

**Γιαννούλη Σταματίνα**

## **Γονιδιωματική ανάλυση και λειτουργικός χαρακτηρισμός ασυνήθων συστημάτων αμινοακυλίωσης του μεταφορικού RNA σε παθογόνους μικροοργανισμούς”**

**Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή**

**Κωνσταντίνος Σταθόπουλος (Επιβλέπων Καθηγητής)**

Επίκουρος Καθηγητής Βιοχημείας με έμφαση στη Μεταβολική Ρύθμιση, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

**Παναγιώτης Μαρκουλάτος**

Αναπληρωτής Καθηγητής Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας με έμφαση στη Βιοτεχνολογία, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

**Γεώργιος Σίμος**

Αναπληρωτής Καθηγητής Βιοχημείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ως ασυνήθη συστήματα αμινοακυλίωσης ορίζονται βιοσυνθετικά μονοπάτια τα οποία εμπλέκουν μόρια tRNA ως κεντρικούς παράγοντες, τόσο κατά τη διαδικασία της πρωτεϊνοσύνθεσης όσο και εκτός αυτής. Τα τελευταία χρόνια, λειτουργικές και γονιδιωματικές αναλύσεις έχουν δείξει ότι αμινοακυλωμένα μόρια tRNA συμμετέχουν σε μία ποικιλία σημαντικών κυτταρικών διεργασιών πέραν της πρωτεϊνοσύνθεσης. Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η μελέτη παραγόντων που εμπλέκονται σε δύο ασυνήθη συστήματα αμινοακυλίωσης.

Στο πρώτο σκέλος της διατριβής μελετήθηκε και χαρακτηρίστηκε βιοχημικά ο ρόλος των μορίων tRNA κατά την tRNA-εξαρτώμενη μετατροπή του ασπαραγινικού οξέος σε ασπαραγίνη στο παθογόνο βακτήριο *Neisseria meningitidis*, μία αντίδραση η οποία καταλύεται από την tRNA-εξαρτώμενη αμιδοτρανσφεράση (AdT). Η βιοσυνθετική αυτή πορεία, η οποία είναι παρούσα σε όλα τα παθογόνα βακτήρια των οποίων το γονιδίωμα είναι γνωστό, έχει διττό ρόλο. Παρέχει τα Asn-tRNA<sup>Asn</sup> υποστρώματα για την ενσωμάτωση ασπαραγίνης στις νεοσυντιθέμενες πρωτεΐνες των οργανισμών, ενώ παράλληλα παίζει σημαντικό ρόλο κατά τη βιοσύνθεση της ασπαραγίνης, όταν από τους οργανισμούς απουσιάζουν τα ένζυμα που ευθύνονται για τη βιοσύνθεση του συγκεκριμένου αμινοξέος. Βρέθηκε ότι το καθοριστικό στοιχείο αναγνώρισης του tRNA<sup>Asn</sup> από τις βακτηριακές αμιδοτρανσφεράσες είναι το πρώτο ζεύγος βάσεων U1-A72, ενώ για τα αντίστοιχα ένζυμα των αρχαίων είναι το μέγεθος και η αλληλουχία της μεταβλητής θηλιάς. Αντίστοιχα, το

αντικαθοριστικό στοιχείο που παρεμποδίζει την αναγνώριση του tRNA<sup>Asp</sup> είναι το μέγεθος της θηλιάς D.

Το δεύτερο ασύνηθες σύστημα αμινοακυλίωσης που μελετήθηκε ήταν η tRNA-εξαρτώμενη σύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος του παθογόνου *Staphylococcus aureus*. Η πεπτιδογλυκάνη του κυτταρικού τοιχώματος στο συγκεκριμένο παθογόνο σταθεροποιείται από χαρακτηριστικές γέφυρες πενταγλυκίνης οι οποίες συντίθενται εξω-ριβωσωμικά. Ως δότες γλυκίνης διαμεσολαβούν Gly-tRNA<sup>Gly</sup> μόρια ο αριθμός και η ταυτότητα των οποίων ήταν μέχρι σήμερα άγνωστα. Στην παρούσα διατριβή διευκρινίστηκε ο αριθμός και ο ρόλος των ισοδεκτικών μορίων tRNA<sup>Gly</sup> του *S. aureus* που υπάρχουν και εκφράζονται στο συγκεκριμένο παθογόνο. Βρέθηκε ότι 5 ισοδεκτικά μόρια κωδικοποιούνται και εκφράζονται στο συγκεκριμένο οργανισμό. Επιπρόσθετα, με βιοχημικές προσεγγίσεις έγινε εφικτός ο διαχωρισμός τους σε εκείνα που συμμετέχουν στην πρωτεϊνοσυνθετική μηχανή (πρωτεϊνογενετικά, 2 μόρια P1 και P2) και σε εκείνα που εμπλέκονται στη σύνθεση του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος (μη-πρωτεϊνογενετικά, 3 μόρια NP1, NP2 και NEW).

Η παρούσα διατριβή εστίασθηκε στο σημαντικό ρόλο των μορίων tRNA, όχι ως απλών προσαρμοστικών μορίων, αλλά ως σημαντικών παραγόντων σε βιοχημικές διεργασίες, οι οποίες σήμερα αναγνωρίζονται στην πλειοψηφία των παθογόνων, ως νέοι μοριακοί στόχοι για εξειδικευμένη απενεργοποίηση.