

„Ścieżka związana z translacją i aktywowane retrotranspozony jako podłoże choroby neurodegeneracyjnej ALS skorelowanej z mutacjami w genie *FUS*”

Celem projektu jest wyjaśnienie molekularnego mechanizmu stwardnienia zanikowego bocznego (ang. amyotrophic lateral sclerosis, ALS), związanego z mutacjami w genie *FUS*. ALS to śmiertelna choroba neurodegeneracyjna, której towarzyszy postępujący paraliż spowodowany degeneracją neuronów ruchowych w korze ruchowej, pniu mózgu i rdzeniu kręgowym. Mutacje w genie *FUS* zidentyfikowano w ~1% przypadków ALS, prowadzą one do niewłaściwej lokalizacji białka FUS w cytoplazmatycznych agregatach i zaburzają funkcje, jaką białko to pełni w jądrze komórkowym.

Uprzednio zaobserwowaliśmy nieprawidłowości w ludzkich modelowych liniach komórkowych z uszkodzeniem FUS, były to komórki z delecją genu *FUS* lub z wprowadzoną mutacją punktową związaną z ALS. Zmiany w komórce, które zaobserwowaliśmy, dotyczyły dwóch ścieżek molekularnych: i) podwyższonego poziomu małych jąderkowych RNA (ang. small nucleolar RNAs, snoRNAs), który korespondował z podwyższoną metylacją i pseudourydylacją rybosomowych RNA w odpowiednich pozycjach. Takie zmiany mogą wpływać na heterogenność rybosomów i mogą reprezentować związany z translacją (syntezą białek) mechanizm leżący u podłoża choroby ALS (Gawade et al., 2023, Sci Rep). ii) Podwyższony poziom retrotranspozonów (ruchomych elementów genetycznych), włączając retrotranspozon LINE-1, oraz obniżony poziom białka PIWIL1, co w efekcie może prowadzić do zaburzenia dojrzewania klasy małych RNA, zwanych piRNA (ang. PIWI-interacting RNAs). Zarówno PIWIL1 jak i piRNA są związane z regulacją ekspresji genów retrotranspozonów. Retrotranspozony są źródłem uszkodzeń DNA w procesie neurodegeneracji i mogą aktywować stany zapalne układu nerwowego.

W niniejszym projekcie użyjemy indukowanych pluripotentnych komórek macierzystych (ang. induced pluripotent stem cells, iPSCs) które zostały odróżnicowane z fibroblastów pochodzących od pacjentów w ALS z mutacją P525L w genie *FUS*, oraz ich izogenicznych kontroli (komórek, w których zmutowany gen został naprawiony do formy prawidłowej). Takie komórki będziemy następnie różnicować do różnych typów komórek nerwowych: prekursorowych komórek nerwowych, neuronów ruchowych, astrocytów i komórek glejowych. Dodatkowo, neurony ruchowe zostaną rozdzielone na części - ciało komórki i wypustkę aksonalną. Komórki te będą doskonałym modelem odzwierciedlającym fenotyp choroby, który widoczny jest głównie w komórkach nerwowych. Ponadto, wszystkie te komórki będą pochodziły od jednego pacjenta a zatem będą miały to samo podłoże genetyczne. Z użyciem tych komórek, planujemy potwierdzić wyniki uzyskane uprzednio z wykorzystaniem modelowych ludzkich linii komórkowych, HEK293T i SH-SY5Y.

Zaplanowane w projekcie eksperymenty mają na celu odpowiedź na następujące pytania naukowe: Jak zmienia się profil metylacji i pseudourydylacji rybosomowych RNA w komórkach nerwowych FUS-ALS w porównaniu z komórkami kontrolnymi? Czy ma to wpływ na zróżnicowanie rybosomów oraz czy zmienia wydajność i wierność procesu translacji? Czy mutacje ALS-FUS aktywują retrotranspozony, które z kolei stymulują procesy zapalne w układzie nerwowym? Czy regulacja białka PIWIL1 przez białko FUS jest zaburzona w chorobie ALS i jakie są tego konsekwencje? Czy FUS, razem z białkiem PIWIL1, bierze udział w dojrzewaniu cząsteczek piRNA i czy mutacje FUS związane z ALS prowadzą do zaburzenia dojrzewania cząsteczek piRNA?

Są dane wskazujące na udział translacji w zarówno wyrzucie jak i progresji choroby ALS. Ponadto, sugerujemy powiązanie pomiędzy białkiem FUS, PIWIL1, aktywacją retrotranspozonów i stanem zapalnym układu nerwowego. Jestem przekonana, że uzyskanie odpowiedzi na pytania postawione w niniejszym projekcie przyczynią się do zrozumienia procesu neurodegeneracji w chorobie ALS związanej z mutacjami FUS, co może w efekcie doprowadzić do bardziej precyzyjnej i odpowiedniej terapii.