

Biosynteza seleno-modyfikowanych nukleozydów w pętli antykodonu transferowych kwasów rybonukleinowych. Ewaluacja enzymatycznej transformacji 2-tiourydyny do 2-selenourydyny, badania funkcji i struktury tRNA selenourydyno syntazy z *E. coli*.

Kierownik grantu: prof. dr hab. Barbara Nawrot

Grant NCN, UMO-2014/13/B/ST5/03979 (2015-2018)

Opis projektu

W ramach projektu opracowano i zoptymalizowano syntezę szeregu zmodyfikowanych 2-tiourydyn, 2-selenourydyn oraz ich pochodnych geranylowych, a także efektywne metody otrzymywania modelowych oligonukleotydów RNA typu ASL tRNA. Zbadano ich właściwości fizykochemiczne, w tym konformację, lipofilowość i wartości pKa, co pozwoliło lepiej zrozumieć zależności między strukturą a funkcją biologiczną tych modyfikacji. Wykazano również, że cytochrom C katalizuje desulfurację 5-podstawionych 2-tiourydyn na poziomie nukleozydów, oligonukleotydów i całych tRNA, a szybkość tego procesu zależy od pH. Istotnym osiągnięciem było także opracowanie biosyntezy i charakterystyki rekombinowanego białka SelU, które umożliwiło badanie etapowej transformacji 2-tiourydyno-tRNA do 2-selenourydyno-tRNA. Potwierdzono, że proces ten przebiega przez pośredni etap geranylowania. Rozwinięto ponadto metody analityczne, w tym LC-MS/MS, RP-HPLC, MALDI-TOF MS i MST, które pozwoliły na ocenę przebiegu reakcji oraz powinowactwa badanych oligonukleotydów do białka SelU. Uzyskane wyniki stanowiły ważną podstawę do dalszych badań nad modyfikacjami tRNA i ich znaczeniem biologicznym.

Publikacje:

Leszczynska, G., Sadowska, K., Bartos, P., Nawrot B, Sochacka E. S-Geranylated 2-Thiouridines of Bacterial tRNAs: Chemical Synthesis and Physicochemical Properties. *Eur J Org Chem.* **2016**;3482-3485.

Sierant M, Leszczynska G, Sadowska K, Komar P, Radzikowska-Cieciura E, Sochacka E, Nawrot B. Escherichia coli tRNA 2-selenouridine synthase (SelU) converts S2U-RNA to Se2U-RNA via S-geranylated intermediate. *Nucleic Acids Res.* **2016**;44:10986-10998.

Leszczyńska G, Sadowska K, Sierant M, Sobczak M, Nawrot B, Sochacka E. Reaction of S-geranyl-2-thiouracil modified oligonucleotides with alkyl amines leads to the N2-alkyl isocytosine derivatives. *Org Biomol Chem.* **2017**;15:5332-5336.

Sierant M, Kulik K, Sochacka E, Szewczyk R, Sobczak M, Nawrot B. Cytochrome c catalyzes the hydrogen peroxide-assisted oxidative desulfuration of 2-thiouridines in transfer RNAs. *ChemBioChem.* **2018**;19:687-695.

Sochacka E, Łodyga-Chruścińska E, Pawlak J, Cypryk M, Bartos P, Ebenhryter-Olińska K, Leszczyńska G, Nawrot B. C5-substituents of uridines and 2-thiouridines present at the wobble position of tRNA determine the formation of their keto-enol or zwitterionic forms - a factor important for accuracy of reading of guanosine at the 3'-end of the mRNA codons. *Nucleic Acids Res.* **2017**;45:4825-4836.

Sierant M, Leszczyńska G, Sochacka E, Nawrot B. Escherichia coli tRNA 2-selenouridine synthase (SelU) converts S2U-RNA to Se2U-RNA via S-geranylated intermediate. *FEBS Lett.* **2018**;592:2248-2258.

Duechler M, Leszczyńska G, Sochacka E, Nawrot B. Nucleoside modifications in the regulation of gene expression: focus on tRNA. *Cell Mol Life Sci.* **2016**;73:3075-3095.