

Povzetek

V doktorskem delu smo proučevali strukturne lastnosti sRNA OxyS ter strukturno okarakterizirali interakcijo med OxyS in njeno mRNA tarčo *fhlA*. OxyS je 110 nukleotidov dolga *trans*-kodirana sRNA v *E. coli*, katere transkripcijo sproži povišana koncentracija vodikovega peroksida. OxyS nadzira ekspresijo številnih genov in ima pomembno vlogo v regulaciji stresnega odziva celice. Določitve sekundarne strukture OxyS smo se lotili z NMR spektroskopijo in v prvi fazi določili strukture lasnic SL1, SL2 in SL3, nato pa smo potrdili njihovo prisotnost v strukturi celotne OxyS. Odkrili smo, da je v predvideno nestrukturirani regiji OxyS prisotna lasnica SL4. V naslednjem koraku smo s kombinacijo SAXS, *de novo* napovedi 3D strukture in simulacij molekulske dinamike proučili tridimenzionalno strukturo OxyS. SAXS molekulska ovojnica je razkrila obliko OxyS, ki je podaljšana in spominja na bumerang z dvema različno dolgima krakoma. S prileganjem molekulske ovojnice in 3D modelov OxyS smo pokazali, da lasnici SL1 in SL2 predstavljata daljši krak, koaksialno naloženi lasnici SL3 in SL4 pa predstavljata krajši krak molekulske ovojnice. Določili smo optimizirano družino OxyS modelov in pokazali, da lahko OxyS zavzame več konformacij, ki se nekoliko razlikujejo v relativni orientaciji štirih lasnic.

Proučevali smo tudi interakcijo med OxyS in mRNA *fhlA*. Osredotočili smo se na dve kratki zaporedji OxyS v lasnicah SL1 in SL3, ki se bazno parita s komplementarnima zaporedjema v 5' UTR *fhlA*. Z uporabo NMR spektroskopije smo določili strukturo modelnih oligonukleotidov *fhlA*₁, SL1 Δ 17, *fhlA*₄₁ in SL3, ki vključujejo kratka komplementarna zaporedja udeležena v interakciji OxyS-*fhlA*, ter potrdili tvorbo kompleksov *fhlA*₁+SL1 Δ 17 in *fhlA*₄₁+SL3. Ugotovili smo, da so za intermolekularno bazno parjenje potrebni kationi Mg²⁺, v prisotnosti katerih pride do delnega razvitja *fhlA*₁ in SL3. Identificirali smo specifične nukleotide, ki so vpleteni v intermolekularno bazno parjenje in na podlagi tega pokazali, da v interakciji ne sodelujejo vsi nukleotidi iz komplementarnih zaporedij OxyS in *fhlA*.