

## Progressrapport år 2024 Ferdinand von Walden – SMDF forskningsstipendium

Projektet har under de första två åren rekryterat två postdoktorer och erhållit finansiering för en doktorand. De musstammar (inklusive RPL3-like överuttryckande mus, MDX-mus (dystrofimodell) och musstam med muskelspecifikt märkta ribosomer) som skall användas inom projektet har införskaffats och avel är nu etablerad på Karolinska Institutet. Under första året har vi satt upp metodik för att analysera pågående genuttryck med in vivo metabol märkning av mRNA-molekyler och muskelcellkärne-specifikt genuttryck. Denna metod har vi använt för att studera muskelspecifikt transkriptomik efter mekanisk belastning med efterföljande läkning. Våra data visar att muskelcellkärnor byter uttryck av ribosomala proteiner (RPL3-like till RPL3) som svar på belastning, vilket stödjer hypotesen om att ribosomspecialisering i skelettmuskel är en viktig process för muskelns anpassning. Data från första året har sammanställts i ett manuskript som publicerats i Journal of Biological Chemistry (JBC). SMDF tackas för finansiellt stöd. Titel på artikeln: "Multi-transcriptome analysis following an acute skeletal muscle growth stimulus in mice yields tools for discerning global and MYC regulatory networks".

Ytterligare en nivå av ribosomspecialisering är metyleringsmönstret av ribosomalt (r)RNA, som i andra celltyper har visats kunna påverka vilka mRNA-molekyler som selekteras för att translateras till protein. Detta har vi studerat i musmuskel efter 3, 7 och 14 dagars mekanisk belastning och sett ett övergående skifte i rRNA-metyleringsmönster. Den metyleringssignatur vi observerat har ett tydligt tillväxtassocierat mönster känt från andra celltyper. Då muskel är ett mixat organ som innehåller flera olika celltyper har vi använt en musstam med muskelspecifikt märkta ribosomer. Detta försök säkerställer att de ribosomer som vi analyserar kommer från skelettmuskelfibrer och ej angränsande celler. Efter 7 dagars mekanisk belastning observerade vi samma rRNA-metyleringsmönster i muskelspecifika ribosomer som i helmuskel-RNA. Dessa preliminära data understryker ytterligare att ribosomspecialisering sker i skelettmuskler efter mekanisk belastning, på både RNA och proteinnivå. Dessa data har sammanfattats i ett manuskript som skickats in till tidskriften AJP Cell Physiology. SMDF tackas för finansiellt stöd.

Intressant nog har vi även hos mus sett detta ribosomskifte i muskler som angränsar till en kraftigt inflammerad led och vid myosin. Vi tror nu att det vi sett hos Mdx-mus är en del av ett mer generellt svar på inflammation och regeneration. Dessa studier fortgår.

Vi har även testat vår hypotes att RPL3-like innehållande ribosomer är noggrannare och gör färre fel (rätt aminosyra på rätt plats) än RPL3-innehållande ribosomer. I publika proteomik-dataset från lever (RPL3) och skelettmuskel (RPL3-like) har vi analyserat frekvensen av aminosyrasubstitutioner, dvs fel insatt aminosyra i en peptidsekvens. I samklang med vår hypotes om att RPL3-like ribosomer är mer noggranna än RPL3-ribosomer observerade vi färre fel i skelettmuskel jämfört med lever. Dessa data kommer upprepas i dedikerade proteomikdataset från skelettmuskel hos mus med och utan RPL3-like, experiment planerade till 2024-2025.