

## Abstrakt po polsku

Transportujące RNA (tRNA) jest niezbędnym elementem podczas syntezy białek w komórce. Jest to cząsteczka, która jednocześnie dekoduje kodony mRNA i tworzy powstający łańcuch polipeptydowy w rybosomie podczas translacji. tRNA, jak każdy RNA, składa się z czterech prostych nukleotydów: adenozy, urydyny, cytozyny i guaniny. Te elementy budulcowe mogą być dodatkowo ozdobione różnymi modyfikacjami, które zapewniają utrzymanie plastyczności struktury lub mogą rozszerzać zdolność dekodowania. Nukleotydy w pętli ramienia antykodonowego, które rozpoznaje kodony mRNA, są silnie zmodyfikowane. W modyfikację urydyn w pozycji 34 zaangażowanych jest wiele enzymów. Za pierwszy etap, który przekształca  $U_{34}$  w  $m^5U_{34}$ , odpowiada kompleks Elongator. Ten wielkocząsteczkowy kompleks zawiera dwie kopie sześciu podjednostek Elongatora (Elp) - Elp1, Elp2 i Elp3 tworzą aktywny enzymatycznie podkompleks, a Elp4, Elp5 i Elp6 stanowią drugi podkompleks. Charakterystyka oddziaływań zachodzących pomiędzy powyższymi podkompleksami nie została jeszcze w pełni opisana, jednak wiadomo, że dochodzi tam do dynamicznych zmian. Wszystkie podjednostki kompleksu są zachowane u eukariontów, natomiast Elp3 występuje również u archeonów, a także u niektórych bakterii i wirusów. Podjednostka Elp3 jest centrum katalitycznym i zawiera dwie domeny katalityczne - domenę acetylotransferazy lizyny (KAT) i domenę rodnikową S-adenozylu-metioniny (rSAM). Niewiele wiadomo o katalizowanej przez Elp3 reakcji i jej regulacji u wyższych eukariontów. Celem tej pracy jest wszechstronne zbadanie biofizycznych, biochemicznych i strukturalnych cech ludzkiego podkompleksu ELP123 (*HsELP123*). Po pierwsze, wykorzystałam oczyszczone białko Elp3 pochodzenia archeowego do scharakteryzowania podstawowych cech i właściwości enzymu. Po drugie, udało mi się oczyścić podkompleks *HsELP123* wyprodukowany wykorzystując ekspresję białek w komórkach owadzych i zbadać jego właściwości *in vitro*, w tym wiązanie tRNA, hydrolizę acetylo-CoA (ACO) wyzwalaną przez tRNA oraz interakcję z *HsELP456*. Po trzecie, pozyskałam kilka zestawów danych kriogenicznej mikroskopii elektronowej (cryo-EM) kompleksów *HsELP123*-tRNA w obecności analogów ACO. Z zebranych danych zrekonstruowałam mapę cryo-EM o wysokiej rozdzielczości. Podsumowując, moje wyniki potwierdziły, że aktywność kompleksu Elongator jest wysoce konserwatywna u archeonów i u ludzi. Otrzymane wyniki pokazują, że oddziaływanie pomiędzy *HsELP123* a substratowym tRNA jest złożone, obejmujące kilka etapów i rearanżacje konformacyjne podjednostek ELP1 i ELP3. Co ważniejsze, pokazuję, że niezmienna pozycja tRNA 33 ( $U_{33}$ ), a nie zmodyfikowana baza  $U_{34}$ , jest czynnikiem decydującym o uruchomieniu hydrolizy ACO w Elp3. Na koniec, szczegółowe analizy *in vitro* wyjaśniają wpływ klinicznie istotnych mutacji w Elp1 i Elp3. Podsumowując, moja praca przedstawia nowy poziom zrozumienia działania podkompleksu *HsELP123* w powiązanych z nim chorobach, takich jak zaburzenia neurodegeneracyjne czy nowotwory.

Malopolska Centre of Biotechnology (MCB)  
Max Planck Research Group Leader

  
Sebastian Glatt, PhD