

Wszystkie procesy biologiczne zaczynając od bakterii walczących z wirusami po rozwój serca u człowieka są kontrolowane przez zmiany w ekspresji materiału genetycznego i dynamicznych oddziaływań między cząsteczkami białek i RNA. Wiemy już dużo na temat tego jak te białka wyglądają strukturalnie, jakie elementy RNA rozpoznają oraz jaki wpływ na komórkę mają takie oddziaływania lub ich brak. W ostatnich latach coraz więcej nacisku kładzie się na poznawanie mechanizmów molekularnych rządzących procesami biologicznymi. Dzięki takim badaniom możemy zrozumieć, jak mechanizmy ewoluują, ale również możemy lepiej nimi manipulować np. w rozwoju szczepionek.

Celem tego projektu jest badanie mechanizmów molekularnych rządzących komunikacją między poszczególnymi procesami takimi jak wyciszaniem RNA, degradacją RNA i translacją u bakterii. Po-transkrypcyjna regulacja genów odpowiada za reakcję bakterii na stres np. przestawienie metabolizmu na dostępne składniki odżywcze czy dostosowanie się do warunków gospodarza w przypadku patogennych szczepów. Ta regulacja jest umożliwiana przez małe RNA (sRNA) oddziałujące z informacyjnym RNA (mRNA) na zasadzie komplementarności. W parowaniu między sRNA i mRNA uczestniczy białko opiekuńcze Hfq. Związanie mRNA przez sRNA często prowadzi do degradacji obu cząsteczek, a więc obniża ekspresję docelowego mRNA. Z kolei za degradację większości RNA bakteryjnych, także tych sparowanych przez Hfq, odpowiada kompleks białkowy zwany degradosomem zawierający enzym katalizujący cięcie RNA: rybonuklazę E (RNazę E). Co ciekawe, sRNA występują w komórkach w kompleksach z Hfq, ale również Hfq i degradosomem. Nie wiadomo jakie różnice funkcjonalne dzielą te kompleksy. W skład degradosomu często wchodzi też helikaza RhlB rozplatająca ustrukturyzowane RNA, więc stawiamy hipotezę, że obecność degradosomu umożliwia dostęp sRNA do wcześniej niedostępnych miejsc w docelowych mRNA. Ponadto nie wiadomo czy utworzenie stabilnego kompleksu degradującego mRNA zależy od kolejności dołączania poszczególnych komponentów.

Wcześniejsze badania wykazały, że większość, lecz nie wszystkie sRNA jest degradowana łącznie z docelowym mRNA, co doprowadziłoby również do wyciszenia regulatora. Nie jest jednak wiadomo jakie czynniki decydują o degradacji sRNA lub czy Hfq jest obecne w tym procesie. Jeśli tak, jest możliwe, że krótkie fragmenty pozostałe po degradacji RNA pozostają związane do Hfq wpływając na dalsze losy docelowych mRNA. Planujemy odtworzyć katalitycznie aktywny degradosom posiadający również zdolność do oddziaływania z białkami. Z wykorzystaniem fluorescencyjnie znakowanych komponentów, będziemy w stanie śledzić składanie kompleksów równoległe z katalizą RNA.

Dodatkowym skomplikowaniem w koordynacji tych procesów jest to, że RNA podlega ciągłej translacji. Wiadomo, że sRNA często celują w obszar wiązania rybosomu na mRNA, jednak nie jest jasne, czy dochodzi do bezpośredniej konkurencji między rybosomem a kompleksem sRNA-Hfq. Ponadto, degradosomy przeprowadzające cięcie w regionach kodujących mRNA muszą bezpośrednio koordynować pracę z rybosomami. Chcemy zwizualizować jak dynamiczne są te procesy.

Badania przeprowadzone w ramach tego projektu dadzą wgląd w komunikację między kluczowymi procesami komórkowymi zaangażowanymi w ekspresję informacji genetycznej. Poznamy dynamikę tych mechanizmów w skali milisekund, a więc w realnej rozdzielczości czasowej w jakiej procesy te zachodzą w komórce. Poprzez monitorowanie pojedynczych cząsteczek otrzymamy także wgląd w heterogenność tych procesów. Te wszystkie informacje będą cenne w zaprojektowaniu sztucznych regulatorów ekspresji genów i symulowaniu ich efektów.