. Inhibicja translacji przy użyciu emetyny wykazała, że Nrf2 stabilizuje MHC-I w komórkach, natomiast znakowanie świeżo syntetyzowanych białek w reakcji 'Click chemistry' wskazuje że Nrf2 może również promować translację MHC-I. Immunoprecypitacja wraz z modelowaniem molekularnym i dynamiką molekularną wskazują że Nrf2 wiąże się do cząsteczek MHC-I i stabilizuje je w komórce.

Druga część pracy koncentruje się na identyfikacji i charakterystyce stabilnej i niekanonicznie regulowanej izoformy Nrf2, nazwanej  $\Delta$ N-Nrf2, która ulega ekspresji w komórkach prawidłowych i nowotworowych. Forma ta powstaje na skutek transkrypcji z alternatywnego promotora i nie ulega konstytutywnej degradacji przez kompleks Keap1-Cul3. W porównaniu do białka Nrf2 o pełnej długości,  $\Delta$ N-Nrf2 jest pozbawiona pierwszych szesnastu aminokwasów, co zaburza wiązanie z Keap1.  $\Delta$ N-Nrf2 lokalizuje się w cytoplazmie zarówno w warunkach homeostazy, jak i w odpowiedzi na stres elektrofilowy, co wskazuje na to, że nie pełni funkcji czynnika transkrypcyjnego.

Podsumowując, uzyskane w pracy wyniki wskazują na nową funkcję Nrf2 w komórkach, która nie zależy od regulacji transkrypcji i opiera się na interakcji białko-białko.