

Na drodze do identyfikacji i wyjaśnienia funkcjonalnej roli wariantów głębokointronowych jako brakujących elementów krajobrazu genetycznego zespołu Ushera

Gdyby rozwinąć i zmierzyć DNA znajdujące się w pojedynczej komórce człowieka, okazałoby się, że ma ponad 2 metry długości. Jednak fragmenty DNA kodujące białka, czyli najważniejsze składniki budulcowe i funkcjonalne naszego organizmu, zajmują w nim odpowiednio niespełna 3 centymetry. Jako, że to właśnie zaburzenia struktury i funkcji białek w organizmie odpowiadają za występowanie chorób genetycznych, przez długi czas wiele badań genetycznych było zorientowanych na rozszyfrowywanie jedynie fragmentów DNA kodujących białka, pomijając analizę obszarów niekodujących.

Pomimo zastosowania co raz bardziej zaawansowanych i kompleksowych technologii sekwencjonowania, czyli odczytywania kolejności ułożenia nukleotydów budujących DNA, u około połowy pacjentów z chorobami genetycznymi nie wykrywa się sprawczych wariantów genetycznych (tzw. mutacji), które mogłyby stanowić przyczynę choroby. W wyniku tego co raz większe znaczenie przypisuje się niedokującym sekwencjom genów – intronom i wariantom genetycznym znajdującym się w ich obrębie, czyli wariantom głębokointronowym. Warianty te wydają się mieć znacznie istotniejszy udział w powstawaniu chorób genetycznych niż dotąd uważano. Najczęstszym mechanizmem chorobotwórczym związanym z występowaniem wariantów głębokointronowych jest ich wpływ na zaburzenie procesu składania RNA, czyli wycinania intronów w celu powstania dojrzałych cząsteczek RNA, na matrycy których powstają funkcjonalne białka.

Przykładem ciężkiej choroby genetycznej o wysokim odsetku nierozpoznanych genetycznie przypadków jest zespół Ushera, objawiający się współistniejącą utratą słuchu i wzroku. Na podstawie najnowszych doniesień uważamy, że przyczyna nierozwiązanych genetycznie przypadków zespołu Ushera leży w mało poznanych sekwencjach intronowych genów związanych z rozwojem tej choroby. Głównym celem proponowanego projektu jest więc identyfikacja nowych chorobotwórczych wariantów głębokointronowych u pacjentów z zespołem Ushera. Aby osiągnąć ten cel, projekt zakłada użycie najnowszych wysokoprzepustowych technologii sekwencjonowania DNA, tzw. sekwencjonowania następnej generacji, włączając sekwencjonowanie całego genomu pacjentów z zespołem Ushera. Zaawansowane rozwiązania bioinformatyczne pozwolą nam określić, które z wykrytych wariantów genetycznych mogą negatywnie wpływać na proces składania RNA i przyczyniać się do rozwoju choroby. Wyniki tych analiz zostaną potwierdzone stosując strategię badań funkcjonalnych, które umożliwią zbadanie wpływu wariantów głębokointronowych na składanie RNA *in vivo*, w modelu *minigene* opartym o hodowlę ludzkich komórek. Zastosowanie modelu *in vivo* zaprowadzi nas do odkrycia natury zidentyfikowanych zaburzeń składania RNA i pozwoli sklasyfikować stopień chorobotwórczości nowo odkrytych wariantów głębokointronowych.

Badania przeprowadzone w ramach projektu pozwolą na uzyskanie szerszego spojrzenia na genetyczne przyczyny zespołu Ushera, pogłębienie wiedzy na temat różnorodności przyczyn chorób genetycznych, a także mają szansę przyczynić się do uzyskania diagnozy genetycznej w nierozwiązanych przypadkach zespołu Ushera. Biorąc pod uwagę kompleksowy zamysł projektu, zawierający badanie wszystkich znanych genów związanych z różnymi typami klinicznymi zespołu Ushera oraz badania całogenomowe, spodziewamy się odkryć nowe podłoże genetyczne leżące u podstaw tej choroby.

Schemat badania opracowany w projekcie jest uniwersalnym narzędziem, które może być rutynowo stosowane w przyszłości do odnajdywania genetycznego i molekularnego podłoża w nierozwiązanych przypadkach różnych chorób genetycznych. Wyniki pozyskane w projekcie mają także szansę być zaczątkiem do dalszych badań ukierunkowanych na opracowywanie terapii genowych w zespole Ushera na podstawie metod, które znalazły już zastosowanie w leczeniu innych chorób uwarunkowanych genetycznie.