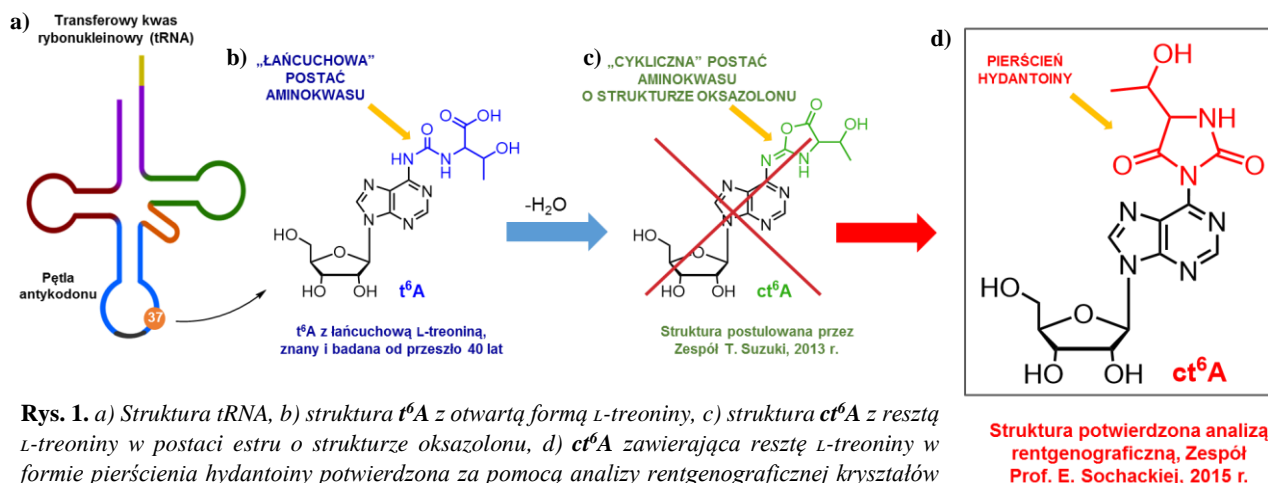


## „Badania nad syntezą i wprowadzaniem w łańcuch oligonukleotydowy cyklicznej pochodnej N<sup>6</sup>-treonylokarbamoilo-adenozyny i jej analogów”

Unikatowy charakter cząsteczek transferowych kwasów rybonukleinowych (tRNA) spowodowany jest obecnością w ich sekwencjach ponad 100-tu różnorodnie modyfikowanych nukleozydów. Modyfikacje mają istotne znaczenie dla prawidłowego przebiegu procesu dekodowania informacji genetycznej i biosyntezy białek, co sprawia, że są ciągle obiektem szeroko zakrojonych badań chemików i biochemików. Najwięcej różnorodnie modyfikowanych nukleozydów występuje w domenie pętli antykodonowej tRNA (Rys. 1a), a ich obecność decyduje o poprawności oddziaływania antykodonu tRNA z kodonem mRNA. Do tego typu modyfikacji należy N<sup>6</sup>-treonylokarbamoilo-adenozyna (**t<sup>6</sup>A**), zawierająca łańcuchową postać L-treoniny (Rys. 1b) - nukleozyd znany i badany od przeszło 40 lat, zlokalizowany w pozycji sąsiadującej od 3'-końca z antykodonem w cząsteczkach wielu tRNA.

Ważnym doniesieniem dotyczącym **t<sup>6</sup>A** były opublikowane przez zespół T. Suzuki (*Nat. Chem. Biol.* **2013**) wyniki badań wykazujące, że fragment nukleozydu obejmujący łańcuchową resztę L-treoniny występuje w komórce w postaci cyklicznej o strukturze oksazolonu, a nowy nukleozyd nazwano cykliczną N<sup>6</sup>-treonylokarbamoilo-adenozyną (**ct<sup>6</sup>A**) (Rys. 1c). Okazało się, że **ct<sup>6</sup>A** nie była wcześniej identyfikowana, ponieważ ulegała łatwo hydrolizie do **t<sup>6</sup>A** w dotychczas stosowanych, zbyt alkalicznych, warunkach izolacji nukleozydu z puli komórkowego tRNA. Dopiero zastosowana przez zespół Suzuki nowa procedura izolacyjna, w neutralnych warunkach, pozwoliła na wydzielenie nukleozydu w formie cyklicznej.



W świetle odkrycia **ct<sup>6</sup>A**, wydaje się, że dotychczasowe wnioski wynikające z różnorodnych badań biologicznej roli „łańcuchowej” **t<sup>6</sup>A** powinny zostać zweryfikowane. Fakt ten sprawia, że **ct<sup>6</sup>A** stanowi interesujący i aktualny obiekt badań nad modyfikacjami tRNA.

Zainspirowani odkryciem nowego nukleozydu rozpoczęliśmy badania nad **ct<sup>6</sup>A** i możliwościami jej wbudowywania w łańcuch oligonukleotydowy. Wstępne badania nad syntezą a także stabilnością cyklicznego nukleozydu w zróżnicowanych warunkach zostały opublikowane w *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2014**, 24, 2703-2706). Nasze dalsze prace nad syntezą **ct<sup>6</sup>A**, zakończone pomyślną krystalizacją nukleozydu i jego badaniami rentgenostrukturalnymi, jednoznacznie wykazały, że część aminokwasowa w syntetycznej **ct<sup>6</sup>A** nie występuje w postulowanej przez T. Suzuki postaci o strukturze oksazolonu (Rys. 1c), a w izomerycznej formie o strukturze pierścienia hydantoiny (Rys. 1d). Ponadto, badania przeprowadzone we współpracy z Zespołem T. Suzuki potwierdziły identyczność strukturalną zsyntezowanej przez nas **ct<sup>6</sup>A**, zawierającej pierścień hydantoiny z nukleozydem **ct<sup>6</sup>A** wyizolowanym z puli cząsteczek tRNA *E.coli*.

Odkrycie to spowodowało konieczność innego spojrzenia na badania będące przedmiotem mojej pracy doktorskiej. W tym kontekście program badawczy obejmuje szereg zadań mających na celu optymalizację syntezy cyklicznego nukleozydu, szeroką charakterystykę tworzenia i reaktywności pierścienia hydantoiny w **ct<sup>6</sup>A**, a także opracowanie sposobu inkorporacji **ct<sup>6</sup>A** w łańcuch oligonukleotydowy. Opracowanie metody otrzymywania **ct<sup>6</sup>A**-modyfikowanych oligonukleotydów stworzy możliwość pozyskiwania oligomerowych narzędzi do badania biologicznej roli natywnej **ct<sup>6</sup>A** w procesie dekodowania informacji genetycznej. Prowadzone są również badania nad syntezą cyklicznych analogów innych nukleozydów modyfikowanych resztami aminokwasów występujących w naturze - 2-tiometylowej pochodnej **t<sup>6</sup>A** (**ms<sup>2</sup>t<sup>6</sup>A**) i nukleozydu zawierającego resztę glicyny (**g<sup>6</sup>A**). Syntetyczne **ms<sup>2</sup>ct<sup>6</sup>A** i **cg<sup>6</sup>A** zostaną wykorzystane jako wzorce do poszukiwania cyklicznych nukleozydów w puli komórkowych tRNA.