

Grypa jest chorobą zakaźną i stanowi istotne zagrożenie dla życia człowieka, jak również pociąga za sobą ogromne koszty finansowe. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO, ang. *World Health Organization*) szacuje, że każdego roku, wirus grypy infekuje 5 – 10% światowej populacji skutkując śmiercią 250 000 – 500 000 ludzi. WHO podaje, że tylko w ciągu 2003 roku w Stanach Zjednoczonych zarejestrowano 24,7 mln przypadków grypy, 31,4 mln ludzi zgłosiło się na wizytę lekarską z podejrzeniem tej choroby, 334 000 osób zostało hospitalizowanych, a 41 000 ludzi zmarło w skutek choroby lub powikłań z nią związanych. Oszacowano, że nakłady finansowe wyniosły 87,1 mld dolarów.

Chorobę wywołuje wirus grypy, który po raz pierwszy został wyizolowany w 1933 roku przez zespół badaczy z National Institute for Medical Research w Londynie. Od tamtej pory rozpoczęły się intensywne badania nad wirusem grypy. Związane one są przede wszystkim z coraz bardziej szczegółowym poznaniem mechanizmów jego działania, w celu projektowania nowych efektywniejszych szczepionek, jak również poszukiwania skutecznych strategii leczenia. Ma to na celu zmniejszenie zachorowalności jak również ograniczenie powstawania epidemii, czy pandemii wywołanej wirusem grypy. Epidemią nazywa się występowanie w określonym czasie i na określonym terenie przypadków zachorowań w liczbie większej niż oczekiwana. Natomiast mianem pandemii określa się epidemię, która pojawia się na różnych obszarach, różnych kontynentach w tym samym czasie i jest wysoce śmiertelna.

Wirus grypy należy do rodziny *Orthomyxoviridae*. Wyróżnić można trzy typy wirusa – A, B, C. Dodatkowo, typ A dzieli się na podtypy zgodnie z odmianą białek powierzchniowych (hemaglutyniny - H i neuraminidazy – N) występujących w otoczce wirusa. Dotychczas opisano 18 wariantów H i 9 wariantów N, a kombinacja tych dwóch białek stanowi nazwę podtypu, np. H1N1, H5N1, czy H7N2. Materiałem genetycznym tego wirusa jest kwas rybonukleoproteinowy (RNA), który występuje w formie 8 pojedynczych fragmentów zwanych segmentami. Każdy segment RNA (vRNA, ang. *viral RNA*) zawiera informację genetyczną kodującą co najmniej jedno wirusowe białko istotne na różnych etapach cyklu replikacyjnego wirusa. Dodatkowo, każde vRNA przez większość czasu związane jest z wirusowym białkiem nukleoproteiną tworząc kompleks rybonukleoproteinowy (vRNP, ang. *viral RiboNucleoProtein complex*). Kompleks ten stanowi podstawową matrycę, do powstawania kolejnych wirusowych RNA, jak również zostaje wbudowany do potomnej cząstki wirusa. Aby wirus mógł infekować inne komórki musi posiadać wszystkie 8 vRNP.

Cząsteczki RNA ogrywają w komórce wiele istotnych ról. Biorą udział w przenoszeniu informacji genetycznej (tak jak np. w przypadku wirusa grypy), stanowią matrycę do translacji białek tzw. mRNA (ang. *messenger RNA*), stanowią cząsteczkę przenoszącą aminokwasy podczas translacji białka tzw. tRNA (ang. *transfer RNA*), regulują procesy biologiczne np. miRNA (ang. *micro RNA*) oraz wiele innych. Ważną częścią RNA jest nie tylko kolejność nukleotydów (sekwencja – struktura pierwszorzędowa), ale także ich struktura drugorzędowa i ułożenie przestrzenne (struktura trzeciorzędowa). Przykładem może być oddziaływanie RNA z białkiem, gdzie istotne jest nie tylko dopasowanie sekwencyjne, ale również dopasowanie przestrzenne. Znajomość budowy RNA jest zatem znacząca dla zrozumienia jego funkcji, które mogą być zaburzone poprzez pojawiające się mutacje.

W niniejszym projekcie badawczym głównym celem jest określenie struktury drugorzędowej RNA segmentu 8 wirusa grypy typu A (vRNA8) w naturalnym kompleksie vRNP8. Dodatkowo poszukiwane będą motywy strukturalne tworzące się lokalnie w vRNA8, które mogą mieć znaczenie funkcjonalne podczas cyklu replikacyjnego wirusa. Badane vRNP8 będzie izolowane i oczyszczane z hodowli komórek MDCK, które zostaną zainfekowane zmodyfikowanym wirusem grypy typu A, szczep A/California/04/2009 (H1N1). Następnie, vRNP8 zostanie poddane chemicznym i enzymatycznym modyfikacjom, które pozwolą określić strukturę drugorzędową vRNA znajdującego się w naturalnym, funkcyjnym kompleksie z białkiem. Uzyskane wyniki eksperymentalne posłużą do wymodelowania struktury drugorzędowej za pomocą programu RNAstructure. W kolejnej części projektu prowadzone będą badania motywów strukturalnych i ich funkcji podczas cyklu replikacyjnego wirusa. W tym celu wprowadzone zostaną odpowiednie mutacje, które będą zaburzać strukturę drugorzędową poszczególnych motywów strukturalnych. Wprowadzone zmiany w rejonach istotnych podczas namnażania się wirusa, będą skutkowały obniżonym poziomem wzrostu wirusa, jak również będą miały wpływ na jego morfologię.

Badania zaproponowane w przedstawionym projekcie pozwolą na poszerzenie wiedzy na temat biologii wirusa grypy typu A. Wyróżnione funkcjonalne motywy strukturalne mogą być szczególnie interesujące dla innych grup badawczych, a w szczególności mogą stanowić nowy cel terapeutyczny.