

Mechanizmy molekularne zaangażowane w biogenezę polimeraz RNA I i III

We wszystkich komórkach eukariotycznych transkrypcja RNA na matrycy DNA jest pierwszym etapem ekspresji genów i syntezy funkcjonalnych RNA. Proces ten zachodzi w jądrze i jest realizowany przez trzy odrębne polimerazy RNA (Pol), które są zbudowane z wielu podjednostek. Podczas gdy Pol II syntetyzuje informacyjny RNA (mRNA) i większość regulatorowych RNA, Pol I jest odpowiedzialna za produkcję prekursora rybosomalnego RNA (rRNA), a Pol III syntetyzuje małe niekodujące RNA, w tym transferowy RNA (tRNA), 5S rRNA, U6 RNA i inne. Mechanizmy molekularne leżące u podstaw transkrypcji przez wszystkie trzy Pol były szczegółowo badane *in vitro*, *in vivo* oraz na poziomie strukturalnym i funkcjonalnym w ciągu ostatnich dziesięcioleci. Nadal pozostaje niejasne, w jaki sposób Pol są wytwarzane, jak regulowane jest ich składanie, w jaki sposób Pol są transportowane do jądra i czy biosynteza Pol jest powszechna wspólna dla wszystkich trzech systemów transkrypcyjnych. Proponujemy wykorzystać doświadczenie naszych grup w badaniu struktury i regulacji transkrypcji Pol I i Pol III, łącząc siły w celu zbadania biogenezy Pol. Zidentyfikujemy mechanizmy składania podjednostek i ich kolejność.

Najprawdopodobniej wczesne etapy biogenezy Pol I i III są wspólne i chcielibyśmy zrozumieć jak one przebiegają. W poprzednich badaniach zidentyfikowano konserwowane białko eukariotyczne, Rbs1, które prawdopodobnie ułatwia początkowe składanie podjednostek Pol I i Pol III w drożdżach, przez hipotetyczny mechanizm ko-translacyjny. Aby zbadać to zagadnienie, najpierw zbadamy jak przebiega ten proces w żywych komórkach, aby scharakteryzować docelowe interakcje mRNA-białko i białko-białko z białkiem Rbs1. Wykorzystamy także rekombinowaną syntezę składników Pol do ich charakterystyki strukturalnej przy użyciu mikroskopii krio-elektronowej (cryo-EM). Na koniec przetestujemy nasze odkrycia w systemie komórkowym, który opiera się na częściowo unieczynnionej Pol poprzez delecję podjednostek Pol I w szczepie mutantu drożdży. Podstawowe pytania zadawane w tym projekcie są bezpośrednio związane z różnymi rzadkimi chorobami człowieka, w których mutacje podjednostek Pol wpływające na ich biogenezę powodują kliniczny fenotyp, w tym zespół Treachera-Collinsa i hipomielinującą leukodystrofię.