

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Charakterystyka białka PEX5 z *Trypanosoma cruzi*, obiecującego celu molekularnego w chorobie Chagasa.

Choroba Chagasa wywoływana przez pasożytniczego świdrowca *Trypanosoma cruzi* stanowi poważne zagrożenie zdrowia publicznego w Ameryce Łacińskiej rozszerzające się sukcesywnie na inne kraje świata w związku ze wzmożonym ruchem ludności. Aktualnie dostępne są jedynie dwa leki, benznidazol i nifurtimoks. Mają one ograniczoną skuteczność w przewlekłej fazie infekcji i powodują poważne efekty uboczne z powodu wysokiej toksyczności. Sytuację komplikuje dodatkowo fakt rosnącej lekooporności. Dlatego palącą potrzebą jest opracowania nowych, skutecznych i bezpiecznych strategii terapeutycznych.

W przeciwieństwie do komórek ludzkich, komórka świdrowca sekwestruje kluczowe enzymy glikolityczne w unikatowych, subkomórkowych organellach zwanych glikosomami. Właściwa biogeneza i funkcjonowanie tych podobnych do peroksysomów organelli, w tym prawidłowe sortowanie enzymów glikolitycznych są kluczowe dla metabolizmu świdrowców. Za biogenezę glikosomów odpowiada wiele białek, w tym rodzina peroxyn (PEX), które pośredniczą w translokacji enzymów glikolitycznych przez błonę glikosomalną. PEX5 działa jako receptor cytozolowy dla wszystkich białek niosących sygnał kierujący do peroksysomów typu 1 (PTS1). Kompleks cargo/PEX5 dokuje do związanego z błoną glikosomu białka PEX14, co wraz z innymi białkami PEX umożliwia translokację cargo do glikosomu. Istotna rola systemu PEX w cyklu życiowym świdrowców sprawia, iż białka te stanowią interesujące cele molekularne dla rozwoju leków trypanobójczych. Pomimo ogólnych podobieństw w mechanizmie transportu białek do peroksysomów i glikosomów, różnice w budowie ludzkich i trypanosomalnych białek PEX wskazują, że możliwe będzie stworzenie inhibitorów specyficznym celującym w świdrowce bez szkody dla komórek ludzkich.

Opublikowane wiosną tego roku przełomowe odkrycie Partnera niniejszego projektu wskazuje, że możliwa jest terapeutyczna interwencja na szlaku PEX poprzez blokowanie białka PEX14. Nasz Partner opracował niskocząsteczkowy inhibitor interakcji PEX14/PEX5 i wykazał, że cząsteczka taka hamuje import białek glikosomalnych wybiórczo zabijając pasożyty zarówno w hodowli komórkowej jak i, co znacznie istotniejsze, w mysim modelu zakażenia. Osiągnięcie to otwiera perspektywy terapeutycznego wykorzystania inhibitorów systemu PEX, jednak optymalne miejsce interwencji pozostaje do ustalenia. Oddziaływanie PEX5 / PTS1 w *T. cruzi* pozostaje słabo scharakteryzowane i nie wykazano eksperymentalnie czy hamowanie tej interakcji jest użyteczne w zwalczaniu zakażenia świdrowcem. Z tego powodu **przewodnim celem projektu jest walidacja oddziaływania PEX5/PTS1 *T. cruzi* jako obiecującego celu molekularnego dla projektowania leków przeciwświdrowcowych.**

Główny cel projektu zostanie osiągnięty przez realizację następujących celów szczegółowych.

(i) Charakterystyka strukturalna białka PEX5 oraz kompleksów PEX5/PTS1 i PEX14/PEX5/PTS1 z *T. cruzi* metodą krystalografii rentgenowskiej i SAXS zapewni wgląd w mechanizm molekularny wzajemnego rozpoznawania poszczególnych składników systemu PEX. Poza istotnym bezpośrednim znaczeniem naukowym, dane te zostaną wykorzystane w ramach projektu do racjonalnego projektowania niskocząsteczkowych inhibitorów. Zastosowanie takie odnosi się to bezpośrednio do drugiego szczegółowego celu projektu.

(ii) rozwój związków narzędziowych celujących w interakcje PEX5/PTS1. Celem uzyskania wstępnych związków zostaną zastosowane nowoczesne metody przeszukiwania (wirtualny screening, poszukiwanie fragmentów metodą krystalograficzną i NMR). Sposób oddziaływania zidentyfikowanych związków z PEX5 zostanie określony przy pomocy krystalografii rentgenowskiej. Informacja ta pozwoli na racjonalne projektowanie optymalizacji związków dla uzyskania lepszego powinowactwa. Do optymalizacji posłużą metody rozbudowy fragmentów, łączenia fragmentów i modyfikacji podstawników w większych cząsteczkach.

(iii) Zoptymalizowane inhibitory narzędziowe będą testowane w modelach infekcji *in vitro* i *in vivo*. Prace te będą stanowiły potwierdzenie (lub zaprzeczenie) hipotezy, iż interakcja PEX5/PTS1 *T. cruzi* stanowi dogodny cel molekularny dla przyszłego rozwoju cząsteczek terapeutycznych w chorobie Chagasa.

Podsumowując, **badania planowane w projekcie dostarczą brakującej informacji strukturalnej na temat systemu PEX (PEX14/PEX5/PTS1) oraz związków narzędziowych zdolnych do hamowania szlaku PEX na etapie rozpoznania cargo, które pozwolą na badanie roli tego etapu w systemie transportu glikosomowego *in vitro* i *in vivo*. Całokształt wyników przyniesie walidację PEX5 *T. cruzi* jako celu molekularnego dla rozwoju terapii przeciwświdrowcowych.** W szerokiej perspektywie zwalidowany cel molekularny i związki narzędziowe będą stanowić wartościowy punkt wyjścia dla rozwoju nowej generacji leków przeciwświdrowcowych dla złagodzenia światowego problemu zdrowotnego związanego z chorobą Chagasa.