

Określenie wpływu modyfikacji 5' końca RNA oraz sekwencji nukleotydowej i aminokwasowej na energię oddziaływań elektrostatycznych białek IFIT z RNA

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Określenie struktury związków oraz energii oddziaływań ma bardzo duże znaczenie w projektowaniu leków i poznawaniu mechanizmów procesów biologicznych oraz określaniu związku pomiędzy strukturą białek, a ich funkcją.

Związek chemiczny (ligand), który po połączeniu z białkiem hamuje jego aktywność, nazywamy inhibitorem i może być on potencjalnym lekiem. Poszukiwanie nowych leków wymaga sprawdzenia, w jaki sposób zmieni się charakter tego połączenia wraz z drobną modyfikacją ligandu bądź białka. Najlepiej oczywiście byłyby przetestować wiele różnych kombinacji. Jednakże otrzymanie wszystkich zmutowanych białek i zmodyfikowanych ligandów, a następnie przeprowadzenie doświadczeń w celu określenia siły ich oddziaływania wiąże się z ogromnym nakładem pracy, czasu i środków. Z pomocą przychodzą nam metody teoretyczne. Dzięki modelowaniu molekularnemu i metodom obliczeniowym jesteśmy w stanie oszacować energię oddziaływania pomiędzy badanymi związkami oraz zaproponować miejsca, których modyfikacje mogą zwiększyć bądź zmniejszyć siłę wiązania.

W proponowanym projekcie podejmiemy się scharakteryzowania oddziaływań elektrostatycznych w wybranych kompleksach białek z rodziny IFIT z RNA. Białka IFIT należą do wrodzonego układu odpornościowego i ulegają ekspresji w komórkach zainfekowanych przez wirusy. Wychwytyjąc patogenne RNA, blokują one translację wirusowego RNA, hamując w ten sposób namnażanie wirusa. Istnieje kilka ludzkich białek IFIT, które wiążą się preferencyjnie z wirusowym RNA zakończonym na 5' różnymi grupami. Planujemy zweryfikować czy siła oddziaływania w kompleksach białek IFIT z RNA zależy od sekwencji RNA oraz zbadać wpływ modyfikacji 5' końca RNA na siłę oddziaływania.

Energia elektrostatyczna ma dominujący wkład do całkowitej energii oddziaływań (szczególnie w układach biologicznych), stąd świetnie nadaje się do oszacowywania siły oddziaływań w biomakromolekułach. Niestety dokładne obliczenia kwantowomechaniczne nie są jeszcze możliwe dla dużych układów chemicznych, nie wspominając o układach biologicznych, stąd konieczność stosowania metod uproszczonych. Zaproponowanym przez nas podejściem jest zastosowanie Banku Asferycznych Pseudoatomów (UBDB, University at Buffalo Pseudoatom DataBank) wraz z metodą obliczeniową Exact Potential Multipole Method (EPMM). Metoda hybrydowej EPMM pozwala skrócić czas obliczeń dzięki połączeniu dwóch metod: bezpośredniego całkowania kulombowskiego (EP) na bliskich dystansach oraz obliczeń oddziaływań multipoli (MM) powyżej zadanej odległości pomiędzy dwoma atomami. Metoda UBDB+EPMM jest rozwijana w naszej grupie badawczej, jednakże bank nie został jeszcze eksperymentalnie przetestowany do obliczeń dla kompleksów białek z RNA. Dlatego konieczna będzie uprzednia walidacja nowo umieszczonych typów atomów potrzebnych do opisywania oddziaływań reszt fosforanowych RNA z białkami poprzez jony magnezu. Weryfikacja działania rozszerzonego banku UBDB jest dodatkowym celem tego projektu.

Spróbujemy porównać uzyskane dzięki obliczeniom teoretycznym wyniki energii oddziaływania białko-RNA do stałych dysocjacji dostępnych w literaturze. Planujemy również przeprowadzić badania biofizyczne metodą termoforezy w skali mikro, aby dodatkowo potwierdzić poprawność obliczeń. Poznanie natury oddziaływań w białkach IFIT pozwoli na lepsze zrozumienie mechanizmów wyłapywania RNA i tego, w jaki sposób układ odpornościowy rozpoznaje i zwalcza wirusy.