

Oddziaływanie peptydów fuzyjnych wirusa grypy z błonami lipidowymi – zarys projektu.

Grypa jest jedną z pięciu najbardziej śmiertelnych chorób zakaźnych w ludzkiej populacji, powodując rocznie nawet 600000 zgonów na świecie. Rozpowszechnienie wirusa grypy wśród zwierząt w połączeniu z szybkim tempem mutacji umożliwiającym przeniesienie infekcji na człowieka, przyczyniają się do stałego zagrożenia wybuchem pandemii o potencjalnie katastrofalnych skutkach. Jedną z obiecujących strategii terapeutycznych przeciwko wirusowi grypy, jak i innym wirusom otoczkowym, polega na hamowaniu procesu wnikania wirusów do komórek gospodarza, w szczególności poprzez uniemożliwienie fuzji otoczki lipidowej wirusa z błoną komórkową.

W przypadku wirusa grypy proces fuzji przeprowadzany jest przez jego powierzchniowe białko, hemaglutyninę (HA). To homotrimeryczne białko posiada zdolność zakotwiczenia swoich N-końcowych domen, znanych jako peptydy fuzyjne (pFHA), w docelowej błonie komórkowej. Zginając się wzdłuż, HA przywodzi związaną tak błonę komórkową gospodarza do błony wirusa umożliwiając ich fuzję. pFHA pełnią w tym procesie rolę nie tylko biernych elementów kotwiczących, lecz inicjują również mieszanie się błon lipidowych i powstawanie hydrofobowego pomostu pomiędzy nimi. Co ciekawe, syntetyczne pFHA o długości 20 – 23 aminokwasów są już zdolne do samodzielnej fuzji liposomów. Mechanizm działania takich izolowanych peptydów jest najprawdopodobniej jednakowy jak w kompletnej HA, gdyż w obu przypadkach mutacje aminokwasowe w sekwencji pFHA mają podobny wpływ na możliwość prowadzenia fuzji lub jej brak.

Z uwagi na istotne zagrożenie jakie stanowi wirus grypy, proces fuzji przeprowadzany przez HA jest od lat intensywnie badany. Występujące w jego trakcie odkształcenia błon lipidowych zostały scharakteryzowane przy pomocy mikroskopii elektronowej. Struktura atomowa zewnątrz-błonowych części HA znana jest dzięki krystalografii rentgenowskiej. Śródbłonowe konformacje pFHA zostały zaś ustalone przy wykorzystaniu metod rezonansu magnetycznego. Ponadto, zgromadzono szereg danych na temat wpływu mutacji aminokwasowych na funkcję HA. Wciąż jednak szczegóły samego procesu fuzji błon lipidowych, a zwłaszcza jego inicjacji przez pFHA, są nieznane, gdyż ich zbadanie wymaga rozdzielczości przestrzennej i czasowej pozostających poza zasięgiem obecnych metod eksperymentalnych. Dostępność obszernych lecz wciąż fragmentarycznych danych z jednej strony, w połączeniu z dynamicznym rozwojem mocy obliczeniowych i metod symulacji komputerowych z drugiej, stwarzają obecnie możliwość powiązania zgromadzonych wyników i zbadania roli pFHA na poziomie atomowym.

Niniejszy projekt oparty jest na połączeniu symulacji komputerowych pFHA w błonach lipidowych z badaniami eksperymentalnymi. Konfiguracje (konformacja, głębokość zakotwiczenia w błonie, orientacja) peptydów w błonach o różnym składzie zostaną zbadane w powiązaniu z określoną doświadczalnie wydajnością fuzji błon w tożsamych układach. Pozwoli to na wyodrębnienie szczegółów strukturalnych warunkujących zachodzenie procesu fuzji. Szczególna uwaga zostanie poświęcona zbadaniu wpływu stężenia cholesterolu na wydajność fuzji prowadzonej przez pFHA. Umożliwi to lepsze zrozumienie funkcjonowania słabo dotąd poznanych mechanizmów obronnych komórek w stosunku do wirusów otoczkowych, które oparte są na modyfikacji śródbłonowej populacji cholesterolu.

Istotną część projektu poświęconą zostanie zbadaniu konformacji oraz sposobu ułożenia w błonie trimerów pFHA połączonych ze sztywnym rdzeniem HA. Pozwoli to uzyskać informacje na temat natury efektów prowadzących do kooperatywnego zaburzania struktury błony przez trimery HA. Zbadane zostaną również relacje przestrzenne pomiędzy rdzeniem i częścią śródbłonową HA towarzyszące zmianie konformacyjnej białka zachodzącej podczas procesu fuzji *in vivo*. Ponadto, w oparciu o symulacje pFHA w układzie dwóch zbliżonych do siebie błon lipidowych scharakteryzowane zostaną wczesne etapy procesu fuzji prowadzące do powstania pomostu hydrofobowego pomiędzy membranami. Pozwoli to na wskazanie najbardziej prawdopodobnej spośród wielu rozważanych w literaturze hipotez dotyczących szczegółów tego zjawiska.

Poza bezpośrednią charakterystyką udziału pFHA w procesie fuzji błon lipidowych, projekt dostarczy informacji dotyczących struktury HA pomocnych w projektowaniu leków mających na celu hamowanie wnikania wirusa do komórki. Lepsze zrozumienie funkcjonowania HA będzie również przydatne w rozwijaniu metod dostarczania molekuł do wnętrza komórek przy pomocy podlegających fuzji sztucznych liposomów. Ponadto, z uwagi na fundamentalne podobieństwa pomiędzy fuzją błon lipidowych z udziałem białek w wielu układach biologicznych, uzyskane wyniki przyczynią się do lepszego zrozumienia innych, różnorodnych procesów takich jak wewnątrzkomórkowa migracja pęcherzyków lipidowych, uwalnianie neurotransmiterów czy też zapłodnienie komórek jajowych.