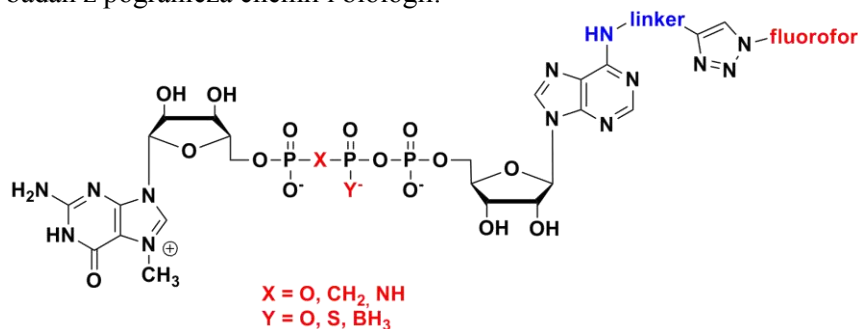


Celem projektu jest opracowanie metod syntezy biofunkcjonalnych analogów końca 5' mRNA tzw. *cap mRNA* (kap) jako efektywnych sond molekularnych. Zastosowanie ich w badaniach *in vivo* i *in vitro* pozwoli na śledzenie procesów z udziałem końca 5' mRNA w komórkach zdrowych jak i nowotworowych oraz samego procesu wnikania tych obiektów do komórek. Zastosowanie elementów chemii bioortogonalnej pozwoli na selektywne znakowanie kapu na zewnątrz jak i we wnętrzu komórki bez naruszania jej procesów życiowych (rysunek 1).

Dzięki temu będzie możliwe badanie ważnych procesów komórkowych, w tym biosyntezy białka zachodzących z udziałem kap mRNA przy użyciu nowoczesnych technik spektrofotometrycznych oraz wizualizacja struktur dzięki użyciu technik mikroskopowych. Projekt ten jest połączeniem multidyscyplinarnych badań z pogranicza chemii i biologii.



Rysunek 1. Proponowane modyfikacje analogów końca 5' mRNA.

Powodami podjęcia tej tematyki są trudności występujące w badaniach nad kap mRNA. Problemem jest wnikanie tych związków do komórki, dokładne określenie stężenia analogów kapu w próbce, a także jego lokalizacja w komórce. Mimo, że 7-metyloguanozyna wykazuje naturalną fluorescencję to jednak niska wydajność kwantowa fluorescencji uniemożliwia wykorzystanie niektórych szeroko stosowanych w biofizyce i biologii molekularnej technik badawczych np. FRET. Rozwiązanie tego problemu poprzez użycie znaczników fluorescencyjnych wzmocniłoby właściwości emisyjne struktury analogów kap mRNA i tym samym pozwoliłoby na lepsze poznanie oddziaływań analogów kap z białkami, a także dokładne zbadanie mechanizmów procesów zachodzących w komórce z udziałem końca 5' mRNA. Z kolei koniugacja z nanomateriałami, ma zwiększyć zdolność do penetracji błony komórkowej. Zastosowania m.in. reakcji chemii bioortogonalnej tj. 1,3-dipolarnej cykloaddycji Huisgena katalizowanej jonami miedzi(I) (CuAAC) oraz reakcji promowanej naprężeniami pierścienia (SPAAC), pozwoli na prowadzenie reakcji koniugacji analogu kap ze znacznikiem w środowisku komórkowym. Podejście to pozwala na bardzo selektywne połączenie cząsteczek w bardzo złożonym środowisku jakim jest komórka. Zastosowanie znaczników które aktywują się dopiero po zajściu reakcji łączenia przyczyni się do obniżenia się poziomu tła fluorescencji w komórce wynikającego z obecności nieprzereagowanego znacznika.

Co więcej, badania te mogą być zastosowane również do badań nad analogami kap mRNA, które znajdują swoje zastosowanie m.in. w terapiach przeciwnowotworowych lub terapiach genowych. Synteza sond molekularnych analogów kapu o potencjalnych właściwościach terapeutycznych pozwoliłaby na obserwację i wizualizację przebiegu procesów zachodzących z udziałem tych struktur w komórkach modelowych i nowotworowych.