

## STRESZCZENIE

Rak podstawnokomórkowy skóry (ang. *basal cell carcinoma*; BCC) jest najbardziej powszechnym nowotworem człowieka, występującym głównie u przedstawicieli populacji kaukaskiej. Rozwój BCC jest napędzany głównie przez mutacje w genach zaangażowanych w szlak sygnałowy Sonic Hedgehog (Shh), niemniej jednak patogeneza BCC nie jest do końca poznana. Podobnie jak w innych nowotworach, do tej pory analizy genetyczne BCC skupiały się niemal wyłącznie na regionach kodujących białka, stanowiących zaledwie ~2% genomu. W związku z powyższym, zasadniczym celem niniejszej pracy była wstępna charakterystyka mutacji somatycznych w niekodujących elementach genów kodujących białka (5'UTR, fragmenty 3'UTR oraz fragmenty intronów) oraz w genach miRNA. W pracy poddano analizie panel 27 par próbek DNA wyizolowanych z BCC oraz z odpowiadających im tkanek normalnych. Próbki poddano dwóm procedurom sekwencjonowania nowej generacji, rutynowemu sekwencjonowaniu całego eksomu (ang. *Whole Exome Sequencing*; WES) oraz unikalnej, zaprojektowanej w Zakładzie Genetyki Molekularnej, Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN, procedurze sekwencjonowania całego miRNomu (ang. *Whole miRNome Sequencing*; WMS).

W wyniku przeprowadzonego sekwencjonowania łącznie zostało wykrytych ponad 80 tysięcy mutacji somatycznych z czego ponad połowa występowała w regionach niekodujących, w których częstość mutacji była zbliżona do tej w regionach kodujących. Średnie obciążenie mutacyjne analizowanych próbek wynosiło >50 mutacji/Mpz co wskazuje, że częstość mutacji w BCC jest najwyższa wśród nowotworów człowieka. Najczęstszą sygnaturą mutacyjną, występującą we wszystkich próbkach, była sygnatura 7, co potwierdza, że głównym czynnikiem mutagennym w BCC jest promieniowanie słoneczne.

Analiza wykrytych mutacji wykazała szereg regionów niekodujących o podwyższonej częstości mutacji, w tym regionów zawierających gorące punkty mutacji. Niektóre mutacje w regionach niekodujących wskazują na duży potencjał mutowanych genów jako elementów napędzających nowotworzenie w BCC m.in. 3'UTR w genie *BAD*, sekwencja Kozak w 5'UTR w genie *DHODH* oraz 5'UTR w genie *CHCHD2*. Wszystkie te geny są funkcjonalnie zaangażowane w procesy związane z nowotworzeniem (apoptoza, metabolizm mitochondrialny i synteza *de novo* pirymidyn). Dodatkowo analizy przeprowadzone z

wykorzystaniem zewnętrznych zasobów danych, w tym The Cancer Genome Atlas (TCGA) wykazały, że mutacje w genach *BAD* i *CHCHD2* często występują także w czerniaku, natomiast mutacje wykryte w genie *DHODH* są specyficzne i występują wyłącznie w BCC.

Wśród mutacji niekodujących 171 zostało wykrytych w genach miRNA, w tym w różnych funkcjonalnych elementach tych genów, kluczowych dla biogenezy i funkcjonowania cząsteczek miRNA. Najczęściej mutowanym genem miRNA był *MIR3928* o dobrze udokumentowanej funkcji w nowotworzeniu, w którym zostały zidentyfikowane 4 mutacje, w tym 3 w gorącym punkcie mutacji zlokalizowanym w sekwencji flankującej 5'.

Wygenerowane dane pozwoliły również na przeprowadzenie pierwszej kompleksowej analizy zmian liczby kopii w BCC, w wyniku której, między innymi, zostały zidentyfikowane częste delecje długiego ramienia chromosomu 9 (chr9q), obejmującego kluczowy dla BCC gen supresorowy *PTCH1* oraz częste duplikacje krótkiego ramienia chromosomu 9 (chr9p) zawierającego gen *JAK2* oraz geny ligandów PD-L1 oraz PD-L2 będących kluczowymi elementami punktów kontrolnych odpowiedzi immunologicznej.

Wśród genów najczęściej mutowanych w sekwencjach kodujących zidentyfikowano takie geny jak *PTCH1*, *TP53*, *MYCN* czy geny *NOTCH*. Duża zgodność wyników analizy sekwencji kodujących z ich wcześniejszymi analizami w BCC potwierdziła rzetelność przeprowadzonych analiz i wiarygodność uzyskanych wyników.

Podsumowując w ramach niniejszej pracy przeprowadzono pierwszą analizę i charakterystykę mutacji w regionach niekodujących w BCC. W ramach analizy zidentyfikowano szereg mutacji niekodujących o potencjalnym znaczeniu dla rozwoju BCC. Niniejsze wyniki stanowią podstawę do dalszych analiz niekodujących wariantów w BCC i innych typach raka.