

Tytuł: Poszukiwanie kinezyn kluczowych dla patologicznego rozwoju neuronu w modelu stwardnienia guzowatego.

Autor: Jan Witold Węśławski

STRESZCZENIE

Stwardnienie guzowate (ang. *Tuberous Sclerosis Complex*, TSC), to rzadka, genetyczna choroba, objawiająca się licznymi, niezłośliwymi guzami w wielu narządach ciała, w tym w obrębie mózgu. Ze strony układu nerwowego objawami są lekooporne napady padaczkowe, niepełnosprawność intelektualna czy zaburzenia ze spektrum autyzmu. Genetycznym podłożem choroby są mutacje w genach *TSC1* lub *TSC2*, kodujących białka tworzące kompleks będący inhibitorem kinazy mTOR (ang. *Mammalian Target of Rapamycin*), co skutkuje jej nadmierną aktywacją. Na poziomie pojedynczego neuronu objawia się to min. znacznym zwiększeniem ciała komórki, jak i niekontrolowanym rozrostem drzewka dendrytycznego. Jako, że stosowanie w leczeniu choroby klasycznych inhibitorów mTOR takich jak rapamycyna, wiąże się z licznymi skutkami ubocznymi, wciąż konieczne jest poszukiwanie nowych celów terapeutycznych, w czym pomóc może lepsze zrozumienie procesów zachodzących zaburzonych komórkach. Jednym z takich procesów, dotąd słabo poznanych w kontekście nadaktywacji mTOR jest transport mikrotubularny, który w neuronie ze względu na jego charakterystyczną budowę z długimi dendrytami oraz aksonem odbywa się na wyjątkowo dalekie odległości. Za transport ten odpowiadają dwie grupy białek – dyneina-dynaktyna oraz kinezyne. Wcześniejsze badania prowadzone w Laboratorium Neurobiologii Molekularnej i Komórkowej wykazały pewne powiązania pomiędzy mTOR, a regulacją transportu pełnionego przez dyneinę. Natomiast nie są znane tego typu oddziaływania dla kinezyn. Tym samym, głównym celem niniejszej pracy było zbadanie, czy którekolwiek z białek należących do rodziny kinezyn, jest konieczne do obserwowanego nadmiernego wzrostu neuronu w modelu TSC, skutkującym nadaktywacją mTOR. W wyniku przeprowadzonych badań przesiewowych, wykazano, że KIF11, KIF12, KIF13A, KIF13B, KIF14, KIF15, KIF16B, KIF18A, KIF18B, KIF19, KIF1A, KIF1B, KIF20A, KIF21A, KIF21B, KIF22, KIF23, KIF24, KIF26A, KIF26B, KIF27, KIF2A, KIF2B, KIF2C, KIF3A, KIF3B, KIF3C, KIF4A, KIF5A, KIF5C, KIF6, KIF7, KIFC1, KIFC2, KIFC3 mogą być konieczne dla nadmiernego wzrostu neuronu spowodowanego aktywacją ścieżki mTOR przez kinazę 3-fosfatydyloinozytolu (PI3K), natomiast: KIF3A, KIF3C, KIF21B oraz KIF26B mogą być zaangażowane w nadmierny wzrost neuronu spowodowany wyciszeniem *TSC2*.

W drugiej części pracy podjęto próbę odnalezienia potencjalnych mechanizmów, w których funkcje pełnione przez kinezyne są kluczowe dla zmian obserwowanych przy nadmiernej aktywacji mTOR, zarówno w komórkach neuronalnych, jak i linii szczurzych fibroblastów. W efekcie przeprowadzonych eksperymentów, wykazano pewien udział KIF3A oraz KIF3C w regulacji powstawania i rozwoju pierwotnych rzęsek, zaburzonego w modelu TSC, choć dokładna natura tego oddziaływania pozostaje niejasna.

Title: Screening for kinesins critical for abnormal neuronal growth in tuberous sclerosis complex

Author: Jan Witold Weslawski

SUMMARY

Tuberous sclerosis complex (TSC) is a rare, genetic disorder characterized by the development of numerous benign tumors in various organs, including the brain. Neurological symptoms include drug-resistant seizures, intellectual disability, and autism spectrum disorder. The genetic basis of the disease lies in mutations in the *TSC1* or *TSC2* genes, which encode a protein complex that normally inhibits the mTOR kinase, resulting in its excessive activation. At the level of a single neuron, this manifests in a significant increase in cell size and uncontrolled growth of the dendritic tree. Since the use of classical mTOR inhibitors such as rapamycin in treating the disease, is associated with numerous side effects, it is desirable to develop new therapeutic targets, which could be aided by a better understanding of the processes occurring in affected cells. One such process, which is poorly understood in the context of mTOR hyperactivation, is microtubule transport. In neurons, due to their unique structure with long dendrites and axons, this process occurs over exceptionally long distances. This transport is carried out by two groups of proteins – dynein and kinesins. Previous research conducted in the Laboratory of Molecular and Cellular Neurobiology revealed some connections between mTOR and the regulation of dynein-mediated transport, but no such interactions are known for kinesins. Therefore, the main goal of this study was to determine whether any of the proteins belonging to the kinesin family, are necessary for the observed excessive neuronal growth in the TSC model, resulting from mTOR hyperactivation. Through screening studies, it was shown that KIF11, KIF12, KIF13A, KIF13B, KIF14, KIF15, KIF16B, KIF18A, KIF18B, KIF19, KIF1A, KIF1B, KIF20A, KIF21A, KIF21B, KIF22, KIF23, KIF24, KIF26A, KIF26B, KIF27, KIF2A, KIF2B, KIF2C, KIF3A, KIF3B, KIF3C, KIF4A, KIF5A, KIF5C, KIF6, KIF7, KIFC1, KIFC2, and KIFC3 may be necessary for the excessive neuronal growth caused by activation of the mTOR pathway through phosphoinositide 3-kinase (PI3K), while KIF3A, KIF3C, KIF21B, and KIF26B may be involved in excessive neuronal growth resulting from TSC2 silencing.

In the second part of the study, an attempt was made to identify potential mechanisms by which the functions of kinesins are crucial for the changes observed in the context of excessive mTOR activation, both in neuronal cells and in rat fibroblast cell lines. The experiments demonstrated some involvement of KIF3A and KIF3C in the regulation of the formation and development of primary cilia, which is disrupted in the TSC model, although the exact nature of this interaction remains unclear.

Słowa kluczowe (PL): kinezyna, mTOR, TSC, transport molekularny, neuron, KIF

Key words (EN): kinesin, mTOR, TSC, molecular transport, neuron, KIF