

Głównym celem projektu „Wpływ mutacji białka FUS skorelowanych z chorobą ALS na aktywność U7 snRNP i ekspresję zachowawczych histonów rdzeniowych w komórkach ludzkich” jest analiza molekularnego podłoża choroby neurodegeneracyjnej stwardnienie zanikowe boczne (ang. ALS, Amyotrophic Lateral Sclerosis), związanej z mutacjami w genie białka FUS (ang. *Fused in Sarcoma*).

Zaburzenia metabolizmu RNA w komórce leżą u podstaw licznych chorób neurodegeneracyjnych. W ostatnich latach zidentyfikowano wiele mutacji związanych z tymi chorobami, występują one często w genach białek zaangażowanych w biogenezę i dojrzewanie cząsteczek RNA. Jedną z takich chorób jest stwardnienie zanikowe boczne - choroba neurodegeneracyjna charakteryzująca się stopniowym zanikiem neuronów ruchowych. Choroba rozpoczyna się zwykle w wieku 60-ciu lat, dotyka średnio 1-2 osoby na 100 000. Chorzy umierają z powodu niewydolności układu oddechowego około 3 lata później. Część przypadków dziedzicznej formy ALS skorelowano z mutacjami w genie jądrowego białka wiążącego RNA – FUS. Większość z nich to mutacje typu zmiana sensu dotyczące nukleotydów położonych w obrębie unikatowego sygnału lokalizacji jądrowej NLS, rozpoznawanego przez jądrowy importer – Transportynę. Mutacje prowadzą do obniżonego lub całkowicie zahamowanego transportu białka FUS i jego akumulacji w cytoplazmatycznych agregatach komórek nerwowych i glejowych osób chorych. Zaburzenia importu jądrowego uważa się więc za główną przyczynę odmian choroby ALS związanych z FUS, jakkolwiek konsekwencje niewłaściwej lokalizacji białka FUS w komórce wciąż nie są wyjaśnione.

Wyniki moich badań sugerują z kolei związek pomiędzy chorobą ALS związaną z mutacjami białka FUS a zaburzeniami ścieżki molekularnej związanej z zależną od replikacji ekspresją genów zachowawczych histonów rdzeniowych. W niedawno opublikowanej pracy opisałam nową rolę białka FUS jako czynnika uczestniczącego w jądrze komórkowym w regulacji ekspresji genów histonowych podczas cyklu komórkowego. Białko to aktywuje ekspresję genów histonowych w fazie replikacji DNA oraz uczestniczy w inhibicji ich ekspresji w innych fazach cyklu, między innymi poprzez oddziaływanie z cząstką U7 snRNP – istotnym czynnikiem wymaganym do prawidłowego dojrzewania histonowych transkryptów (Raczyńska i wsp., *Nucl. Acids Res.*, 2015, 43:9711-28). Co więcej, wstępny eksperyment pokazał, że nadekspresja jednego z mutantów FUS związanych z chorobą ALS powoduje zatrzymanie w cytoplazmie cząstki U7 snRNP. Moja hipoteza zakłada, że mutacje białka FUS prowadzące do zaburzeń jego lokalizacji mogą negatywnie wpływać na aktywność U7 snRNP w jądrze komórkowym i deregulować ekspresję histonowych genów. Zachowawcze histony rdzeniowe stanowią podstawowy budulec chromatyny i są niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania dzielącej się komórki. Ich synteza musi być jednak ściśle skorelowana z syntezą DNA, a nadmiar białek histonowych w innych fazach cyklu może być toksyczny dla komórki. Sugeruję więc, że mutacje białka FUS mogą wpływać na obniżenie ekspresji histonowych genów w proliferujących komórkach glejowych prowadząc do zahamowania replikacji i niestabilności genomu. Z kolei, w zróżnicowanych, nie dzielących się neuronach, mutacje FUS mogą prowadzić do niekontrolowanej, nadmiernej syntezy białek histonowych. W obu przypadkach dochodzi do zmienionej homeostazy w komórkach glejowych lub neuronach osób chorych.

Mutacje białka FUS wybrane do analizy w tym projekcie to krytyczne mutacje w patogenezie choroby ALS, o toksycznym wpływie cytoplazmatycznych agregatów na komórki pacjentów: P525L, R521G, R514G i R495X. Część eksperymentalna projektu obejmuje cztery główne aspekty badawcze: a) wpływ mutacji białka FUS na lokalizację komórkową U7 snRNA/U7 snRNP; b) wpływ mutacji białka FUS na transkrypcję i dojrzewanie 3' końca histonowych transkryptów w ulegających podziałom komórkach glejowych; c) wpływ mutacji białka FUS na ekspresję genów zachowawczych histonów rdzeniowych w zróżnicowanych komórkach nerwowych; d) wpływ mutacji białka FUS na oddziaływanie z czynnikami transkrypcyjnymi histonów: NPAT i hnRNP UL1.

Jestem przekonana, że dalsze badania nad wyjaśnieniem mechanizmu związanego z zaburzeniami regulacji ekspresji genów histonowych jako podłoża choroby ALS, są niezbędne dla zrozumienia molekularnych podstaw tego schorzenia. Dzisiejsza wiedza na ten temat jest nadal niepełna. Przy ciągle wzrastającej na świecie liczbie osób w podeszłym wieku, proporcjonalnie wzrasta też ryzyko wystąpienia u nich chorób neurodegeneracyjnych i koszty związane z ich leczeniem. Wierzę, że mój wkład naukowy będący wynikiem realizacji tego projektu, pozwoli na lepsze zrozumienie patogenetyki chorób neurodegeneracyjnych związanych z białkiem FUS i zaplanowanie potencjalnych strategii terapeutycznych.