

## **Analiza cytoplazmatycznej poliadenylacji: mechanizmy regulacyjne kształtujące stabilność endogennych i terapeutycznych mRNA w komórkach hematopoetycznych**

Podstawową funkcją każdego informacyjnego RNA (mRNA) jest dostarczenie matrycy niezbędnej do produkcji białek w sposób zależny od czasu. Ta czasowa zależność działania cząsteczek mRNA wynika ze współdziałania wielu mechanizmów regulujących ich stabilność i degradację, co zapewnia elastyczność w utrzymaniu homeostazy komórkowej.

Cytoplazmatyczna poliadenylacja, znana również jako re-adenylacja, prowadzona przez niekanoniczne polimerazy poli(A) (ncPAP) z rodziny TENT5, jest istotnym mechanizmem stabilizującym mRNA w wielu układach biologicznych u wyższych eukariontów. Niniejsza rozprawa doktorska poświęcona jest analizie funkcjonalnej wybranych biologicznych funkcji polimeraz TENT5 w komórkach hematologicznych, a mianowicie w makrofagach w kontekście szczepionek opartych na mRNA oraz w późnych erytroblastach w kontekście produkcji hemoglobiny.

W przypadku metabolizmu terapeutycznego mRNA, gdzie transkrypcja nie jest brana pod uwagę, nasze badania wykazały re-adenylację szczepionek mRNA przeciw COVID-19 przeprowadzaną przez TENT5A co jest kluczowe dla przedłużenia czasu półtrwania tych cząsteczek i przekłada się na efektywną translację terapeutycznego mRNA oraz produkcję przeciwciał skierowanych przeciwko kodowanemu antygenowi. Analiza komórek układu odpornościowego wnikaających do mięśnia po szczepieniu domięśniowym, początkowo przeprowadzona za pomocą immunofenotypowania, a następnie sekwencjonowania RNA pojedynczych komórek, umożliwiła mi precyzyjną identyfikację głównego podtypu makrofagów zdolnych do zatrzymywania terapeutycznego mRNA, co otwiera nowe perspektywy dla rozwoju szczepionek opartych na mRNA.

W kontekście erytropoezy, profilowanie hematologiczne przeprowadzone w naszym laboratorium ujawniło, że myszy pozbawione genu TENT5C wykazują fenotyp anemii mikrocytarnej. Przeprowadzone przeze mnie analizy doprowadziły do zaskakującego odkrycia, że w erytroblastach TENT5C poliadenyluje cytoplazmatyczne mRNA globin, co jest odmienne od wszystkich wcześniej opisanych substratów członków rodziny TENT5, których substratami są transkrypty kierowane do retikulum endoplazmatycznego (ER). Dalsze analizy funkcjonalne pozwoliły mi zaproponować niezależny od ER mechanizm działania TENT5C w procesie erytropoezy. Korzystny wpływ TENT5C na produkcję hemoglobiny jest szczególnie istotny dla komórek erytroidalnych charakteryzujących się niską lub całkowicie zahamowaną aktywnością transkrypcyjną.

Podsumowując, niniejsza rozprawa wskazuje na istotną rolę cytoplazmatycznej poliadenylacji w odmiennych systemach biologicznych, w których transkrypcja nie odgrywa roli, oraz identyfikuje nowe wewnątrzkomórkowe mechanizmy związane z metabolizmem endogennych transkryptów oraz niezbadane dotychczas odpowiedzi komórkowe w przypadku stabilizacji transkryptów egzogennych.