

Zaskakująco tylko 1,5 % genomu saków koduje białka, pozostała część to niekodujący DNA. W ostatnich latach odkryto, że jego część ulega transkrypcji w wyniku, czego powstają niekodujące RNA. Jedną z klas takich transkryptów są długie niekodujące RNA (lncRNA), które cechują się długością ponad 200 nukleotydów, nie kodują białek, natomiast podlegają procesom dojrzewania RNA charakterystycznym dla transkryptów kodujących. Ponadto, oddziałują z DNA, RNA oraz z białkami i pełnią ważne biologiczne funkcje takie jak regulacja transkrypcji, syntezy białek, wycinania intronów, transportu cytoplazmatycznego czy jądrowego. Zauważono zmianę profilu ekspresji długich niekodujących RNA w komórkach ssaczy w trakcie różnych chorób, wliczając w to choroby wirusowe, w tym powodowane przez wirusa grypy. Niektóre długie niekodujące RNA promują namnażanie się wirusa grypy poprzez hamowanie komórkowej odpowiedzi immunologicznej, inne zmieniają metabolizm komórki by promować replikację wirusów. W ostatnich latach zidentyfikowano komórkowe długie niekodujące RNA, które są niezbędne do namnażania wirusa grypy, a przy tym nie uczestniczą w modulacji odpowiedzi immunologicznej, a niektóre z nich bezpośrednio oddziałują z białkami wirusa grypy.

W niniejszym projekcie badawczym planujemy wziąć pod uwagę fakt, że struktura długich niekodujących RNA niezbędnych do namnażania wirusa grypy jest wciąż mało poznana, a motywy strukturalne obecne w długich niekodujących RNA mogą pełnić ważną rolę w biologii wirusa. W związku z tym, głównym celem naszego projektu jest zbadanie struktury wybranych długich niekodujących RNA pod kątem występowania funkcjonalnych motywów RNA oraz zbadanie ich potencjalnego wpływu na cykl replikacyjny wirusa grypy. W tym celu planujemy badania bioinformatyczne, które zidentyfikują potencjalne funkcjonalne motywy RNA występujące w wybranych długich niekodujących RNA. W następnym etapie planujemy przeprowadzić badania, w których sprawdzimy zdolność długich niekodujących RNA do tworzenia struktur przewidzianych bioinformatycznie. Mówiąc dokładniej, wykonamy badania strukturalne polegające na mapowaniu RNA zarówno *in vitro*, jak i w zainfekowanych liszatkach komórkowych, które odzwierciedlają warunki komórkowe. W kolejnej części projektu chcielibyśmy określić rolę potencjalnie funkcjonalnych motywów RNA długich niekodujących RNA w cyklu replikacyjnym 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 długich niekodujących RNA w potencjalnie funkcjonalnych motywach strukturalnych, a następnie sprawdzimy jak te zmiany wpływają na cykl replikacyjny wirusa grypy. W ostatniej części projektu wykorzystamy wiedzę o motywach RNA długich niekodujących RNA do hamowania namnażania wirusa grypy w kilku liniach komórkowych. Posłużymy się narzędziami modulującymi RNA oraz zależnymi od struktury takimi jak antysensowe oligonukleotydy (ASO), małe interferujące RNA (siRNA), oraz strategią CRISPR/Cas. ASO, siRNA. Komponenty systemu CRISPR/Cas, ASO oraz siRNA najlepiej hamujące namnażanie wirusa grypy zbadamy pod kątem ewentualnego efektu cytotoksycznego, jakie mogą wywierać na komórki.

Zaproponowane badania pozwolą na poszerzenie wiedzy na temat struktury długich niekodujących RNA (lncRNA) niezbędnych do namnażania wirusa grypy. Wyniki naszych badań dostarczą szczegółowych informacji dotyczących występowania funkcjonalnych motywów RNA długich niekodujących RNA oraz ich struktury, a także potencjalnej funkcji biologicznej, jaką mogą pełnić w replikacji wirusa grypy. Co więcej, stworzymy narzędzia hamujące namnażanie wirusa grypy w liniach komórkowych. Uzyskane rezultaty mogą być przydatne w dalszym rozwoju nowych strategii antywirusowych nakierowanych na długie niekodujące RNA wykorzystywane przez wirusa grypy do przeprowadzania swojego cyklu replikacyjnego.