

Streszczenie

Trzy paralogi Muscleblind-like (**MBNL**) są białkami wiążącymi się do RNA, które odgrywają istotną funkcję w regulacji metabolizmu RNA, na przykład w alternatywnym splicingu. Sekwestracja białek MBNL na transkryptach zawierających wydłużone powtórzenia CUG (**CUG^{exp}**), a co za tym idzie obniżenie ich dostępności w nukleoplazmie, jest przyczyną choroby genetycznej nazwanej dystrofią miotoniczną typu 1 (**DM1**). Celem niniejszego projektu doktorskiego było lepsze poznanie fizjologicznej funkcji trzech paralogów MBNL oraz ich izoform splicingowych, a także poznanie udziału tych białek w formowaniu patogennych oddziaływań z toksycznymi transkryptami CUG^{exp}. W toku realizacji pracy doktorskiej stworzyłem wysokorozdzielcze mapy oddziaływania paralogów Mbnl z transkryptomem, które zostały zwizualizowane w postaci serwisu internetowego *Mbnl Interactome Browser* (MIB) dostępnego pod adresem MIB.amu.edu.pl. Następnie, skoncentrowałem się na zaburzeniu alternatywnego splicingu transkryptu genu *NASP*, kodującego białko o aktywności opiekuńczej histonów, które jest odpowiedzialne za prawidłowy przebieg cyklu komórkowego. Nadmierna reprezentacja izoformy splicingowej tNASP w DM1 może prowadzić do osłabienia potencjału proliferacyjnego komórek, co może być przyczyną upośledzonej regeneracji mięśni. W ostatnich dwóch projektach określiłem czynniki które wpływają na różnice w aktywności paralogów MBNL i ich izoform splicingowych. Przeprowadzone eksperymenty dowodzą, iż wszystkie badane białka regulują splicing tych samych alternatywnych egzonów i z różnym powinowactwem wiążą się do tych samych motywów sekwencyjnych. MBNL1 jest najsilniejszym, a MBNL3 najsłabszym regulatorem alternatywnego splicingu. Wykazałem również, iż jądrowe agregaty (*foci*) zawierające CUG^{exp} są dynamicznymi strukturami z gęsto upakowanymi białkami MBNL, które zwiększają objętość *foci* oraz swobodnie wiążą się i oddysocjują od tego makrokompleksu. Spośród trzech paralogów, MBNL1 jest najbardziej mobilnym, podczas gdy MBNL3 jest raczej statycznym białkiem w tych strukturach jądrowych. Alternatywne sekwencje aminokwasowe występujące w MBNL na skutek alternatywnego splicingu wpływają zarówno na aktywność splicingową, jak i mobilność białek w *foci* zawierających CUG^{exp}.

Abstract

Three Muscleblind-like (**MBNL**) paralogs are RNA-binding proteins which are crucial for the regulation of RNA metabolism e.g. alternative splicing. The functional insufficiency of MBNLs plays an important role in the pathomechanism of myotonic dystrophy type 1 (**DM1**) in which they are sequestered on transcripts containing expanded CUG repeats (**CUG^{exp}**). The aim of this project was to develop knowledge on the physiological function of three MBNL paralogs and their splicing isoforms as well as to elaborate their contribution to formation of adverse complexes/interactions with toxic CUG^{exp} transcripts. During my research I developed the whole transcriptomic maps of Mbnl's interactome which were visualized in Mbnl Interactome Browser (MIB) available at MIB.amu.edu.pl. Then, I focused on the DM1-specific misregulation of alternative splicing of *NASP* which encodes a crucial histone chaperone responsible for the proper cell cycle progression. The overexpression of tNASP isoform caused by missplicing of ex.t might lead to the deterioration of cells proliferation capacity and the worsening of muscle regeneration. In the last two projects, I determined factors that which have an impact on differences in activity of MBNLs. My results show that all of them regulate alternative splicing of the same exons, bind the same sequence motifs in RNAs but with different affinity and that MBNL1 is the most whereas MBNL3 is the least active splicing factor. I also proved that CUG^{exp} foci are dynamic structures with vastly packed MBNLs which increase their size, freely dissociating and binding to those complexes. Among the three paralogs, MBNL1 is the most mobile contrary to the rather static MBNL3. Sequences encoded by alternative exons of MBNLs modulate both the splicing activity and mobility of MBNLs in CUG^{exp} containing foci.