

Oprócz kanonicznych rybonukleotydów – adeniny, uracylu, guaniny i cytydyny – w sekwencjach RNA spotkać można także ich chemicznie zmodyfikowane warianty. Obecnie opisanych jest ponad 170 modyfikacji RNA, z których pierwszą opisaną była pseudourydyna (Ψ). Z chemicznego punktu widzenia, pseudourydyna jest izomerem kanonicznej urydyny. Reakcja izomeryzacji katalizowana jest przez enzymy zwane syntazami pseudourydyny (*ang. pseudouridine synthases, PUS*), które działają samodzielnie lub w rybonukleoproteinowym kompleksie ze specyficznym snoRNA (*ang. small nucleolar RNA*, małe jąderkowe RNA) oraz innymi białkami pomocniczymi.

Rola pseudourydyny została dość dokładnie przebadana w takich klasach RNA jak tRNA (transportujące RNA), rRNA (rybosomalne RNA) czy snRNA (*ang. small nuclear RNA*, małe jąderkowe RNA), gdzie występuje ona w dość dużych ilościach. Niestety, ograniczenia technologiczne nie pozwalały na wykrycie obecności Ψ w mRNA (*ang. Messenger RNA*, informacyjne RNA) czy w małych niekodujących RNA, takich jak mikro RNA (miRNA). Obserwowany w ostatnich latach gwałtowny rozwój wysokoprępowych technik sekwencjonowania nowej generacji pozwala na ponowne zainteresowanie się modyfikacjami RNA, w tym Ψ . Możliwe było wykrycie obecności pseudourydyny w mRNA drożdży, zwierząt oraz roślin, gdzie prawdopodobnie zaangażowana jest ona w transport i ochronę przed degradacją transkryptów, a także w regulację splicingu. Udało się także zidentyfikować pseudourydynę w wybranych sekwencjach miRNA zwierząt oraz roślin, a także, częściowo, w ich cząsteczkach prekursorowych.

Mikro RNA to najbardziej powszechna klasa małych, niekodujących RNA. Znaleźć można je we wszystkich komórkach eukariotycznych, gdzie są jednymi z głównych regulatorów ekspresji genów. Działają w kompleksie RISC (*ang. RNA-induced silencing complex*) razem z białkami z rodziny ARGONAUTE (AGO), blokując translację bądź przeprowadzając endonukleotyczne cięcia docelowych, komplementarnych transkryptów. Biogeneza cząsteczek miRNA, zarówno w komórkach zwierzęcych, jak i roślinnych, jest skomplikowanym, wieloetapowym procesem – geny *MIR* transkrybowane są przez RNA Polimerazę II jako cząsteczki prekursorowe, pri-miRNA, które następnie ulegają procesom obróbki i dojrzewania do pre-miRNA i, ostatecznie, dojrzałego miRNA, które może pełnić swoją funkcję. Proces ten regulowany jest na wielu poziomach, a ostatecznie doniesienia wskazują także na to, iż w regulację tę zaangażowane są także modyfikacje RNA, takie jak N⁶-metyloadenozyna (m⁶A).

W tym projekcie, będącym równocześnie przedłużeniem trwających już badań o podobnej tematyce w naszym laboratorium w Zakładzie Ekspresji Genów Instytutu Biologii Molekularnej i Biotechnologii na Uniwersytecie im. Adama Mickiewicza, celem będzie **ustalenie czy i w jaki sposób pseudourydyna wpływa na biogenezę oraz działanie roślinnych miRNA.**

Aby to osiągnąć, zaplanowano serię eksperymentów, które pozwolą na: 1) weryfikację listy pseudourydylowanych miRNA z zastosowaniem alternatywnej metody; 2) poznanie podstaw mechanizmu pseudourydylacji roślinnych miRNA; 3) opisanie wpływu pseudourydyny na dojrzewanie prekursorów miRNA; 4) poznanie powiązań między białkami pseudourydylacji a składnikami mikroprocesora; oraz 5) zrozumienie wpływu pseudourydyny oraz białka PAUSED na transport małych RNA między komórkami oraz kompartmentami komórkowymi.

Projekt pozwoli nie tylko na znaczące wzbogacenie poziomu wiedzy z rosnącej dziedziny epitranskryptomiki, ale także na odkrycie nowych poziomów regulacji biogenezy oraz działania miRNA.