

## Povzetek

Najpogostejši genetski vzrok za dedno obliko amiotrofične lateralne skleroze (ALS) in frontotemporalne demence (FTD) je močno povečano število ponovitev  $d(G_4C_2)$ , ki se nahajajo v nekodirajočem območju gena *C9orf72*. Ključno vlogo v bolezenskem mehanizmu ALS in FTD bi naj imele nekanonične strukture, med drugim G-kvadrupeksi, ki jih tvorijo pomnožene ponovitve  $d(G_4C_2)$ . Štiri ponovitve  $d(G_4C_2)$  predstavljajo najmanjše število, ki ima možnost tvorbe monomolekularnega G-kvadrupeksa. Oligonukleotidi, ki vsebujejo osnovno zaporedje  $d[(G_4C_2)_3G_4]$  in različne podaljške na 5'- in 3'-koncu zaporedja, se v prisotnosti ionov  $K^+$  zvijejo v več različnih struktur, kar otežuje določitev prostorske strukture visoke ločljivosti. Oligonukleotid wt22 z zaporedjem  $d[(G_4C_2)_3G_4]$  tvori dve poglavitni G-kvadrupeksni strukturi, ki imata antiparalelno usmerjene verige in posledično nekatere gvaninske ostanke v konformaciji *sin* okrog glikozidne vezi. Gvaninski analog 8Br-dG, ki zavzame konformacijo *sin* okrog glikozidne vezi, se lahko uporabi za omejitev konformacije na določenem mestu v zaporedju. Oligonukleotid sl21 z zaporedjem  $d[(G_4C_2)_3GG^BGG]$ , ki vsebuje ostanek 8Br-dG na mestu 21, se pričakovano zvije v manj struktur kot naravni analog wt22. Presenetljivo pa tudi sl21 tvori dve G-kvadrupeksni strukturi. Ugotovili smo, da je razmerje med populacijama obeh struktur odvisno od pogojev zvijanja. Hitro ohlajanje in pH v kislem območju vodita do tvorbe približno 80 % strukture, ki smo jo poimenovali AQU (angl. acidic pH, quenching) in 20 % druge strukture, ki smo jo poimenovali NAN. Nevtralen pH in počasno ohlajanje vodita v tvorbo približno 70 % strukture NAN (angl. neutral pH, annealing) in 30 % strukture AQU. To nam je omogočilo, da smo z NMR spektroskopijo določili prostorski strukturi AQU in NAN. Struktura NAN ima antiparalelno usmerjene verige in vsebuje štiri G-kvartete, ki so povezani s tremi robnimi zankami C-C. Po en citozinski ostanek v posamezni robni zanki se nalaga na bližnji G-kvartet, kar je v skladu s kompaktno strukturo NAN. AQU je topološko podobna NAN in vsebuje štiri G-kvartete, antiparalelno usmerjene verige in tri robne zanke C-C. Na zunanji G-kvartet AQU, ki je bližje 5'- in 3'-koncu oligonukleotida, je naložena zanka C11-C12. Na nasprotni strani G-kvartetnega jedra tvorijo citozinski ostanki dveh robnih zank bazna para C•C z nekanonično geometrijo. Z eksperimentom izmenjave topila smo ugotovili, da se dinamika baznih parov v G-kvartetih pri AQU in NAN razlikuje. S pomočjo CD,  $^1H$  NMR in gelske elektroforeze smo raziskali strukturne lastnosti oligonukleotidov, ki vsebujejo med pet in osem ponovitev  $d(G_4C_2)$ . Pokazali smo, da tudi daljši oligonukleotidi tvorijo monomolekularne antiparalelne G-kvadrupekse. Signali v imino območju  $^1H$  NMR spektrov daljših oligonukleotidov imajo podobno razporeditev kemijskih premikov kot signali AQU in NAN pri oligonukleotidu wt22, kar kaže da se strukturi morda tvorita v prisotnosti dodatnih ponovitev  $d(G_4C_2)$ .