

Projekt 9.3 Eksperymentalna analiza determinantów molekularnych biorących udział w padaczce (NCN/OPUS)

Promotor: Profesor Jacek Kuźnicki, **promotor pomocniczy/kierownik projektu:** dr Vladimir Korzh

Instytut: Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie

Jednostka organizacyjna: Laboratorium Neurodegeneracji

WWW: <https://bit.ly/2SVfXgA>

Opis:

Dotychczasowo efekty mutacji w *KCNB1* powodujących u ludzi encefalopatię padaczkową analizowano głównie przy użyciu elektrofizjologii w układach heterologicznych *in vitro*. Badanie wpływu poszczególnych mutacji w genie *KCNB1* na rozwój organizmu było uwarunkowane dostępnością pojedynczych mutantów u myszy i ryby danio pręgowanego (Shen i in., 2016). Utrata funkcji *Kcnb1* (LOF) lub nabycie funkcji *Kcnb1* (GOF) powodują specyficzne zmiany morfologiczne w komorach mózgu (Shen i in., 2016) i w uchu wewnętrznym (Jędrychowska i in., 2020), zarówno w trakcie wczesnych stadiów rozwojowych embrionów, jak i u larw danio pręgowanego. Linie transgeniczne danio pręgowanego ekspresjonujące fluorescencyjnie wyznakowane markery komórkowe dla wybranych struktur pozwalają na efektywną analizę zmian wywołanych przez badane mutacje. Wysokorozdzielcza mikroskopia transgenicznych embrionów i larw *in vivo* dostarcza informacji o mechanizmach rozwojowych, jak również o zmianach w aktywności określonych szlaków sygnałowych. Narzędzia te umożliwiają zbadanie wpływu różnych mutacji w *KCNB1* w poszczególnych stadiach rozwojowych w czasie rzeczywistym. Wyniki wstępnych eksperymentów z wykorzystaniem ryb danio po wprowadzeniu ludzkiego zmutowanego mRNA *KCNB1* potwierdzają zasadność dla przyjętej w projekcie metodologii badawczej. *KCNB1* GOF powoduje apoptozę komórek mózgu, ekspansję komórek mózgu (wodogłowie) oraz zmiany w obrębie ucha wewnętrznego i jego otolitów. Cechy te odzwierciedlają fenotyp mutantu *kcnb1* danio pręgowanego, stanowiąc uzasadnienie dla jego wykorzystania w analizie zmian rozwojowych *in vivo* w mózgu i uchu powiązanych z efektami ludzkich mutacji w genie *KCNB1*.

Cel projektu:

Przy wykorzystaniu mutagenyzy CRISPR-Cas9 w danio pręgowanym będą generowane reprezentatywne mutacje *Kcnb1*, które naśladują znane ludzkie mutacje *KCNB1*. Mutacje będą analizowane przez połączenie bioobrazowania, transkryptomiki pojedynczych komórek, elektrofizjologii i analizy behawioralnej. Dostarczy to przesłanki dla subfunkcjonalizacji ludzkich mutacji *KCNB1*.

Wymagania:

- Tytuł zawodowy magistra biologii, biochemii lub pokrewnej dziedziny
- Uprawnienia do podjęcia studiów doktoranckich w Polsce
- Wcześniejsze doświadczenie w biologii rozwoju, biologii molekularnej i badaniach nad danio pręgowanym będzie dodatkowym atutem
- Płynna znajomość języka angielskiego w mowie i piśmie
- Gotowość do nauki i podejmowania nowych wyzwań, zdolność do samodzielnej pracy, myślenie analityczne
- Dobre umiejętności interpersonalne i nastawienie na współpracę

Liczba dostępnych miejsc: 2

Kontakt: vkorzh@iimcb.gov.pl