

Za przenoszenie informacji genetycznej w komórkach eukariontów odpowiada DNA. W oparciu o tę informację produkowane są białka, będące podstawowym elementem funkcjonowania organizmów. Na otrzymywanie białka (tzw. biosyntezę) składają się dwa pomniejsze procesy – transkrypcja i translacja. W trakcie transkrypcji informacja genetyczna zostaje przepisana z DNA na cząsteczkę mRNA, na której to matrycy w procesie translacji otrzymywane jest białko. mRNA podobnie jak DNA jest cząsteczką łańcuchową, zbudowaną z elementów zwanych nukleotydami. Tuż po syntezie mRNA zostaje ono poddane obróbce, tzw. procesowi dojrzewania, w ciągu którego obydwaj jego końce (5' i 3') zostają zmodyfikowane. Szczególnie interesująca modyfikacja, zwana kapem (*ang. cap* – czapeczka), znajduje się na końcu 5'mRNA. **Struktura kapu jest nietypowym połączeniem nukleotydowym, charakteryzującym się obecnością 7-metyloguanozyny. Dzięki obecności dodatniego ładunku w pierścieniu 7-metyloguaniny kap oddziałuje specyficznym z wieloma białkami i jest zaangażowany w szereg istotnych procesów biologicznych.** Przykładem jest oddziaływanie kapu z białkiem eIF4E w trakcie inicjacji procesu translacji. Podwyższony poziom białka eIF4E jest charakterystyczny dla komórek nowotworowych, ze względu na nasiloną biosyntezę białka. Dlatego też małowiązujące ligandy hamujące aktywność eIF4E mogą potencjalnie posiadać działanie przeciwnowotworowe. Odpowiednio modyfikowane chemicznie analogi kapu wprowadzone na koniec 5' wydłużają czas życia mRNA w komórce oraz zwiększają wydajność translacji. Ma to istotne znaczenie w zastosowaniu mRNA w terapii genowej. Po spełnieniu swojej funkcji w komórce mRNA jest degradowane przez enzymy specyficznym hydrolizujące 5' kap, np. DcpS. Działanie enzymu DcpS związane jest ze schorzeniem genetycznym – rdzeniową atrofią mięśniową (SMA), a inhibitory DcpS zostały zidentyfikowane jako terapeutyki w jej leczeniu. Niemniej istotny jest sam proces tworzenia kapu oraz wprowadzenie najistotniejszego elementu – grupy metylowej w pozycję N7 guanozyny. Za proces ten, zwany metylacją, odpowiada białko RNA guanozyno-N7-metylotransferaza (N7MTaza). W trakcie niektórych infekcji wirusowych dochodzi do ekspresji informacji genetycznej wirusa w postaci mRNA, a jednym z etapów jego powstawania jest N7-metylacja. Inhibitory procesu N7-metylacji mogą pełnić funkcje zarówno przeciwwirusowe, jak i przeciwnowotworowe.

**Mnogość biologicznych funkcji 5' kapu oraz jego związek z rozwojem i leczeniem wielu chorób sprawia, że stanowi on interesujący cel badań.** Odpowiednio zaprojektowane modyfikacje chemiczne kapu wpływają na właściwości całego mRNA, takie jak zwiększenie wydajności translacji czy odporność na degradację enzymatyczną. Z tego względu wciąż poszukiwane są nowe analogi kapu silnie wiążące się z białkiem eIF4E, bądź hamujące degradację przez DcpS o właściwościach odpowiednio antynowotworowych i anty-SMA. Inhibitory syntezy kapu mogą z kolei pełnić funkcję czynników przeciwnowotworowych i przeciwwirusowych. Szybka i efektywna selekcja małowiązujących ligandów wymaga zastosowania czułych metod screeningowych, tzw. HTS (*High-Throughput Screening*). **Głównym celem mojego projektu doktorskiego jest opracowanie nowych uniwersalnych narzędzi oraz metod służących do monitorowania procesów biologicznych, w które zaangażowana jest struktura kapu, opartych o pomiary zmian intensywności fluorescencji.** W ramach pracy otrzymałam ponad 40 znakowanych fluorescencyjnie analogów nukleotydów – pochodnych m<sup>7</sup>G-nukleotydów (kapu), G-nukleotydów oraz Gp<sub>3</sub>A. Wszystkie związki scharakteryzowałam pod względem ich właściwości spektroskopowych oraz zmian fluorescencyjnych zachodzących w trakcie oddziaływań z białkami. Na tej podstawie wyselekcjonowałam najlepsze związki, które następnie wykorzystałam do zaprojektowania fluorescencyjnych metod wysokoprzepustowych przeznaczonych do badań białek eIF4E, DcpS i N7MTazy. Każdą z opracowanych przeze mnie w ramach projektu doktorskiego metod można zaliczyć do metod HTS przeznaczonych do wysokoprzepustowych przeszukiwań bibliotek związków w celu wytypowania ligandów o potencjalnym znaczeniu terapeutycznym. **Prowadzone badania są istotne z punktu widzenia badań nad białkami oddziałującymi z kapem. Ponadto otrzymane fluorescencyjnie znakowane analogi nukleotydów stanowią uniwersalne narzędzie i mogą znaleźć zastosowanie w badaniach także innych klas białek.**