

Profilowanie miRNA w komórkowych modelach choroby Huntingtona stworzonych z użyciem technologii iPSC

MikroRNA (miRNA) należą do grupy małych, niekodujących RNA, których rolą jest regulacja ekspresji genów poprzez inhibicję translacji najczęściej w wyniku degradacji transkryptu. Duży potencjał regulacyjny miRNA związany jest głównie z regulacją wielu genów przez jeden miRNA jak i z ich różnorodnością - obecnie znanych jest ponad dwa tysiące dojrzałych sekwencji ludzkich miRNA. Co więcej podczas biogenezy miRNA z cząsteczki prekursorowej mogą być uwalniane nie tylko kanoniczne miRNA, ale pula heterogennych cząsteczek nazywanych izomiRami co dodatkowo zwiększa ich potencjał regulacyjny.

miRNA biorą udział w wielu procesach fizjologicznych jak również wykazano ich zaangażowanie w procesy patologiczne. W chorobach neurodegeneracyjnych jak jest choroba Huntingtona (HD) zaobserwowano zmiany w profilach ekspresji miRNA, co może być zarówno przyczyną jak i skutkiem zaburzenia homeostazy komórek, wywołanego obecnością zmodyfikowanych produktów genu sprawczego HD- transkryptu i białka huntingtyny. Szczególnie w przypadku zmodyfikowanych form huntingtyny wykazują komórki neuronalne w obszarze korowia oraz kory mózgowej.

Ze względu na trudności z modelowaniem chorób neurologicznych w ramach tego projektu zastosujemy technologię indukowanych pluripotentnych komórek macierzystych (iPSC) do pozyskania materiału pochodzącego od pacjentów a jednocześnie nie mającego cechy komórek neuronalnych. iPSC powstają w procesie reprogramowania czyli odróżnicowania komórek somatycznych pochodzących od pacjentów, oraz osób zdrowych (najczęściej to fibroblasty- komórki pozyskane drogą biopsji skóry). Tak otrzymane kolonie iPSC wykazujące pluripotencję mogą następnie być wykorzystywane do generowania dowolnego typu komórek organizmu poprzez proces ukierunkowanego różnicowania. Zastosowaniem technologii iPSC możliwe jest więc pozyskanie komórek neuronalnych posiadających mutację w dowolnym genie, a zatem także w genie sprawczym HD (Rycina).

Celem projektu jest powiązanie zmian w ekspresji miRNA z patogenezą HD. Globalna analiza miRNA oraz izomiRów w ludzkich komórkach neuronalnych pozwoli nam na wytypowanie spośród puli komórkowych miRNA biomarkerów HD. Znaczące zmiany w poziomie miRNA u osób chorych mogą świadczyć o ich bezpośrednim zaangażowaniu w procesy patologiczne. Dalsze analizy eksperymentalne, poprzedzone szczegółową analizą bioinformatyczną, pozwolą na powiązanie deregulacji ekspresji miRNA z obniżoną lub podwyższoną ekspresją niektórych genów biorących udział w patogenezie HD.

Ponadto wykazano udział miRNA w procesie reprogramowania, znacząco mniej natomiast wiadomo o zaangażowaniu miRNA w procesy różnicowania neuronalnego. Porównanie pod kątem ekspresji miRNA komórek iPSC oraz wyprowadzonych z nich macierzystych komórek neuronalnych pozwoli na poszerzenie wiedzy z tego zakresu.

Badania przeprowadzone w ramach tego projektu pozwolą zatem na pogłębienie wiedzy o możliwościach wykorzystania technologii iPSC w badaniu chorób neurodegeneracyjnych, oraz określenie roli miRNA w patogenezie jednej z najpowszechniejszych chorób z tej grupy- choroby Huntingtona.

