

Kontrola ekspresji informacji genetycznej komórki, inaczej wyrażania, czy też „rozszyfrowywania” danych zapisanych w DNA, w ogromnej mierze odbywa się na poziomie RNA. Ilość cząsteczek RNA obecnych w komórce ma zasadnicze znaczenie dla jej funkcjonowania i zależy głównie od tempa zachodzenia dwóch procesów, to jest powstawania RNA oraz jego degradacji. Niezwykle istotnym aspektem gwarantującym prawidłowe działanie komórki jest również rozpoznawanie i usuwanie wadliwych RNA, czyli kontrola jakości RNA. Jednym z najważniejszych czynników odpowiedzialnych za degradację RNA zarówno w jądrze komórkowym, jak i w cytoplazmie komórek eukariotycznych jest tak zwany kompleks egzozomu. Egzozom jest nakierowywany na konkretne cząsteczki RNA za pośrednictwem czynników pomocniczych – w cytoplazmie funkcję tę pełni kompleks SKI. O ile sam egzozom i kompleks SKI były od lat bardzo intensywnie badane i zostały dość dobrze poznane w komórkach drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, o tyle wiedza na temat współdziałania tych dwóch maszynarii w komórkach ludzkich jest bardzo fragmentaryczna. W przypadku drożdży oddziaływanie między egzozomem i kompleksem SKI jest zapewnione przez białko pośredniczące Ski7. Ski7 i homologiczny czynnik Hbs1 uczestniczą w różnych ścieżkach rozpadu i kontroli jakości mRNA, czyli cząsteczek RNA kodujących białka. Spośród tych dwóch białek, tylko Ski7 ma zdolność oddziaływania zarówno z egzozomem, jak i kompleksem SKI. Wiadomo, że w komórkach ludzkich kompleks SKI zbudowany jest z białek homologicznych względem podjednostek analogicznego kompleksu drożdżowego, a mutacje w genach kodujących jego składniki prowadzą do złożonej choroby wieku dziecięcego, określanej mianem syndromu THE. Świadczy to o istotnej roli, jaką kompleks SKI odgrywa w fizjologii komórki. Do niedawna brakowało jednak danych molekularnych, które wyjaśniałyby funkcje kompleksu SKI w regulacji metabolizmu RNA w komórkach człowieka. Wyniki naszych badań, które zostały opublikowane na początku 2017 roku wykazały, że za oddziaływanie między egzozomem i SKI u ludzi odpowiada zidentyfikowana przez nas nowa forma białka HBS1L, czyli homologa drożdżowego czynnika Hbs1, nazwana HBS1LV3. Drugi wariant białka HBS1L – HBS1LV1 – nie oddziałuje z egzozomem. Co natomiast ciekawe, zarówno HBS1LV1, jak i HBS1LV3 wchodzi w interakcje z kompleksem SKI. Sieć interakcji między podstawowymi czynnikami uwikłanymi w regulację szlaków metabolizmu RNA jest zatem różna w komórkach dwóch odległych ewolucyjnie organizmów eukariotycznych – drożdży oraz ludzi. Wynika stąd konieczność dokładnego scharakteryzowania sposobu działania kompleksu SKI, białek HBS1LV1 i HBS1LV3 oraz precyzyjnego opisu mechanizmów degradacji RNA, w których uczestniczą te czynniki, co jest celem przedstawianego projektu. Mają to umożliwić proponowane badania biochemiczne oraz strukturalne, w połączeniu z doświadczeniami przeprowadzonymi z zastosowaniem linii modelowych komórek ludzkich, a także globalne analizy wykorzystujące wysokoprzepustowe sekwencjonowanie RNA. Zaplanowano przeprowadzenie współcyszczania komponentów badanego kompleksu oraz mapowania miejsc ich oddziaływań. Podjęta zostanie próba ustalenia struktury (kształtu) kompleksu SKI i białek HBS1LV1/HBS1LV3 oraz ich wzajemnego umiejscowienia przestrzennego z zastosowaniem krystalografii oraz mikroskopii elektronowej. Zbadany będzie aspekt oddziaływania kompleksu z rybosomami, gdyż większość procesów degradacji i kontroli jakości mRNA zachodzi w trakcie syntezy białek, czyli translacji. Badania przeprowadzone w specjalnie skonstruowanych modelach komórkowych, z wykorzystaniem tak zwanych plazmidów reporterowych, czyli wprowadzanych z zewnątrz cząsteczek DNA – w tym przypadku zdolnych do produkcji mRNA zawierających różnego typu błędy w sekwencji lub strukturze – powinny pozwolić na ustalenie roli oddziaływań między kompleksem SKI, czynnikami HBS1LV1/HBS1LV3 i rybosomem w eliminacji wadliwych transkryptów. Wykonane zostaną również analizy transkryptomiczne, mające na celu określenie puli naturalnych substratów kompleksu w skali globalnej, w oparciu o badanie zmian składu cząsteczek mRNA w komórce pod wpływem zaburzenia sieci interakcji między wspomnianymi białkami, oraz wielkoskalową, bezpośrednią identyfikację transkryptów fizycznie wiążących się z kluczową podjednostką kompleksu SKI. Ponadto, przeanalizowany zostanie wpływ możliwego zaburzenia funkcjonowania kompleksu w następstwie mutacji, które znajdują się u pacjentów z syndromem THE, na różne aspekty metabolizmu RNA. Informacje uzyskane w toku wszystkich wspomnianych analiz pozwolą znacząco wzbogacić podstawową wiedzę na temat zasadniczych szlaków degradacji RNA, niezbędnych dla prawidłowego funkcjonowania ludzkich komórek. W szczególności, proponowane badania pogłębią znajomość mechanizmów, na drodze których komórki usuwają nieprawidłowe, a tym samym niebezpieczne dla nich cząsteczki RNA.