



KAPITAŁ LUDZKI  
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI  
FUNDUSZ SPOŁECZNY



**Magdalena Małgowska**

**Instytut Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu**

Stypendystka projektu pt. „Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski”, Poddziałanie 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

## Badania strukturalne kwadrupleksów RNA utworzonych z trójnukleotyдовых powtórzeń AGG i UGG

Poznanie struktury przestrzennej cząsteczek RNA stanowi priorytetowy kierunek badań w naukach medycznych i genetycznych, ponieważ dopiero jej znajomość pozwala w pełni wyjaśnić funkcję tych biomolekuł. Dane strukturalne wykorzystuje się przy projektowaniu leków przeznaczonych do terapii chorób nowotworowych, infekcyjnych (HCV, HIV) i neurodegeneracyjnych (np. choroba Alzheimera, choroba spowodowana ekspansją trójnukleotyдовых powtórzeń w obrębie genu).

Głównym celem mojej pracy doktorskiej są badania strukturalne cząsteczek RNA zbudowanych z powtórzeń AGG i UGG przyjmujących w roztworze bardzo charakterystyczną strukturę G-kwadrupleksu. G-kwadrupleks jest motywem strukturalnym występującym zarówno w cząsteczkach RNA jak i DNA, których sekwencje są bogate w reszty guanozyny. Motyw ten powstaje z co najmniej dwóch oddziałujących ze sobą warstwowo G-tetrad (czterech guanozyn położonych w jednej płaszczyźnie). Kwadrupleksy charakteryzują się niezwykle polimorfizmem strukturalnym i wciąż niewiele jest danych dotyczących ich struktury i dynamiki. Do końca czerwca 2014r. w bazie danych NDB (*ang. Nucleic Acid Database*) zdeponowano jedynie 9 struktur przestrzennych G-kwadrupleksów RNA. Obrazuje to zarówno poziom obecnej wiedzy, jak i ogromny potencjał dla tego typu badań. Analizy bioinformatyczne ludzkiego genomu zidentyfikowały ponad 350 000 sekwencji potencjalnie zdolnych do tworzenia G-kwadrupleksów DNA, obecnych m.in. w telomerach, regionach promotorowych onkogenów, czy tzw. gorących miejscach mutacji, a także G-kwadrupleksów RNA: w obrębie intronów i innych fragmentów mRNA nie ulegających translacji, czy telomerowego RNA. Dowiedziono zarówno ich istnienia *in vivo* jak i ich potencjału funkcjonalnego. Struktury G-kwadrupleksu obecne w ludzkim RNA uznane zostały za atrakcyjne cele przy projektowaniu leków, z drugiej strony wykazano szereg

interesujących aktywności biologicznych krótkich oligonukleotydów o potencjale do tworzenia G-kwadrupleksów, w tym antynowotworową, antywirusową, czy jako antykoagulanta. Dla przykładu, utworzenie struktury G-kwadrupleksu w rejonie promotorowym protoonkogenów c-myc i c-kit inhibuje ich transkrypcję i zapobiega rozwojowi nowotworów. Poznana struktura przestrzenna takiego genu pozwala na zaprojektowanie cząsteczki liganda, który będzie stabilizował strukturę kwadrupleksu w komórce, wzmacniając działanie przeciwnowotworowe. Wykazano także, że porfiryne TMPyP4 selektywnie oddziałuje ze strukturą G-kwadrupleksu utworzonego przez sekwencję c-myc, co w konsekwencji generuje zawadę steryczną, uniemożliwiającą przyłączenie do niego czynnika transkrypcyjnego. Inną ważną funkcję odgrywa struktura G-kwadrupleksu RNA zbudowanego z czterech powtórzeń GGA. Udowodniono, że cząsteczka ta jest aptamerem przeciwko białkowemu cząstkom zakaźnym związanym z gąbczastą encefalopatią bydła (tzw. chorobą szalonych krów). Kwadrupleks ten specyficznie łączy się z białkiem prionowym, hamując jego konwersję w chorobotwórczą konformację  $\beta$ -harmonijki.

W swoich badaniach wykorzystuję przede wszystkim wysokorozdzielczą spektroskopię magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR), która jest bardzo precyzyjnym narzędziem pozwalającym na ustalenie struktury przestrzennej kwasów nukleinowych z rozdzielczością atomową. Dodatkowe informacje na temat natury badanych przeze mnie cząsteczek uzyskuję stosując techniki spektroskopii UV i CD oraz spektrometrię mas. Uzyskane przeze mnie informacje na temat struktur G-kwadrupleksów RNA należących do rodziny sekwencji tandemowych powtórzeń trójnukleotydowych przyczynią się zarówno do postępu prac nad terapiami chorób związanych z ich ekspansją w genomach jak i szerszym wykorzystaniem tego niezwykle stabilnego motywu strukturalnego w biotechnologii i medycynie. Wyniki prowadzonych przeze mnie prac mogą zostać wykorzystane przez zespoły badawcze w ramach Sieci Chemii Bioorganicznej i Biologii Strukturalnej, Wielkopolskiego Centrum Badań Przyrodniczych i Medycznych, oraz innych zespołów poszukujących i projektujących terapeutyki, czy badających funkcję biomolekuł. Już obecnie, otrzymane przeze mnie wyniki wykorzystywane są w projekcie bioinformatycznym, którego celem jest stworzenie oprogramowania do automatyzacji procedury interpretacji widm NMR prowadzącej do określenia struktury trzeciorzędowej badanej cząsteczki. Powstały dzięki temu program usprawni proces badawczy i umożliwi opracowywanie większej ilości struktur w krótszym czasie, podnosząc tym samym ogólną wartość otrzymywanych w pracowni wyników.