

Nowe aspekty negatywnej regulacji polimerazy III RNA u drożdży *Saccharomyces cerevisiae*

Kontrola transkrypcji w komórce eukariotycznej jest głównym mechanizmem regulacji ekspresji genów, podstawowym dla wzrostu i różnicowania, a krytycznym dla transformacji nowotworowej. Drożdże *Saccharomyces cerevisiae* to doskonały organizm modelowy do genetycznej i molekularnej analizy powiązań regulacyjnych stanowiących kontrolę transkrypcji. Planowane badania koncentrują się na regulacji transkrypcji tRNA z udziałem polimerazy III RNA (Pol III). Specyficznymi elementami aparatu transkrypcyjnego Pol III są czynniki transkrypcyjne TFIIB i TFIIC, jak również negatywny regulator Maf1. Czynniki te ściśle kontrolują i regulują transkrypcję Pol III w odpowiedzi na sygnały środowiskowe. Ostatnie lata zaowocowały poznaniem wielu mechanizmów regulujących transkrypcję Pol III, co przyczynia się do formułowania nowych hipotez badawczych, które wymagają weryfikacji eksperymentalnej. Celem proponowanego projektu jest wyjaśnienie nowych aspektów regulacji transkrypcji Pol III z udziałem czynnika transkrypcyjnego TFIIC i represora Maf1. Ostatnie nasze badania wykazały, że czynnik transkrypcyjny TFIIC, który aktywuje inicjację transkrypcji genów tRNA, pełni również funkcję w negatywnej regulacji Pol III. Funkcja TFIIC jako represora ujawnia się podczas zmiany metabolizmu drożdży z fermentacji na oddychanie, jednak mechanizm molekularny odpowiedzialny za tę funkcję nie jest jeszcze w pełni poznany. Dlatego też celem proponowanych badań jest wyjaśnienie nieznanych dotąd elementów negatywnej regulacji transkrypcji z udziałem TFIIC w odpowiedzi na zmiany metabolizmu drożdży.

Szeroko udokumentowano zachodzącą z udziałem Maf1 represję transkrypcji Pol III w warunkach stresu, jak i zmiany metabolizmu drożdży. Wykazano, że represja Maf1 związana jest z jego defosforylacją, jądrową lokalizacją i bezpośrednim oddziaływaniem z Pol III. Celem proponowanych badań będzie analiza mechanizmu negatywnej regulacji Pol III z udziałem związków chemicznych, zidentyfikowanych poprzez przeszukiwanie biblioteki zawierającej wprowadzone na rynek leki, które były zdolne do komplementacji defektu wzrostu szczepu drożdżowego z delecją genu kodującego Maf1. Naszym zadaniem jest wykazanie, że związki te są specyficznymi inhibitorami Pol III, które albo zastępują Maf1 i hamują Pol III przez bezpośrednie oddziaływanie, albo wpływają na inne funkcje komórkowe i przez to kompensują brak regulacji Pol III przez Maf1. Wiadomo jest, że aparat transkrypcyjny Pol III jest konserwowany ewolucyjnie od drożdży do człowieka. Możliwe jest, że nowo odkryte specyficzne inhibitory Pol III będą hamować transkrypcję Pol III również w komórkach ludzkich. Ponadto, wielokrotnie wykazano wysoki poziom produktów syntetyzowanych przez Pol III w różnych rodzajach nowotworów, dlatego też w przyszłości nowo odkryte inhibitory Pol III mogą być stosowane jako środki terapeutyczne w leczeniu raka.