

Enzymy proteolityczne (proteazy, peptydazy) odpowiedzialne są za hydrolizę wiązań peptydowych, przez co kontrolują syntezę, aktywację i degradację białek. Pełnią ważną rolę w wielu procesach biologicznych m.in. trawieniu, metabolizmie, dojrzewaniu, starzeniu oraz śmierci. Charakter reakcji chemicznej, którą katalizują sprawia, że aktywność tych enzymów musi być ściśle kontrolowana, by uniknąć nadmiernej i niebezpiecznej hydrolizy białek potrzebnych komórce do prawidłowego funkcjonowania. Jednym z enzymów proteolitycznych, którego aktywność odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu białkowej równowagi organizmu jest proteasom 20S – duży, białkowy kompleks enzymatyczny. Podstawową funkcją proteasomu jest degradacja uszkodzonych, niefunkcyjnych lub niepotrzebnych białek komórkowych. Zaburzenia w funkcjonowaniu proteasomu prowadzą do wielu schorzeń m.in. chorób Parkinsona, Alzheimer'a i Huntingtona (wynikających z niezdolności proteasomu do hydrolizy patologicznych białek), czy chorób nowotworowych (będących wynikiem nadmiernej aktywności enzymu). W komórkach eukariotycznych oprócz proteasomu 20S, pod wpływem białek produkowanych w trakcie odpowiedzi immunologicznej organizmu, dochodzi również do powstania immunoproteasomu. Struktury obu proteasomów różnią się nieznacznie, co powoduje, że enzymy te mają także nieco odmienne funkcje. Pierwszą poznana funkcją immunoproteasomu jest produkcja krótkich fragmentów peptydowych tzw. antygenów, które służą komórkom do komunikacji z otoczeniem. Dalsze badania ujawniły, iż enzym ten zaangażowany jest w wiele procesów biologicznych m.in. produkcję białek zapalnych, choroby autoimmunologiczne, różnicowanie komórek układu odpornościowego, artretyzm, czy choroby nowotworowe, jednak jego dokładna funkcja w tych procesach nie została poznana. Co więcej wykazano, że regulacja aktywności proteasomu może stanowić ważny czynnik umożliwiający kontrolę funkcji komórkowych.

Dobrym narzędziem do monitorowania aktywności enzymów w komórce są małowcząsteczkowe związki chemiczne zwane markerami (np. fluorescencyjne substraty, czy inhibitory posiadające chemiczne znaczniki). Jednym z ważnych kryteriów użycia tych narzędzi w badaniach biologicznych jest ich selektywność względem danego enzymu, co oznacza, że powinny one reagować tylko z jedną proteazą w komórce. Ponadto, w przypadku proteasomu, który jako kompleks enzymatyczny posiada trzy podjednostki katalityczne, konieczne jest zaprojektowanie trzech markerów umożliwiających selektywne monitorowanie aktywności każdej podjednostki. Dlatego nadrzędnym celem projektu jest zaprojektowanie i synteza selektywnych substratów fluorogenicznych dla każdej podjednostki katalitycznej immunoproteasomu oraz proteasomu 20S. Pierwszy etap realizacji powyższego celu będzie obejmował określenie pełnej preferencji substratowej obu form proteasomu (20S oraz immunoproteasomu) za pomocą peptydowych bibliotek substratów fluorescencyjnych zawierających naturalne, a przede wszystkim szeroką gamę nienaturalnych aminokwasów (będących wynikiem syntezy chemicznej). Zróżnicowana struktura łańcuchów bocznych tych aminokwasów, stanowi idealne narzędzie do badań interakcji enzym-substrat. W drugim etapie badań, na podstawie otrzymanych matryc preferencji substratowej, zostaną zaprojektowane i zsyntetyzowane substraty dla każdej podjednostki katalitycznej obu enzymów. Ich selektywność zostanie zbadana w kolejnym etapie. Otrzymane substraty będą stanowiły dobre narzędzie do porównania aktywności obu enzymów w stanach chorobowych, co mogłoby pomóc w doborze odpowiedniej metody leczenia. Ponadto, uzyskane sekwencje peptydowe mogą posłużyć jako struktury wiodące w projektowaniu inhibitorów. Jest to o tyle istotne, gdyż peptydowe inhibitory proteasomu znalazły już zastosowanie jako skuteczne leki w terapii przeciwnowotworowej.