

Icke-kodande RNA och vikten av RNAi-relaterade proteiner under bakterieinfektion i *D. discoideum*

Christoffer Mattsson Langseth

Den sociala amöban, *Dictyostelium discoideum* – en encellig organism, återfinns i jord där den livnär sig på bakterier. Sociala amöbor, som *D. discoideum*, används inom forskningen för att studera olika biologiska processer. Mest relevant för mitt arbete, är att *D. discoideum* används för att studera bakterieinfektioner. Orsaken till detta är flerfaldig. För det första, så är *D. discoideum* snarlik de humana immuncellerna, som kallas för makrofager. Processen som makrofager använder för att ta upp och bryta ner bakterier är mycket lik den som återfinns i *D. discoideum* samt att vid infektion av *D. discoideum*, använder bakterier många av de samma virulensmekanismer som under infektion av makrofager. För det andra, så är många av de mänskliga patogenerna, vilket inkluderar *Mycobacterium tuberculosis* (som orsakar tuberkulos) samt *Legionella pneumophila* (som orsakar lunginflammation), också farliga för *D. discoideum*. Utöver detta, så är det fördelaktigt att arbeta med ett etablerat modellsystem, såsom *D. discoideum*, för att dessa är lättare att hantera i en laboratoriemiljö.

I mitt arbete har jag primärt arbetat med bakterieinfektioner. Mitt fokus har varit på en process som kallas för RNA interferens (RNAi). RNAi återfinns i olika organismer, allt från *D. discoideum* till människa och kan medföra ett försvar mot mikroorganismer. RNAi-systemet har även en del bioteknologiska applikationer och RNAi bygger, som namnet antyder, på RNA. RNA ansågs länge bara vara ett mellansteg i informationsflödet, från DNA till protein. Det talades primärt om budbärar-RNA (mRNA) som ger upphov till protein, och kallas därför för kodande RNA. Men på senare år har man insett att så kallat icke-kodande RNA (ncRNA), som alltså inte resulterar i protein, har viktiga regulatoriska funktioner i cellen där de kan reglera uttrycket av det genetiska materialet. Bland ncRNA återfinns mikroRNA (miRNA) som kan binda till mRNA och reglera uttrycket av den specifika genen. Om vi nu vänder tillbaka till RNAi-systemet, RNAi är uppbyggt av två komponenter: ncRNA (t.ex. miRNA) och proteiner som kallas för Argonaut (Ago). Det finns en del associerade protein som är viktiga för RNAi-systemet, som nämnt ovan är en av dessa Ago, och ett annat är Dicer. Dicer är viktigt för att skapa miRNA, avsaknaden av Dicer resulterar i förlust av miRNA i *D. discoideum*.

RNAi har visats vara viktigt för hur celler svarar på infektion. Mitt arbete var centrerat runt Ago och Dicer. Jag använde mig av olika *D. discoideum*-mutanter som saknar det genetiska materialet för att producera dessa proteiner. Sedan infekterade jag dessa mutanter med *L. pneumophila* och en nära släkting till *M. tuberculosis*, som heter *Mycobacterium marinum*. Vad vi kunde se från dessa experiment var att det verkade fördelaktigt att ha dessa komponenter i sitt genetiska material för att kunna, till viss del, motstå bakterieinfektion. Det var Dicer som vi fann vara viktigt för svaret, vilket i förlängningen kan innebära att miRNA är viktigt för svaret på bakterieinfektion.

Den andra delen av mitt arbete handlade om att karakterisera några av de icke-kodande RNA-aspekterna av infektion. Vi tittade på transport-RNA (tRNA), som är viktig i produktionen av protein, under infektion. Under infektion från *M. marinum*, i humana celler men också *D. discoideum*, har det visats att dessa tRNA kan klyvas och generera tRNA-halvor. Vi studerade *D. discoideum* infekterade med *L. pneumophila* eller *M. marinum*. Vi noterade en ökning i mängden tRNA-halvor från celler infekterade med *M. marinum* men inte *L. pneumophila*, vilket indikerar att tRNA-halvorna är specifika för *M. marinum*-infektion.

Degree project in Biology, Master of Science (2 years), 2018

Examensarbete i biologi 45hp till masterexamen 2018

Uppsala universitet, 2018 Biology Education Center and Department of Cell and Molecular Biology

Supervisor: Fredrik Söderbom och Jonas Kjellin

External opponent: Yolanda Martinez Burgo