

## Molekularne podstawy deoksyhypuzynacji

Hypuzynacja to najbardziej unikalna modyfikacja potranslacyjna, która została opisana wyłącznie dla jednej lizyny tylko w jednym białku – eukariotycznym czynnikiem translacyjnym 5A (eIF5A). Modyfikacja ta jest wprowadzana dwuetapowo. Pierwszy enzym syntaza deoksyhypuzyny (DHS) katalizuje powstanie deokshypuzyny ze spermidyny oraz reszty lizyny białka eIF5A. Następnie powstała deoksyhypuzyna jest hydroksylowana przez drugi enzym – hydroksylazę deoksyhypuzyny (DOHH). Hypuzynowane białko eIF5A może efektywnie wiązać się do rybosomu i stabilizować koniec CCA cząsteczki tRNA w miejscu P i pomagać w syntezie wiązań peptydowych. Ponadto, eIF5A bierze udział w rozwiązywaniu rybosomalnych zatrzymań translacji spowodowanych motywami łańcucha polipeptydowego bogatymi w prolinę. Opisano wiele związków między nieprawidłowościami w procesie hypuzynacji oraz różnymi stanami patologicznymi organizmu takimi jak nowotwory, zaburzenia neurologiczne, cukrzyca czy udar. Pomimo ogromnego znaczenia procesu hypuzynacji dla każdej żywej komórki, szczegóły dotyczące molekularnego mechanizmu tej modyfikacji pozostawały dotychczas nieznanymi.

Celem niniejszej pracy jest biochemiczna i strukturalna charakterystyka pierwszego etapu procesu hypuzynacji. Przedstawiona praca przedstawia szczegółowo specyficzność substratową ludzkiej syntazy deokshypuzyny oraz pierwszą wysokorozdzielczą strukturę kompleksu deokshypuzynacyjnego, a mianowicie ludzkiego białka eIF5A w kompleksie z enzymem modyfikującym DHS w rozdzielczości 2.8 Å, a także strukturę krystaliczną DHS w kluczowym stanie przejściowym reakcji w rozdzielczości 1.8 Å, zwizualizowaną za pomocą krystalografii makrocząsteczkowej w temperaturze pokojowej. Przedstawienie różnych etapów reakcji katalizowanej przez DHS umożliwiło mi zaproponowanie szczegółowego mechanizmu reakcji. Ponadto, dzięki metodom biologii strukturalnej oraz komplementarnym technikom biochemicznym i biofizycznym, zaproponowałam molekularny mechanizm utraty 10 funkcji dla patologicznych wariantów białka DHS związanych z rzadkimi, recesywnymi chorobami neurorozwojowymi.

Dodatkowo, przedstawiona praca zawiera charakterystykę hypuzynacji u ludzkiego pasożyta dróg moczowo-płciowych rzęsiotka pochwowego (*Trichomonas vaginalis*). Poprzez rozwiązanie wysokorozdzielczych struktur krystalicznych oraz struktury mikroskopowej pasożytniczego kompleksu deoksyhypuzynacyjnego oraz analizę biochemiczną zweryfikowałam wcześniejsze spekulacje dotyczące dwufunkcyjności syntazy deoksyhypuzyny z *T. vaginalis*.

Podsumowując, opisałam molekularne podstawy oddziaływania białka eIF5A z białkiem DHS i znacząco poszerzyłam nasze zrozumienie reakcji deokshypuzynacji i mechanizmów leżących u podstaw rzadkiej choroby: niedoboru DHS. Ponadto, dane strukturalne o wysokiej rozdzielczości stanowią istotny wkład nie tylko w badania podstawowe metabolizmu poliamin, ale także mogą być wykorzystywane w procesie

projektowania leków w oparciu o strukturę przydatnych w leczeniu różnych chorób ludzkich oraz zwalczaniu infekcji pasożytniczych.