

## Strukturne študije z gvanini bogatih zaporedij v promotorskih regijah protoonkogenov

Z gvanini bogati oligonukleotidi lahko tvorijo štirivijačne strukture imenovane G-kvadrupleksi tako *in vitro* kot *in vivo*. Z gvanini bogata zaporedja se v človeškem genomu nahajajo predvsem na mestih, ki nadzorujejo izražanje genov, so povezana z začetkom podvajanja molekule DNA, nadzorom dolžine telomernih koncev in genetsko nestabilnostjo. Nekontrolirano delovanje teh regij se povezuje z različnimi bolezenskimi stanji in z znaki, ki so tipični za patološke značilnosti rakavih celic. V doktorskem delu smo se osredotočili na preučevanje strukturnih lastnosti G-kvadrupleksov iz promotorskih regij protoonkogenov *c-KIT* in *EGFR*, oba kodirata tirozin kinazna receptorja, pomembni tarči pri protirakavih terapijah. Poleg tega smo raziskovali interakcije G-kvadrupleksa s fluorescenčno sondo DAOTA-M2, ki se uporablja za detekcijo teh struktur v živih celicah.

Z gvanini bogato oligonukleotidno zaporedje *kit\** iz promotorske regije protoonkogene *c-KIT* ima pomembno vlogo pri regulaciji transkripcije. Z NMR spektroskopijo smo pokazali, da *kit\** tvori antiparalelni G-kvadrupleks z dvema G-kvartetoma v prisotnosti  $K^+$  ionov, katerega zvijanje poteka na časovni skali transkripcijskih procesov. V promotorski regiji protoonkogene *EGFR* smo se osredotočili na osem z gvanini bogatih regij, ki predstavljajo še neraziskane tarče za utišanje tega gena. Identificirali smo nastanek G-kvadrupleksnih struktur z nenavadnimi strukturnimi elementi kot so dolga zanka urejena v lasnico, adeninske izbokline in A(GGGG)A heksada. Optična sonda DAOTA-M2 ima signifikantno daljši čas življenjske dobe fluorescence, ko je vezana na G-kvadrupleks v primerjavi z enovijačnimi in dvovijačnimi nukleinskimi kislinami. NMR strukturna študija interakcij med G-kvadrupleksom in DAOTA-M2, je razkrila, da molekuli interagirata v stehiometričnem razmerju 1:2. Vezava liganda poteka predvsem preko  $\pi$ - $\pi$  nalaganja DAOTA-M2 na gvaninske ostanke iz obeh zunanjih G-kvartetov. Strukturni vpogled v interakcije med G-kvadrupleksom in DAOTA-M2 je pojasnil zanimive fluorescenčne lastnosti DAOTA-M2 vezane na G-kvadrupleks.

Ključne besede: G-kvadrupleks, promotor, struktura, NMR, *c-KIT*, *EGFR*, fluorescenčna sonda DAOTA-M2