

Enzymy są biomolekularnymi katalizatorami, które przyspieszają reakcje biochemiczne i w ten sposób podtrzymują funkcje życiowe. Nawet wirusy kodują w swoich genomach enzymy potrzebne do katalizy procesów niezbędnych do replikacji wirusa. Istotnie, jeśli praca tych enzymów zostanie zablokowana to zatrzymana zostanie infekcja wirusowa u ludzi. Jednak, aby zaprojektować odpowiednią cząsteczkę blokującą enzymy wirusa, i w następstwie lek przeciwwirusowy, musimy zrozumieć jak te enzymy działają, tj., zrozumieć na poziomie molekularnym mechanizmy prowadzące do katalizowania reakcji.

Aby zrozumieć jak działają enzymy musimy określić szybkości reakcji i uzyskać liczbowe miary, takie jak stałe kinetyczne charakteryzujące efektywność enzymu. Znajomość stałych kinetycznych pomoże nam odpowiedzieć na następujące fundamentalne pytania: jaki jest mechanizm katalizy, jaka jest funkcja danego enzymu w szlakach biochemicznych i jego globalna rola w metabolizmie, co kontroluje aktywność enzymu i jak ta aktywność może zostać zablokowana. Jak opisano powyżej funkcja enzymów jest niezwykle istotna, więc w projekcie będziemy badać reakcje biochemiczne katalizowane przez różne enzymy wirusów.

Kolejnym kluczowym elementem potrzebnym do zrozumienia reakcji enzymatycznych jest fakt, że te reakcje zachodzą w komórkach, które oprócz wody zawierają wiele innych większych cząsteczek takich jak białka, kwasy nukleinowe, rybosomy, lipidy, metabolity itd. Do tej pory parametry kinetyczne reakcji enzymatycznych były zwykle wyznaczone w roztworach wodnych nie zawierających innych większych molekuł. Te roztwory nie odpowiadają rzeczywistej sytuacji w komórce i są dalekie od warunków fizjologicznych. Aby określić prawdziwą dynamikę i kinetykę enzymów musimy mieć na uwadze, że komórki zawierają około 200-400 g/L innych makrocząsteczek. Jest więc oczywiste, że takie skomplikowane środowisko musi zostać uwzględnione, aby otrzymać wiarygodną informację biochemiczną.

Dlatego też w tym projekcie określimy jak takie *tłoczne środowisko wpływa na konformację i kinetykę wybranych enzymów wirusowych*. Wieloskładnikowe środowisko komórkowe będziemy naśladować przez dodawanie do roztworów innych makrocząsteczek o różnych masach i ładunkach oraz w różnych stężeniach. Przeprowadzimy zarówno symulacje dynamiki molekularnej *in silico* jak i doświadczalne badania *in vitro*. Uważamy, że połączenie symulacji komputerowych i doświadczeń biochemicznych pozwoli lepiej zbadać ten ambitny temat.

Będziemy badać trzy enzymy, które hydrolizują peptydy i są nazywane proteazami. Jeden enzym to trypsyna, znany enzym trawienny, który będzie użyty jako kontrola poprawności badań. Kolejne dwa enzymy to proteazy wirusowe: jedna kodowana przez ludzkiego wirusa niedoboru odporności (ang. *human immunodeficiency virus type 1*, HIV-1) i druga proteaza kodowana przez wirusa zapalenia wątroby typu C (ang. *hepatitis C virus*, HCV). Te proteazy wirusowe są wewnętrznie dynamiczne. Są także celami dla leków przeciwwirusowych, a wirusami HIV-1 i HCV jest stale zainfekowanych, odpowiednio, około 40 i 170 milionów ludzi na świecie. Wiedza uzyskana w wyniku realizacji tego projektu na temat dynamiki strukturalnej i kinetyki tych dwóch proteaz wirusowych *w warunkach naśladowających środowisko komórkowe* pomoże zaprojektować bardziej efektywne inhibitory prowadzące dalej do leków przeciwwirusowych.

Podsumowując, nasze badania pozwolą zanalizować i skorelować dynamikę enzymów z kinetyką ich działania w warunkach tłoku naśladowającego środowisko komórkowe. Wyniki projektu przyczynią się do zrozumienia mechanizmu aktywności enzymatycznej dwóch enzymów wirusowych, które hydrolizują peptydy. Wiedza ta może pomóc w dalszym projektowaniu leków przeciwwirusowych.