

Struktura RNA i jego oddziaływania z białkiem Gag warunkujące funkcje RNA Ty1 na różnych etapach replikacji retrotranspozonu

dr Katarzyna Pachulska – Wieczorek
Instytut Chemii Bioorganicznej PAN
Zakład Struktury i Funkcji RNA

Funkcje cząsteczek RNA w komórce czy podczas replikacji wirusów warunkuje ich sekwencja oraz specyficzna struktura drugo- i trzeciorzędowa. Struktura RNA zależy nie tylko od jego sekwencji, ale także warunków w komórce, kierunkowości transkrypcji i translacji oraz różnorodnych czynników oddziałujących z RNA. W komórce lub wirionie cząsteczki RNA praktycznie zawsze związane są z białkami, które ułatwiają zwinięcie RNA i utrzymanie jego prawidłowej struktury. Nasza wiedza na temat procesów zwijania RNA w żywych komórkach jest wciąż ograniczona, a odtworzenie struktury aktywnych biologicznie cząsteczek RNA *in vitro* często kończy się niepowodzeniem.

Nadrzędnym celem niniejszego projektu jest zbadanie *in vivo* elementów struktury drugo- i trzeciorzędowej genomowego RNA (gRNA) retrotranspozonu Ty1, które warunkują jego funkcje na kolejnych etapach replikacji Ty1 w komórce *S. cerevisiae*. Retrotranspozon Ty1 należy do grupy istotnych ewolucyjnie mobilnych elementów genetycznych, które uczestniczą w prawidłowym funkcjonowaniu eukariotycznych genomów, ale mogą także indukować choroby genetyczne. Cykl replikacyjny Ty1 jest podobny do typowego dla retrowirusów, z tą różnicą że Ty1 nie jest infekcyjny i nigdy nie opuszcza komórki w której replikuje. Cząsteczka genomowego RNA Ty1 służy zarówno jako mRNA dla translacji białek, jak i genom Ty1, wykorzystywany jako matryca podczas odwrotnej transkrypcji. Powstająca dwuniciowa cząsteczka DNA integruje z genomem komórki i na jej matrycy powstaje kolejna cząsteczka gRNA Ty1.

Retrotranspozycja Ty1 w *S. cerevisiae* stanowi doskonały systemem modelowy dla zrozumienia zależności pomiędzy strukturą RNA, a jego funkcją. W ramach projektu planujemy zbadać strukturę gRNA Ty1 na etapie jego eksportu jądrowego, funkcjonowania w cytoplazmie, w retrosomach oraz podczas tworzenia cząstek wirusopodobnych (ang. *virus-like particles* -VLP). Retrosomy są charakterystycznymi skupiskami gRNA Ty1 i białka Gag w cytoplazmie i mogą być zaczątkiem do tworzenia nowych VLP. Nasza hipoteza badawcza zakłada, że na kolejnych etapach retrotranspozycji oddziaływania Gag z RNA mogą być inne i w różny sposób wpływać na strukturę i funkcję gRNA Ty1. Celem projektu jest ustalenie specyfiki oddziaływania gRNA Ty1 z białkiem Gag oraz zbadanie jego aktywności opiekuńczej względem kwasów nukleinowych. Białka cechujące się aktywnością opiekuńczą względem kwasów nukleinowych mogą wspomagać prawidłowe zwinięcie cząsteczek RNA oraz ich wzajemne oddziaływania. Prezentowany projekt łączy genetykę, biologię molekularną i komórkową z eksperymentalną analizą struktury drugo- i trzeciorzędowej RNA oraz bioinformatycznymi metodami przewidywania struktury przestrzennej RNA.

Pomimo licznych badań, wciąż jesteśmy na początku drogi do zrozumienia wpływu transpozonów na funkcjonowanie genomów i ich ewolucję. Badania zaplanowane w projekcie powinny w istotny sposób poszerzyć naszą wiedzę na temat funkcjonowania eukariotycznych retrotranspozonów. Będą również użyteczne dla rozwoju wywiedzionych z transpozonów, nowoczesnych narzędzi dla genetyki, biologii molekularnej i syntetycznej oraz terapii genowej. Ponieważ retrotranspozon Ty1 wykazuje wiele podobieństw strukturalnych i funkcjonalnych do retrowirusów, wiedza zdobyta dzięki realizacji projektu może być ważna dla wyjaśnienia pewnych molekularnych aspektów ich replikacji.

Wyniki naszego projektu, ukierunkowanego na poznanie drugo- i trzeciorzędowej struktury RNA, będą mieć istotne znaczenie dla zrozumienia zależności pomiędzy strukturą RNA, a jego funkcją w wielu obszarach badań. Aktualny postęp wiedzy na temat istotnej roli RNA w patogenezie wirusów, regulacji mechanizmów komórkowych czy procesów chorobowych prowadzi do znaczącego wzrostu zainteresowania strukturą cząsteczek RNA, które coraz częściej postrzegane są jako potencjalne cele nowych terapii.