

mgr inż. Marianna Pewińska-Kolodziejczak

Opracowanie nowych wariantów sztucznych mikroRNA do selektywnego obniżania poziomu zmutowanego białka w podejściu terapeutycznym dla choroby Huntingtona

Choroba Huntingtona (HD) oraz inne schorzenia spowodowane ekspansją powtórzeń CAG należą do nieuleczalnych chorób neurodegeneracyjnych. Jedną z najbardziej obiecujących strategii terapeutycznych wykorzystuje naturalny mechanizm interferencji RNA (RNAi). Kluczowym wyzwaniem w tym podejściu jest zachowanie równowagi między skutecznością terapeutyczną a bezpieczeństwem stosowanych cząsteczek, ze szczególnym uwzględnieniem minimalizacji efektów niespecyficznych. Wcześniej opracowana cząsteczka będąca sztucznym mikroRNA, amiR136 A2, celująca w powtórzenia CAG i posiadająca niesparowanie w pozycji 8 nici wiodącej, wykazywała dobrą efektywność wyciszania *HTT* oraz allelo-selektywność, ale jej dalszy rozwój ograniczały pewne niedoskonałości, takie jak niższa aktywność w korze mózgu oraz obecność w pełni komplementarnych sekwencji poza celem.

Celem niniejszej rozprawy było opracowanie zmodyfikowanej wersji amiR136-A2 poprzez wprowadzenie dodatkowej substytucji nukleotydowej, mającej na celu zwiększenie bezpieczeństwa przy zachowaniu albo poprawie skuteczności. Spośród przetestowanych wariantów, cząsteczka amiR136-13A – zawierająca dodatkowe niesparowanie w pozycji 13 – wykazała wyższą efektywność wyciszania zmutowanego genu *HTT* zarówno w modelach komórkowych HD, jak i zwierzęcym, osiągając porównywalny efekt przy zastosowaniu dawki wektora AAV5 niższej o połowę w porównaniu do wariantu wyjściowego.

amiR136-13A charakteryzowała się zmniejszoną liczbą potencjalnych sekwencji off-target, korzystnym profilem obróbki komórkowej, zwiększonym udziałem nici wiodącej w stosunku do amiR136-A2, oraz wysoką homogennością końca 5' w prążkowie myszy YAC128. W modelu *in vivo* wykazano, że cząsteczka jest dobrze tolerowana do 28 tygodnia od iniekcji, nie prowadzi do aktywacji mikrogleju ani astrogleju, nie powoduje wzrostu poziomu lekkiego polipeptydu neurofilamentów (NfL) w surowicy, a także nie powoduje efektów off-target. Dodatkowo, w modelu komórkowym z indukowaną ekspresją *HTT1a* potwierdzono zdolność cząsteczki do obniżania poziomu toksycznej, krótkiej formy huntingtyny, która istotnie przyczynia się do patogenezy HD.

Uzyskane wyniki wskazują, że amiR136-13A stanowi bezpieczniejszą i efektywniejszą alternatywę dla amiR136-A2 i jest zarazem obiecującym kandydatem do dalszego rozwoju jako potencjalne narzędzie terapeutyczne dla HD oraz innych chorób poliglutaminowych.