

Tytuł projektu: **Identyfikacja i analiza sekwencji tRNA-podobnych z *Arabidopsis thaliana***

Transferowy RNA (tRNA) stanowi jedną z najlepiej scharakteryzowanych klas niekodujących RNA (ncRNA), obecną we wszystkich żywych organizmach. Ich zaangażowanie w proces biosyntezy białka jako nośniki aminokwasów i łącznik między trójkami nukleotydowymi kodu genetycznego a sekwencją białka sugerują, że są to jedne z najstarszych składników żywych komórek.

Jednak funkcję cząsteczek tRNA nie są ograniczone tylko do procesu translacji. W ostatnim czasie pojawia się coraz więcej informacji wskazujących na to, że zarówno kanoniczne tRNA oraz cząsteczki posiadające tylko pewne cechy strukturalne charakterystyczne dla tRNA (cząsteczki tRNA-podobne lub tRNA-like) mogą pełnić inne funkcje w komórce, między innymi w procesach przekazywania sygnałów, degradacji, transportu, modyfikacji biocząsteczek oraz jako substraty w różnych szlakach biosyntezy. Prawdopodobnie, jedną z najbardziej w chwili obecnej badaną alternatywną funkcją tRNA jest ich zdolność do generowania mniejszych fragmentów (tRNA-derived small RNAs; tRFs). Ten proces, traktowany przez wiele lat jedynie jako etap degradacji tRNA, w ostatnich latach nabrał rangi ważnego elementu zaangażowanego w molekularnych procesach regulacji i biogenezy.

Cząsteczki tRNA-podobne mogą być rozpoznawane przez białka zaangażowane w biogenezę tRNA, w tym rybonukleazy odpowiedzialne za dojrzewania prekursora tRNA. Znanych jest szereg przypadków, w których sekwencje tRNA-podobne znajdujące się w genomowy DNA kontrolują transkrypcję katalizowaną przez polimerazę III. Ponadto wykazano, że struktury tRNA-podobne zlokalizowane w obrębie pierwotnych transkryptów RNA, mogą funkcjonować jako sygnały do dojrzewania, wykorzystując elementy szlaku biogenezy tRNA, takie jak RNazę P lub RNazę Z. W większości przypadków jednak rola tych sekwencji oraz skala ich zaangażowania w procesy biologicznych jest jeszcze bardzo słabo poznana.

W oparciu o dostępne obecnie dane uważamy, że stosowane do tej pory metody adnotacji i analizy tRNA nie mają możliwości identyfikacji pełnego spektrum sekwencji tRNA-podobnych u *Arabidopsis thaliana*. Biorąc pod uwagę liczbę znanych i potencjalnych funkcji biologicznych cząsteczek tRNA i tRNA-podobnych, może to spowodować znaczące braki w zrozumieniu ważnych funkcji molekularnych w komórce. Aby poznać funkcję tych sekwencji konieczne jest więc ich oznaczenie i charakterystyka w skali całogenomowej. Dlatego w ramach tego projektu proponujemy procedury i metody mające na celu pełną identyfikację i opisanie sekwencji tRNA i tRNA-podobnych w modelowej roślinie *Arabidopsis thaliana*.

Aby osiągnąć ten cel zastosujemy dwie strategie identyfikacji sekwencji tRNA: obliczeniową i eksperymentalną. Strategia obliczeniowa będzie obejmowała całogenomową analizę właściwości strukturalnych charakterystycznych dla kanonicznych cząsteczek tRNA z wykorzystaniem specjalnego algorytmu umożliwiającego dużą zmienność parametrów przewidywania zgodności. Metody eksperymentalne zostały zaprojektowane w celu wzbogacenia danych w sekwencje funkcjonalnych (zawierających aminokwas) tRNA lub cząsteczek posiadających charakterystyczne modyfikacje (3'-końcową sekwencję CCA). Dodatkowo, będziemy analizować dane z eksperymentów mających na celu identyfikację cząsteczek RNA związanych z aktywnymi translacyjnie rybosomami, uzyskanymi w ramach poprzednich projektów (małe RNA pochodzące z mutantów szlaków biogenezy RNA) oraz dostępnych w publicznych bazach danych (SRA).

Całogenomowa identyfikacja sekwencji tRNA i tRNA-podobnych stworzy możliwość prowadzenia dalszych analiz, które będą obejmować m.in. określenie kontekstu genomowego tych genów oraz badania z zakresu genomiki porównawczej.

Charakteryzując pełen zestaw sekwencji wykazujących cechy tRNA ("tRNA-space") u *Arabidopsis thaliana*, wzbogacimy obecnie dostępną wiedzę na temat niekodujących RNA w zakresie identyfikacji nowych elementów genetycznych oraz ich funkcjonalnej charakterystyki.

Rezultaty wszystkich analiz zostaną umieszczone w odpowiednio przystosowanej bazie danych tRex (<http://combio.pl/trex>), która pierwotnie była stworzona w celu analizy fragmentów tRF. Nowe dane i rozbudowane narzędzia do analiz pozwolą na przeobrażenie tego serwisu w ogólnodostępny portal dedykowany biologii tRNA z *Arabidopsis thaliana*.