

Autor pracy doktorskiej: Joanna Panecka

Tytuł: *Własności dynamiczne miejsca odczytu mRNA w rybosomie oraz jego kompleksów z antybiotykami*

Abstrakt:

Proces translacji jest jednym z najważniejszych procesów życiowych, zachodzących w każdej żywej komórce. Prowadzi on do syntezy białek na podstawie sekwencji matrycowego kwasu rybonukleinowego (mRNA) i przy udziale transferowego RNA (tRNA). Proces ten jest katalizowany przez rybosomy, kompleksy makromolekularne zbudowane z kwasu rybonukleinowego i z białek. Translacja musi zachodzić z odpowiednią dokładnością, aby syntetyzowane łańcuchy peptydowe miały prawidłową sekwencję. W kontroli dokładności tego procesu jedną z głównych ról odgrywa miejsce odczytu mRNA w rybosomie (tzw. miejsce A). W miejscu A znajdują się dwie ruchliwe konserwatywne adeniny, które pośredniczą w tworzeniu kompleksu między mRNA i tRNA, pośrednio zapewniając przyłączenie odpowiedniego aminokwasu do łańcucha peptydowego. Ten proces może być zaburzony przez wiązanie w miejscu A antybiotyków aminoglikozydowych. Są one stosowane w szpitalach w przypadku ciężkich infekcji, ale mogą niestety powodować poważne skutki uboczne, takie jak uszkodzenie słuchu. Jedną z przyczyn jest niska selektywność aminoglikozydów, które wiążą się też z miejscem A w ludzkim rybosomie. Ponadto aminoglikozydy, podobnie jak inne antybiotyki, stosunkowo szybko wywołują oporność bakterii. Te problemy stały się motywacją do moich badań.

Wykorzystując symulacje komputerowe, badałam własności fizyko-chemiczne miejsca A w kontekście dokładności procesu odczytu mRNA oraz czynników wpływających na tę dokładność, takich jak antybiotyki. Jako że w badanym procesie niezwykle istotny jest aspekt dynamiczny, podstawową zastosowaną metodą obliczeniową była dynamika molekularna, która pozwala na śledzenie dostępnych konformacji układu w czasie. Najpierw zajęłam się zmodyfikowanymi chemicznie analogami kwasów nukleinowych, które mogą być kowalencyjnie dołączone do aminoglikozydu, zwiększając selektywność wiązania antybiotyku i przeciwdziałając niektórym mechanizmom oporności bakterii. Wskazałam własności dynamiczne wybranych oligonukleotydów tłumaczące ich względnie silne wiązanie do RNA, co może ułatwić projektowanie związków bazujących na oligonukleotydach. Drugim nurtem badań było dokładniejsze poznanie własności fizyko-chemicznych i strukturalnych miejsca A. W szczególności porównywałam dynamikę jego bakteryjnego i ludzkiego wariantu, różniących się sekwencją RNA. To pozwoliło na identyfikację czynników konformacyjnych mogących wpłynąć na dokładność procesu odczytu mRNA oraz na różnice w powinowactwie wiązania antybiotyków aminoglikozydowych. Następnie badałam też mechanizmy bakteryjnej oporności na aminoglikozydy, spowodowanej mutacjami w rybosomowym białku S12, które sąsiaduje z miejscem A. Badania te pozwoliły zaproponować strukturalno-dynamiczne mechanizmy dezaktywacji aminoglikozydów w wyniku mutacji.

Wyniki moich badań poszerzyły wiedzę na temat mechanizmu odczytu mRNA w rybosomie u bakterii i u człowieka, oraz czynników które mogą wpływać na jego dokładność. Moje badania również wskazują na przyczyny różnic w wiązaniu aminoglikozydów do ludzkich i bakteryjnych wariantów miejsca A. W dalszej perspektywie wiedza ta może się przyczynić do projektowania skuteczniejszych antybiotyków. Ponadto w niniejszej pracy szczegółowo przedyskutowałam wybór metod, co może wspomóc przyszłe badania nad dynamiką układów złożonych z RNA, podobnych do miejsca A.