

MECHANIZMY DEGRADACJI RNA W KOMÓRKACH DROŹDŹY I SSAKÓW

MECHANISMS OF RNA DEGRADATION IN YEAST AND MAMMALIAN CELLS

Adam MIROWSKI¹, Anna Maria DUSZEWSKA^{1,2}

¹Zakład Histologii i Embriologii, Katedra Nauk Morfologicznych,
Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie; ²Zakład Embriologii Doświadczalnej, Instytut Genetyki i Hodowli
Zwierząt Polskiej Akademii Nauk w Jastrzębcu

Streszczenie: W komórkach drożdży i ssaków RNA ulegają degradacji w złożonych mechanizmach zachodzących w cytoplazmie, jądrze i mitochondriach. Procesy degradacji wadliwych transkryptów z przedwczesnym kodonem stop lub pozbawionych kodonu stop zapobiegają syntezie niefunkcjonalnych, a także potencjalnie szkodliwych białek. U drożdży *Saccharomyces cerevisiae* opisano mechanizm, w którym degradacji ulegają cząsteczki mRNA zawierające strukturę typu ramię-pętla. W komórkach eukariotycznych transkrypty zawierające w rejonie 3' UTR sekwencje bogate w adeninę i uracyl charakteryzują się krótkim okresem półtrwania. Sekwencje te regulują stężenie transkryptów w komórce. W degradacji mRNA w jądrze komórkowym drożdży uczestniczą: wieloenzymatyczny egzosom jądrowy, egzonukleaza Rat1p oraz heterodimeryczny kompleks białkowy wiążący czapeczkę. Mitochondrialne RNA ulegają trawieniu z udziałem degradosomu mitochondrialnego (mtEXO). Interferencja RNA polega na degradacji mRNA zależnej od dwuniciowego RNA. Układ 2-5A/RNaza L hamuje replikację RNA-wirusów.

Słowa kluczowe: degradacja mRNA, ciała P, egzosom, NMD, NSD, NGD, AMD, DRN, degradosom mitochondrialny, interferencja RNA, układ 2-5A/RNaza L.

Summary: RNA degradation in yeast and mammalian cells take place in cytoplasm, nucleus and mitochondria. Degradation of transcripts with a premature termination codon or without stop codon results in repression of aberrant protein synthesis. The mRNA decay pathway, which degrades mRNAs containing a stem-loop structure has been discovered and characterized in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Eukaryotic transcripts with AU-rich elements in their 3'-untranslated region have a very short half-life. These elements regulate mRNA level in cells. The multi-enzymatic nuclear exosome complex, Rat1p and cap binding complex degrade mRNAs in the yeast nucleus. The mitochondrial degradosome (mtEXO) is an enzymatic complex which has a major function in the mitochondrial genome post-transcription gene expression regulation. RNA interference cleaves mRNA after a previous induction by dsRNA. The 2-5A/RNase L system inhibits replication of viral RNA.

Key words: mRNA degradation, P bodies, exosome, NMD, NSD, NGD, AMD, DRN, mitochondrial degradosome, RNA interference, 2-5A/RNase L system.

WSTĘP

Degradacja RNA jest jednym z etapów potranskrypcyjnej regulacji ekspresji genów. Procesy degradacji kwasów rybonukleinowych są katalizowane przez rybonukleazy – enzymy należące do klasy hydrolaz i podklasy esteraz. Endorybonukleazy katalizują rozszczepienie wiązań fosfodiesterowych występujących wewnątrz łańcucha polinukleotydowego. Rybonukleazy degradujące RNA w kierunku 3' → 5' nazywane są 3'-egzonukleazami, natomiast działające w kierunku 5' → 3' to 5'-egzonukleazy. W wyniku działania egzonukleaz stopniowo od końca łańcucha polinukleotydowego odszczepieniu ulegają mononukleotydy. Dotychczas opisano wiele różnych mechanizmów degradacji RNA zarówno w komórkach prokariotycznych, jak i eukariotycznych. Spośród eukariotów najdokładniej procesy degradacji RNA zostały przebadane u drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, które na szeroką skalę wykorzystywane są jako organizm modelowy w badaniach genetycznych. Mechanizmy degradacji RNA zachodzące u drożdży są w dużym stopniu podobne do procesów występujących w komórkach ssaków.

PROCESY DEADENYLACJI I USUNIĘCIA CZAPECZKI POPRZEDZAJĄCE DEGRADACJĘ TRANSKRYPTÓW W CYTOPLAZMIE

W cytoplazmie transkrypty chronione są przed działaniem 3'- i 5'-egzonukleaz odpowiednio przez sekwencję poli(A) i strukturę czapeczki. Degradacja mRNA od końca 3' poprzedzona jest usunięciem ogona poli(A), w procesie katalizowanym przez kompleks Ccr4-Not [58]. Deadenylacja powoduje wypieranie białkowych czynników translacji z cząsteczek mRNA, co hamuje ich udział w procesie biosyntezy białek i kieruje je na drogę degradacji [77]. Z kolei trawienie transkryptów od końca 5' poprzedzone jest usunięciem czapeczki katalizowanym przez białka Dcp1/Dcp2 (ang. *Decapping proteins*) [14, 67]. W procesie tym uczestniczą również koaktywatory Lsm1p-7p (ang. *Sm-like proteins*) i wiążące się z nimi Pat1p (ang. *Protein associated with topoisomerase II*). Białka te po procesie deadenylacji wiążą się z mRNA w pobliżu 3' końca i przypuszczalnie pobudzają asocjację Dcp1/Dcp2 z cząsteczką transkryptu [11, 76, 77]. Z kompleksem Dcp1/Dcp2 wiążą się Edc1p, Edc2p i Edc3p (ang. *Enhancer of mRNA-decapping proteins*), które stymulują jego aktywność [17, 46, 79]. W usunięciu struktury czapeczki uczestniczy również helikaza Dhh1p (ang. *DExD/H-box helicase*) [10]. Usunięcie czapeczki zwiększa podatność mRNA na działanie 5'-egzonukleazy Xrn1p [41].

CIAŁKA P UCZESTNICZĄCE W DEGRADACJI TRANSKRYPTÓW OD 5' KOŃCA

W komórkach drożdży *S. cerevisiae* enzymy uczestniczące w usunięciu czapeczki, białka aktywujące ten proces oraz egzonukleaza degradująca mRNA od 5'-końca są zlokalizowane w ciałkach P (ang. *processing bodies*) [73]. W ciałkach P

występujących w komórkach ssaków zidentyfikowano również białko GW182, które wiąże RNA. W sekwencji aminokwasowej tego białka występują częste powtórzenia glicyny (G) i tryptofanu (W). Ze względu na jego obecność ciała te nazywane są również ciałkami GW (ang. *GW bodies*) [72].

Ciała P występują tylko w cytoplazmie. Wykazano, że część ciałek P lokalizuje się w bezpośrednim sąsiedztwie cytoplazmatycznej powierzchni otoczki jądrowej, w bliskiej odległości od porów otoczki. Nie zidentyfikowano natomiast ciałek P przylegających do wewnętrznej powierzchni otoczki jądrowej [84].

Jedna komórka zawiera, w zależności od fazy cyklu komórkowego, od zera do kilku ciałek P. Najwięcej ciałek cytoplazmatycznych obserwuje się w późnej fazie S oraz fazie G2. Nie wykazano natomiast ich obecności podczas metafazy i telofazy [44]. Do wzrostu liczby i wielkości ciałek P dochodzi na skutek inaktywacji egzonukleazy Xrn1p lub enzymów katalizujących proces usunięcia czapeczki [54, 73]. Wykazano również, że czynniki stresowe działające na komórkę mogą mieć wpływ na wielkość ciałek P, gdyż niedobór glukozy, stres osmotyczny oraz ekspozycja komórki na działanie promieni UV powodują zwiększenie ich rozmiarów. Przypuszczalnie jest to spowodowane zahamowaniem biosyntezy białek i kumulowaniem się w obrębie ciałek P czynników uczestniczących w procesie translacji [74].

EGZOSOM UCZESTNICZĄCY W DEGRADACJI TRANSKRYPTÓW OD 3' KOŃCA

W komórkach eukariotycznych w degradacji transkryptów od 3' końca uczestniczą dwa wieloenzymatyczne kompleksy: egzosom i kompleks składający się z białek Ski2p, Ski3p oraz Ski8p (ang. *Superkiller proteins*). Połączone są one między sobą białkiem Ski7p [71, 81]. W wyniku trawienia mRNA od 3' końca przez egzonukleazy egzosomu pozostaje oligonukleotydowa struktura 5' końca cząsteczki, która jest hydrolizowana przez enzym DcpS (ang. *Decapping Scavenger*) [47].

Egzosom cytoplazmatyczny wyizolowany z komórek drożdży *S. cerevisiae* jest zbudowany z 10 białek [25]. Białka Rrp41, Rrp42, Rrp43, Rrp45, Rrp46 (ang. *Ribosomal RNA-processing proteins*) i Mtr3 (ang. *mRNA transport regulator 3*) wykazują duży stopień homologii z PNPazą degradosomu bakteryjnego, natomiast w strukturze Rrp4, Rrp40 i Csl4 (ang. *CEP1 synthetic lethal protein 4*) zidentyfikowano domeny wiążące RNA [27]. W bardzo podobny sposób zbudowany jest również egzosom ludzki. Jednak w przeciwieństwie do egzosomu drożdży nie zidentyfikowano w jego strukturze obecności białka Rrp44 [25].

Również w jądrze komórkowym występuje wieloenzymatyczny egzosom, jednak w przeciwieństwie do egzosomu cytoplazmatycznego zawiera on dodatkowo 3'-egzonukleazę Rrp6p [71]. Kompleks ten uczestniczy w degradacji kwasów rybonukleinowych na terenie jądra [37]. Jest również niezbędny w procesach dojrzewania rybosomowych RNA – rRNA (ang. *ribosomal RNA*), małych jądrowych RNA snRNA (ang. *small nuclear RNA*) oraz małych jąderkowych RNA – snoRNA (ang. *small nucleolar RNA*) [19, 52, 60].

DEGRADACJA TRANSKRYPTÓW Z PRZEDWCZESNYM KODONEM STOP

W komórkach eukariotycznych degradacja wadliwych transkryptów z przedwczesnym kodonem stop PTC (ang. *Premature Termination Codon*) zachodzi drogą NMD (ang. *Nonsense-mediated mRNA Decay*). Mechanizm ten zapobiega powstawaniu niefunkcjonalnych, a także potencjalnie szkodliwych białek. W komórkach drożdży mechanizm NMD występuje w cytoplazmie [30, 68]. U ssaków proces ten przypuszczalnie może zachodzić również w nukleoplazmie [6, 64].

W rozpoznaniu przedwczesnego kodonu stop i terminacji translacji uczestniczy kompleks składający się z białek Upf1p-3p (ang. *Up-frameshift proteins*) i czynników uwalniających eRF1 i eRF3 (ang. *eucaryotic Release Factors*) [9]. Wykazano, że spośród białek Upf1p-3p białko Upf2p stanowi najważniejszy składnik formujący kompleks Upf1p-Upf2p-Upf3p. Brak ekspresji tego białka hamuje interakcję między Upf1p i Upf3p, co skutkuje zablokowaniem mechanizmu NMD i w konsekwencji kumulowaniem się wadliwych transkryptów w cytoplazmie [20].

Po rozpoznaniu kodonu stop mniejsza podjednostka rybosomu związana z białkiem Upf1p wykazującą aktywność helikazy przemieszcza się w kierunku 3' końca mRNA w celu rozpoznania sekwencji DSE (ang. *Downstream Sequence Element*). Z sekwencjami tymi wiążą się swoiste białka (ang. *DSE-binding proteins*), między innymi Hrp1p/Nab4p. Związanie się Hrp1p/Nab4p z DSE i ich interakcja z białkiem Upf1p aktywuje mechanizm NMD [22]. Dalsze losy transkryptu zależą od odległości dzielącej sekwencję DSE od kodonu stop. Jeżeli odległość ta jest mniejsza niż 200 nukleotydów, to kodon stop jest rozpoznawany jako przedwczesny, co powoduje skierowanie mRNA na drogę degradacji [63]. Proces enzymatycznego trawienia wadliwego transkryptu przez 5'-egzonukleazę Xrn1p poprzedzony jest usunięciem czapeczki katalizowanym przez kompleks białek Dcp1/Dcp2 [62].

W komórkach drożdży *S. cerevisiae* występuje również mechanizm NMD wymagający procesu deadenylacji. Degradacja transkryptu od 3' końca podobnie jak od końca 5' wymaga obecności kompleksu składającego się z białek Upf1p-3p i czynników uwalniających eRF1 i eRF3 [9]. Degradacja poprzedzona jest skróceniem ogona poli(A) do długości 7–20 nukleotydów. Następnie wadliwy transkrypt jest trawiony przez egzosom cytoplazmatyczny [62]. W procesie tym uczestniczą również białka Ski2p, Ski3p i Ski8p, połączone białkiem Ski7p [81].

W komórkach ssaków analogiem sekwencji DSE w mRNA drożdży jest intron zlokalizowany w kierunku 3' od sygnału terminacji translacji. Kodony stop znajdujące się w odległości większej niż 50–55 nukleotydów powyżej ostatniego połączenia egzon-egzon rozpoznawane są jako przedwczesne. Transkrypt z przedwczesnym kodonem stop rozpoznany podczas pierwszej rundy translacji jest kierowany na drogę degradacji od 3' lub 5' końca [62].

DEGRADACJA TRANSKRYPTÓW POZBAWIONYCH KODONU STOP

W komórkach drożdży degradacja transkryptów pozbawionych kodonu stop zachodzi na drodze NSD (ang. *Nonstop mRNA Decay*) [31, 83]. Prawdopodobnie mechanizm ten może występować również w komórkach ssaków [3]. U drożdży wadliwe transkrypty są trawione od 3' końca z udziałem egzozomu cytoplazmatycznego i kompleksu białek Ski2p, Ski3p i Ski8p, połączonych białkiem Ski7p [31, 83]. Przypuszczalnie mogą one także ulegać degradacji od 5' końca, co zapoczątkowane jest usunięciem czapeczki [31].

Po procesie transkrypcji i obróbki potranskrypcyjnej dojrzałe mRNA w połączeniu z białkami w postaci kompleksów rybonukleoproteinowych transportowane są do cytoplazmy, gdzie uczestniczą w procesie biosyntezy białek. Podczas translacji rybosom przemieszcza się wzdłuż mRNA, a łańcuch polipeptydowy wydłuża się do momentu pojawienia się kodonu stop. Kodon ten jest sygnałem do przyłączenia się czynnika uwalniającego eRF1, który blokuje wiązanie się nowego aminoacylo-tRNA, a także stymuluje uwolnienie łańcucha polipeptydowego i rybosomu. W terminacji uczestniczy również trzeci czynnik uwalniający eRF3, który w obecności guanozynotryjfosforanu (GTP) wpływa na aktywność eRF1 [36].

W przypadku prawidłowych transkryptów rybosom przemieszcza się wzdłuż mRNA do momentu pojawienia się kodonu stop, natomiast w przypadku transkryptów pozbawionych kodonu stop rybosom przemieszcza się do końca struktury poli(A) [1]. Wówczas dochodzi do zainicjowania procesu NSD. Podjednostka 80S rybosomu znajdującego się na końcu 3' mRNA rozpoznawana jest przez C-końcowy fragment białka Ski7p [31]. Fragment ten wykazuje homologię z czynnikiem eRF3, który wiąże się z rybosomem podczas terminacji translacji [5]. Z kolei N-koniec białka Ski7p wiąże się z kompleksem Ski2p, Ski3p i Ski8p, a także z egzozomem, w efekcie czego dochodzi do trawienia wadliwego transkryptu od końca 3' [4, 81].

Poprzez degradację wadliwych transkryptów mechanizm NSD ogranicza syntezę niefunkcyjnych, a także potencjalnie szkodliwych białek. Transkrypty pozbawione kodonu stop, które nie ulegną rozkładowi, uczestniczą w procesie translacji. Powstające białka ulegają degradacji z udziałem proteasomu, dzięki czemu nie dochodzi do ich kumulowania się w komórce [33].

DEGRADACJA TRANSKRYPTÓW ZAWIERAJĄCYCH STRUKTURĘ TYPU RAMIĘ-PĘTLA

W komórkach drożdży *S. cerevisiae* opisano mechanizm NGD (ang. *No-go mRNA Decay*), w którym degradacji ulegają transkrypty zawierające strukturę typu ramię-pętla (ang. *stem-loop structure*). Mechanizm ten, podobnie jak NMD i NSD, związany jest bezpośrednio z procesem translacji. Degradacja komórkowego transkryptu zostaje zainicjowana, jeżeli rybosom przemieszczający się podczas procesu translacji wzdłuż mRNA natrafi na strukturę typu ramię-pętla, która

uniemożliwia dalsze jego przemieszczanie się [16]. Degradacja mRNA na drodze NGD rozpoczyna się endonukleolitycznym cięciem w sąsiedztwie rybosomu i struktury typu ramię-pętla. W procesie tym niezbędne są białka Dom34 oraz Hbs1, które przypuszczalnie wiążąc się z rybosomem inicjują jego uwolnienie, co umożliwia przecięcie transkryptu przez endonukleazę [23, 39]. Powstałe w wyniku endonukleolitycznego cięcia dwa łańcuchy polinukleotydowe ulegają następnie degradacji od 3' końca z udziałem egzozomu cytoplazmatycznego i trawieniu od 5' końca przez egzozonukleazę Xrn1p [16].

DEGRADACJA TRANSKRYPTÓW ZAWIERAJĄCYCH W REJONIE 3' UTR SEKWENCJE BOGATE W ADENINĘ I URACYL

W komórkach eukariotycznych występują transkrypty zawierające w rejonie 3' UTR (ang. *3'-Untranslated Region*) sekwencje bogate w adeninę i uracyl – AREs (ang. *AU-rich Elements*). Sekwencje te zidentyfikowano w mRNA charakteryzujących się krótkim okresem półtrwania, których stężenie w komórce ulega okresowym zmianom. Ich obecność zmniejsza stabilność transkryptu [13, 28, 35].

Cząsteczki mRNA zawierające w rejonie 3' UTR sekwencje bogate w adeninę i uracyl ulegają degradacji w procesie AMD (ang. *AU-rich Element (ARE)-mediated mRNA Decay*) występującym zarówno w komórkach drożdży [61], jak i ssaków [45]. Trawienie mRNA zachodzi od 3' końca z udziałem egzozomu lub od końca 5' z udziałem egzozonukleazy Xrn1p [26]. Obie drogi degradacji poprzedzone są procesem deadenylacji [38]. Sekwencje AREs wiążą się ze specyficznymi białkami AUBPs (ang. *AU-rich Binding Proteins*) i egzozomem, co stymuluje degradację mRNA od końca 3' przez egzozonukleazy egzozomu [21]. Pozostała struktura czapeczki jest następnie hydrolizowana przez enzym DcpS [47].

Alternatywną drogą degradacji transkryptów zawierających sekwencje AREs w rejonie 3' UTR jest, poprzedzona procesem deadenylacji i usunięciem czapeczki, degradacja od 5' końca. Usunięcie czapeczki umożliwia trawienie mRNA przez 5'-egzonukleazę Xrn1p. W procesie degradacji mRNA od 5' końca, odbywającym się w cytoplazmatycznych ciałkach P, uczestniczy również kompleks Lsm1p-7p [70].

Degradacji transkryptów zawierających sekwencje AREs zapobiegają białka HuR (ang. *Hu antigen R*) [32, 85], które przypuszczalnie mogą uczestniczyć w eksporcie mRNA z jądra do cytoplazmy [15]. Wykazano, że czynniki stresowe działające na komórkę stymulują przemieszczanie się białek HuR z jądra do cytoplazmy, gdzie wiążą się z sekwencjami AREs cząsteczek mRNA zwiększając ich stabilność [2, 40].

DEGRADACJA mRNA W JĄDRZE KOMÓRKOWYM DROŻDŻY

W komórkach drożdży *S. cerevisiae* oprócz procesów rozkładu mRNA w cytoplazmie występuje również mechanizm degradacji mRNA w jądrze komórkowym – DRN (ang. *Degradation of mRNA in the Nucleus*). Biorą w nim udział:

1) wieloenzymatyczny egzosom jądrowy, który w przeciwieństwie do egzosomu cytoplazmatycznego zawiera również 3'-egzonukleazę Rrp6p [71];

2) egzonukleaza Rat1p (ang. *Ribonucleic acid-trafficking protein 1*) – główna jądrowa 5'-egzonukleaza, uczestnicząca w procesach dojrzewania snoRNA i rRNA [19, 43, 59];

3) heterodimeryczny kompleks białkowy wiążący czapeczkę – CBC (ang. *Cap Binding Complex*) składający się z białek Cbc1p (u wyższych eukariotów określane jako CBP80) i Cbc2p (u wyższych eukariotów – CBC20). Kompleks ten uczestniczy w procesie splicingu pre-mRNA oraz eksporcie dojrzałych transkryptów z jądra do cytoplazmy [29, 55].

Degradacji w jądrze komórkowym ulegają zarówno wadliwe [50], jak i prawidłowe mRNA, które nie zostały przetransportowane do cytoplazmy [37]. Bardziej podatne na degradację w nukleoplazmie są cząsteczki mRNA, które dłużej przebywają w jądrze. Zablockowanie eksportu mRNA z jądra do cytoplazmy, powodujące ich kumulowanie się w nukleoplazmie, wzmacnia mechanizm DRN. Z kolei mutacje w genach CBC1 i RRP6 hamują ten proces. Mechanizm DRN wpływa na długość okresu półtrwania prawidłowych mRNA oraz stanowi uzupełnienie cytoplazmatycznych mechanizmów degradacji wadliwych transkryptów [37].

DEGRADACJA RNA Z UDZIAŁEM DEGRADOSOMU MITOCHONDRIALNEGO

W procesach degradacji RNA w mitochondriach drożdży *S. cerevisiae* uczestniczy degradosom mitochondrialny (mtEXO), który wykazuje aktywność egzorybonukleolityczną rozkładając cząsteczkę substratu w kierunku 3' → 5'. W wyniku tego powstają monofosforany nukleotydów. Kompleks mtEXO jest zbudowany z dwóch białek: Dss1p oraz Suv3p. Dss1p wykazujące duży stopień homologii z bakteryjną RNazą II ma aktywność egzorybonukleolityczną. Z kolei Suv3p, które należy do rodziny białek DEAD-box, bierze udział w rozwijaniu struktur drugorzędowych. Obydwa te białka mogą wiązać cząsteczkę substratu [48]. Również w mitochondriach ssaków zidentyfikowano białko Suv3p, które uczestniczy w degradacji RNA [34, 82]. W przeciwieństwie do rozkładu transkryptów w cytoplazmie komórek eukariotycznych, degradacja RNA w mitochondriach ssaków może być stymulowana procesem poliadenylacji [65, 69].

INTERFERENCJA RNA

Interferencja RNA – RNAi (ang. *RNA interference*), która polega na degradacji mRNA indukowanej dwuniciowym RNA – dsRNA (ang. *double-stranded RNA*) jest konserwatywnym mechanizmem występującym w komórkach eukariotycznych [8]. Obecność długich dwuniciowych cząsteczek kwasów rybonukleinowych w komórkach eukariotycznych jest stanem nieprawidłowym, świadczącym o obecności

egzogenego RNA (transkrypcja transgenów) lub infekcji wirusowej (RNA powstające w wyniku replikacji RNA-wirusów) [7].

Zjawisko interferencji RNA jest zapoczątkowane fragmentacją dsRNA na cząsteczki o długości około 22 nukleotydów, które zostały nazwane małymi interferującymi RNA – siRNA (ang. *small interfering RNA*). Reakcja hydrolizy jest katalizowana przez kompleks enzymatyczny określany jako Dicer, zbudowany z RNazy III, ATP-zależnej helikazy RNA oraz domeny białkowej wiążącej dsRNA. Domena wiążąca rozpoznaje cząsteczkę dsRNA, helikaza RNA, wykorzystująca ATP do przemieszczania się wzdłuż łańcucha dsRNA, rozplata obie nici, natomiast RNaza III hydrolizuje wiązania fosfodiesterowe, w wyniku czego powstają cząsteczki siRNA [12].

W kolejnym etapie siRNA wiąże się z wielobiałkowym kompleksem RISC (ang. *RNA-induced Silencing Complex*). Następnie w obecności ATP dochodzi do rozplecenia dwuniciowej cząsteczki siRNA do postaci jednoniciowego kwasu rybonukleinowego [49]. Jednoniciowe fragmenty RNA wiążą się z komplementarnymi sekwencjami mRNA, co stymuluje degradację transkryptu i hamuje ekspresję genu [51, 57].

W interferencji RNA uczestniczą również cząsteczki kwasu rybonukleinowego, które zostały nazwane mikroRNA – miRNA (ang. *microRNA*). Powstają one w wyniku złożonego procesu zachodzącego w jądrze i cytoplazmie. W jądrze komórkowym z pri-miRNA w wyniku działania enzymu Drosha wykazującego aktywność RNazy III, powstają cząsteczki długości około 70 nukleotydów nazwane pre-miRNA. Są one następnie transportowane do cytoplazmy, w której kompleks enzymatyczny Dicer przekształca je do jednoniciowych miRNA, składających się z około 22 nukleotydów [24, 56, 78]. W cytoplazmie dojrzałe miRNA wiązane są w kompleksach rybonukleoproteinowych [18]. W kolejnym etapie cząsteczki miRNA łączą się z końcami 3' transkryptów. Dalsze losy mRNA zależą od sposobu związania się miRNA. Jeżeli miRNA zwiąże się z docelowym transkryptem w sposób częściowo komplementarny, to dochodzi do inhibicji procesu translacji. Z kolei jeżeli cząsteczki te połączą się ze sobą w sposób całkowicie komplementarny, wówczas mRNA jest kierowane na drogę degradacji [80].

DEGRADACJA RNA PRZEZ UKŁAD 2-5A/RNaza L

W komórkach ssaków układ 2-5A/RNaza L uczestniczy w degradacji RNA wirusów, hamując tym samym ich replikację. Wirusy wiążą się ze swoistymi receptorami błony komórkowej, co umożliwia ich проникnięcie do cytoplazmy. W komórce dochodzi do integracji materiału genetycznego wirusa z genomem gospodarza. Zakażenie komórki wirusem stymuluje wytwarzanie interferonu. Cząsteczki interferonu są wydzielane przez zakażoną komórkę do przestrzeni międzykomórkowej, a następnie przyłączają się do receptorów na sąsiednich komórkach, wywołując w nich stan antywirusowy. Interferon pobudza komórki do syntezy specyficznych białek, m.in. rybonukleazy L (RNazy L) i syntetazy 2-5A wytwarzającej oligo 2-5A (oligonukleotydy adenylowe) [66].

Syntetaza 2-5A, której wytwarzanie jest indukowane przez interferon, wymaga do swej aktywności obecności dwuniciowego RNA, powstającego na skutek replikacji RNA-wirusów [42]. Oligonukleotydy wytwarzane przez syntetazę 2-5A wiążą się z rejonami zlokalizowanymi w obrębie sekwencji „ankirynopodobnych” RNazy L, co powoduje jej zmiany konformacyjne i stymuluje aktywność enzymatyczną [53].

W strukturze ludzkiej RNazy L, zbudowanej z 741 reszt aminokwasowych, zidentyfikowano dziewięć sekwencji „ankirynopodobnych”, motywy o budowie kinazy białkowej wiążące ATP oraz C-kończową domenę o aktywności endonukleolitycznej [86]. Aktywna RNaza L działa jako dimer zbudowanym z dwóch identycznych podjednostek. Proces dimeryzacji zachodzi w obecności oligo 2-5A [75].

PODSUMOWANIE

Wyniki dotychczas przeprowadzonych badań wskazują na istnienie różnych mechanizmów degradacji RNA, stanowiących jeden z etapów potranskrypcyjnej regulacji ekspresji genów. Szczegółowe poznanie tych procesów może umożliwić wpływanie na przebieg wewnątrzkomórkowych szlaków metabolicznych. Wskazuje się na możliwość ich zastosowania w biologii molekularnej, biotechnologii i medycynie. Już dziś niektóre spośród tych mechanizmów wykorzystywane są w celu kontrolowanej degradacji RNA. Umożliwiają one blokowanie ekspresji określonych genów, głównie kodujących białka onkogenne, czynniki wzrostu oraz białka uczestniczące w przekazywaniu sygnałów komórkowych.

PIŚMIENNICTWO

- [1] AKIMITSU N, TANAKA J, PELLETIER J. Translation of nonSTOP mRNA is repressed post-initiation in mammalian cells. *EMBO J* 2007; **26**: 2327–2338.
- [2] AMADIO M, SCAPAGNINI G, LAFORENZA U, INTRIERI M, ROMEO L, GOVONI S, PASCALE A. Post-transcriptional regulation of HSP70 expression following oxidative stress in SHSY5Y cells: the potential involvement of the RNA-binding protein HuR. *Curr Pharm* 2008; **14**: 2651–2658.
- [3] AMERIA, MACHIAH DK, TRAN TT, CHANNELL C, CRENSHAW V, FERNSTROM K, KHACHIDZE M, DUNCAN A, FUCHS S, HOWARD TE. A nonstop mutation in the factor (F)X gene of a severely haemorrhagic patient with complete absence of coagulation FX. *Thromb Haemost* 2007; **98**: 1165–1169.
- [4] ARAKI Y, TAKAHASHI S, KOBAYASHI T, KAJIHO H, HOSHINO S, KATADA T. Ski7p G protein interacts with the exosome and the Ski complex for 3'- to 5'-mRNA decay in yeast. *EMBO J* 2001; **20**: 4684–4693.
- [5] ATKINSON GC, BALDAUF SL, HAURYLIUK V. Evolution of nonstop, no-go and nonsense-mediated mRNA decay and their termination factor-derived components. *BMC Evol Biol* 2008; **8**: 290.
- [6] BHALLA AD, GUDIKOTE JP, WANG J, CHAN WK, CHANG YF, OLIVAS OR, WILKINSON MF. Nonsense codons trigger an RNA partitioning shift. *J Biol Chem* 2009; **284**: 4062–4072.
- [7] BUCHON N, VAURY C. RNAi: a defensive RNA-silencing against viruses and transposable elements. *Heredity* 2006; **96**: 195–202.
- [8] CERUTTI H, CASAS-MOLLANO JA. On the origin and functions of RNA-mediated silencing: from protists to man. *Curr Genet* 2006; **50**: 81–99.
- [9] CHABELSKAYA S, GRYZINA V, MOSKALENKO S, LE GOFF C, ZHOURAVLEVA G. Inactivation of NMD increases viability of sup45 nonsense mutants in *Saccharomyces cerevisiae*. *BMC Mol Biol* 2007; **8**: 71–82.

- [10] CHENG Z, COLLIER J, PARKER R, SONG H. Crystal structure and functional analysis of DEAD-box protein Dhh1p. *RNA* 2005; **11**: 1258–1270.
- [11] CHOWDHURY A, THARUN S. Activation of decapping involves binding of the mRNA and facilitation of the post-binding steps by the Lsm1-7-Pat1 complex. *RNA* 2009; **15**: 1837–1848.
- [12] COLMENARES SU, BUKER SM, BUHLER M, DLAKIĆ M, MOAZED D. Coupling of double-stranded RNA synthesis and siRNA generation in fission yeast RNAi. *Mol Cell* 2007; **27**: 449–461.
- [13] DATTA S, BISWAS R, NOVOTNY M, PAVICIC PG JR, HERJAN T, MANDAL P, HAMILTON TA. Tristetraprolin regulates CXCL1 (KC) mRNA stability. *J Immunol* 2008; **180**: 2545–2552.
- [14] DESHMUKH MV, JONES BN, QUANG-DANG DU, FLINDERS J, FLOOR SN, KIM C, JEMIELITY J, KALEK M, DARZYNKIEWICZ E, GROSS JD. mRNA decapping is promoted by an RNA-binding channel in Dcp2. *Mol Cell* 2008; **29**: 324–336.
- [15] DOLLER A, AKOOL EL-S, HUWILER A, MULLER R, RADEKE HH, PFEILSCHIFTER J, EBERHARDT W. Posttranslational modification of the AU-rich element binding protein HuR by protein kinase Cdelta elicits angiotensin II-induced stabilization and nuclear export of cyclooxygenase 2 mRNA. *Mol Cell Biol* 2008; **28**: 2608–2625.
- [16] DOMA MK, PARKER R. Endonucleolytic cleavage of eukaryotic mRNAs with stalls in translation elongation. *Nature* 2006; **440**: 561–564.
- [17] DUNCKLEY T, TUCKER M, PARKER R. Two related proteins, Edc1p and Edc2p, stimulate mRNA decapping in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* 2001; **157**: 27–37.
- [18] EASOW G, TELEMANN AA, COHEN SM. Isolation of microRNA targets by miRNP immunopurification. *RNA* 2007; **13**: 1198–1204.
- [19] FANG F, PHILLIPS S, BUTLER JS. Rat1p and Rai1p function with the nuclear exosome in the processing and degradation of rRNA precursors. *RNA* 2005; **11**: 1571–1578.
- [20] FENG H, BROWN AH, JACOBSON A. Upf1p, Nmd2p, and Upf3p are interacting components of the yeast nonsense-mediated mRNA decay pathway. *Mol Cell Biol* 1997; **17**: 1580–1594.
- [21] GHERZIR, TRABUCCHI M, PONASSI M, RUGGIERO T, CORTE G, MORONI C, CHEN CY, KHABAR KS, ANDERSEN JS, BRIATA P. The RNA-binding protein KSRP promotes decay of beta-catenin mRNA and is inactivated by PI3K-AKT signaling. *PLoS Biol* 2006; **5**: e5.
- [22] GONZALEZ CI, RUIZ-ECHEVARRIA MJ, VASUDEVAN S, HENRY MF, PELTZ SW. The yeast hnRNP-like protein Hrp1/Nab4 marks a transcript for nonsense-mediated mRNA decay. *Mol Cell* 2000; **5**: 489–499.
- [23] GRAILLE M, CHAILLET M, VAN TILBEURGH H. Structure of yeast Dom34: a protein related to translation termination factor ERF1 and involved in No-Go decay. *J Biol Chem* 2008; **283**: 7145–7154.
- [24] GREGORY R.L., CHENDRIMADA T.P., COOCH N., SHIEKHATTAR R.: Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell* 2005; **123**: 631–640.
- [25] GREIMANN JC, LIMA CD. Reconstitution of RNA exosomes from human and *Saccharomyces cerevisiae* cloning, expression, purification, and activity assays. *Methods Enzymol* 2008; **448**: 185–210.
- [26] HAU HH, WALSH RJ, OGILVIE RL, WILLIAMS DA, REILLY CS, BOHJANEN PR. Tristetraprolin recruits functional mRNA decay complexes to ARE sequences. *J Cell Biochem* 2007; **100**: 1477–1492.
- [27] HERNANDEZ H, DZIEMBOWSKIA, TAVERNER T, SERAPHIN B, ROBINSON CV. Subunit architecture of multimeric complexes isolated directly from cells. *EMBO Rep* 2006; **7**: 605–610.
- [28] HORNER TJ, LAI WS, STUMPO DJ, BLACKSHEAR PJ. Stimulation of polo-like kinase 3 mRNA decay by tristetraprolin. *Mol Cell Biol* 2009; **29**: 1999–2010.
- [29] HOSSAIN MA, CLAGGETT JM, NGUYEN T, JOHNSON TL. The cap binding complex influences H2B ubiquitination by facilitating splicing of the SUS1 pre-mRNA. *RNA* 2009; **15**: 1515–1527.
- [30] HU W, PETZOLD C, COLLIER J, BAKER KE. Nonsense-mediated mRNA decapping occurs on polyribosomes in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nat Struct Mol Biol* 2010; **17**: 244–247.
- [31] INADA T, AIBA H. Translation of aberrant mRNAs lacking a termination codon or with a shortened 3'-UTR is repressed after initiation in yeast. *EMBO J* 2005; **24**: 1584–1595.
- [32] ISHIMARU D, RAMALINGAM S, SENGUPTA TK, BANDYO-PADHYAY S, DELLIS S, THOLANI-KUNNEL BG, FERNANDES DJ, SPICER EK. Regulation of Bcl-2 expression by HuR in HL60 leukemia cells and A431 carcinoma cells. *Mol Cancer Res* 2009; **7**: 1354–1366.
- [33] ITO-HARASHIMA S, KUROHA K, TATEMATSU T, INADA T. Translation of the poly(A) tail plays crucial roles in nonstop mRNA surveillance via translation repression and protein destabilization by proteasome in yeast. *Genes Dev* 2007; **21**: 519–524.

- [34] KHIDR L, WU G, DAVILA A, PROCACCIO V, WALLACE D, LEE WH. Role of SUV3 helicase in maintaining mitochondrial homeostasis in human cells. *J Biol Chem* 2008; **283**: 27064–27073.
- [35] KIM TW, YIM S, CHOI BJ, JANG Y, LEE JJ, SOHN BH, YOO HS, YEOM YI, PARK KC. Tristetraprolin regulates the stability of HIF-1 α mRNA during prolonged hypoxia. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; **391**: 963–968.
- [36] KONONENKO AV, MITKEVICH VA, ATKINSON GC, TENSION T, DUBOVAYA VI, FROLOVA LY, MAKAROV AA, HAURYLIUK V. GTP-dependent structural rearrangement of the eRF1:eRF3 complex and eRF3 sequence motifs essential for PABP binding. *Nucleic Acids Res* 2010; **38**: 548–558.
- [37] KUAIL L, DAS B, SHERMAN F. A nuclear degradation pathway controls the abundance of normal mRNAs in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; **102**: 13962–13967.
- [38] LAI WS, CARRICK DM, BLACKSHEAR PJ. Influence of nonameric AU-rich tristetraprolin-binding sites on mRNA deadenylation and turnover. *J Biol Chem* 2005; **280**: 34365–34377.
- [39] LEE HH, KIM YS, KIM KH, HEO I, KIM SK, KIM O, KIM HK, YOON JY, KIM HS, KIM DO J, LEE SJ, YOON HJ, KIM SJ, LEE BG, SONG HK, KIM VN, PARK CM, SUH SW. Structural and functional insights into Dom34, a key component of no-go mRNA decay. *Mol Cell* 2007; **27**: 938–950.
- [40] LI B, SI J, DEWILLE JW. Ultraviolet radiation (UVR) activates p38 MAP kinase and induces posttranscriptional stabilization of the C/EBP δ mRNA in G0 growth arrested mammary epithelial cells. *J Cell Biochem* 2008; **103**: 1657–1669.
- [41] LI Y, SONG MG, KILEDJIAN M. Transcript-specific decapping and regulated stability by the human Dcp2 decapping protein. *Mol Cell Biol* 2008; **28**: 939–948.
- [42] LI M, ZHENG DJ, FIELD LL, BONNEVIE-NIELSEN V. Murine pancreatic beta TC3 cells show greater 2', 5'-oligoadenylate synthetase (2'5'AS) antiviral enzyme activity and apoptosis following IFN- α or poly(I:C) treatment than pancreatic alpha TC3 cells. *Exp Diabetes Res* 2009; **2009**: 631026.
- [43] LI J, ZHENG H, JI C, FEI X, ZHENG M, GAO Y, REN Y, GU S, XIE Y, MAO Y. A novel splice variant of human XRN2 gene is mainly expressed in blood leukocyte. *DNA Seq* 2005; **16**: 143–146.
- [44] LIAN S, JAKYMIW A, EYSTATHIOY T, HAMEL JC, FRITZLER MJ, CHAN EKL. GW bodies, microRNAs and the cell cycle. *Cell Cycle* 2006; **5**: 242–245.
- [45] LIN WJ, DUFFY A, CHEN CY. Localization of AU-rich element-containing mRNA in cytoplasmic granules containing exosome subunits. *J Biol Chem* 2007; **282**: 19958–19968.
- [46] LING SH, DECKER CJ, WALSH MA, SHE M, PARKER R, SONG H. Crystal structure of human Edc3 and its functional implications. *Mol Cell Biol* 2008; **28**: 5965–5976.
- [47] LIU SW, RAJAGOPAL V, PATEL SS, KILEDJIAN M. Mechanistic and kinetic analysis of the DcpS scavenger decapping enzyme. *J Biol Chem* 2008; **283**: 16427–16436.
- [48] MALECKI M, JEDRZEJCZAK R, STEPIEN PP, GOLIK P. *In vitro* reconstitution and characterization of the yeast mitochondrial degradosome complex unravels tight functional interdependence. *J Mol Biol* 2007; **372**: 23–36.
- [49] MATRANGA C, TOMARI Y, SHIN C, BARTEL DP, ZAMORE PD. Passenger-strand cleavage facilitates assembly of siRNA into Ago2-containing RNAi enzyme complexes. *Cell* 2005; **123**: 607–620.
- [50] MILLIGAN L, TORCHET C, ALLMANG C, SHIPMAN T, TOLLERVEY D. A nuclear surveillance pathway for mRNAs with defective polyadenylation. *Mol Cell Biol* 2005; **25**: 9996–10004.
- [51] MIYOSHI K, UEJIMA H, NAGAMI-OKADA T, SIOMI H, SIOMI MC. In vitro RNA cleavage assay for Argonaute-family proteins. *Methods Mol Biol* 2008; **442**: 29–43.
- [52] NABAVI S, NAZAR RN. Cleavage-induced termination in U2 snRNA gene expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; **393**: 461–465.
- [53] NAKANISHI M, GOTO Y, KITADE Y. 2-5A induces a conformational change in the ankyrin-repeat domain of RNase L. *Proteins* 2005; **60**: 131–138.
- [54] NISSAN T, PARKER R. Analyzing P-bodies in *Saccharomyces cerevisiae*. *Methods Enzymol* 2008; **448**: 507–520.
- [55] NOJIMA T, HIROSE T, KIMURA H, HAGIWARA M. The interaction between cap-binding complex and RNA export factor is required for intronless mRNA export. *J Biol Chem* 2007; **282**: 15645–15651.
- [56] OBERNOSTERER G, LEUSCHNER PJ, ALENIUS M, MARTINEZ J. Post-transcriptional regulation of microRNA expression. *RNA* 2006; **12**: 1161–1167.
- [57] ORBAN TI, IZAURRALDE E. Decay of mRNAs targeted by RISC requires XRN1, the Ski complex, and the exosome. *RNA* 2005; **11**: 459–469.
- [58] PIAO X, ZHANG X, WU L, BELASCO JG. CCR4-NOT deadenylates mRNA associated with RNA-induced silencing complexes in human cells. *Mol Cell Biol* 2010; **30**: 1486–1494.

- [59] POLL G, BRAUNT T, JAKOVLJEVIC J, NEUEDERA A, JAKOB S, WOOLFORD JL JR, TSCHOCHNER H, MILKEREIT P. rRNA maturation in yeast cells depleted of large ribosomal subunit proteins. *PLoS One* 2009; **4**: e8249.
- [60] PRETI M, GUFFANTI E, VALITUTTO E, DIECI G. Assembly into snoRNP controls 5'-end maturation of a box C/D snoRNA in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; **351**: 468–473.
- [61] PUIG S, ASKELAND E, THIELE DJ. Coordinated remodeling of cellular metabolism during iron deficiency through targeted mRNA degradation. *Cell* 2005; **120**: 99–110.
- [62] RACZYŃSKA K.D., AUGUSTYNIAK H., Degradacja nieprawidłowych transkryptów w komórkach eukariotycznych i prokariotycznych. *Post Biol Kom* 2007; **34**: 299–316.
- [63] RUIZ-ECHEVARRIA MJ, GONZALEZ CI, PELTZ SW. Identifying the right stop: determining how the surveillance complex recognizes and degrades an aberrant mRNA. *EMBO J* 1998; **17**: 575–589.
- [64] SATO H, HOSODA N, MAQUAT LE. Efficiency of the pioneer round of translation affects the cellular site of nonsense-mediated mRNA decay. *Mol Cell* 2008; **29**: 255–262.
- [65] SCHUSTER G, STERN D. RNA polyadenylation and decay in mitochondria and chloroplasts. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2009; **85**: 393–422.
- [66] SEN GC, PETERS GA. Viral stress-inducible genes. *Adv Virus Res* 2007; **70**: 233–263.
- [67] SHE M, DECKER CJ, SVERGUN DI, ROUND A, CHEN N, MUHLRAD D, PARKER R, SONG H. Structural basis of dcp2 recognition and activation by dcp1. *Mol Cell* 2008; **29**: 337–349.
- [68] SHETH U, PARKER R. Targeting of aberrant mRNAs to cytoplasmic processing bodies. *Cell* 2006; **125**: 1095–1109.
- [69] SLOMOVIC S, LAUFER D, GEIGER D, SCHUSTER G. Polyadenylation and degradation of human mitochondrial RNA: the prokaryotic past leaves its mark. *Mol Cell Biol* 2005; **25**: 6427–6435.
- [70] STOECKLIN G, MAYO T, ANDERSON P. ARE-mRNA degradation requires the 5'-3' decay pathway. *EMBO Rep* 2006; **7**: 72–77.
- [71] SYNOWSKY SA, VAN WIJK M, RAIJMAKERS R, HECK AJ. Comparative multiplexed mass spectrometric analyses of endogenously expressed yeast nuclear and cytoplasmic exosomes. *J Mol Biol* 2009; **385**: 1300–1313.
- [72] TAKIMOTO K, WAKIYAMA M, YOKOYAMA S. Mammalian GW182 contains multiple Argonaute-binding sites and functions in microRNA-mediated translational repression. *RNA* 2009; **15**: 1078–1089.
- [73] TEIXEIRA D, PARKER R. Analysis of P-body assembly in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Biol Cell* 2007; **18**: 2274–2287.
- [74] TEIXEIRA D, SHETH U, VALENCIA-SANCHEZ MA, BRENGUES M, PARKER R. Processing bodies require RNA for assembly and contain nontranslating mRNAs. *RNA* 2005; **11**: 371–382.
- [75] THAKUR CS, JHA BK, DONG B, DAS GUPTA J, SILVERMAN KM, MAO H, SAWAI H, NAKAMURA AO, BANERJEE AK, GUDKOVA A, SILVERMAN RH. Small-molecule activators of RNase L with broad-spectrum antiviral activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; **104**: 9585–9590.
- [76] THARUN S. Purification and analysis of the decapping activator Lsm1p-7p-Pat1p complex from yeast. *Methods Enzymol* 2008; **448**: 41–55.
- [77] THARUN S, PARKER R. Targeting an mRNA for decapping: Displacement of translation factors and association of the Lsm1p-7p complex on deadenylated yeast mRNAs. *Mol Cell* 2001; **8**: 1075–1083.
- [78] THOMSON JM, NEWMAN M, PARKER JS, MORIN-KENSICKI EM, WRIGHT T, HAMMOND SM. Extensive post-transcriptional regulation of microRNAs and its implications for cancer. *Genes Dev* 2006; **20**: 2202–2207.
- [79] TRITSCHLER F, EULALIO A, TRUFFAULT V, HARTMANN MD, HELMS S, SCHMIDT S, COLES M, IZAURRALDE E, WEICHENRIEDER O. A divergent Sm fold in EDC3 proteins mediates DCP1 binding and P-body targeting. *Mol Cell Biol* 2007; **27**: 8600–8611.
- [80] VATOLIN S, NAVARATNE K, WEIL RJ. A novel method to detect functional microRNA targets. *J Mol Biol* 2006; **358**: 983–996.
- [81] WANG L, LEWIS MS, JOHNSON AW. Domain interactions within the Ski2/3/8 complex and between the Ski complex and Ski7p. *RNA* 2005; **11**: 1291–1302.
- [82] WANG DD, SHU Z, LIESER SA, CHEN PL, LEE WH. Human mitochondrial SUV3 and polynucleotide phosphorylase form a 330-kDa hetero-pentamer to cooperatively degrade double-stranded RNA with a 3'-to-5' directionality. *J Biol Chem* 2009; **284**: 20812–20821.
- [83] WILSON MA, MEAUX S, VAN HOOFF A. A genomic screen in yeast reveals novel aspects of nonstop mRNA metabolism. *Genetics* 2007; **177**: 773–784.

- [84] YANG Z, JAKYMIWA, WOOD MR, EYSTATHIOY T, RUBIN RL, FRITZLER MJ, CHAN EK. GW182 is critical for the stability of GW bodies expressed during the cell cycle and cell proliferation. *J Cell Sci* 2004; **117**: 5567–5578.
- [85] YOUNG LE, SANDUJA S, BEMIS-STANDOLI K, PENA EA, PRICE RL, DIXON DA. The mRNA binding proteins HuR and tristetraprolin regulate cyclooxygenase 2 expression during colon carcinogenesis. *Gastroenterology* 2009; **136**: 1669–1679.
- [86] ZHOU A, HASSEL BA, SILVERMAN RH. Expression cloning of 2-5A-dependent RNAase: a uniquely regulated mediator of interferon action. *Cell* 1993; **72**: 753–765.

Redaktor prowadzący – B. Kamińska-Kaczmarek

Otrzymano: 09.02. 2010 r.

Przyjęto: 11.07. 2010 r.

Adam Mirowski,

Zakład Histologii i Embriologii, Katedra Nauk Morfologicznych,

Wydział Medycyny Weterynaryjnej, SGGW,

ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

E-mail: adam_mirowski@o2.pl

