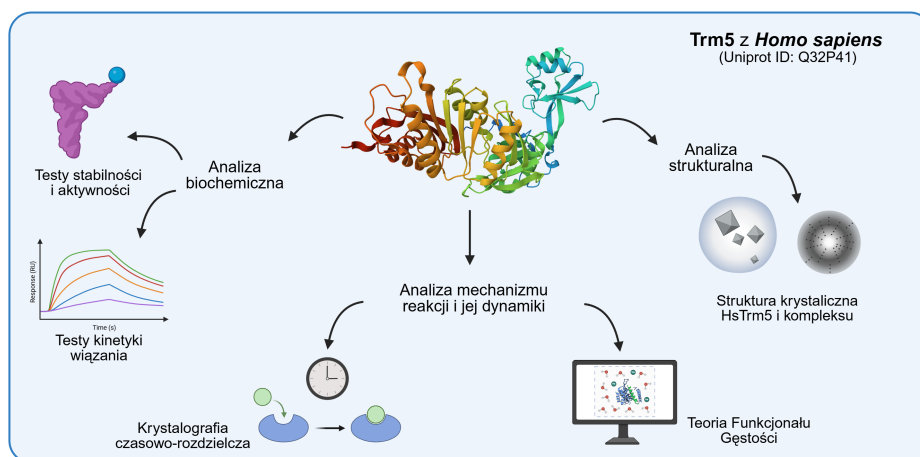


Odkodowanie kodu: Wyjaśnienie znaczenia i mechanizmu modyfikowania tRNA poprzez ludzką metylotransferazę Trm5

Transportowy RNA (tRNA) pełni kluczową rolę w biosyntezie białek, przenosząc aminokwasy do rybosomu podczas translacji. Aby matrycowy RNA (mRNA) mógł zostać odkodowany, tRNA musi zostać poddane szeregowi modyfikacji. Jedną z nich jest dołączenie grupy metylowej do pierwszego azotu guaniny w pozycji 37 tRNA (m^1G37). Ten proces jest niezbędny do zachowania prawidłowej ramki odczytu – jego zaburzenia mogą przyczynić się do śmierci komórkowej. U eukariotów i archeonów proces ten jest przeprowadzany przez metylotransferazę Trm5, która w swoim miejscu aktywnym posiada tzw. fałd Rossmanna. Wśród bakterii m^1G37 jest katalizowany przez ortolog Trm5 o nazwie TrmD, który jest zawężony. Obie grupy enzymów do reakcji wykorzystują S-adenozylometioninę (SAM), która pełni rolę donora grupy metylowej. Mimo że Trm5 i TrmD przeprowadzają tę samą modyfikację, ich pochodzenie ewolucyjne, struktura i mechanizm działania znacząco się od siebie różnią.

Co więcej, u archeona *Pyrococcus abyssi* odkryto, że Trm5 dodatkowo modyfikuje tRNA z antykodonem fenyloalaniny, przekształcając m^1G37 w pochodne wyożyny. Sugeruje to potencjalną aktywność bifunkcyjną u innych organizmów. Brak zdeponowanej struktury ludzkiej Trm5 i niewystarczające zrozumienie jej aktywności podkreślają, że badania nad nią znacznie poszerzą wiedzę o ewolucji enzymów i mechanizmach metylotransferaz. **Z tego względu, głównym celem niniejszego projektu jest dogłębna analiza strukturalna i biochemiczna metylotransferazy Trm5 z *Homo sapiens* (HsTrm5).** Pozwoli to odpowiedzieć na pytania: Jak struktura HsTrm5 ma się do ortologów? Jakie zmiany w miejscu aktywnym zachodzą podczas wiązania SAM? Czy bifunkcyjny charakter Trm5 jest unikalny tylko dla wybranych prokariotów? Dlaczego zaszła znacząca dywergencja strukturalna między enzymami wykonującymi tę samą reakcję?

W ramach realizacji projektu zostaną wykorzystane zaawansowane techniki z pogranicza biologii strukturalnej, biochemii, biofizyki i biologii molekularnej (Rys. 1). Pozwoli to na określenie nie tylko pojedynczej struktury ludzkiej Trm5, ale także jej działania w czasie oraz właściwości wykonywanej przez nią modyfikacji tRNA. Poza klasyczną krystalografią, zastosuję krystalografię czasowo-rozdzielczą, która jest techniką umożliwiającą śledzenie zmian strukturalnych w cząsteczkach w czasie rzeczywistym, co pozwala na rejestrowanie molekularnych „filmów” białek w akcji. Umożliwia ona obserwację dynamiki reakcji chemicznych, zmian konformacyjnych białek czy innych procesów molekularnych, które zachodzą w krótkich interwałach czasowych. Dodatkowo, wykorzystam obliczenia DFT, które pozwolą na zrozumienie kluczowych aspektów katalitycznych, trudnych lub wręcz niemożliwych do poznania eksperymentalnie. Realizacja tego grantu pomoże rozwiązać tę ważną dla naszej jakości życia zagadkę.



Rysunek 1. Schemat przedstawiający zakres badań należących do tego projektu.

m^1G37 jest jedną z dwóch modyfikacji tRNA występujących wśród całej domeny bakterii, w tym również u ludzkich patogenów, takich jak prątki gruźlicy czy pałeczki ropy błękitnej. Antybiotykooporność została wskazana przez Światową Organizację Zdrowia jako jedno z największych zagrożeń dla zdrowia i rozwoju ludzkości. TrmD uznaje się za jeden z celów dla nowej generacji antybiotykoterapii – wykazano, że cząsteczki SAM-podobne umożliwiające przeprowadzanie metylacji tRNA, tym samym hamując wzrost bakterii. Wierzmy, że uzyskane przez nas wyniki dotyczące aktywności ludzkiej metylotransferazy Trm5 będą miały kluczowy wpływ na dalszy rozwój badań nad lekami targetującymi TrmD i pozytywnie przyczynią się do walki z antybiotykoopornością.