

Matrycowe RNA (mRNA) to naturalna cząsteczka, która służy w naszych komórkach jako matryca dla biosyntezy białka (translacji) i z tego względu, odgrywa ważną rolę w procesie ekspresji genu. mRNA otrzymane na drodze transkrypcji *in vitro* stało się ostatnio również obiektem zainteresowania naukowców ze względu na potencjalne właściwości terapeutyczne, które mogą zrewolucjonizować terapię genową. Komórkowe losy mRNA zależą m.in. od obecności odpowiednich elementów stabilizujących jego końce: tzw. kapu na końcu 5' oraz ogona poliA na końcu 3'. Kap znajdujący się na końcu 5' mRNA zbudowany jest z 7-metyloguanozyny (m^7G) połączonej mostkiem 5',5'-trifosforanowym z pierwszym transkrybowanym nukleotydem i stanowi „znak rozpoznawczy”, do którego przyłączają się różne białka związane z dojrzewaniem, transportem, translacją oraz degradacją mRNA. Jedną z najważniejszych funkcji kapu jest ochrona mRNA przez przedwczesną degradacją w komórce. Dlatego też, hydroliza mostka fosforanowego w strukturze kapu, zwana *dekapingiem*, jest jednym z kluczowych etapów regulacji stabilności i translacji mRNA. W ciągu ostatnich kilku lat odkryto wiele enzymów katalizujących reakcję dekapingu mRNA, które różnią się preferowanymi substratami oraz regioselektywnością degradacji kapu. Nieprawidłowy przebieg działania tych enzymów powiązано z wieloma schorzeniami genetycznymi. W kręgu zainteresowań tego projektu są również inne enzymy, które nie uczestniczą bezpośrednio w dekapingu mRNA, ale mogą uczestniczyć w dalszych etapach degradacji kapu, przez co również mogą wpływać na równowagę pomiędzy translacją a degradacją mRNA w komórce.

Pomimo intensywnych badań nad enzymami dekapującymi i ich udziałem w degradacji mRNA, ścieżki degradacji wciąż pozostają nie do końca wyjaśnione. W niniejszym projekcie zaplanowaliśmy otrzymanie zestawu sond molekularnych będących pochodnymi nukleotydów i oligonukleotydów jako narzędzi chemicznych umożliwiających selektywną i czułą wizualizację enzymów degradujących kap oraz monitorowanie ich aktywności w czasie rzeczywistym w żywych komórkach.

Kluczowymi etapami realizacji projektu, które mają prowadzić do osiągnięcia tego celu są: (i) chemiczna synteza fluorescencyjnych sond molekularnych, (ii) biochemiczna charakteryzacja tych sond, (iii) zastosowanie wybranych sond do monitorowania aktywności enzymów degradujących kap w żywych komórkach.

Sondy molekularne opracowane w ramach realizacji niniejszego projektu mogą pomóc nam w zrozumieniu procesów regulujących *dekaping* na poziomie molekularnym jak i komórkowym. Zastosowanie otrzymanych sond w eksperymentach prowadzonych na żywych lub nawet żywych organizmach może przyczynić się do pozyskania nowych informacji na temat regulacji komórkowych reakcji *dekapingu* w czasie i przestrzeni. To z kolei może przyczynić się do powstania nowych pomysłów na temat tego jak modulować aktywności poszczególnych enzymów degradujących kap, zarówno w celach badawczych jak i terapeutycznych. Co więcej, opracowane narzędzia molekularne mogą również znaleźć w przyszłości zastosowanie do opracowania testów przesiewowych, których celem jest odkrywanie małych cząsteczek, które mogą modulować aktywność enzymów degradujących kap w celach terapeutycznych.