

Badania nowych modyfikacji oraz optymalizacja procesu wytwarzania mRNA do zastosowań terapeutycznych

Streszczenie:

Rozwój narzędzi molekularnych opartych na technologii syntetycznych mRNA trwa nieprzerwanie od ponad 30 lat. Ciągłe udoskonalanie metod wytwarzania, przechowywania oraz dostarczania kwasów nukleinowych do komórek pacjenta przyczyniło się do rozpowszechnienia procedur medycznych opartych na RNA, w tym szczepionek mRNA oraz terapii genowych. Głównym problemem, który wciąż nie został w pełni rozwiązany, jest niska stabilność RNA. W warunkach fizjologicznych mRNA jest stosunkowo szybko degradowane, a proces ten zwykle inicjowany jest na końcowych fragmentach cząsteczki. Naturalne mRNA posiada struktury ochronne na obu końcach, regulujące jego degradację i chroniące regiony kodujące. Większość dojrzałych mRNA eukariontów zawiera na końcu 5' strukturę kapu (czapeczkę), która chroni przed 5'-egzonukleazami i wspomaga translację. Na końcu 3' znajduje się ogon poli(A), który zabezpiecza cząsteczkę przed degradacją od tego końca, zwiększając jej stabilność i uczestnicząc w procesie translacji. Współdziałanie tych struktur jest kluczowe dla efektywnej translacji i regulacji stabilności mRNA w komórkach eukariotycznych, co ma istotne znaczenie dla potencjalnych zastosowań terapeutycznych. W ostatnich latach opracowano szereg nowych metod modyfikacji mRNA, które znacząco poprawiły jego aktywność biologiczną, stanowiąc fundament dla terapii przeciwnowotworowych oraz dalszych badań w tym zakresie. Moja praca doktorska skupia się na rozwoju tych technologii oraz ich potencjalnym zastosowaniu.

Pierwsza część mojej rozprawy dotyczy opracowania biofizycznej metody badania interakcji syntetycznych mRNA z białkiem IFIT1. Technika termoforezy mikroskalowej umożliwiła precyzyjną analizę oddziaływań molekularnych, co pozwoliło na zrozumienie mechanizmów rozpoznawania RNA przez ludzki układ immunologiczny. Badania objęły ponad czterdzieści RNA z różnymi modyfikacjami strukturalnymi w regionie końca 5'. Wyniki pozwoliły określić wpływ modyfikacji chemicznych na interakcje z IFIT1 oraz scharakteryzować wzorce tych oddziaływań.

Drugą część mojej pracy poświęciłem opracowaniu metody detekcji dwuniciowych RNA (dsRNA) w preparatach mRNA. Cząsteczki dsRNA są silnymi czynnikami immunogennymi, co może prowadzić do niepożądanych reakcji immunologicznych u pacjentów. Opracowany szybki i czuły immunotest typu dot-blot umożliwił ocenę zawartości dsRNA w preparatach mRNA, co jest kluczowe dla kontroli jakości tych terapeutycznych produktów.

Trzecia część mojej rozprawy skoncentrowana była na modyfikacjach strukturalnych w regionie ogona poli(A) mRNA. Moje badania miały na celu zwiększenie stabilności tej sekwencji na poziomie DNA oraz poprawę potencjału translacyjnego mRNA. Zaprojektowane konstrukty genetyczne, zawierające różnorodne układy heteronukleotydowe, zostały ocenione pod względem ich biologicznej aktywności *in vitro* oraz *in vivo*, co pozwoliło na identyfikację najbardziej obiecujących modyfikacji z potencjałem terapeutycznym.

Opracowane przeze mnie metody i modyfikacje mają na celu udoskonalenie technologii mRNA, otwierając nowe perspektywy dla terapii genowych oraz innych zastosowań medycznych. Ich wdrożenie może przyczynić się do zwiększenia skuteczności i bezpieczeństwa terapii opartych na mRNA, co jest kluczowe dla rozwoju medycyny molekularnej w przyszłości.