

Popularnonaukowy opis badań

Wszystkie eukariotyczne RNA transkrybowane przez Polimerazę RNA II powstają z pierwotnych prekursorów na drodze wieloetapowej obróbki, obejmującej między innymi dodawanie czapeczki do końców 5', wycinanie intronów i łączenie ze sobą egzonów (splicing), oraz dodawanie ogonów poli(A) podczas procesu cięcia i poliadenylacji. Za wycinanie intronów i łączenie ze sobą egzonów odpowiedzialny jest wysoce dynamiczny i wielobiałkowy kompleks, zwany spliceosomem, w skład którego wchodzi cząstki rybonukleoprotein U1, U2, U4, U6 i U5 snRNP, a także inne wyspecjalizowane białka. Zaobserwowano niedawno, że poza udziałem w splicingu, U1 snRNP pełni także dodatkową funkcję, mianowicie chroni on nowo syntetyzowane cząsteczki prekursorów RNA przed przedwczesnym zakończeniem transkrypcji, spowodowanym przedwczesną poliadenylacją. Obserwacje dokonane w naszym laboratorium na genach mikro RNA (miRNA), pokazują występowanie podobnego zjawiska. Wiązanie cząsteczki U1 snRNP do miejsca splicingowego 5' (5'SS) prekursorów genów miRNA, hamuje wybór najbliższego miejsca poliadenylacji. Wygląda więc na to, że zarówno w przypadku komórek ludzkich jak i komórek roślinnych, kompleks U1 snRNP jest w stanie hamować poliadenylację w tzw. kryptycznych miejscach poliadenylacji. Nie jest jednak znana dokładna rola U1 snRNP jaką pełni w tym procesie. W celu lepszego zrozumienia roli U1 snRNP w procesie hamowania poliadenylacji, postanowiliśmy zidentyfikować partnerów białkowych oddziałujących z U1-70K. W wyniku przeprowadzonych badań wyodrębniliśmy dwa białka będące składnikami roślinnego odpowiednika ludzkiego kompleksu CFI_m (ang. Cleavage Factor Im), który w komórkach ludzkich uczestniczy w hamowaniu przedwczesnej poliadenylacji oraz jest silnie powiązany ze spliceosomem.

Na podstawie wyników naszych własnych badań wstępnych, postawiliśmy hipotezę, że powiązanie białka U170k i kompleksu CFI jest kluczowe w regulacji wyboru miejsca poliadenylacji. Głównym celem niniejszego projektu jest poznanie i zrozumienie molekularnych mechanizmów powiązania poliadenylacji i splicingu, leżących u podstaw ochronnej funkcji U1 snRNP.

Rezultatem mojej pracy będzie zaproponowanie mechanizmu funkcjonalnego powiązania między maszynieriami poliadenylacji i splicingu. Wyniki badań, uzyskane dzięki realizacji niniejszego projektu, pozwolą na uzupełnienie stanu wiedzy na temat roli U1 snRNP w ochronie prekursorów Polimerazy RNA II przed przedwczesnym zakończeniem transkrypcji. Nasze badania, mimo że prowadzone na roślinie modelowej *Arabidopsis thaliana*, ukierunkowane są na poznanie ogólnego mechanizmu kotranskrypcyjnej regulacji ekspresji genów poprzez zrozumienie wzajemnych relacji pomiędzy spliceosomem a maszynierią poliadenylacyjną. Dokładna charakterystyka roślinnego kompleksu CFI, przeprowadzona podczas realizacji tego projektu, dodatkowo w znaczącym stopniu uzupełni dotychczasową wiedzę na temat procesu poliadenylacji oraz mechanizmu wyboru miejsc poliadenylacji u roślin.