

Funkcja i dysfunkcja ciągów powtórzeń w transkryptach kodujących białka i niekodujących

Celem tego projektu jest odkrycie funkcjonowania szerokiego spektrum cząsteczek RNA zawierających wielokrotne powtórzenia sekwencji trzech zasad, jak i wykazanie jak długość ciągu powtórzeń wpływa na aktywność danego RNA lub kodowanego białka. Skupimy się na ciągach powtórzonej sekwencji CAG (cytozyna-adenina-guanina) w kontekście układu nerwowego. Dla lepszego poznania jak funkcjonuje nasz mózg i jak możemy skutecznie leczyć choroby neurodegeneracyjne, istotne jest poznanie sieci oddziałujących tam cząsteczek, m.in. RNA i białek.

Powtarzające się sekwencje jednostek do 6 nukleotydów (znane jako mikrosatelity lub krótkie powtórzenia tandemowe, STR) stanowią około 3% ludzkiego genomu. Niektóre mikrosatelity ulegają transkrypcji i tak powstają cząsteczki RNA zawierające ciągi powtórzeń, a niektóre transkrybowane STR (prawie wyłącznie ciągi trójnukleotydowe) ulegają dodatkowo translacji, co skutkuje obecnością ciągów jednego aminokwasu w białkach. Specyficzny typ mikrosatelit, ciągi powtórzeń CAG, są obecne zarówno w RNA kodujących białka (informacyjnym RNA, mRNA), jak i niekodujących RNA. Co ciekawe, ciągi powtarzających się nukleotydów charakteryzują się polimorfizmem długości w populacji, co przyczynia się do zróżnicowania fenotypu. W ciągu ostatnich dwóch dekad dopiero zaczęliśmy rozumieć, jak takie sekwencje mogą wpływać na cząsteczki, w których są obecne.

Prawie trzy dekady temu zidentyfikowano kilka genów z powtórzeniami CAG, kodującymi białka z ciągami poliglutaminowymi (poliQ), które są odpowiedzialne za rzadkie choroby neurologiczne, niestety nadal nieuleczalne. Wspólną mutacją dla grupy tych chorób jest ekspansja powtórzeń, która skutkuje 3-10 dłuższym ciągiem niż zwykle zarówno w kodowanym RNA, jak i w białku. Co istotne, geny odpowiedzialne za każdą chorobę poliQ nie są ze sobą powiązane, ale główne szlaki patogenne konsekwentnie zachodzą w mózgu. Sugeruje to, że istnieje w układzie nerwowym wyjątkowa i kluczowa funkcja ciągów powtórzeń CAG, a także szczególna podatność na dysfunkcję ciągów glutamin w białkach. Ponadto zjawisko ekspansji somatycznych w neuronach jest ważnym czynnikiem przyczyniającym się do patogenezy chorób poliQ i prowadzi do występowania znacznie dłuższych ciągów niż mutacja początkowa.

Co warte podkreślenia, w ostatniej dekadzie techniki sekwencjonowania obejmujące cały transkryptom pozwoliły na identyfikację i precyzyjną charakterystykę wielu niekodujących RNA, w tym zawierających ciągi powtórzeń. Niemniej jednak nie rozumiemy roli i funkcjonowania większości z tych cząsteczek. Istnieje wiele niekodujących RNA, których sekwencja i poziom ekspresji tkankowej są już znane, ale znacznie mniej wiadomo na temat ich interakcji i dokładnej roli w procesach komórkowych. W związku z tym aspektem i założeniami projektu ważne jest, że niekodujące RNA występują na wyższym poziomie w układzie nerwowym, a szandarowe przykłady ich funkcjonowania opisano właśnie w mózgu.

Szczegółowe pytania naukowe, na które chcemy odpowiedzieć w ramach tego projektu, to:

- Jakie funkcje, ważne dla układu nerwowego, pełnią cząsteczki RNA zawierające ciągi powtórzeń CAG?
- Czy istnieje specyficzna sieć oddziałujących RNA zawierających ciągi powtórzeń trójnukleotydowych?
- Jaka jest sieć interakcji białko-białko, w których pośredniczy ciąg glutaminowy?
- Czy niektóre RNA zawierające powtórzenia CAG działają zarówno jako niekodujące RNA, jak i kodujące białka / peptydy?
- Jak długość ciągu powtórzeń CAG / glutamin (w normalnym zakresie) wpływa na funkcjonowanie określonego RNA / białka?
- Jak dysfunkcyjne są somatycznie wydłużone ciągi powtórzeń CAG / glutamin?

Aby odpowiedzieć na te pytania, użyjemy optymalnych modeli, tj. odpowiednich dla planowanych metod, a także z fenotypem neuronalnym, aby znaleźć wyraźny związek funkcjonowaniem w układzie nerwowym. Obejmuje to między innymi modele pochodzące z indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych (iPSC). Koncepcja metodologiczna zakłada wykorzystanie zestawów linii komórkowych o tym samym podłożu genetycznym, co powinno pozwolić na uwydatnienie efektów związanych ściśle z długością ciągu CAG i glutaminowego. Ponadto obserwacje zostaną zweryfikowane w tkance mózgowej myszy.

Długofalowym celem tego obszaru badań jest również odniesienie się do kluczowych pytań odnoszących się do skutecznej terapii chorób poliQ. Dokładny opis cech charakterystycznych dla powtórzeń CAG w RNA i powtórzeń glutamin w białkach umożliwi projektowanie nowych strategii i dostarczy ważnych wskazówek dotyczących terapii chorób poliQ.