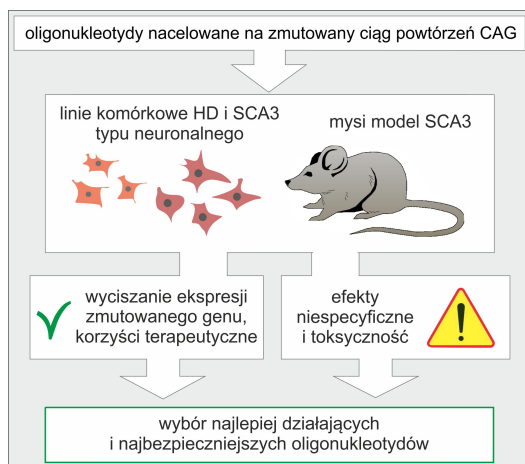


Kompleksowa analiza działania oligonukleotydów jako potencjalnych terapeutyków w chorobach poliglutaminowych

Celem projektu jest dogłębna charakterystyka potencjalnych korzyści oraz możliwych ograniczeń obiecującej strategii terapeutycznej opracowywanej dla grupy chorób neurodegeneracyjnych. Przedmiotem badań są choroby wywołane przez nietypowe mutacje, jak i testowane są dla nich nietypowe narzędzia terapeutyczne.

Grupa chorób neurodegeneracyjnych człowieka jest wywołana mutacjami polegającymi na wydłużeniu ciągu powtórzeń trójnukleotydowych CAG w określonych genach. Są to nieuleczalne jak dotychczas choroby poliglutaminowe (poliQ), znajdujemy wśród nich chorobę Huntingtona (HD, ang. Huntington's disease) i ataksję rdzeniowo-mózgową, m.in. typu 3 (SCA3, ang. Spino-cerebellar ataxia type 3). Patogeneza chorób poliQ dotyczy głównie centralnego układu nerwowego i specyficznych regionów mózgu, w których pojawia się neurodegeneracja. Patogeneza jest ściśle związana z obecnością w komórkach produktów ekspresji zmutowanego genu: białka zawierającego wydłużony ciąg poliQ (kodowany przez powtórzenia CAG) oraz transkryptu zawierającego ciąg powtórzeń CAG. Choroby poliQ prowadzą do śmierci pacjenta zwykle w 4-5 dekadzie życia. Nie znaleziono dotychczas skutecznej metody zwalczania tych chorób i obecnie łagodzone są jedynie ich objawy. Podejmowane są próby usuwania lub inaktywacji mutacji na poziomie DNA i blokowania patogennych oddziaływań zmutowanego białka. Duże sukcesy osiągnięte w strategii zmierzającej do degradacji lub funkcjonalnej inaktywacji zmutowanego transkryptu z zastosowaniem krótkich oligonukleotydów zaprojektowanych w technologii antysensu lub interferencji RNA (RNAi). Użycie tych nowoczesnych narzędzi pozwala na eliminację z komórki bezpośrednio przyczyny choroby, czyli produktów ekspresji zmutowanego genu. Kierownik projektu jest zaangażowany od kilkunastu lat w badania podstawowe zorientowane na opracowywanie oryginalnych podejść terapeutycznych dla chorób poliQ.

Niezwykle obiecującym podejściem jest celowanie z użyciem syntetycznych oligonukleotydów bezpośrednio w miejsce mutacji, tj. wydłużony ciąg powtórzeń CAG. Specyficznie zaprojektowane oligonukleotydy preferencyjnie działają na zmutowany gen odpowiedzialny za HD i SCA3. Pomimo zaawansowanych prac nad testowaniem tego typu strategii, pozostaje wiele wątpliwości dotyczących faktycznych efektów terapeutycznych w komórkach neuronalnych i możliwych efektów niepożądanych.



W ramach tego projektu zostanie przeprowadzona kompleksowa analiza działania oligonukleotydów, głównie nacelowanych na region powtórzeń CAG, w liniach komórkowych typu neuronalnego. Zostaną także wykonane wstępne testy wybranych oligonukleotydów w modelu mysim. W badaniach będą wykorzystane modele chorób HD oraz SCA3, wywołanych ekspansją powtórzeń CAG odpowiednio w genie HTT i ATXN3. Szeroko zakrojone analizy (m.in. wysoko przepustowe) pozwolą na porównanie efektów działania różnych typów oligonukleotydów i w różnych modelach.

Cele projektu będą realizowane przez wykonanie następujących zadań:

1. Testowanie efektywności wyciszenia ekspresji zmutowanego genu przez oligonukleotydy w neuronalnych liniach komórkowych
2. Analizy globalnych zmian w transkryptomie i poziomie miRNA po podaniu oligonukleotydów
3. Szczegółowe analizy efektów molekularnych zmienionych po podaniu oligonukleotydów
4. Testowanie wybranych oligonukleotydów w mysim modelu SCA3

Realizacja projektu pozwoli na znaczące zaawansowanie prac nad strategią terapeutyczną celowania w region powtórzeń CAG z użyciem syntetycznych oligonukleotydów. Badania przeprowadzone w liniach komórkowych i modelu mysim dostarczą nowych informacji na temat korzyści i ograniczeń potencjalnie terapeutycznych cząsteczek. Ta wiedza będzie użyteczna do projektowania dalszych badań przedklinicznych z użyciem modeli mysich, jak i w planowaniu testów klinicznych.