

Wirusy są czynnikami zakaźnymi, które replikują wyłącznie wewnątrz żywych komórek organizmu. Arbowirusy są grupą wirusów przenoszonych przez stawonogi w złożonym cyklu transmisji pomiędzy wirusem, wektorem-stawonogiem i żywicielem-kręgowcem. Flawiwirusy, takie jak denga (DENV), wirus zachodniego Nilu (WNV) i Zika (ZIKV), są przyczyną powstawania ognisk ciężkich, potencjalnie śmiertelnych chorób, na które zapada ponad 50 milionów osób rocznie. W ostatnich latach częstsze pojawianie się na świecie ognisk arbowirusów, takich jak ZIKV, było szeroko komentowane w mediach, tak jak gdyby było to całkowicie nowe zjawisko. Niemniej jednak ogniska te pojawiały się na świecie od wieków. Główna różnica polega dziś na tym, że rozprzestrzenianie się wirusów jest szybsze i bardziej rozległe geograficznie, szczególnie ze względu na zmiany klimatyczne, modyfikację terenu, intensywny rozwój globalnego transportu, adaptację stawonogów do rosnącej urbanizacji obszarów ich występowania oraz niepowodzenia związane z redukcją populacji komarów. Przewiduje się, że w związku ze zmianami klimatycznymi denga będzie w najbliższej przyszłości stanowić potencjalne zagrożenie w Europie. Według organizacji rządu USA, Centers for Disease Control and Prevention, nie istnieją skuteczne szczepionki, ani specyficzne metody leczenia dla żadnego z tych trzech wirusów, pomimo stanowienia znacznego zagrożenia dla zdrowia i życia.

W proponowanym przez nas projekcie zwracamy uwagę na niekodujące regiony RNA jako potencjalne miejsca działania leków. Flawiwirusy posiadają genom RNA o dodatniej polarności (+) i replikują się w cytoplazmie komórek gospodarza. Wirusowe RNA odgrywa aktywną rolę w amplifikacji genomu wirusowego, dostarcza sygnałów, które mogą działać jako promotory, wzmacniać i/lub wyciszać proces replikacji wirusa. Genom RNA zawiera niepodlegające translacji regiony (UTRs) 5' i 3' oraz struktury, które są specyficzne wyłącznie dla rodziny flawiwirusów. Ponadto regiony 5' i 3' zawierają sekwencje komplementarne, które biorą udział w interakcjach RNA-RNA, powodując cyklizację wirusowego RNA, konieczną do jego replikacji. Wykazano, że te elementy RNA mają zasadnicze znaczenie dla patogeniczności wirusa, oraz wywołują efekt cytopatyczny w komórkach, w związku z czym mogą być wykorzystane jako baza dla potencjalnych leków i opracowania nowych szczepionek. Jednakże, do tej pory, nie zostały poznane struktury 3D tych elementów dla flawiwirusów. W projekcie postaramy się odpowiedzieć na dwa główne pytania dotyczące flawiwirusów: jaka jest budowa ich regionów RNA 5' i 3' i jakie zmiany strukturalne są wymagane do tworzenia się ich kompleksów, a także jakie struktury RNA są dla nich unikalne? Aby odpowiedzieć na te pytania, za pomocą mikroskopii krioelektronowej (CryoEM) określimy trójwymiarowe struktury regionów RNA, które są niezbędne dla funkcjonowania wirusa.

Projekt ten ma na celu określenie struktur regionów 5' i 3' RNA oddzielnie i w cyklicznym kompleksie 5'/3' dla wirusa dengi (cztery podtypy: DENV 1 do 4) oraz wirusów Zika (ZIKV) i zachodniego Nilu (WNV). Poszczególne etapy pozwolą nam poznać konserwatywność i zmienność struktury RNA oraz zidentyfikować wspólne elementy, które mogą być w przyszłości wykorzystane jako baza do projektowania leków antywirusowych. Określenie struktury regionów 5' i 3' RNA oddzielnie i w cyklicznym kompleksie 5'/3' pozwoli nam zrozumieć jakie zmiany strukturalne związane z replikacją, są konieczne do cyrkularyzacji genomu. Pozwoli to stworzyć strukturalną platformę niezbędną dla rozwoju bardziej skutecznych szczepionek. W projekcie wykorzystamy połączenie dotychczasowo dostępnych narzędzi z technikami eksperymentalnymi, jak również prototypy innowacyjnych narzędzi opracowanych niedawno w macierzystym laboratorium IIMCB. Nasze doświadczenie w zakresie badań nad RNA i w biologii strukturalnej umożliwi nam dostarczenie nowych użytecznych informacji, pozwalających na lepsze zrozumienie mechanizmów działania flawiwirusów. Otrzymane wyniki przyczynią się do uzyskania wiedzy na temat związku sekwencji, struktury i funkcji RNA flawiwirusów, co przełoży się na późniejsze praktyczne zastosowanie – powstanie szczepionek i nowych leków przeciwwirusowych.