

Nowy mechanizm kontroli ekspresji genów u *Eukaryota* poprzez regulację długości ogonów poliadenozynowych kodujących transkryptów

SONATA 16 - dr Agnieszka Tudek

Kontekst biologiczny projektu

Przepis na wszystkie składowe naszych organizmów zawarty jest w naszym materiale genetycznym, tzw. DNA. Wykonanie każdego z wielu tysięcy takich przepisów wymaga częściowego skopiowania DNA na krótszą cząsteczkę zwaną mRNA (od ang. messenger RNA) w procesie zwanym transkrypcją. RNA zawiera informację o wybranym elemencie składowym organizmu; zazwyczaj jest to białko. Końce RNA są modyfikowane w miejscu jego syntezy, czyli w jądrze komórkowym. Na początku RNA dodawana jest czapeczka, natomiast na końcu ogon poliadenozynowy (ogon poliA). Ogon poliA reguluje stabilność mRNA oraz jego funkcję w eksporcie z jądra do cytoplazmy i późniejszej produkcji białek.

Poziom mRNA bezpośrednio przekłada się na ilość produkowanego białka. Równocześnie tempo transkrypcji i degradacji wyznaczają poziom konkretnego mRNA. Regulacja tempa degradacji mRNA jest zatem niezbędną składową kontroli ekspresji genów. Głównym czynnikiem wpływającym na stabilność mRNA jest długość ogona poliA. W czasie trwania określonego mRNA jego ogon poliA jest stopniowo skracany w procesie zwanym deadenylacją. Obowiązujący model sugeruje, że deadenylację rozpoczyna kompleks PAN2/3, zaś kończy CCR4-NOT. Ta dwu-fazowa deadenylacja w ostateczności doprowadza do szybkiej degradacji tegoż mRNA. Szybkość i mechanizm deadenylacji wyznacza zatem czas półtrwania mRNA, a co za tym idzie jego dostępność dla produkcji białka. Zrozumienie ścieżki deadenylacji jest zatem kluczowe dla opisanie mechanizmów kontroli ekspresji genów.

Cel projektu oraz metody badawcze

Celem tego projektu jest opisanie roli kompleksów CCR4-NOT i PAN2/3 w skracaniu ogonów poliA mRNA *in vivo*. Ta praca zostanie wykonana przy użyciu drożdży *Saccharomyces cerevisiae* i linii ludzkich komórek jako modeli badawczych w celu wskazania ewolucyjnie konserwowanych mechanizmów. Zastosujemy nowatorską technologię, zwaną Direct RNA Sequencing (DRS), aby zmierzyć długość ogonów poliA na każdym komórkowym mRNA. Będziemy generować zestawy danych ze szczepów typu dzikiego i mutantów deadenylaz i powiążemy zmiany długości ogona poliA ze stabilnością mRNA i szybkością produkcji białka.

Spodziewane wyniki

Nasze wstępne wyniki podważają tak zwany dwu-fazowy model deadenylacji i pokazują, że w drożdżach kompleksy CCR4-NOT i PAN2/3 mogą skracać ogony poliA różnych grup mRNA. Chcemy więc dokładniej określić substraty każdego kompleksu metodą DRS co pozwoli uzyskać kompleksowy obraz deadenylacji mRNA w żywych komórkach. Nasze dane pokazują również, że w drożdżach długości ogonów poliA na mRNA są dostosowywane do zmieniających się warunków wzrostu. Spodziewamy się, że każdy kompleks deadenylaz jest niezależnie regulowany, aby odgrywać oddzielną i określoną rolę w tym procesie. Podsumowując, mamy nadzieję wykazać, że stabilność określonego mRNA jest definiowana drogą deadenylacji niezależnie poprzez kompleksy PAN2/3 lub CCR4-NOT.