

## **Długie niekodujące RNA w ludzkich pluripotentnych komórkach macierzystych**

Kwas rybonukleinowy (RNA) jest różnej długości nicią zbudowaną z kombinacji czterech różnych elementów zwanych nukleotydami (guanina, cytozyna, adenina i uracyl). W przeciwieństwie do prostoty elementów składowych, RNA jest najbardziej różnorodną pod względem funkcji cząsteczką w naszych komórkach. Może działać jako nośnik informacji zakodowanej w genomowym DNA, którą przekazuje do komórkowego systemu syntetyzującego białka. Ponadto, RNA może tworzyć skomplikowane trójwymiarowe struktury, które katalizują reakcje chemiczne, wiązać inne cząsteczki wpływając na ich aktywność, a także przechowywać informacje genetyczną (to ostatnie w przypadku niektórych wirusów).

Niedawne badania stosujące sekwencjonowanie nowej generacji pokazały, że większość naszego genomu jest transkrybowana do RNA. Geny kodujące białka stanowią zaledwie niewielki odsetek tych transkryptów – 1-2%. Na pozostałą pulę RNA obecnych w komórce składają się transkrypty niekodujące, wykonujące inne funkcje komórkowe. Wśród nich, duża grupa zaliczana jest do długich niekodujących RNA (lncRNAs) definiowanych jako transkrypty dłuższe niż 200 nukleotydów bez potencjału do kodowania białek. Tylko część z tych RNA ma dobrze poznaną funkcję biologiczną, określoną w wyniku badań eksperymentalnych raportowanych w literaturze. Badania dokładnie wyjaśniające mechanizmy ich działania są jednak wciąż niewystarczające. LncRNA są ważnymi regulatorami wielu procesów komórkowych i związane są z szeregiem chorób. Okazują się też kluczowymi czynnikami w biologii komórek macierzystych. Zaangażowane są w utrzymanie pluripotencji oraz różnicowanie do wyspecjalizowanych komórek, takich jak neurony, kardiomiocyty, hepatocyty, czy też komórki endotelialne. Badania w pluripotentnych komórkach macierzystych pozwoliły zidentyfikować wiele lncRNA potrzebnych do utrzymania pluripotencji, wśród nich lncRNA-ES1 i lncRNA-ES3. Inne, niedawno opisane lncRNA, Heart Brake lncRNA (HBL1), reguluje różnicowanie ludzkich komórek macierzystych do kardiomiocytów. Te lncRNA obecne są w komórkach pluripotentnych, a poziom ich ekspresji spada w komórkach zróżnicowanych. W przypadku wymienionych lncRNA znane są przykłady oddziałujących z nimi białek, lecz molekularne szczegóły tych oddziaływań nie są poznane.

W obecnym projekcie planujemy połączyć metody biochemiczne oraz z dziedziny biologii komórki w celu pełnego zrozumienia sposobu działania wybranych lncRNA specyficznych dla komórek macierzystych. W ramach pierwszej części projektu, chcemy skoncentrować się na molekularnych podstawach funkcji komórkowych wybranych lncRNA. Zwizualizujemy ich lokalizację w komórkach i określimy jak jest regulowana. Określimy też z jakimi białkami i regionami w genomie oddziałują. Drugi cel projektu to określenie struktury tych lncRNA z oraz bez oddziałujących z nimi białek. Zaczniemy od analiz, które określą dwuwymiarową topologię tych cząsteczek i określą prawdopodobne moduły strukturalne. Następnie, potwierdzimy oddziaływanie lncRNA z białkami wskazanymi w literaturze i określonymi w wyniku naszych badań i wskażemy lokalizację miejsc wiążących białka w obrębie lncRNA. Co ważne, planujemy też określić ich strukturę przestrzenną z oraz bez oddziałujących z nimi białek stosując mikroskopię krioelektronową i krytalografię.

Poprzez połączenie metodologii z dziedzin biochemii i biologii komórki, wynikiem ukończenia tego projektu będzie zwiększenie naszej wiedzy dotyczącej sposobu działania wybranych lncRNA w przypadku regulacji pluripotencji i różnicowania. Powiększymy też zbiór lncRNA z określoną doświadczalnie strukturą drugorzędową, który to zbiór na razie ogranicza się do niewielu lncRNA. Ponadto, analiza sposobu oddziaływania lncRNA z białkami na poziomie molekularnym będzie solidną podstawą do pełnego zrozumienia ich funkcji komórkowych. Jako, że dwa z badanych lncRNA, lncRNA-ES1 i lncRNA-ES3, ma zwiększony poziom ekspresji w komórkach rakowych, nasze wyniki mogą też być w przyszłości podstawą do opracowania nowych kierunków w terapii nowotworów. Nasze badania będą dotyczyć ludzkich lncRNA i białek i będą prowadzone w ludzkich komórkach, będą więc miały bezpośrednie zastosowanie w biologii człowieka. To jest szczególnie istotne w przypadku lncRNA, które często się są zachowane w ewolucji. Podsumowując, znaczenie projektu leży w jego wysokim potencjale do uzyskania wyników interesujących społeczność naukowe zainteresowane komórkami macierzystymi, RNA oraz biologią strukturalną.