

Streszczenie

Miozyna VI (MVI) należy do nadrodziny miozyn, która obejmuje ponad 35 rodzin zróżnicowanych pod względem budowy i funkcji, a jej przedstawiciele występują niemal we wszystkich organizmach eukariotycznych. MVI wyróżnia się spośród poznanych miozyn niekonwencjonalnych (tzn. takich, które nie tworzą filamentów) zdolnością do poruszania się w kierunku „minus” filamentu aktynowego. Białko to bierze udział w licznych procesach komórkowych, takich jak: endocytoza i egzocytoza, transkrypcja genów, migracja komórek, stabilizacja struktury aparatu Golgiego, adhezja oraz autofagia. Szeroki zakres funkcji komórkowych MVI jest możliwy dzięki jej interakcjom z wieloma partnerami białkowymi. Mutacje w genie *Myo6* prowadzą do utraty słuchu oraz kardiomiopatii przerostowej. Zespół profesor Rędownicz po raz pierwszy wykazał, że MVI występuje w mięśniach szkieletowych, gdzie lokalizuje się w postsynaptycznej części złącza nerwowo-mięśniowego, siateczce sarkoplazmatycznej oraz jądrze komórkowym. Ponadto, nasza grupa odkryła, że brak MVI zaburza mechanizmy odpowiedzialne za organizację cytoszkieletu komórek miogennych oraz wpływa na adhezję i fuzję mioblastów. Co więcej, wykazaliśmy również, że stosunek masy mięśni do masy ciała jest zwiększony u myszy niesyntetyzujących MVI. W oparciu o te obserwacje podjęłam badania w celu określenia funkcji MVI w mięśniach szkieletowych. Badania przeprowadziłam z wykorzystaniem myszy *Snell's waltzer* (SV, MVI-KO). Myszy te posiadają spontaniczną recesywną mutację w genie *Myo6*, która uniemożliwia syntezę funkcjonalnej MVI. Myszy MVI-KO są głuche oraz wykazują charakterystyczny fenotyp objawiający się poprzez kręcenie się w kółko, potrząsanie głową oraz nadpobudliwość. W swoich badaniach wykorzystywałam mięśnie kończyny tylnej nowonarodzonych myszy (P0) oraz myszy w wieku 3- i 12-miesięcy. Kontrolę stanowiło heterozygotyczne rodzeństwo myszy MVI-KO, określane w niniejszej pracy jako WT.

W trakcie przeprowadzonych badań wykazałam, że ekspresja *Myo6* oraz poziom MVI są najwyższe w mięśniach kończyny tylnej nowonarodzonych myszy i znacząco spadają wraz z wiekiem. Co więcej, zarówno poziom transkryptu, jak i białka MVI jest zależny od typu mięśnia - najwyższe poziomy obserwuje się w wolnokurczliwym mięśniu płaszczkowatym (SOL) dorosłych myszy. Utrata lub obniżenie poziomu MVI prowadzi do znacznego upośledzenia procesu oddychania komórkowego w komórkach miogennych. Wynik ten był spójny z niższym poziomem ATP, który zaobserwowałam zarówno w komórkach miogennych, jak i w mięśniach szkieletowych u myszy MVI-KO w porównaniu do kontroli. Ponadto wykazałam różnice w aktywności szlaków cAMP/PKA oraz AMPK/mTOR w mięśniach szkieletowych myszy MVI-KO w odniesieniu do WT. Zmiany w kluczowych szlakach metabolicznych były dodatkowo związane z aktywacją procesów lipolitycznych u myszy MVI-

KO oraz przemianą włókien mięśniowych z typu glikolitycznego w oksydacyjny. Brak MVI skutkowało również zaburzeniami w morfologii włókien mięśniowych, które przejawiały się poprzez ich większą liczbę oraz mniejszy przekrój poprzeczny w porównaniu do WT.

Podsumowując, niniejsza rozprawa przedstawia dane wskazujące na nową rolę MVI w funkcjonowaniu mięśni szkieletowych. Uzyskane przeze mnie wyniki sugerują, że MVI jest zaangażowana w utrzymanie morfologii włókien mięśniowych oraz regulację metabolizmu mięśni szkieletowych.

Summary

Myosin VI (MVI) is a member of the myosin superfamily, which consists of over 35 structurally and functionally diverse families, with representatives found in nearly all eukaryotic organisms. It is the only unconventional (*i.e.* not forming filaments) myosin that moves toward the “minus” end of actin filament. This molecular motor is involved in numerous cellular processes such as endo- and exocytosis, gene transcription, cell migration, maintenance of the Golgi apparatus, adhesion, and autophagy. Its wide range of cellular functions is possible through interactions with various binding partners within multi-protein complexes. Mutations in the *Myo6* gene lead to hearing loss and hypertrophic cardiomyopathy. Professor Rędowicz's team was the first to demonstrate that MVI is also present in skeletal muscles where it localizes to the postsynaptic region of the neuromuscular junction, the sarcoplasmic reticulum and myonuclei. Additionally, our group demonstrated that the absence of MVI disrupts the mechanisms responsible for cytoskeleton organization, as well as myoblast adhesion and fusion. Moreover, we also showed that the muscle-to-body mass ratio is increased in mice lacking MVI. Based on these observations, I aimed to deepen the understanding of the role of MVI in skeletal muscles. I performed my study using *Snell's waltzer* mice (*SV*, MVI-KO), which are considered as natural MVI knockout due to a spontaneous recessive mutation in the *Myo6* that prevents the synthesis of functional MVI. MVI-KO mice are deaf and exhibit hyperactivity, circling and head tossing. I examined the hindlimb muscle from newborn (P0) as well as 3-, and 12-month old mice. Heterozygous littermates were the control, referred to in this study as WT.

I have shown that MVI mRNA and protein synthesis is the highest in muscles of newborn mice and significantly decreases with age. Furthermore, MVI transcript and protein levels are muscle-type dependent, with the highest amount observed in the slow-twitch soleus muscle (SOL) of adult mice. Loss or depletion of MVI leads to a significant impairment of the respiratory capacity of myogenic cells. This was accompanied by lower levels of ATP in both myogenic cells and skeletal muscles. Moreover, I observed differences in the activity of the cAMP/PKA and AMPK/mTOR pathways in the skeletal muscles of MVI-KO mice. Alterations in these key metabolic pathways were associated with activation of lipolysis and a transition from glycolytic to oxidative fiber types in muscles of MVI-KO mice. In addition, the absence of MVI also resulted in changes in myofiber morphology as I noticed lower values of the cross-sectional area of muscle fibers and their higher number.

In summary, this dissertation presents a data indicating a novel role of MVI in the functioning of skeletal muscles. My findings indicate that MVI is involved in the maintenance of the myofiber morphology and regulation of skeletal muscle metabolism.