

# ABSTRAKT

Transferové RNA (tRNA) představují nepostradatelnou součást tvorby proteinů, které během elongace přivádějí aminokyseliny na A-místo ribozomu. Pravidla, kterými se řídí správná shoda mezi antikodonem tRNA a kodonem mRNA v A-místě, jsou stanovena genetickým kódem. Konkrétně kód definuje, že 61 kodonů je rozpoznáváno tRNA a 3 stop kodony označující ukončení translace jsou rozpoznávány uvolňovacím faktorem. Za určitých okolností však může být stop kodon rozeznán tzv. near-cognate (nebo cognate) tRNA a translace pokračuje dále. Tento proces, nazývaný pročitání stop kodonu, může být přínosný pro terapii dědičných genetických onemocnění způsobených předčasnými terminačními kodony (PTC) a také je klíčový pro organismy s přerazováním identity stop kodonu na kodon kódující aminokyselinu.

V této práci ukazují, že kromě samotného antikodonu, antikodonové rameno dvou různých near-cognate tRNA, jmenovitě kvasinkové tRNA<sup>Gln</sup><sub>CUG</sub> a tRNA<sup>Trp</sup><sub>CCA</sub> *Blastocritidie nonstop*, je rozhodující pro jejich potenciál pročíst stop kodony. Konkrétně demonstrují, že kvasinková tRNA<sup>Gln</sup><sub>CUG</sub> spoléhá na specifický pár bází pyrimidin 28 : purin 42, představující čtvrtý pár v jeho antikodonovém rameni (přesněji řečeno, ve stopce), zatímco tRNA<sup>Trp</sup><sub>CCA</sub> *B. nonstop* získala mutaci, která způsobila zkrácení jeho antikodonové stopky z kanonických 5 na 4 páry bází, tj. pátý pár se již netvoří. Navíc ukazují, že se u *B. nonstop* vyvinula zkrácená forma tRNA<sup>Trp</sup><sub>CCA</sub> spolu s eRF1 s oslabenou funkcí rozpoznávání UGA v důsledku specifické substituce jednoho z jeho konzervovaných reziduí, aby jí společně umožnili přerazovat stop kodony UGA, které jsou hojně zastoupeny v jejím jaderném genomu, na aminokyselinu Trp. V našem kolaborativním článku jsme popsali také další molekulární mechanismy, které *B. nonstop* používá, aby se vyrovnala s nežádoucím, ale naprosto fascinujícím výskytem všech stop kodonů ve svém jaderném genomu.

Kromě toho jsem zkoumáním úlohy malých ribozomálních proteinů tvořících dekódovací místo při pročitání stop kodonu zjistila, že specifický N-koncový zbytek eS30 podporuje umístění obou výše uvedených tRNA v A-místě ribozomu obsazeném příslušnými stop kodony a to pravděpodobně kontaktem s horní částí jejich antikodonového ramene. Dále jsem také odhalila, že N-konec proteinu eS25 specificky podporuje pročitání stop kodonu jiné near-cognate tRNA<sup>Tyr</sup>. Uvedené výsledky navrhují, že kromě důležitých dekódovacích interakcí stabilizujících duplex kodon:antikodon mohou některé near-cognate tRNA získat další stabilizační podporu během přirozeně se vyskytujícího dekódování stop kodonu díky

specifickým interakcím, které se přechodně vytvářejí mezi jejich tělem a malými ribozomálními proteiny a které mají zásadní vliv na jejich zvýšenou schopnost pročíst stop kodon.

Podílela jsem se také na vývoji screeningového testu pro stanovení míry pročítání stop kodonu, který jsme použili k identifikaci všech účinných kvasinkových tRNA indukujících pročítání a k určení jejich interakce s různými faktory modulujícími pročítání.

Tato práce proto nejenže přináší nové poznatky o pročítání stop kodonu, ale může také přispět k návrhu tRNA se zvýšenou efektivitou pročtení stop kodonu pro potenciální využití v PTC terapii.