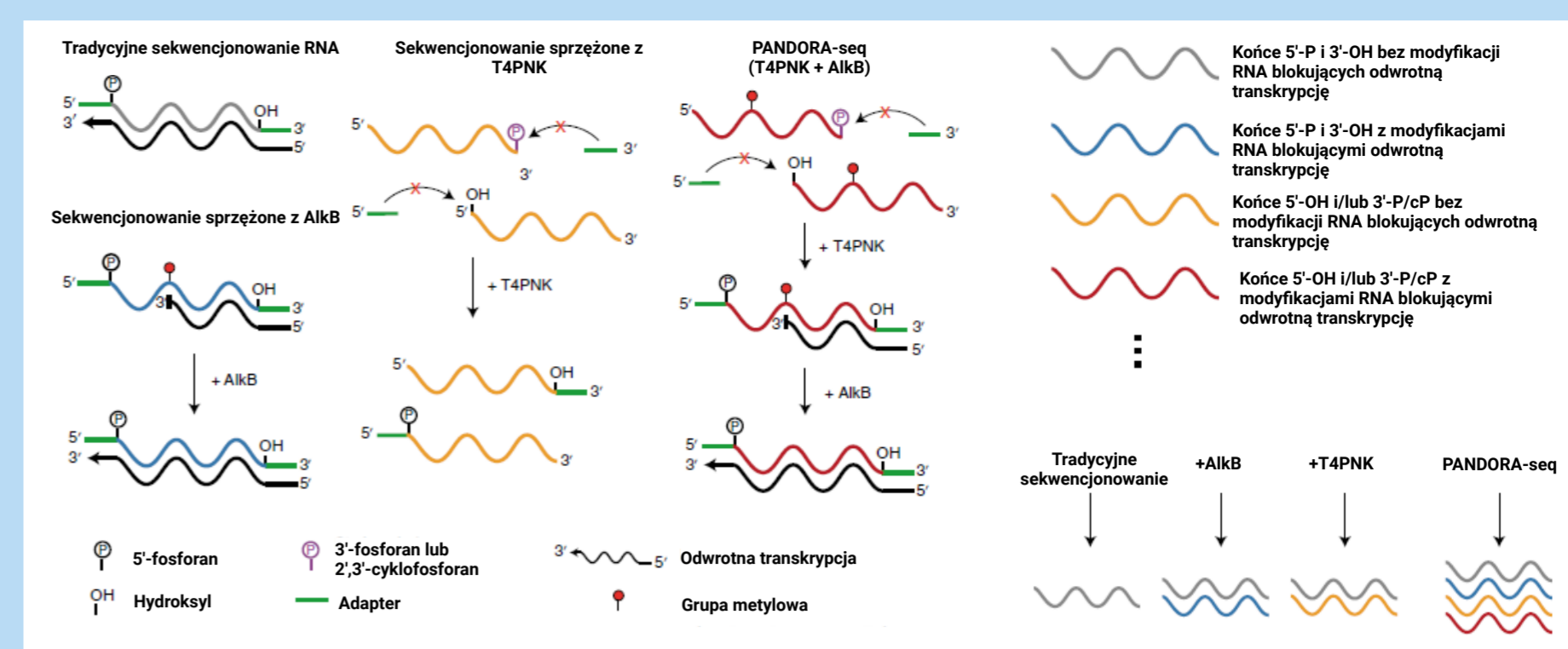


# Możliwość profilowania sncRNA z wykorzystaniem kinaz polinukleotydowej T4 (T4PNK) i hydroksylazy alfa-ketoglutaranozależnej (AlkB)

Ariel Marchlewicz  
Uniwersytet Śląski w Katowicach,  
Wydział Nauk Przyrodniczych, Instytut Biologii,  
Biotechnologii i Ochrony Środowiska  
e-mail: ariel.marchlewicz@us.edu.pl

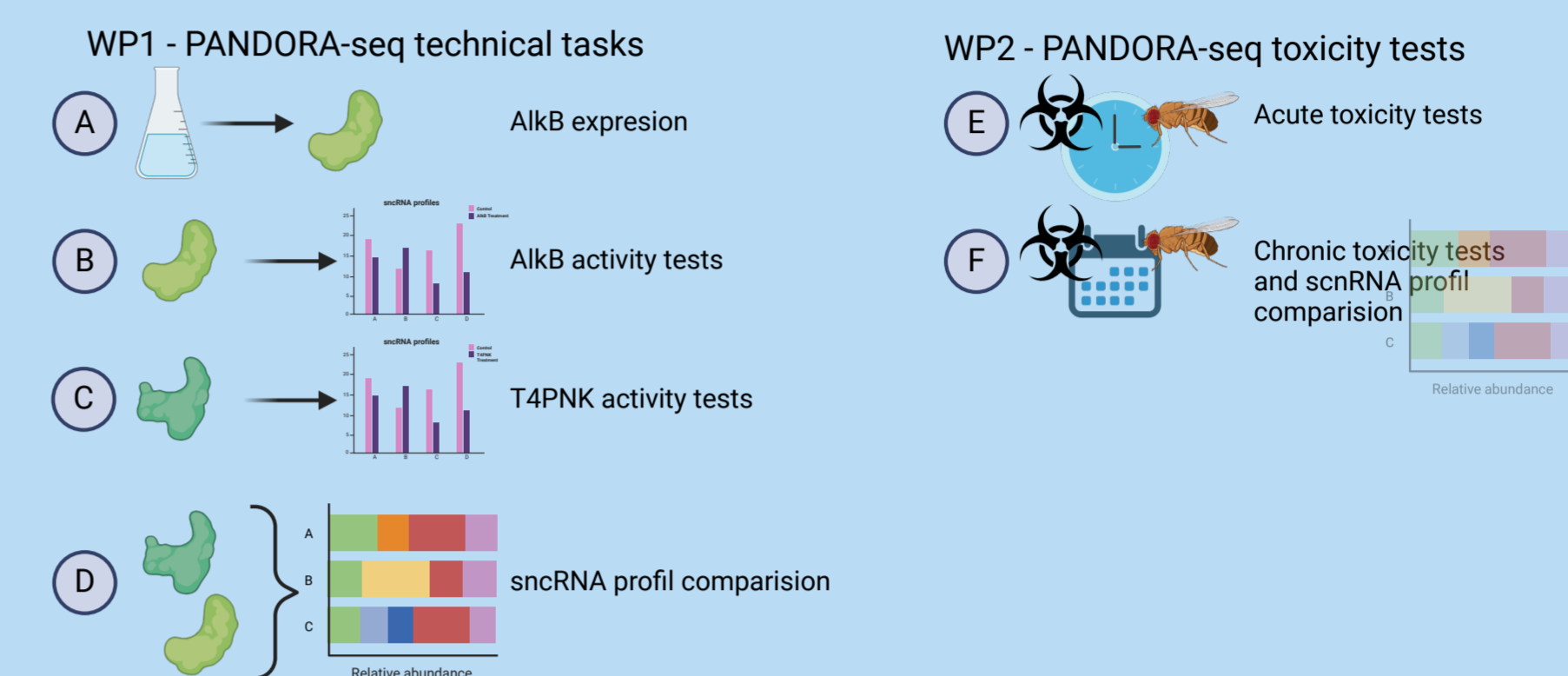


Ryc. 1. Idea enzymatycznie wspomaganego sekwencjonowania RNA PANDORA-seq (Shi et al. 2021, Nature cell Biology)

## Background

Small noncoding RNA (sncRNA) to krótkie, niekodujące cząsteczki RNA, zazwyczaj o długości 20-30 nukleotydów, które nie kodują białek, ale odgrywają kluczową rolę w regulacji ekspresji genów (Tab. 1.) Zaangażowane są w rozmaite procesy biologiczne, takie jak wyciszanie genów, degradacja mRNA czy regulacja struktury chromatyny. Ze względu na ich istotną rolę w procesach komórkowych oraz potencjał jako biomarkerów chorób, rośnie zainteresowanie profilowaniem sncRNA.

Wydaje się to być szczególnie użyteczne w badaniu długotrwałej ekspozycji na ksenobiotyki, ponieważ zmiany w sncRNA mogą odzwierciedlać reakcje organizmu na stres środowiskowy. Wykorzystanie T4PNK i AlkB może pomóc uzyskać szerokie spektrum sncRNA (Ryc. 2.). W szerszej perspektywie, profilowanie sncRNA ma szansę stać się użytecznym narzędziem w ocenie skutków długotrwałej ekspozycji na ksenobiotyki w środowisku.



Ryc. 2. Ogólne założenia projektu

Typy sncRNA:	Rozmiar	Funkcja
microRNA (miRNA)	~19-25 nt	Ago - RNAi
small nuclear RNA (snRNA)	~150 nt	Element splajnosomu
small nucleolar RNA (snoRNA)	60-140 nt	Uczestniczy w modyfikacjach RNA
piwi-interacting RNA (piRNA)	24-33 nt	PIWI - RNAi
tRNA derived small RNA (tsRNA)	15-50 nt	Zróżnicowana (regulacja), m.in. splicing, stres oksydacyjny

Tab. 1. Przykłady cząsteczek sncRNA i ich funkcji

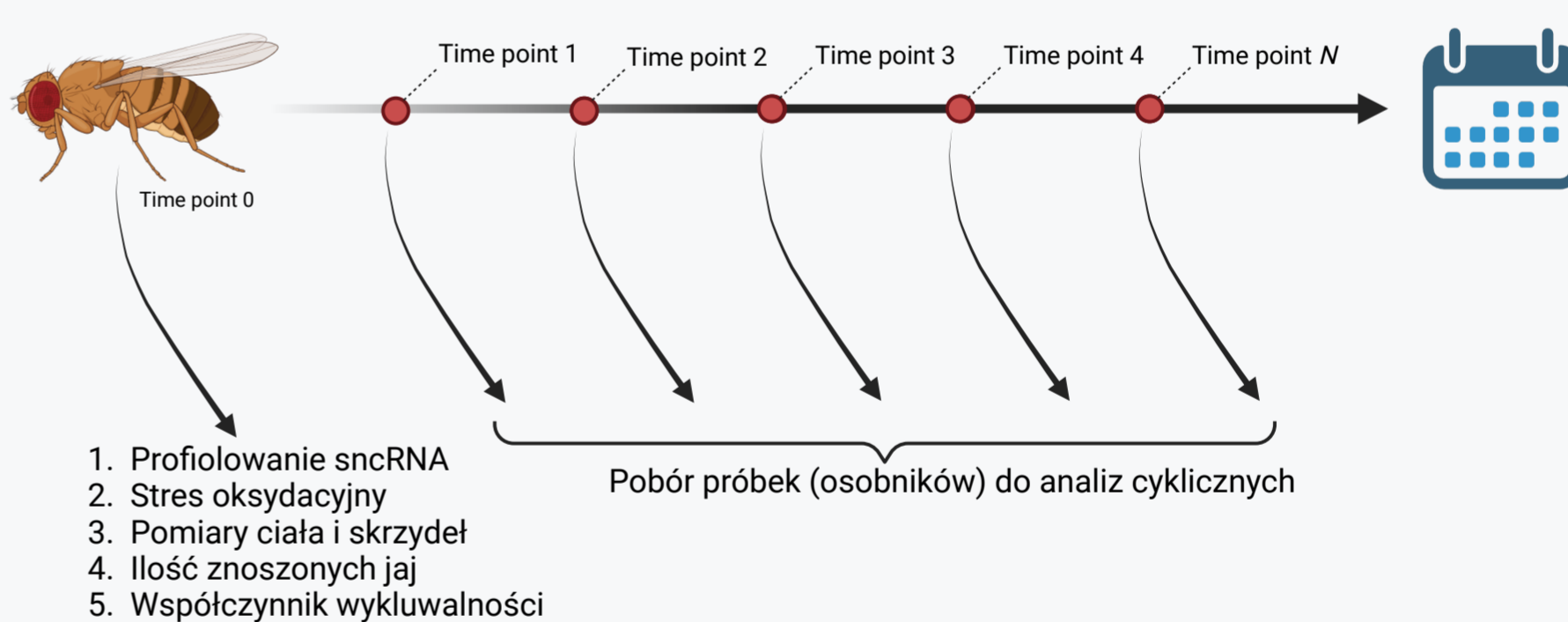
## Metody

W badaniach założono dwa główne cele: (1) przygotowanie pełnego profilu sncRNA w zakresie 10 - 100 nt, oraz (2) oszacowanie czy długotrwała ekspozycja na subtoksyczne stężenia ksenobiotyków wpłynie na zmienność profilu sncRNA przed pojawieniem się zmian fizjologicznych.

Pierwszy etap obejmuje przygotowanie profilu sncRNA oraz ocena wpływu kinazy T4 i hydroksylazy AlkB na profilowanie (Ryc. 1.).

Powodzenie w profilowaniu cząsteczek sncRNA będzie wstępem do testów toksyczności ostrej i chronicznej. Do testów wybrano organizm modelowy - *Drosophila melanogaster*.

Stężenia ksenobiotyków (np. NLPZ) zostaną dobrane na podstawie wartości toksyczności chronicznej oraz dostępnych danych dotyczących stężeń wybranych związków w środowisku. W testach toksyczności chronicznej, prowadzonych przez kolejne pokolenia, będą wykonywane analizy mające na celu określenie występowania zmian fenotypowych, fizjologicznych, morfologicznych, a także przygotowywany będzie profil sncRNA (Ryc. 3). Doświadczenie zakłada brak występowania widocznych efektów wpływu ksenobiotyków oraz ma na celu określenie, czy długotrwała (wielopokoleniowa) ekspozycja na subtoksyczne stężenia toksykanta wpłynie na profil cząsteczek regulatorowych, co w konsekwencji może prowadzić do opóźnionej odpowiedzi fenotypowej.



Ryc. 3. Planowane próbkowanie w testach toksyczności chronicznej.

## Planowane efekty

Ideą przewodnią była możliwość monitorowania zmian w populacjach narażonych na długotrwałą ekspozycję na bardzo niskie (niewywołujące efektów ostrych) stężenia ksenobiotyków co mogłoby dać możliwość reakcji o wiele wcześniej przed pojawieniem się kłopotliwych zmian u osobników.

Jednocześnie możliwość monitorowania zmian w krótkich, regulatorowych RNA byłaby doskonałym wstępem do identyfikacji cząsteczek odpowiedzialnych za zmiany fizjologiczne pojawiające się pod wpływem ksenobiotyków.