

## Popularnonaukowe streszczenie projektu

Jąderko to niebłonowa struktura obecna w jądrze komórek eukariotycznych. Jąderko zaangażowane jest w wiele procesów biologicznych, między innymi, powstawanie rybosomów, niezbędnych podczas produkcji białek w procesie translacji; starzenie się komórki, regulację cyklu komórkowego, czy odpowiedź komórki na stres. Jąderko stanowi strategiczny punkt w komórce, ponieważ jest odpowiedzialne za utrzymanie równowagi wewnątrzkomórkowej, czyli jej homeostazę. Obecnie jest znanych około 4500 różnych białek zlokalizowanych w jąderku stale lub przejściowo, które uczestniczą w różnych szlakach biologicznych oraz takie, których funkcji jeszcze nie poznano. Nasza grupa zaobserwowała niedawno, że białko FUS (ang. *fused in sarcoma*), U7 snRNA (ang. *small nuclear RNA*) oraz białko hnRNP UL1 (ang. *heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U-like 1*) także kolokalizują w jąderku komórkowym. Białko FUS jest zaangażowane w wiele procesów związanych z metabolizmem RNA, ponadto, bierze udział w utrzymaniu stabilności genomu i rekombinacji DNA. Białko hnRNP UL1 również bierze udział w procesach naprawy uszkodzonego DNA oraz pełni funkcję regulatora transkrypcji. U7 snRNA w kompleksie z 7 białkami tworzy cząstkę rybonukleoproteinową U7 snRNP, która bierze udział w procesie dojrzewania końca 3' histonowych pre-mRNA. Poprzednio pokazaliśmy, że FUS, hnRNP UL1 i U7 snRNA oddziałują ze sobą w jądrze komórkowym i biorą udział w regulacji ekspresji genów histonów rdzeniowych (Raczyńska et al., 2015). Natomiast funkcja, jaką te trzy czynniki mogą pełnić w jąderku komórkowym, jest nieznana.

Co ciekawe, mutacje zarówno w genie *FUS* jak i *hnRNP UL1* zidentyfikowano u pacjentów z dziedziczną postacią stwardnienia zanikowego bocznego (ALS). Mutanty białka FUS charakteryzują się nieprawidłową lokalizacją komórkową, gromadząc się w cytoplazmatycznych agregatach. Ponadto, wraz z FUS w agregatach tych lokalizuje również U7 snRNA/snRNP, co zaobserwowała nasza grupa badawcza. Niewłaściwa lokalizacja prowadzi do utraty jądrowych funkcji obu czynników. Dlatego przypuszczam, że lokalizacja i funkcja FUS, hnRNP UL1 oraz U7 snRNA w jąderku komórkowym może być również zaburzona w przypadku choroby ALS, której podłożem są mutacje w genie *FUS* i *hnRNP UL1*.

Celem mojego projektu jest przybliżenie funkcji pełnionych przez FUS i hnRNP UL1 oraz U7 snRNA w jąderku. Zamierzam również określić wpływ mutacji związanych z ALS w genach *FUS* i *hnRNP UL1*, na lokalizację i funkcję wszystkich trzech czynników w jąderku. Moje hipotezy badawcze zakładają, że:

- FUS, hnRNP UL1 lub U7 snRNA uczestniczą w transkrypcji rDNA lub ścieżce odpowiedzi na uszkodzenia rDNA oraz mogą być wymagane dla integralności jąderka;
- Jąderko jest miejscem modyfikacji potranskrypcyjnych U7 snRNA, które mogą być katalizowane przez snoRNP oraz zachodzić z udziałem białka FUS i/lub hnRNP UL1;
- Jąderko jest miejscem sekwestracji FUS, hnRNP UL1 i U7 snRNA, które mogą być uwalniane lub aktywowane w określonym czasie lub fazie cyklu komórkowego lub w odpowiedzi na stres.

Matrycę w moich eksperymentach stanowić będą ludzkie linie komórkowe HeLa. Podejmę próbę identyfikacji innych białek i RNA oddziałujących z FUS, hnRNP UL1 i U7 snRNA w jąderku komórkowym. Pozwoli mi to bliżej określić procesy jąderkowe, w które czynniki te są zaangażowane. Sprawdzę wpływ badanych czynników na transkrypcję rDNA, udział w ścieżce odpowiedzi na uszkodzenia rDNA oraz modyfikacje potranskrypcyjne U7 snRNA. Analizy te przeprowadzę w komórkach dzikich oraz komórkach poddanych działaniu stresu i czynników mutagennych. Ponadto, sprawdzę wpływ mutacji FUS i hnRNP UL1 związanych z ALS na lokalizację FUS, hnRNP UL1 i U7 snRNA oraz ich funkcję w jąderku.

Jąderko i zachodzące w nim procesy komórkowe są wciąż nie do końca poznane. Wciąż odkrywane są nowe białka uczestniczące w różnych szlakach biologicznych w jąderku. Co więcej, niektóre białka mogą pełnić w jąderku zróżnicowane role w zależności od czasu życia komórki. Istotnym odkryciem ostatnich lat był wpływ jąderka na nowotworzenie, co przyczyniło się do stworzenia leku genetycznego na raka piersi, który aktualnie jest na etapie badań klinicznych. Moim zadaniem będzie sprawdzić jak ważną rolę w jąderku pełnią białka FUS i hnRNP UL1 oraz cząstka U7 snRNA, czy są one częścią już poznanych czy nowych mechanizmów. Być może uzyskana przeze mnie wiedza okaże się użyteczna podczas badań nad leczeniem chorób związanych z dysfunkcją jąderka. Ponadto, odpowiedzi na postawione hipotezy badawcze mogą okazać się kluczowe dla zrozumienia podstaw molekularnych stwardnienia zanikowego bocznego (ALS).