Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0420U100782

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 02-07-2020

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Рибак Марія Юріївна

2. Rybak Mariia Yuriivna

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат наук

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 03.00.03

Назва наукової спеціальності: Молекулярна біологія

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 30-06-2020

Спеціальність за освітою: Біологія

Місце роботи здобувача: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Акад. Заболотного, 150, м. Київ, Київська обл., 03143, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): Д 26.237.01

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Акад. Заболотного, 150, м. Київ, Київська обл., 03143, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Акад. Заболотного, 150, м. Київ, Київська обл., 03143, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 34.15

Тема дисертації:

1. Роль аміноацил-тРНК синтетаз та D-аміноацил-тРНК деацилази у забезпеченні стереоспецифічної селекції амінокислот у процесі трансляції

2. Role of aminoacyl-tRNA-synthetases and D-aminoacyl-tRNA-deacylase in the providing of amino acids stereospecific selection during translation

Реферат/анотація:

1. Дисертаційна робота присвячена вивченню ролі тирозил- та аланіл-тРНК синтетаз, представників I та II структурних класів відповідно, а також додаткового редагувального фактора D-аміноацил-тРНК-деацилази у контролі стереоселективності амінокислот на дорибосомному етапі трансляції. Встановлено, що D-амінокислоти мають різний рівень афінності та ймовірність активації у АРСаз I та II класу. Вперше показано, що 2п-ОН група тРНКТир відіграє подвійну роль: з одного боку, вона є сайтом приєднання D-тирозину за участі тирозил-тРНК синтетази, а з іншого, – необхідна для гідролізу D-аміноацил-тРНК за допомогою D-аміноацил-тРНК-деацилази. Таким чином, було встановлено, що ключовим фактором для гідролізу D-аміноацил-тРНК за участі цього фермента є наявність 2п-ОН групи кінцевого А76 D-Тир-тРНКТир та двох

молекул води. Уперше з'ясовано роль редагувального домену АлаРС у забезпеченні стереоспецифічної селекції амінокислоти. У дисертаційній роботі досліджено, що АлаРС, як представник ІІ класу АРСаз, також може як активувати D-амінокислоти, так і редагувати ці помилки енантіоселективного відбору. Розкрито також механізм гідролізу D-аміноацил-тРНК за участі транс-редагувального фактора ДТД та показано роль тРНК у цьому каталізі.

2. The accuracy of translation is crucial for ensuring cellular homeostasis and maintaining cellular integrity. Noteworthy, the homochirality of synthesized proteins is determined by their composition: L-amino acids and achiral glycine. In contrast, D-amino acids are the components of bacterial cell walls and regulatory molecules in the nervous and humoral system in eukaryotes, etc., and their other physiological roles in biological systems have been recently evaluated. Therefore, ensuring of the correct selection of an appropriate amino acid enantiomer is critical for protein biosynthesis. However, it is worth noting that the role of cis-editing factors (editing domains of aminoacyl-tRNA synthetases) in establishing of amino acid stereoselectivity during translation remains poorly investigated. Therefore, there is a necessity to study the stereospecificity of ARSases among different structural classes to elucidate the mechanisms of L-aminoacyl-tRNA selection. Hitherto, the potential of ARSases to edit D-aminoacyl-tRNA by their editing domains was unexplored. In addition, the mechanism of D-aminoacyl-tRNAs hydrolysis by D-aminoacyl-tRNA-deacylase (DTD) has not been extensively verified by experimental studies. Therefore, in our work we aimed to study the role of two ARSases, representatives of classes I (TyrRS) and II (AlaRS), in the maintenance of stereospecificity in translation apparatus, and to elucidate the mechanism of hydrolysis of tRNAs, activated with D-amino acids, by DTD. Taking into consideration the uniqueness of TyrRS in the recognition of Tyr enantiomers and the ability to attach L-Tyr to both the 2□- and 3□-hydroxyl groups of the terminal (A76) adenosine of tRNATyr, the selection of this synthetase is logical. The attachment sites of D-Tyr have not been clarified yet. In turn, AlaRS is a promising representative of class II of ARSases; it may mistakenly activate achiral Gly and Ser and it also contains an editing domain for correction of these errors. However, whether AlaRS could also activate the D-Ala and D-serine and edit noncognate D-aminoacylated substrates remained unknown. Analysis of the kinetic parameters (kcat and Km) of activation of homologous and non-homologous amino acids in the ATP-PPi exchange reaction revealed that Thermus thermophilus TyrRS did not show any discrimination between D- and L-Tyr (discrimination factor was only 1:24). The absence of significant distinction of substrates was also observed at the stage of aminoacyl-tRNATyr formation (1:19). Regarding AlaRS, it was shown for the first time that it may activate D-Ala and D-Ser with discrimination levels of 1:467 and 1:180645, as well as to attach them to tRNAAla. The activation levels of Gly (1:193) and L-Ser (1:237) for AlaRS are consistent with those obtained for the mutant form of E. coli AlaRS (C666A), editing-deficient, and reach the ratio 1:207 and 1:107, respectively. Activation of D-Ala and D-Ser was also checked on E. coli AlaRS (C666A). These data overlap with the data on T. thermophilus AlaRS. Therefore, we found that D-amino acids have different levels of affinity and activation in class I and II ARSases. Using modified at 2□- and 3□-positions of terminal adenosine of ribose 2□- and 3□-dA76 tRNATyr and analysis of kinetic studies we elucidated the primary attachment site of D-Tyr to tRNATyr and determined the role of last one during the hydrolysis of D-Tyr-tRNATyr. We found that the 2□-OH group of tRNATyr plays a dual role: on one hand, it is a D-Tyr attachment site by TyrRS and on the other, it is necessary for hydrolysis of D-aminoacyl-tRNA by DTD. Analysis of T. thermophilus DTD activity in deacylation reactions of A76/2□d/3□d-tRNATyr substrates confirmed the importance of both hydroxyl groups of tRNATyr for hydrolysis of D-Tyr-tRNATyr. The data of computer simulations of D-Tyr-tRNATyr in complex with DTD and proposed quantum-chemical model of hydrolysis of these complexes are in full agreement with experimental studies. We found that the key factor for hydrolysis of D-aminoacyl-tRNA by DTD is the presence of the 2□-OH group of the A76 residue of D-Tyr-tRNATyr and two water molecules. We also showed the importance of the basic carbonyl groups of amino acids Gly137-Pro138 and Ala127-His128 of the enzyme. In biochemical testing with [32P]-labelled Gly/L-Ala/D-Ala-tRNAAla we also found that AlaRS was able to perform effective hydrolysis of D-Ala-tRNAAla unlike DTD, which did not exhibit any hydrolytic ability. In contrast, Gly/L-Ala-tRNAAla was hydrolyzed by both synthetase and deacylase. Thus, we established the role of the AlaRS editing domain in providing amino acid stereospecific selection. In general, it was shown that class II ARSases can also activate D-amino acids and edit the errors of enantioselective selection. The

mechanism of hydrolysis of D-aminoacyl-tRNA by DTD was identified and the role of tRNA in this catalysis was demonstrated.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки:

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності:

Підсумки дослідження:

Публікації:

Наукова (науково-технічна) продукція:

Соціально-економічна спрямованість:

Охоронні документи на ОПІВ:

Впровадження результатів дисертації:

Зв'язок з науковими темами:

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Тукало Михайло Арсентійович
2. Tukalo Michael A.

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Сиволоб Андрій Володимирович
2. Sivolob Andriy V.

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.02

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Верьовка Сергій Вікторович
2. Verevka Sergiy Viktorovych

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Рецензенти

VIII. Заключні відомості

Власне Прізвище Ім'я По-батькові голови ради	Єльська Ганна Валентинівна
Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні	Єльська Ганна Валентинівна
Відповідальний за підготовку облікових документів	
Реєстратор	

Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності



Юрченко Т.А.