

mgr Justyna Jędrychowska

Rola kanałów potasowych bramkowanych  
napięciem w rozwoju ucha wewnętrznego u danio  
pręgowanego

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu  
w dyscyplinie nauki medyczne

Promotor:

prof. dr hab. Jacek Kuźnicki

Promotor pomocniczy:

dr Vladimir Korzh

Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej

w Warszawie

Laboratorium Neurodegeneracji



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2020

## Streszczenie

Kanały potasowe bramkowane napięciem (Kv) są selektywnymi białkami transbłonowymi, które umożliwiają transport  $K^+$  w komórkach pobudliwych i niepobudliwych, gdzie pełnią ważną rolę w utrzymywaniu potencjału spoczynkowego. Są one zaangażowane w różnorodne, kluczowe procesy biologiczne, w tym: utrzymanie potencjału czynnościowego, regulację apoptozy, wzrost komórki, uwalnianie neuroprzekazników, itp. Z tego powodu, nieprawidłowości w ich działaniu powiązane z występowaniem kilku chorób ludzkich, takich jak epilepsja, encefalopatia, ataksja czy głuchota. Głównym celem tej pracy doktorskiej było zbadanie roli dwóch  $\alpha$ -podjednostek, tworzących Kv, tj. Kcnb1 (Kv2.1) i Kcng4b (Kv6.4) w rozwoju ucha wewnętrznego.

Danio pręgowany, mała ryba doskonałokostna, został użyty jako zwierzę modelowe w przeprowadzonych badaniach. Fenotyp wcześniej stworzonego, przy użyciu techniki CRISPR/Cas9, mutantu genu *kcnb1* w pracy tej opisano w kontekście rozwoju ucha wewnętrznego. Przy użyciu zmodyfikowanej wersji wymienionej techniki, wygenerowano dwa nowe mutanty *kcnb1*. W celu charakterystyki fenotypów mutantów użyto szerokiego wachlarza technik, w tym: metod prowadzących do utraty lub nabycia funkcji białka, obrazowania *in vivo* przy wykorzystaniu mikroskopii fluorescencyjnej light sheet, immunohistochemii i hybrydyzacji *in situ*, podstawowych testów behawioralnych i qRT-PCR. Ponadto, wpływ wprowadzenia trzech różnych ludzkich mutacji w KCNB1 (p:I199F, p:V378A, p:G379R) do embrionów danio pręgowanego oceniono za pomocą rozwiniętego w tej pracy testu "mózg i ucho wewnętrzne" *in vivo*.

Wyniki wykazały, że mutacje w Kcnb1 i Kcng4b wpływają na rozwój uszu, prowadząc do ich nieprawidłowej morfologii i funkcji. Wprowadzenie zmutowanych wersji ludzkiego KCNB1 do rozwijających się embrionów danio pręgowanego doprowadziło do powstawania defektów ucha wewnętrznego i układu komorowego mózgu o różnym stopniu nasilenia. Efekt ten był uwydatniany w eksperymentach przywracania funkcji białka. Dodatkowo, przeprowadzono analizę relacji syntenicznych zduplikowanych genów danio pręgowanego, która ujawniła istnienie znaczącej liczby genów, których nazwy zostały nieprawidłowo przypisane.

Podsumowując, badania przeprowadzone w ramach tej pracy doktorskiej potwierdziły udział Kcnc1 i Kcng4b w rozwoju i funkcji ucha wewnętrznego. Dodatkowo, po raz pierwszy wykazano związek pomiędzy mutacjami w Kv2.1 lub Kv6.4 i nieprawidłowym funkcjonowaniem tego narządu.

Prady

Skiniel

Corin