

Streszczenie

Obiektem badań opisanych w rozprawie doktorskiej jest białko rozkładające informacyjny kwas rybonukleinowy (mRNA), Decapping Scavenger (DcpS). Jego komórkową funkcją jest hydroliza końca 5' mRNA w ostatnich etapach degradacji krótkich oligonukleotydowych fragmentów. Poznana struktura krystalograficzna dimeru białka (o cząsteczkowej masie monomeru $40 \cdot 10^3$ j.m.a.) nie dawała odpowiedzi na pytania o molekularny mechanizm działania.

W przedstawionych badaniach określono mechanizm wiązania końca 5' mRNA (kapu) i specyfikę hydrolizy enzymatycznej, a także wyznaczono powinowactwo do szerokiej klasy syntetycznych analogów kapu mających potencjalne zastosowanie terapeutyczne. Różne modyfikacje chemiczne w obrębie struktury badanych związków przełożyły się na dokładny obraz tworzonych oddziaływań i specyfiki miejsca aktywnego białka DcpS. Uzyskano parametry termodynamiczne wiązania kapu przez DcpS, również w zestawieniu z najlepiej poznanym białkiem wiążącym kap- czynnikiem inicjującym translację eIF4E.

Zastosowano szereg wzajemnie się uzupełniających metod biofizycznych: kalorymetrię, spektroskopię absorpcyjną, fluorescencyjną (stacjonarną i czasowo rozdzielczą) oraz dichroizmu kołowego. Duża część badań eksperymentalnych ma charakter pionierski. Po raz pierwszy zastosowano izotermiczne miareczkowanie kalorymetryczne do określenia stechiometrii układu białko-kap, a do obserwacji zmian strukturalnych białka użyto spektroskopii dichroizmu kołowego w bliskim nadfiolecie. Eksperymenty z zastosowaniem znakowanych fluorescencyjnie analogów końca 5' mRNA otworzyły możliwości stosowania nowych technik badania oddziaływania kapu z białkami.