

Prot-RAN: Jakie czynniki regulują RAN translację?

Krótkie powtórzenia tandemowe (STR), zwykle o długości od trzech do ośmiu par zasad nukleotydowych, są powszechne w ludzkim genomie. Są one również genetycznie niestabilne, a ich niekontrolowana ekspansja może prowadzić do dziedzicznych schorzeń. Na przykład w regionie 5'UTR genu *FMRI*, zdrowe osoby mają zwykle od 5 do 54 powtórzeń trójnukleotydowych CGG. Gdy ich liczba wzrasta do rzędu 55-200 powtórzeń CGG, powodują one **zespół drżenia i ataksji związany z łamliwym chromosomem X (FXTAS)**. Obecność ponad 200 powtórzeń CGG prowadzi natomiast do zespołu łamliwego chromosomu X (FXS). Do tej pory ponad 40 chorób dziedzicznych zostało powiązanych z ekspansją STR, głównie powtórzeń trójnukleotydowych. Przykładem takich chorób są choroba Huntingtona (HD), dystrofia miotoniczna i wspomniane powyżej FXS i FXTAS.

W projekcie Prot-RAN skupimy się na ekspansji powtórzeń trójnukleotydowych CGG w rejonie 5'UTR genu *FMRI*, która prowadzi do choroby neurodegeneracyjnej- FXTAS. Patogeneza FXTAS do chwili obecnej pozostaje niejasna i różne modele patogenezy są uważane za prawdopodobne. Jednym z możliwych mechanizmów jest **niekanoniczna synteza białka związana z powtórzeniami nukleotydowymi** (*ang.* repeat associated non-AUG initiated (RAN) translation). Zjawisko to opiera się na spostrzeżeniu, że zmutowane powtórzenia mikrosatelitarne mogą inicjować produkcję zmutowanych białek bez obecności kodonu start AUG, który jest zwykle używany do rozpoczęcia translacji białka. W wyniku RAN translacji powstają nieprawidłowe białka posiadające wydłużone ciągi pojedynczych aminokwasów. W przypadku FXTAS, najczęściej produkowanymi białkami w procesie RAN translacji są poliglicyna oraz polialanina. Białka te gromadzą się we wtrętach jądrowych w mózgu pacjentów cierpiących na FXTAS, i w rezultacie prowadzą do śmierci neuronów.

Pomimo pojawiających się doniesień naukowych o możliwych mechanizmach regulujących RAN translację, nadal niewiele wiadomo na temat tego procesu. Głównym celem projektu Prot-RAN jest **identyfikacja białek regulujących RAN translację**, co pomoże zrozumieć patomechanizmy chorobowe i znaleźć potencjalne cele terapeutyczne dla chorób neurodegeneracyjnych - FXTAS, HD oraz innych zaburzeń wywołanych ekspansją STR.

Aby osiągnąć ten cel, wykorzystamy nowoczesne metody proteomiczne oraz techniki biologii molekularnej. Pokróćce, zastosujemy metody *in vitro* oraz *in cellula* w celu określenia, jakie białka wiążą się z regionem 5'UTR RNA powstającego z genu *FMRI*, który zawiera różną liczbę powtórzeń CGG. Następnie, do potwierdzenia roli zidentyfikowanych białek w RAN translacji, wykorzystamy globalną analizę proteomu, mutagenezę RNA, analizę ekspresji białka i badania strukturalne kompleksu RNA/białko. Rola zidentyfikowanych białek zostanie następnie zweryfikowana w innych chorobach charakteryzujących się ekspansją powtórzeń, np. HD. Pozwoli nam to sprawdzić, czy te same białka regulują RAN translację w różnych jednostkach chorobowych. W rezultacie odkryte czynniki wpływające na translację RAN będzie można wykorzystać jako potencjalne nowe cele w strategiach terapeutycznych zaburzeń ekspansji STR.