

Die Telomerstabilisierung ist ein Merkmal vieler Tumorzellen und unabdingbar für permanente Zellteilung und Wachstum. Folglich aktiviert die Mehrzahl aller Krebsarten, so auch Glioblastome (GBM) und maligne Pleuramesotheliome (MPM), das Enzym Telomerase. Die Entdeckung von nicht kodierenden Mutationen im Telomerase Reverse Transkriptase (TERT) Promoter hat die Aktivierung von Telomerase in Krebszellen in das Zentrum aktueller Forschung gerückt. Mehrere Studien, so auch eine aus unserer Gruppe, zeigten einen Zusammenhang von TERT Promotermutationen und erhöhter TERT Expression verbunden mit einer signifikant schlechteren Prognose für GBM- und Melanompatienten. Interessanterweise aktiviert jedoch auch die Mehrzahl aller Tumoren mit TERT wildtyp Promoter das Enzym Telomerase. Dies führt zur Annahme, dass TERT Promotermutationen noch zusätzliche onkogene Eigenschaften abseits der Telomerverlängerung haben, deren Mechanismen aber immer noch weitgehend unbekannt sind. Deshalb geht das Projekt der Hypothese nach, ob Veränderungen in der TERT-Promotersequenz und die daraus resultierende TERT Überexpression unabhängig vom Ursprungsgewebe einen aggressiveren Tumorzelltyp forcieren. Es wird überprüft, ob die Interaktion zwischen Promotermutationen und einem benachbarten Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP; rs2853669) einen Einfluss auf die Aggressivität von GBM- und MPM-Zellen hat. Weiters stellen wir die Hypothese auf, dass TERT Promotervarianten die sekundäre Struktur der DNA verändern und dadurch die Sensitivität von malignen Zellen gegenüber promoter-targeting Verbindungen (G-Quadruplex- Stabilisatoren) beeinflussen. Um dies zu validieren, wird die TERT Promoteraktivität mittels gentechnisch veränderten Reporterkonstrukten in GBM und MPM analysiert. All diese Versuche werden einerseits in Zelllinien mit unterschiedlichen endogenen TERT Promotervarianten durchgeführt. Andererseits werden auch isogene TERT Promoter wildtyp versus mutierte Zelllinien mittels CRISPR/CAS9 Technologie hergestellt und analysiert. Zur Erforschung von Mechanismen welche die Promoterüberaktivierung begünstigen, wird die Bindung von Transkriptionsfaktoren (TF) an wildtyp und mutierten TERT Promotoren in GBM Zelllinien und isogenen Modellen verglichen. Die vielversprechendsten TF werden inhibiert und die Auswirkung auf die Telomeraseaktivität, sowie auf die Zellaggressivität untersucht. Des Weiteren erforscht das Projekt die nicht-kanonischen Funktionen des TERT Gens in Promoter wildtyp und mutierten GBM Zellen. Mittels *in silico* Analysen sollen Veränderungen der Expressionsmuster von TF und nicht-kanonischen Molekülen bestätigt werden. Schließlich wird der Einfluss des TERT Promoterstatus auf die Sensitivität gegenüber Telomeraseinhibitoren *in vitro* und *in vivo* getestet. Zusammengefasst soll das Projekt aufklären, welche regulatorischen Mechanismen die Überaktivierung des TERT Promoters begünstigen und somit zur Aggressivität in mutierten und wildtyp GBM und MPM Zellen beitragen. Die gewonnenen Resultate sollen unser Verständnis dafür vertiefen, inwieweit die erhöhte Malignität eine Konsequenz der robusten Telomerstabilisierung, der verstärkten nicht-kanonischen TERT-Funktionen, oder eine anderer Art der malignen Transformation getrieben durch den TERT Promoter Mutationsstatus darstellen. Das erlangte Wissen soll die Entwicklung von neuen Therapiestrategien zur Bekämpfung von immortalisierten Krebszellen forcieren.