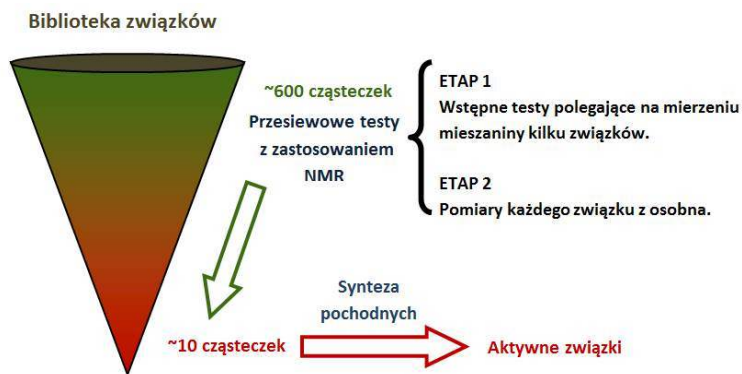


Testowanie małych stezdkowych związków za pomocą spektroskopii NMR w celu zidentyfikowania sond chemicznych dla niekanonicznego białka Hub1

Interakcje pomiędzy białkami tzw. PPI (z ang. *protein-protein interactions*) mają wpływ na kontrolowanie niemal wszystkich funkcji komórek w organizmach żywych, dlatego niezwykle ważne jest poznanie ich mechanizmów. Obiektem moich zainteresowań jest małe, ubikwityno-podobne białko Hub1 (znane także jako białko UBL5), które jest zaangażowane w regulowanie procesu alternatywnego splicingu poprzez niekwalencyjne oddziaływanie z domeną HIND spliceosomalnego białka Snu66. Ze względu na fakt, że zaburzenia w procesie alternatywnego splicingu mogą powodować wiele chorób takich jak: hipercholesterolemia, przedwczesne starzenie, choroby neurodegeneracyjne a także liczne zmiany nowotworowe, poznanie wszelkich mechanizmów regulujących ten proces jest niezwykle ważne. Odnalezienie sond chemicznych hamujących oddziaływanie Hub1/Snu66 pozwoliłoby nie tylko na zrozumienie mechanizmu działania białka Hub1, ale także na rozwinięcie w przyszłości nowoczesnej terapii przeciwnowotworowej.

Znalezienie małych stezdkowych związków, które mogą selektywnie oddziaływać z docelowym białkiem jest niezwykle trudne. Projektując taki związek należy rozważyć jego możliwości interakcji z powierzchnią białka jak np. tworzenie wiązań wodorowych, oddziaływanie jonowe czy też hydrofobowe, dodatkowo wszystkie grupy funkcyjne znajdujące się w tym związku muszą być rozmieszczone tak aby mogły dopasować się do kieszeni wiążącej białka. Do poszukiwania "fragmentów budulcowych" takich związków stosuje się przesiewowe badania z zastosowaniem biblioteki związków organicznych o stosunkowo małej masie cząsteczkowej. Metodologia wykorzystywana w zaproponowanych przeze mnie badaniach będzie opierała się na pomiarach z zastosowaniem spektroskopii NMR. Planowane jest przetestowanie 600 fragmentów. Zmiany w przesunięciach chemicznych na dwuwymiarowym widmie HMQC izotopowo znakowanego białka, pozwalają na monitorowanie oddziaływania pomiędzy testowanym związkiem a białkiem.



Obrazek 1. Schematyczne przedstawienie sposobu postępowania przy przesiewowych badaniach z zastosowaniem spektroskopii NMR.

Małe stezdkowe fragmenty związków organicznych, wyselekcjonowane podczas przesiewowych testów NMR, wykazują zazwyczaj słabe stałe wiązania. Wiązanie ich powinowactwa do białka Hub1 wymaga optymalizacji struktury. Do tego celu zamierzam zastosować dwa różne podejścia. Pierwsze będzie opierało się o metody obliczeniowe ('in silico'), drugie będzie polegało na analizie struktury rentgenograficznej kompleksu białko-związek organiczny. Zaprojektowane związki zostaną następnie zsyntezowane z zastosowaniem reakcji wieloskładnikowych (MCR).

Zakładam, że zaproponowane przeze mnie badania przyczynią się nie tylko do lepszego poznania mechanizmu działania białka Hub1, ale także pozwolą na poszerzenie ogólnej wiedzy dotyczącej niekwalencyjnych oddziaływań białek ubikwityno-podobnych. Do tej pory nie został jeszcze opisany żaden mały stezdkowy związek organiczny oddziałujący z białkiem Hub1, znalezienie tego typu sondy chemicznej otworzyłoby nowe możliwości dotyczące badań funkcji Hub1 zarówno stosując testy *in vitro* jak i *in vivo*.