

Celem pracy doktorskiej jest **wykorzystanie systemu CRISPR/Cas (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/ Cas) jako potencjalnego narzędzia terapeutycznego do usuwania lub skracania sekwencji powtórzeń CAG w komórkach od pacjentów z chorobami poliglutaminowymi (poliQ)**. Choroby poliQ są neurodegeneracyjnymi chorobami genetycznymi spowodowanymi mutacją, która polega na zwiększeniu liczby powtórzeń trójki nukleotydów CAG w genach. Do chorób tych zaliczamy między innymi chorobę Huntingtona, szereg ataksji rdzeniowo- mózdkowych oraz zanik czerwienno-zębaty. Objawy chorobowe związane są głównie z upośledzeniem funkcjonowania układu nerwowego na skutek akumulacji zmutowanego białka w komórkach neuronalnych. Pomimo długoletnich badań, choroby poliQ są jak dotąd chorobami nieuleczalnymi, można jedynie w ograniczony sposób niwelować ich objawy.

W eksperymentalnej terapii chorób poliQ wykorzystuje się różne strategie terapeutyczne. Celem jest degradacja toksycznego transkryptu i białka oraz eliminacja mutacji na poziomie DNA. Z perspektywy terapii korzystne jest usuwanie lub naprawianie mutacji, która przyczynia się do powstania zmutowanego białka. Wiąże się to z trwalszym efektem, który jest przekazywany komórkom potomnym. Dlatego coraz częściej sięga się po nowe narzędzie do edycji genomu, jakim jest technologia CRISPR/Cas.

CRISPR jest systemem odpornościowym, między innymi bakterii, który chroni je przed wirusami poprzez cięcie obcego materiału genetycznego. Naturalne właściwości systemu do niszczenia konkretnej sekwencji DNA zostały wykorzystane w technologii edycji genomów innych gatunków. CRISPR/Cas jest narzędziem szeroko rozpowszechnionym w różnych dziedzinach badań o czym może świadczyć duża ilość publikacji wydanych w ostatnich latach. Jest on wykorzystywany, między innymi, do modyfikacji genów w komórkach ludzkich.

W moich badaniach wykorzystuję technologię CRISPR/Cas do indukowania pęknięć nici DNA w regionie sekwencji powtórzeń CAG, których mutacja prowadzi do chorób poliQ. Ponadto stworzyłam nową metodę o nazwie qEva-CRISPR, która jest dedykowana do wykrywania zmian wprowadzonych przez system CRISPR/Cas9 w różnych obszarach w genomie, włączając w to sekwencje powtarzające się. Z moich badań wynika, że naprawa pęknięć DNA w obszarze sekwencji powtórzeń CAG prowadzi do ich usunięcia lub skrócenia. Ponadto wykazałam, że regiony otaczające zmutowaną sekwencję CAG mają wpływ na jej stabilność. Jednak dalej nie wiadomo jak wydajnie skrócić sekwencje powtarzającą się do niepatologicznej długości i jakie mechanizmy naprawy DNA są za to odpowiedzialne. Dlatego postaram się dokładniej zgłębić te zagadnienia podczas stażu na Politechnice Federalnej w Zurychu, w zakładzie prof. Jacoba Corn'a. Wnioski wyciągnięte z badań, które są prowadzone w ramach doktoratu pozwolą efektywnie modulować długość sekwencji ciągu CAG przy użyciu technologii CRISPR/Cas, co może stanowić jedno z potencjalnych podejść terapeutycznych w leczeniu chorób poliQ.