

Ataksja rdzeniowo-mózdkowa typu 3 (SCA3) jest obecnie nieuleczalną genetyczną chorobą neurodegeneracyjną wywoływaną przez szczególny typ mutacji, która skutkuje zwiększoną liczbą powtórzeń nukleotydów CAG w sekwencji genu *ATXN3*. Podobnie jak w przypadku innych zaburzeń neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera, Parkinsona czy Huntingtona, objawy SCA3 pojawiają się w późniejszym okresie życia i obejmują poważne zaburzenia motoryczne, takie jak ataksja chodu, zaburzenia równowagi ruchowej, spastyczność, zaburzenia okoruchowe i upośledzenie umysłowe wynikające z uszkodzenia neuronów. Mutacja w genie *ATXN3* prowadzi do powstania wadliwego białka ataksyny-3, które tworzy toksyczne agregaty w komórce. Ataksyna-3 odgrywa ważną rolę w kontrolowaniu, które białka powinny być usuwane w komórce poprzez dwa różne mechanizmy komórkowe zwane kontrolowanym usuwaniem fragmentów komórki (białek i organelli). Ataksyna-3 rozpoznaje znacznik komórkowy zwany „ubikwityną” kierujący białko lub fragment komórki do rozkładu, i „odpina” ten znacznik od białka, zapobiegając w ten sposób przedwczesnemu lub błędnemu usunięciu białek z komórki. Mutacja w genie *ATXN3* powoduje zmianę funkcji białka ataksyny-3, która nie może już prawidłowo pełnić swojej roli. Co więcej, toksyczne agregaty utworzone przez zmutowaną ataksynę-3 mogą wiązać się z różnymi białkami i organellami, prowadząc do dalszych uszkodzeń w komórce. Na przykład organella komórkowe prowadzące do usuwania fragmentów komórki, mogą być „zatkane” przez agregaty ataksyny-3.

Szczegółowe mechanizmy, które wynikają z mutacji *ATXN3* i powodują rozwój SCA3, nie są jeszcze znane. Dlatego w tym projekcie zbadamy, czy wymuszenie kontrolowanego usuwania pewnych fragmentów komórki naprawi zaburzone procesy komórkowe będące wynikiem mutacji *ATXN3*. Stawiamy hipotezę, że zmutowana ataksyna-3 zaburza konkretne elementy procesu usuwania fragmentów komórki, a naprawienie tego błędu małymi cząsteczkami doprowadzi do korzystnego dla komórki obniżenia poziomu zmutowanej ataksyny-3. W ten sposób zostanie przywrócona homeostaza komórkowa. Wykorzystamy model myszy SCA3, który zawiera 150 powtórzeń CAG (nazwany Ki150) oraz myszy kontrolne Ki21 z 21 powtórzeniami CAG (nazwany Ki21) we fragmencie ludzkiego genu *ATXN3*, które uzyskaliśmy w naszych poprzednich projektach. Model Ki150 przedstawia wierny fenotyp choroby SCA3, który obejmuje brak koordynacji ruchowej, utratę równowagi i zaburzenia chodu. Co ważne, objawy pojawiają się wcześniej, u jednomiesięcznych zwierząt, co pozwala na szybką ocenę efektu proponowanej terapii.

Zacznemy od określenia roli normalnej i zmutowanej ataksyny-3 w regulacji usuwania fragmentów komórki poprzez szczegółowe badanie znaczników powstających na białkach uzyskanych z mózgow myszy. Znacznik, czyli ubikwityna może być przyłączona do białek jako pojedyncza cząsteczka lub w postaci łańcucha. Różne modyfikacje ubikwityny prowadzą do różnych procesów w komórkach. Dlatego ten specyficzny kod ubikwityny dostarczy nam wskazówek, które szlaki degradacji białek w komórce są upośledzone w SCA3. Zbadamy aktywność proteasomu, zawartość pęcherzyków, w których usuwane są białka oraz oddziaływanie ataksyny-3 ze strukturami komórkowymi odpowiedzialnymi za usuwanie. Następnie chcemy zbadać wpływ różnych małych cząsteczek i dokładny mechanizm obniżania ataksyny-3 w hodowli komórkowej (myszy i człowieka). Zbadamy, w jaki sposób te małe cząsteczki wpływają na zmutowaną ataksynę-3 i określimy podstawowe parametry terapii tymi cząsteczkami, takie jak częstotliwość i czas trwania inkubacji z cząsteczkami. Ponadto za pomocą wysoce zaawansowanego systemu mikroskopowego, kriogenicznej mikroskopii elektronowej, po raz pierwszy określimy strukturę całej ataksyny-3 wraz ze zmutowanym fragmentem tego białka oraz z innymi cząsteczkami usuwającymi białka w komórce. Na koniec zbadamy wpływ podania małych cząsteczek do myszy modelujących ludzką chorobę na ważne charakterystyczne cechy choroby, takie jak agregaty tworzone przez ataksynę-3, markery stanu zapalnego, objawy ruchowe i inne.

Mamy nadzieję, że dzięki temu projektowi bliżej poznamy specjalną rolę jednego z kluczowych patogennych procesów w SCA3, związany z dysfunkcją mechanizmów usuwania białek. Szczegółowe badanie tego mechanizmu pozwoli lepiej zrozumieć SCA3 i inne choroby neurodegeneracyjne, co z kolei umożliwi zaprojektowanie odpowiedniego leczenia.

Badania nad chorobami neurodegeneracyjnymi i ich wpływem na ludzki mózg są ważne, biorąc pod uwagę poważne konsekwencje dla pacjentów, duże obciążenie społeczne i rosnące koszty leczenia. Podejście zaproponowane w tym projekcie może prowadzić do opracowania terapii SCA3, a być może również innych chorób neurodegeneracyjnych.