

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE (W JĘZYKU POLSKIM)

Za przenoszenie informacji genetycznej w komórkach eukariotów odpowiada DNA. W oparciu o tę informację produkowane są białka, będące podstawowym elementem funkcjonowania organizmów. Na proces otrzymywania białka (tzw. biosyntezę białka) składają się dwa pomniejsze procesy – transkrypcja i translacja. W trakcie transkrypcji informacja genetyczna zostaje przepisana z DNA na cząsteczkę mRNA, na której to matrycy w procesie translacji otrzymywane jest białko. mRNA podobnie jak DNA jest cząsteczką łańcuchową, zbudowaną z elementów zwanych nukleotydami. Tuż po syntezie mRNA zostaje ono poddane obróbce, tzw. procesowi dojrzewania, w ciągu którego obydwaj jego końce (5' i 3') zostają zmodyfikowane. Szczególnie interesująca modyfikacja, zwana kapem (*ang. cap* – czapeczka), znajduje się na końcu 5'.

Struktura kapu jest nietypowym połączeniem nukleotydowym, charakteryzującym się obecnością 7-metyloguanozyny. Dzięki obecności dodatniego ładunku w pierścieniu 7-metyloguaniny kap oddziałuje specyficznie z wieloma białkami i jest zaangażowany w szereg istotnych procesów biologicznych. Przykładem jest oddziaływanie z białkiem eIF4E (będącym markerem nowotworowym) w trakcie inicjacji procesu translacji, a także procesy degradacji kapu (enzymy Dcp1/2, DcpS). Niemniej istotny jest sam proces tworzenia kapu oraz wprowadzenie najistotniejszego elementu – grupy metylowej w pozycję N7 guanozyny. Za proces ten, zwany metylacją, odpowiada białko RNA guanozyno-N7-metylotransferaza (N7MTaza). W trakcie niektórych infekcji wirusowych dochodzi do ekspresji informacji genetycznej wirusa w postaci mRNA, a jednym z etapów jego powstawania jest N7-metylacja, zatem badanie tego procesu ma także istotne znaczenie terapeutyczne.

Głównym celem projektu jest opracowanie nowych narzędzi oraz metody służącej do monitorowania działania (badania aktywności) N7MTazy opartej o pomiary zmian fluorescencji. W pierwszym etapie zostaną otrzymane nowe fluorescencyjnie znakowane analogi nukleotydów guaninowych oraz ich N7-metylowane odpowiedniki (analogi kapu), tzw. sondy molekularne. Następnie wytypowana zostanie sonda, której fluorescencja formy N7-metylowanej i niemetylowanej znacząco się od siebie różni. **Różnica we właściwościach fluorescencyjnych sondy metylowanej i niemetylowanej stanowi podstawę działania proponowanej metody oraz mierzony sygnał analityczny.** Metoda monitorowania przebiegu procesu metylacji przez RNA N7MTazę zostanie zoptymalizowana, a następnie zastosowana do poszukiwania substancji hamujących ten proces (inhibitorów). Tego typu metody, pozwalające na bardzo szybkie wyznaczenie parametrów oddziaływania dużych ilości związków znane są pod nazwą HTS (*high-throughput screening*). Przeszukane zostaną dwie biblioteki związków – komercyjnie dostępna biblioteka związków małowcząsteczkowych LOPAC oraz biblioteka analogów nukleotydów guanozynowych (zsyntetyzowanych w naszym Laboratorium). W ten sposób wyselekcjonowane zostaną najsilniejsze inhibitory RNA N7MTazy, będące potencjalnymi czynnikami przeciwwirusowymi.

Proponowane badania są istotne z punktu widzenia badań nad aktywnością białka RNA N7MTazy. Ponadto otrzymane fluorescencyjnie znakowane analogi nukleotydów stanowią uniwersalne narzędzie i mogą znaleźć zastosowanie w badaniach także innych klas białek.