

Egzogennie dostarczany informacyjny RNA (mRNA – ang. messenger RNA) jest obiecującym środkiem terapeutycznym o potencjalnych zastosowaniach w immunoterapiach nowotworów, terapiach genowych i re-programowaniu komórek. Jednak zanim cząsteczkę mRNA można uznać za potencjalny terapeutyk musi zostać pokonanych szereg ograniczeń wynikających z samej natury mRNA. Prace ostatnich lat pozwoliły poprawić stabilność komórkową oraz ulepszyć właściwości translacyjne *in vitro* transkrybowanego mRNA (IVT mRNA). Jednak cały czas nie do końca wyjaśniona pozostaje kwestia jak IVT mRNA może wpływać na komórkową odpowiedź immunologiczną. Zgodnie z doniesieniami literaturowymi literatury wiadomo, że egzogenne RNA (np. RNA wirusów) jest rozpoznawane jako obca cząsteczka przez obronny system komórki i prowadzi do wywołania odpowiedzi immunologicznej. Kluczem do rozpoznania cząsteczki RNA jako obcej jest status metylacji jej 5' końca. Do 5' końca eukariotycznych cząsteczek mRNA przyłączana jest ko-transkrypcyjnie przez 5'-5' mostek trifosforanowy N7-metylowana guanozyna, powstaje wtedy tak zwany kap-0. U wyższych eukariontów, po eksporcie mRNA do cytoplazmy, 5' koniec mRNA poddawany jest metylacji, grupa metylowa dodawana jest do rybozy pierwszego transkrybowanego nukleotydu w pozycji 2'-O, powstaje wtedy kap-1. Obecność kapu-1 pozwala komórce odróżnić obce RNA od własnego. Dodatkowo 5' koniec mRNA może ulec jeszcze jednej metylacji, grupa metylowa dodawana jest do rybozy drugiego transkrybowanego nukleotydu w pozycji 2'-O, powstaje wtedy kap-2, jednak rola tej modyfikacji nie jest do końca wyjaśniona.

Dotychczasowe badania nad odpowiedzią immunologiczną komórek na egzogennie dostarczone RNA wskazywały, że właściwości immunogenne IVT mRNA mogą mieć duże znaczenie w jego zastosowaniu jako terapeutyk. Uważa się, że w niektórych zastosowaniach (na przykład w immunoterapii raka lub w zapobieganiu alergii) stymulacja wrodzonego układu odpornościowego przez IVT mRNA może być korzystna dla pacjenta do kierowania odpowiedzi immunologicznej przeciwko kodowanemu przez IVT mRNA białku. Z drugiej strony silna odpowiedź immunologiczna może prowadzić do zmniejszenia globalnego poziomu białek w komórkach, a nawet wywołać ich apoptozę. Dopiero od niedawna jest możliwe otrzymanie IVT mRNA z nieimmunogennymi strukturami kapu (kap-1 i kap-2). Metody syntezy analogów kap-1 i kap-2 zostały opracowane w Laboratorium Chemii Bioorganicznej (CeNT UW) jak również przez innych (TriLink BioTechnologies). W związku z powyższym zaproponowaliśmy serię doświadczeń, które pozwolą zrozumieć, jak dokładnie IVT mRNA jest rozpoznawane jako obca cząsteczka przez układ odpornościowy komórki. Ponadto planujemy zbadać relacje między stanem metylacji końca 5' mRNA i czynnikami odpowiedzialnymi za wykrywanie i degradację egzogennie dostarczonego RNA. Oczekujemy również, że realizacja przedstawionego projektu pozwoli w przyszłości na bardziej świadome podejście do projektowania mRNA do zastosowań terapeutycznych.