

Poszukiwanie nowych celów terapeutycznych w chorobach poliglutaminowych

Ekspansja motywu CAG/CTG w funkcjonalnie niepowiązanych genach jest czynnikiem sprawczym co najmniej 16 dziedzicznych zaburzeń neurologicznych i nerwowo-mięśniowych, w tym choroby Huntingtona (HD) i dystrofii miotonicznej typu 1 (DM1). Obecnie choroby te są nieuleczalne. Powtórzenia CAG są niestabilne i po osiągnięciu pewnego progu długości mogą wydłużać się w sposób niekontrolowany prowadząc do powstawania zmutowanych białek. Mechanizm niestabilności powtórzeń nie jest w pełni poznany. Zaproponowano, że długie powtórzenia CAG mają zdolność tworzenia struktur DNA, które mogą zakłócać procesy komórkowe.

Chociaż skrócenie zmutowanego ciągu CAG byłoby bardzo obiecującą strategią terapeutyczną dla wszystkich chorób związanych z ekspansją powtórzeń, wciąż nie wiemy, jak wywołać takie skrócenie i jak kontrolować ekspansje. Generowanie dwuniciowych lub jednoniciowych pęknięć DNA w obrębie ciągu powtórzeń przy użyciu technologii edycji genomu może skutkować nieoczekiwanymi mutacjami i rearanżacjami chromosomów. Aby opracować bardziej specyficzne podejścia terapeutyczne, które nie wywołują uszkodzeń DNA, konieczne jest zrozumienie mechanizmów niestabilności powtórzeń. Szczególne znaczenie mają mechanizmy i czynniki odpowiedzialne za specyficzne skracanie powtórzeń w niedzielających się komórkach, takich jak neurony, które są głównym miejscem patogenezy zaburzeń neurodegeneracyjnych.

Dlatego celem tego projektu jest lepsze zrozumienie mechanizmów niestabilności powtórzeń CAG oraz identyfikacja nowych celów terapeutycznych, które można wykorzystać do bezpiecznego i kontrolowanego skracania powtórzeń. Planujemy osiągnąć te cele poprzez realizację następujących zadań: (1) identyfikacja genów i procesów komórkowych zaangażowanych w niestabilność powtórzeń CAG, (2) walidacja udziału wybranych genów/ścieżek w procesie niestabilności powtórzeń, (3) analiza czynników wpływających na niestabilność powtórzeń CAG (kontekst genetyczny i typ komórki) oraz (4) kontrolowane skrócenie powtórzeń CAG w mysim modelu choroby Huntingtona.

Nowe metody, takie jak CRISPRi i sekwencjonowanie nowej generacji, umożliwiają badanie złożonych procesów biologicznych w precyzyjny i wysokoprzepustowy sposób. Narzędzia te zostaną użyte do wielkoskalowej analizy genów i szlaków zaangażowanych w niestabilność powtórzeń CAG. Ponadto wykorzystamy ludzkie modele komórkowe zaburzeń neurodegeneracyjnych takie jak fibroblasty pacjentów, komórki iPSCs oraz wyprowadzone z nich komórki neuronalne i hepatocyty o identycznym tle genetycznym.

Obecnie nie ma sposobu terapii chorób spowodowanych ekspansją powtórzeń, a kilka zaawansowanych i obiecujących badań klinicznych dotyczących HD zakończyło się niepowodzeniem w tym roku. Opracowanie metody kontrolowanego „skrócenia” zmutowanych powtórzeń CAG mogłoby rozwiązać problem leczenia wielu ludzkich chorób genetycznych. Nasze doświadczenie w wielkoskalowej analizie powtarzających się sekwencji zdobyte podczas realizacji projektu, algorytmy bioinformatyczne i protokoły badawcze będą bardzo pomocne dla środowiska naukowego.