

STRESZCZENIE

Mutacje nonsensowne wprowadzają przedwczesne kodony STOP (ang. *premature termination codons*; PTC) w regionie kodującym mRNA, prowadząc do niewłaściwej terminacji translacji a w efekcie, do powstania niefunkcjonalnych białek. Szacuje się, że obecność PTC jest przyczyną około 20% wszystkich chorób genetycznych. Translacyjny odczyt PTC (*PTC readthrough*) indukowany związkami chemicznymi jest metodą potencjalnie pozwalającą na przywrócenie ekspresji funkcjonalnych białek oraz redukcję objawów choroby, bez ingerencji w genom lub transkryptom pacjenta.

W niniejszej pracy zbadano zdolność wybranych antybiotyków aminoglikozydowych (ang. *aminoglycosides*; AAGs) do stymulacji *PTC readthrough* w genach, których mutacje są przyczyną pierwotnej dyskinezy rzęsek (ang. *primary ciliary dyskinesia*; PCD), choroby powodującej upośledzenie ruchliwości rzęsek obecnych w organizmie. Wpływ różnych stężeń kilku AAGs na *PTC readthrough* był badany w dwóch systemach eksperymentalnych: *in vitro* oraz *ex vivo*, przy użyciu konstruktów zawierających sekwencje PTC wraz z bliskim otoczeniem nukleotydowym. Wydajność *PTC readthrough* analizowano w odniesieniu do 17 mutacji w genach związanych z patogenezą PCD. Badania obejmowały także analizę cytotoksyczności AAGs dla komórek nabłonka oddechowego oraz ich wpływu na funkcję i tworzenie się rzęsek.

Dla pięciu analizowanych mutacji zaobserwowano *PTC readthrough*, wydajność tego procesu różniła się w zależności od typu PTC oraz zastosowanego stężenia i rodzaju AAGs. W eksperymentach *in vitro* poziom *PTC readthrough* wynosił między 1% a 28% poziomu translacji konstruktów typu dzikiego (nie zawierających przedwczesnego kodonu STOP). W warunkach *ex vivo* (transfekowane linie komórek HEK293), mimo zastosowania stężeń AAGs większych o dwa rzędy wielkości, supresja PTC była 3-5 razy niższa niż w warunkach *in vitro*. Ponadto, najbardziej efektywny AAGs, G418, był również najbardziej toksyczny dla komórek nabłonka oddechowego i w wyższych stężeniach wpływał negatywnie na tworzenie się rzęsek. Pozostałe AAGs (gentamycyna, paromomycyna i amikacyna), nie wykazywały zwiększonej toksyczności dla komórek nabłonka.

Wyniki otrzymane w niniejszej pracy pozwoliły wytypować cztery najlepiej odpowiadające PTC i wybrać najbardziej efektywne AAGs. Równocześnie, badania wskazały na potrzebę poszukiwania dalszych związków indukujących *PTC readthrough*, o znacznie niższej toksyczności i większej przenikalności przez błonę komórkową.