

STRESZCZENIE

Grypa jest wysoce zaraźliwą chorobą, która występuje sezonowo jako epidemia, a czasami jako pandemia. Każdego roku Światowa Organizacja Zdrowia rejestruje 3-5 milionów przypadków ciężkich zachorowań i około 290 000–650 000 zgonów. Potencjał pandemiczny wirusa grypy jest wynikiem dużej zmienności jego genomu i jest skorelowany z jego patogennością, replikacją, kinetyką wzrostu, a także cyklem życiowym, w tym wewnątrzkomórkową dynamiką replikacji, pakowaniem RNA, edytowaniem RNA i składaniem mRNA. Procesy te mogą być kontrolowane przez strukturę RNA.

Wirus grypy typu A reprezentuje wirusa otoczkowego, którego genom składa się z ośmiu segmentów RNA o ujemnej polarności. RNA wirusowy (ang. *viral RNA*, vRNA) jest przepisywany podczas transkrypcji na komplementarny RNA o dodatniej polarności (ang. *complementary RNA*, cRNA) oraz informacyjny RNA (ang. *messenger RNA*, mRNA) wewnątrz zainfekowanych komórek gospodarza. RNA wirusowy wraz z nukleoproteiną i trzema podjednostkami polimerazy tworzy kompleks rybonukleoproteinowy (ang. *ribonucleoprotein complex*, vRNP), który stanowi niezależną jednostkę replikacyjną i transkrypcyjną. RNA jest wykorzystywany przez cały cykl życiowy wirusa, co podkreśla jego fundamentalną rolę w biologii wirusa. Ponadto, RNA bierze udział w wielu procesach wirusa poprzez aktywność związaną ze swoją strukturą drugo- i trzeciorzędową. Wiadomo, że sekwencje vRNA i mRNA przyjmują złożone struktury drugorzędowe, które są konserwatywne dla różnych szczepów wirusa. Co więcej, wykazano, że regiony bogate w reszty G są obecne w genomie różnych wirusów (np. wirus Zika) i tworzą niekanoniczne struktury, takie jak G-kwadrupeksy (G4), które mogą pełnić ważne funkcje biologiczne. Dlatego wiedza na temat zależności struktury i funkcji RNA wirusowego jest istotna i badania na ten temat powinny być kontynuowane.

W niniejszym projekcie badawczym planujemy wziąć pod uwagę fakt, że struktura RNA genomu wirusa grypy jest wciąż mało poznana, a nietypowe motywy strukturalne obecne w RNA wirusowym mogą pełnić ważną rolę w biologii wirusa. W związku z tym, głównym celem naszego projektu jest zbadanie genomu wirusa grypy typu A pod kątem występowania sekwencji bogatych w reszty G, które mogą tworzyć strukturę G-kwadrupeksów RNA oraz zbadanie ich potencjalnego wpływu na cykl replikacyjny tego wirusa. W tym celu, postulujemy badania bioinformatyczne, w których zidentyfikujemy sekwencje potencjalnie tworzące struktury G4 (ang. *potential quadruplex-forming sequences*, PQSs). Następnie, chcielibyśmy odpowiedzieć na pytanie: Czy te sekwencje PQSs są konserwatywne wśród szczepów wirusa grypy typu A? Występowanie konserwatywnych regionów PQS w genomie wirusów grypy potwierdziłoby prawdopodobną istotną rolę struktury, którą mogą przyjmować te sekwencje, w kontekście biologii wirusa. W następnym etapie planujemy przeprowadzić badania biofizyczne, w których sprawdzimy zdolność sekwencji PQS do tworzenia struktury G4 RNA. Mówiąc dokładniej, wykonamy badania termodynamiczne i strukturalne z wykorzystaniem różnych typów spektroskopii (w zakresie ultrafioletu-światła widzialnego, dichroizmu kołowego i magnetycznego rezonansu jądrowego) oraz technik elektroforetycznych w celu określenia stabilności struktur G-kwadrupeksów RNA, ich dynamiki, a także oddziaływania międzycząsteczkowego. W ostatniej części projektu chcielibyśmy zbadać potencjał sekwencji PQS z punktu widzenia biologii wirusa grypy. W tym celu przeprowadzimy badania biologiczne *in vitro* z wykorzystaniem komórek zainfekowanych wirusem grypy typu A. Bardziej szczegółowo, wprowadzimy mutacje zmieniające strukturę RNA w regionach PQS, a następnie sprawdzimy jak te zmiany wpływają na aktywność kompleksu rybonukleoproteinowego oraz na cykl replikacyjny wirusa.

Zaproponowane badania pozwolą na poszerzenie wiedzy na temat struktury RNA wirusowego. Wyniki naszych badań dostarczą szczegółowych informacji dotyczących występowania sekwencji bogatych w reszty G w genomie wirusa grypy oraz ich strukturze, a także potencjalnej roli biologicznej, jaką mogą pełnić w replikacji wirusa. Ponadto, uzyskane rezultaty mogą być przydatne w opracowywaniu nowych strategii antywirusowych nakierowanych na konserwatywne motywy strukturalne w RNA wirusowym.