

Functional analysis of C6orf203 protein, a new factor involved in RNA metabolism in human mitochondria

Analiza funkcjonalna białka C6orf203, nowego czynnika zaangażowanego w metabolizm RNA w mitochondriach człowieka



Anna Victoria Kotrys

Streszczenie rozprawy doktorskiej

Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk

Warszawa, 2020

Prawidłowa ekspresja genomu mitochondrialnego jest niezbędna do zachowania homeostazy komórkowej, a jej zaburzenia mogą prowadzić do chorób u człowieka. W niektórych warunkach fizjologicznych lub stresowych może dochodzić do tymczasowego zmniejszenia liczby kopi genomu mitochondrialnego lub obniżenia poziomu jego transkrypcji. Co interesujące, nie zawsze obniżenie poziomu mitochondrialnego DNA (mtDNA) powoduje obniżenie ilości mitochondrialnego RNA (mtRNA). Sugeruje to istnienie mechanizmów kompensacyjnych działających na poziomie transkrypcyjnym i/lub post-transkrypcyjnym, które mogą chronić komórkę przed szkodliwymi skutkami obniżenia poziomu mtDNA. Pomimo, iż działanie podstawowego aparatu transkrypcji mtDNA jest znane, to niewiele wiadomo jak regulowana jest transkrypcja mtDNA w odpowiedzi na warunki stresowe. Nie wiadomo również jakie białka mogłyby być zaangażowane w ten proces.

Dane literaturowe wskazują, że poziom niektórych białek zaangażowanych w metabolizm mitochondrialnych kwasów nukleinowych u człowieka jest zależny od ilości mtRNA/mtDNA. Na tej podstawie postawiłam hipotezę, że poziom innych, nieznanymi czynników zaangażowanych w metabolizm ludzkich mitochondrialnych kwasów nukleinowych może być regulowany w podobny sposób. Aby zidentyfikować takie białka przeprowadziłam analizę proteomu mitochondrialnego z wykorzystaniem proteomiki ilościowej. Eksperymenty te doprowadziły do zidentyfikowania białka C6orf203 jako białka, którego poziom wzrasta w warunkach zaburzonej ekspresji mtDNA.

Celem badań przeprowadzonych w ramach rozprawy doktorskiej była charakterystyka i analiza funkcjonalna ludzkiego białka C6orf203, wytypowanego jako potencjalny nowy czynnik zaangażowany w metabolizm mitochondrialnych kwasów nukleinowych. Analiza *in silico* sekwencji białka C6orf203 wykazała jego prawdopodobną mitochondrialną lokalizację oraz obecność domeny wiążącej RNA. Stwierdziłam, że białko C6orf203 jest obecne w macierzy mitochondrialnej oraz że wiąże RNA *in vitro* oraz *in vivo*. Wykazałam, że podwyższony poziom białka C6orf203 zapobiega obniżeniu poziomu mtRNA w warunkach zaburzonej ekspresji mtDNA. „Ochronny” efekt C6orf203 zależy od jego zdolności do wiązania RNA, ponieważ zmiana aminokwasów w C6orf203 niezbędnych do wiązania RNA znosi jego „ochronną” funkcję. Stwierdziłam, że C6orf203 pełni swoją funkcję poprzez zwiększenie poziomu transkrypcji mtDNA, podczas gdy białko to nie ma wpływu na post-transkrypcyjną regulację stabilności mtRNA. Wykazałam również, że C6orf203 oddziałuje z podjednostkami mitochondrialnej maszynerii transkrypcyjnej.

Wyniki uzyskane w ramach przedstawionej rozprawy doktorskiej pozwoliły mi zaproponować, że podwyższenie poziomu białka C6orf203 służy jako mechanizm kompensacyjny, który przeciwdziała skutkom nieprawidłowej ekspresji mtDNA. Jak dotąd jest to jedyne zidentyfikowane ludzkie białko o takiej funkcji.