

STRESZCZENIE

Dystonia torsyjna typu 1 (DYT1) jest dziedziczną chorobą neurologiczną układu pozapiramidowego, która związana jest z zaburzeniami funkcjonowania jąder podstawy i przejawia się występowaniem mimowolnych skurczów mięśni o charakterze ogniskowym lub uogólnionym. Jest to jedna z najczęstszych postaci dystonii okresu rozwojowego. Za wystąpienie objawów tej choroby odpowiedzialne jest uszkodzenie funkcji genu o nazwie *TOR1A*, przy czym jedyną zmianą o potwierdzonym charakterze patogennym jest delecja trzech kolejnych nukleotydów skutkująca usunięciem jednej z dwóch sąsiednich reszt kwasu glutaminowego ($\Delta E302/303$) w karboksylowej części białka TOR1A. Celem niniejszego projektu było zbadanie wpływu ekspresji różnych zmutowanych form torsyny 1A na subkomórkową lokalizację prawidłowego białka TOR1A, a także próba potwierdzenia wcześniejszych doniesień sugerujących funkcjonowanie TOR1A jako białka opiekuńczego oraz identyfikacja białek wykazujących ewentualne zmiany w dystrybucji subkomórkowej pod wpływem ekspresji patogenicznej wersji TOR1A.

Wyniki przedstawione w niniejszej pracy dostarczają szeregu ważnych spostrzeżeń mogących przyczynić się do bliższego zrozumienia roli białka TOR1A w patomechanizmie dystonii torsyjnej typu 1. Doświadczenia nad koekspresją różnych wariantów torsyny 1A wykazały, iż oddziaływania między różnymi cząsteczkami TOR1A są uzależnione zarówno od obecności aktywnej enzymatycznie formy białka, jak i od lokalizacji cząsteczek TOR1A w świetle siateczki śródplazmatycznej lub otoczki jądrowej, co sugeruje prawdopodobny udział innych białek z tychże przedziałów komórkowych w relokalizacji prawidłowego białka pod wpływem jego zmutowanej formy. Otrzymane wyniki nie potwierdzają również wcześniejszych doniesień o opiekuńczej roli białka TOR1A, a przynajmniej sugerują, że taka potencjalna funkcja opiekuńcza ma stosunkowo selektywny charakter, o czym świadczy niezdolność torsyny 1A do zahamowania procesu wewnątrzkomórkowej agregacji N-końcowych fragmentów zmutowanej huntingtyny w badanych warunkach. Stosując spektrometrię mas udało się jedynie wstępnie wyselekcjonować grupę białek wykazujących niewielką (tj. nieistotną statystycznie) tendencję do zmian w dystrybucji subkomórkowej pod wpływem nadekspresji zmutowanego białka TOR1A. Ponieważ jednak znane funkcje tych białek wydają się być potencjalnie związane z procesami zaangażowanymi w patogenezę DYT1, powinno to przyczynić się do ukierunkowania dalszych badań zmierzających do zrozumienia patofizjologii dystonii torsyjnej typu 1, a w konsekwencji być może do wyboru skutecznej strategii leczenia tej choroby.

Torsion dystonia type 1 (DYT1) is a hereditary neurological disorder of the extrapyramidal system characterized by involuntary, sustained muscle contractions affecting one or both sides of the body. DYT1 is considered one of the most common forms of dystonia in children and juveniles. The disease is caused by an in-frame deletion of three consecutive nucleotides (GAG) in the *TOR1A* gene, encoding a protein named torsin 1A (TOR1A). On the protein level, this causes a deletion of one of the two neighboring glutamic acid residues (Δ E302/303) within the C-terminal part of the protein. The aim of this study was to elucidate the relationship between the structure and function of torsin 1A, which included investigating the impact of different mutant TOR1A variants on subcellular distribution of the wild-type protein, verifying previous reports suggesting that TOR1A functions as a chaperone protein, and identifying proteins showing an altered subcellular distribution as a result of the co-expression with the pathogenic variant of torsin 1A.

The results of presented experiments provide a series of important findings that shed more light on the pathomechanism of DYT1. The analysis of the co-expression of different variants of TOR1A suggests that efficient interactions between particular variants of torsin 1A require an enzymatically active form of this protein to be localized in the endoplasmic reticulum or in the nuclear envelope. This in turn suggests that other proteins located in those specific intracellular compartments might significantly contribute to the observed relocalization of the wild type protein TOR1A in the presence of a pathogenic form of TOR1A. Over-expression of the wild-type form of torsin 1A does not seem to inhibit the intracellular aggregation of the N-terminal fragments of mutant huntingtin under studied conditions, which does not support the chaperon activity of torsin 1A, or at least suggests that such a hypothetical activity of TOR1A has a relatively selective character. When using mass spectrometry, only a small group of proteins showing very low (ie. statistically insignificant) tendency to relocate within the cell under the presence of a mutant form of TOR1A has been identified. However, the functions of those proteins seem to be associated with many cellular processes that are potentially involved in the pathogenesis of DYT1, which makes them prospective targets for future investigations directed towards elucidating the pathophysiology of the disease and designing new strategies for efficient therapy.