

Badanie mutacji genów w podjednostkach RNAPIII związanych z chorobami neurodegeneracyjnymi: od modelu K562 do podejścia biofizycznego ex vivo

Anna Mrozek

Kierownik: **prof. dr hab. Wojciech Dzwolak**

Leukodystrofie hipomielinizacyjne (HLD) to grupa chorób neurodegeneracyjnych, w których defekty osłonki mielinowej otaczającej aksony prowadzą do zwyrodnienia istoty białej mózgu. HLD manifestują się szerokim spektrum objawów, od nieprawidłowego uzębienia i problemów ze wzrokiem po upośledzenia motoryczne i niepełnosprawność intelektualną [1]. Wykazano, że mutacje w genach kodujących podjednostki RNA Polimerazy III mogą powodować autosomalne recesywne postaci HLD [2].

Polimeraza RNA III (RNAPIII) jest kluczowym enzymem odpowiedzialnym za transkrypcję DNA do tRNA i różnych małych niekodujących RNA niezbędnych do przeżycia komórek [3]. Mutacje powodujące defekty w strukturze RNAPIII na obszarze styku jej podjednostek mają szczególne znaczenie dla funkcjonalności całego kompleksu.

Badania przeprowadzone w ramach pracy magisterskiej koncentrują się na biologicznych i biofizycznych konsekwencjach wprowadzenia mutacji do genów kodujących podjednostki RNAPIII. Do wprowadzenia mutacji w komórkach raka krwi K562 wykorzystano metodę CRISPR-Cas9, która jest obecnie złotym standardem edycji genomu w takich badaniach. Do analizy fenotypowej zastosowano metody, które wcześniej okazały się skuteczne w podobnych badaniach: poziom U6 snRNA zbadano przy użyciu metody RT-qPCR a dzięki użyciu tRNA-seq wykazano, w jaki sposób transkrypcja RNAPIII wpływa na poziom dojrzałych tRNA.

Składanie podjednostek w kompletną RNAPIII jest procesem wieloetapowym i kotranslacyjnym. Poszczególne pary podjednostek oddziałują na siebie jeszcze w trakcie translacji, co umożliwia ich późniejsze dopasowanie. Analizy biofizyczne umożliwią ocenę, które etapy składania RNAPIII zachodzą samoistnie, a które wymagają dodatkowych mechanizmów. W ramach biofizycznych badań projektu zostanie przeprowadzona ex vivo analiza porównawcza stabilności kompleksów podjednostek RNAPIII z wykorzystaniem spektroskopii fluorescencyjnej reszt tryptofanowych oraz spektroskopii dichroizmu kołowego.

Przeprowadzone badania przyczyniają się do lepszego zrozumienia, w jaki sposób mutacje w RNAPIII występujące w HLD, wpływają na składanie polimeraz RNA, i mogą nas przybliżyć do poznania mechanizmów chorobowych, a także kluczowych zagadnień dotyczących biogenezy kompleksów białkowych.

Literatura:

- [1] Bernard G, Vanderver A. GeneReviews. 2012.
- [2] Hiroto S. i in. AJHG. 2011, 89, 644–651.
- [3] Turowski TW i Boguta M. Front. Mol. Biosci. 2021, 8.