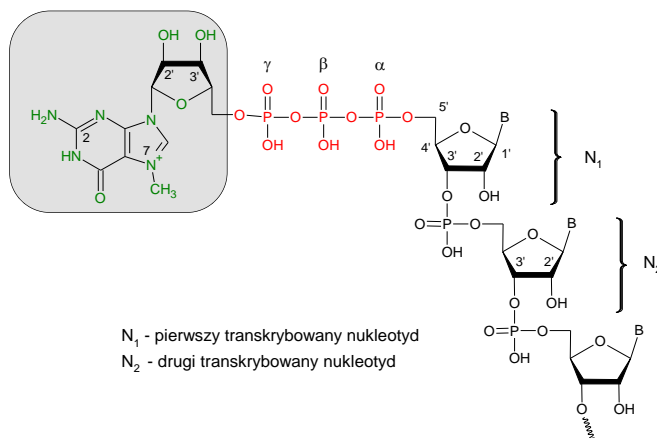


Odkrycie struktury DNA oraz funkcji RNA miało kluczowe znaczenie dla zrozumienia mechanizmów dziedziczenia oraz funkcjonowania komórki, przyczyniając się tym samym do rozwoju współczesnej genetyki oraz genomiki. Jak już powszechnie wiadomo kwasy nukleinowe kodują informację genetyczną i dzięki temu są podstawą życia każdego, nawet najbardziej złożonego organizmu. Różnica pomiędzy DNA i RNA jest znacząca i obejmuje budowę, właściwości fizyko-chemiczne, a przede wszystkim funkcję w komórce. W procesie ewolucji, DNA stało się magazynem informacji kodowanej w postaci sekwencji deoksyrybonukleotydów, natomiast RNA nabyło między innymi funkcję matrycy (mRNA) na której odbywa się biosynteza białek. Sygnałem do przeniesienia mRNA z jądra komórkowego do cytoplazmy (gdzie odbywa się translacja) oraz faktycznego rozpoczęcia biosyntezy białka na matrycy mRNA jest struktura **kapu** zlokalizowana na 5' końcu łańcucha.



**Kap** pełni bardzo ważne funkcje u wszystkich organizmów eukariotycznych a także wielu wirusów zabezpiecza łańcuch RNA przed hydrolizą enzymatyczną.

Białka biosyntetyzujące i degradujące **kap** w RNA od lat wzbudzają zainteresowanie dużych koncernów farmaceutycznych jako obiecujące cele terapeutyczne. Szczególnie atrakcyjne są analogi kapu modyfikowane w części guanozyny (m<sup>7</sup>G) lub mostku trifosforanowym. Charakteryzują się one wyższym powinowactwem do białka eIF4E (czynnik inicjujący translację), a także zwiększoną odpornością na degradację pod wpływem enzymów hydrolitycznych (DcpS, Dcp1/2). Analogi kapu dają nadzieję na opracowanie nowych terapii przeciwnowotworowych, przeciwwirusowych czy powstanie nowej generacji szczepionek RNA. Jednak brakuje danych różnicujących mechanizmy syntezy oraz degradacji **kapu** pomiędzy wirusami, grzybami, bakteriami a ludźmi, co uniemożliwia opracowanie selektywnych inhibitorów tych enzymów. Główną przyczyną tego stanu rzeczy jest ograniczona dostępność RNA z **kapem** o odpowiedniej długości łańcucha, wyznakowanych radioizotopowo lub fluorescencyjnie.

W związku z powyższym celem projektu jest opracowanie wydajnej metody syntezy krótkich fragmentów RNA na podłożu stałym z przyłączonymi analogami kapu na 5' końcu. Analogi kapu modyfikowane będą w pierścieniu guaniny w pozycjach N<sup>2</sup> oraz N<sup>7</sup>, a także w mostku trifosforanowym. Tak uzyskane **kap**-RNA wykorzystam w badaniach nad procesem metylacji przy użyciu enzymów metylujących - N<sup>7</sup>-metylotransferaza, Tgs1 oraz 2'OH metylotransferazy 1 i 2. W trakcie badań ustalę szybkość procesu metylacji analogów kapu oraz jej regiospecyficzność. Będę prowadził również badania nad specyficznością enzymów dekapujących (DcpS oraz Dcp1/Dcp2) w stosunku do zróżnicowanych sekwencyjnie RNA z analogami kapu. Ostatnim etapem będzie sprawdzenie czy tak uzyskane analogi **kap**-RNA mogą być substratem dla enzymu polimerazy, wydłużającej łańcuch RNA.

Jestem przekonany, że zaplanowane eksperymenty uzupełnią naszą wiedzę o procesach biosyntezy i degradacji RNA z kapem, a także rzuca światło na charakter oddziaływań analogów kapu z białkami wiążącymi **kap**.