

## Streszczenie popularnonaukowe

Każda istota żywa jest wysoko zorganizowanym układem przeprowadzającym szereg procesów fizycznych i chemicznych, które wymagają stałego dopływu energii. Ludzie pod tym względem nie są wyjątkowi i jak powszechnie wiadomo do życia potrzebujemy jedzenia i tlenu. Te dwa składniki dostarczają naszemu ciału energii niezbędnej do jego funkcjonowania na drodze oddychania komórkowego. Na poziomie pojedynczej komórki za proces ten odpowiadają wyspecjalizowane organella – mitochondria. Są one obecne w każdej (oprócz czerwonych krwinek) komórce ludzkiego organizmu.

Mitochondria człowieka są fascynujące między innymi z tego względu, że posiadają własny genom w postaci kolistej cząsteczki DNA. Mitochondrialny DNA jest jednak niewielki i koduje tylko kilkanaście białek, podczas gdy pozostałe 1500 białek mitochondrialnych jest kodowana przez geny zmagazynowane na terenie jądra komórkowego. Mitochondria są więc efektem współdziałania dwóch przestrzennie rozdzielonych genomów - jądrowego i mitochondrialnego. Prawidłowa ekspresja mitochondrialnego DNA jest niezbędna dla życia całej komórki i organizmu. Mutacje w DNA mitochondrialnym lub zaburzenia związane z ekspresją kodowanej w nim informacji są przyczyną wielu różnych schorzeń, takich jak choroby mitochondrialne, choroby neurodegeneracyjne oraz choroby związane z układem odpornościowym. Pomimo wielu lat badań nad funkcjonowaniem ludzkiego genomu mitochondrialnego nadal wiele aspektów związanych z jego ekspresją (przepisaniem informacji zakodowanej w DNA na mRNA i dalej przetłumaczeniem jej na sekwencję białka) pozostaje nieznanymi.

Celem proponowanego projektu jest identyfikacja czynników odpowiedzialnych za regulację poziomu poszczególnych mitochondrialnych mRNA (mt-mRNA) w komórkach człowieka, a w szczególności białek zaangażowanych w degradację tych mRNA. Zbadamy jaką rolę w regulacji poziomu mitochondrialnego mRNA pełni ich dojrzewanie i translacja oraz sprawdzimy czy urydlacja mitochondrialnych transkryptów jest związana z kontrolą ich jakości.

Powyższe cele zamierzamy osiągnąć przeprowadzając wysokoprzepustowe przeszukanie genomu ludzkiego z wykorzystaniem biblioteki siRNA umożliwiającej wyciszenie ekspresji 6395 wyselekcjonowanych genów. Cząsteczki krótkiego interferencyjnego RNA (siRNA) zostaną wprowadzone za pomocą transfekcji do ludzkich komórek hodowanych na płytkach 384-dołkowych, a następnie z wykorzystaniem mikroskopii fluorescencyjnej sprawdzimy jak brak poszczególnych białek wpływa na poziom mitochondrialnego mRNA i jego degradację. Funkcja kilku zidentyfikowanych białek zostanie dokładnie zbadana. Równolegle przeprowadzimy badania polegające na profilowaniu rybosomów mitochondrialnych, które pozwolą na sprawdzenie w jakim stopniu dojrzewanie mitochondrialnego RNA (wycinanie mRNA z pierwotnych transkryptów, obróbka końca 3') i jego translacja mają udział w regulacji poziomu dojrzałych mitochondrialnych mRNA.

Realizacja proponowanego projektu dostarczy wielu bardzo wartościowych informacji naukowych. Identyfikacja czynników białkowych zaangażowanych w regulację poziomu i degradację mt-mRNA wypełni lukę w naszej wiedzy dotyczącej regulacji ekspresji informacji genetycznej zawartej w DNA mitochondrialnym. Dodatkowo proponowane badania pozwolą na ustalenie roli mitochondrialnej translacji i obróbki RNA w kontroli poziomu mt-mRNA. Dowiemy się również czy urydlacja mtRNA bierze udział w jego kontroli jakości. W związku z tym, że prawidłowe funkcjonowanie genomu mitochondrialnego ma kluczowe znaczenie dla ludzkiego zdrowia, nasze badania mogą wyłonić geny o potencjalnym znaczeniu diagnostycznym.