

## **Czynniki modulujące ekspresję genów *Muscleblind-like* w zdrowiu i chorobie**

Ekspansja trójnukleotydowego powtórzenia CTG w niekodującej części genu kinazy białkowej *DMPK* jest podłożem molekularnym dystrofii miotonicznej typu 1 (DM1), dziedzicznej choroby związanej m.in. z patologicznymi zmianami w histologii i fizjologii tkanki mięśniowej, objawiającymi się np. miotonią i miopatią mięśni szkieletowych oraz mięśnia sercowego. W procesie transkrypcji ze zmutowanego genu *DMPK* powstają toksyczne cząsteczki RNA zawierające ekspansję powtórzeń CUG, które z silnym powinowactwem wiążą białka *Muscleblind-like* (MBNL) będące kluczowymi regulatorami metabolizmu RNA w komórce, m.in. procesów alternatywnego składania genów (tzw. splicing alternatywny). Sekwestracja białek MBNL przez toksyczne RNA znacznie upośledza ich funkcję, prowadząc do nieprawidłowości w alternatywnym składaniu wielu docelowych cząsteczek pre-mRNA. W efekcie, produkowane są izoformy białek charakterystyczne dla rozwoju płodowego, niedostosowane do wymogów dorosłego organizmu, co skutkuje procesem chorobowym. Pomimo intensywnych badań, dystrofia miotoniczna pozostaje wciąż chorobą nieuleczalną, a jedyną możliwością pomocy dla pacjentów jest rehabilitacja i łagodzenie szerokiego zakresu objawów klinicznych.

Spośród trzech paralogów *MBNL*, *MBNL1* i *MBNL2* odgrywają szczególnie istotną rolę w DM1. Objawy chorobowe u myszy z nokautem genetycznym *Mbnl1* są dodatkowo pogłębione przez utratę *Mbnl2*, natomiast ogólnoustrojowa nadekspresja któregokolwiek z białek w mysim modelu choroby częściowo niweluje molekularne, histopatologiczne oraz fizjologiczne objawy DM1. Oba paralogi są silnie ekspresjonowane m.in. w mięśniach, tkance najbardziej dotkniętej przez DM1, oba są sekwestrowane przez toksyczny RNA i dzielą wspólne, a także odrębne zestawy funkcji i docelowych pre-mRNA. Co ciekawe, zarówno *MBNL1*, jak i *MBNL2* wykazują wzajemny kompensacyjny wzrost poziomu ekspresji w warunkach braku drugiego paraloga. Hipotetycznie, może to być mechanizm związany z przeciwdziałaniem objawom chorobowym i modyfikacją ich nasilenia. *W ramach projektu wykorzystamy nowatorskie narzędzia inżynierii genetycznej i biologii molekularnej, aby zbadać hipotezę, że zwiększenie endogennej ekspresji obu paralogów w komórkowym oraz mysim modelu choroby może skuteczniej przeciwdziałać sekwestracji przez toksyczny RNA i zwalczać kluczowe objawy DM1, poprzez rozszerzenie zakresu docelowych pre-mRNA. Zaproponowane narzędzia zostaną wykorzystane do identyfikacji nowych czynników modyfikujących ekspresję *MBNL1* i *2*, działających w układzie cis i trans, w tym odrębnych białek, DNA i RNA oddziałujących z regionami genomowego DNA badanych genów. Ponadto, wykorzystamy naturalny endogeny mechanizm autoregulacji białka *MBNL1* do stworzenia konstruktów ekspresyjnych umożliwiających działanie terapeutyczne bez ryzyka skutków ubocznych spowodowanych nadmierną akumulacją białka. Wiedza zdobyta w ramach tego projektu będzie wartościowym aspektem w terapii DM1 i będzie użyteczna w badaniach molekularnych innych chorób; zmniejszona ekspresja białek MBNL towarzyszy różnym typom raka i koreluje ze złym rokowaniem oraz zwiększonym ryzykiem nawrotu choroby i przerzutów. Przykłady obejmują supresyjną rolę *MBNL1* i *MBNL2* w raku piersi i jelita grubego, a także w raku wątroby. Podsumowując, wyniki tej pracy znajdują praktyczne zastosowanie w przyszłych projektach badawczych nie tylko w odniesieniu do DM1, ale także określonych typów nowotworów związanych z nieprawidłową regulacją genów *MBNL*.*