

Streszczenie populanonaukowe

tRNA to cząsteczki RNA o charakterze adaptorowym, złożone z 76-90 nukleotydów. Unikalne cechy drugorzędowej struktury tRNA, przypominającej liść koniczyny, umożliwiają pośrednictwo tRNA w fizycznym kontakcie mRNA z sekwencją aminokwasową białka. Struktura ta jest konserwowana pośród cząsteczek tRNA o różnej specyficzności względem transportowanych aminokwasów. Zapewnia to rozpoznanie danego tRNA przez swoistą tRNA-syntetazę i dołączenie do cząsteczki tRNA aminokwasu odpowiadającego kodonowi w mRNA, który ten tRNA rozpoznaje. Wszystkie tRNA mają charakterystyczną strukturę trzeciorzędową, przypominającą literę "L", która wpasowuje się w miejsca wiązania tRNA do rybosomu.

W obrębie większych RNA komórkowych znajdują się tzw. „struktury tRNA-podobne”, które wielkością odpowiadają kanonicznym tRNA. Są one definiowane bądź jako RNA, których struktura przypomina strukturę tRNA lub jako RNA, które oddziałują z enzymami zaangażowanymi w biogenezę tRNA. W komórkach eukariotycznych struktury tRNA-podobne stanowią fragmenty mRNA i lcnRNA syntetyzowanych przez polimerazę II RNA, podczas gdy kanoniczne tRNA są autonomicznymi transkryptami polimerazy III. Pierwszym etapem obróbki pierwotnych transkryptów tRNA jest odcięcie 5' końca katalizowane przez RNazę P. Przykładowe struktury tRNA-podobne o potencjale regulatorowym opisano w literaturze jako substraty RNazy P.

Aktywność polimerazy III RNA (Pol III) jest kontrolowana przez białko Maf1, generalny negatywny regulator, który jest konserwowany w ewolucji eukariontów, od drożdży do człowieka. Maf1 jest supresorem nowotworzenia u człowieka i myszy a u cytrusów przeciwdziała rozwojowi choroby powodującej plamistość owoców. Dotychczas badano mechanizmy kontroli aktywności Maf1 przez szlaki sygnałowe, polegające na zmianach stanu fosforylacji białka Maf1 i jego lokalizacji wewnątrzkomórkowej. Wykazano, że w warunkach represji białko Maf1 ulega defosforylacji, jest importowane do jądra i wiąże się z kompleksem Pol III. Unikalny mechanizm represji przez Maf1, polegający na zablokowaniu centrum aktywnego Pol III, odkryto niedawno poprzez rozwiązanie struktur kompleksu Pol III-Maf1 u drożdży i u człowieka.

Celem obecnego projektu jest zbadanie regulacji ekspresji genu *MAF1* z wykorzystaniem drożdży *Saccharomyces cerevisiae* jako modelowego organizmu eukariotycznego. *MAF1* należy do nielicznej klasy genów drożdży posiadających introny. Bezpośrednio za miejscem 3' wycinania intronu w *MAF1* mRNA udało nam się zidentyfikować strukturę tRNA-podobną. Uważamy, że skoro funkcją Maf1 jest kontrola transkrypcji tRNA, struktura tRNA-podobna może być wykorzystywana w mechanizmie regulacji ekspresji genu *MAF1* na zasadzie kompetycji z tRNA, a jej lokalizacja w bezpośrednim sąsiedztwie intronu nie jest bez znaczenia. Eksperymenty zostały zaplanowane w taki sposób aby sprawdzić możliwość cięcia struktury tRNA-podobnej w *MAF1* mRNA przez RNazę P oraz zbadać wpływ tej struktury oraz aktywności RNazy P na wycinanie intronu i translację białka Maf1. Postulujemy nowy mechanizm regulacji transkrypcji tRNA poprzez kontrolę poziomu białka Maf1, który prawdopodobnie jest konserwowany u organizmów wyższych gdyż strukturę tRNA-podobną zidentyfikowano również w intronie genu *MAF1* u rzodkiewnika *Arabidopsis*.