

Abstrakt

ADP-ribosylace je běžná postranlační modifikace, která reguluje různé buněčné procesy, včetně oprav poškozené DNA. Tento proces je katalyzován poly-ADP-ribóza polymerázami (PARP) a zahrnuje přenos ADP-ribózových jednotek z redoxního kofaktoru NAD^+ na proteiny, včetně histonů. Pro udržení buněčné homeostázy musí být řetězce ADP-ribózy rychle odbourávány ADP-ribosyl glykohydrolázami. Ačkoliv je poly-ADP-ribóza glykohydroláza (PARG) vysoce účinná, nedokáže odštěpit poslední ADP-ribózovou jednotku. Proto se na odstranění terminální mono-ADP-ribózy podílejí dvě glykohydrolázy TARG1 a ARH3. Tento proces odstranění je nezbytný, protože umožňuje přístup opravných faktorů na poškozené místo DNA. Hlavním cílem této práce je charakterizovat buňky získané od pacientů s homozygotními mutacemi ARH3 a vyvinout vhodné nástroje pro lepší pochopení molekulárního mechanismu, kterým mutace ARH3 ovlivňují ADP-ribosylaci, a jak přispívají ke vzniku souvisejícího neurologického onemocnění. Za tímto účelem jsem měřila hladiny proteinu ARH3 a detekovala zvýšenou mono-ADP-ribosylaci ve fibroblastech získaných od pacientů s mutací v ARH3. Dále jsem hodnotila citlivost těchto buněk k různým inhibitorům PARP, které mají potenciál pro terapeutickou léčbu. Pro získání hlubšího vhledu do toho, jak přesně dysregulovaná ADP-ribosylace ovlivňuje architekturu a vývoj mozku, je nezbytné vytvořit relevantnější studijní model. Proto jsem z fibroblastů získaných od pacienta vytvořila indukované pluripotentní kmenové buňky (iPSCs), potvrdila jejich pluripotenci, a změřila hladiny ADP-ribosylace. Dále jsem tyto iPSCs použila pro kultivaci mozkových organoidů. Vytvoření iPSCs a mozkových organoidů poskytne cenný modelový systém pro studium vlivu dysregulované ADP-ribosylace na architekturu a vývoj mozku, a nabídne tak nový vhled do patogeneze neurologických poruch.

Klíčová slova: ARH3, SSB, SSBR, neurodegenerace, ADP-ribosylace, DNA poškození, iPSCs, organoidy.