

DNA jako enzymy – jak one to robią?

Dla biochemika cząsteczka DNA jest synonimem stabilności i inertności. Nic dziwnego, została ona przecież wybrana przez naturę w jednym celu – długoterminowego przechowywania informacji genetycznej. Bez strachu o degradację lub niekontrolowane zmiany. Dlatego też idea DNA jako katalizatora – a więc, inicjatora reakcji chemicznych – brzmi przy pierwszym spotkaniu jak pomylenie pojęć. Rolę enzymów (biologicznych katalizatorów) natura powierzyła przecież białkom oraz, jak wiadomo od lat 80-tych ubiegłego wieku, w ograniczonym stopniu również cząsteczkom RNA. Właśnie odkrycie katalizy RNA stało się impulsem do poszukiwania również wśród cząsteczek DNA aktywnych enzymów. Choć istnienie w naturze katalitycznych DNA do dziś pozostaje niepotwierdzone, cały wachlarz takich cząsteczek udało się otrzymać syntetycznie w laboratoriach, metodą tzw. selekcji *in vitro*. Metoda ta sama w sobie stanowi interesujący temat. Polega ona na kombinatorycznej syntezie szerokiej gamy przypadkowych sekwencji DNA (optymalnie *wszystkich* sekwencji DNA o ustalonej długości), a następnie „odłowieniu” z tak uzyskanej puli tych sekwencji, które zdolne są katalizować interesującą nas reakcję. Dokładny mechanizm oddzielania „ziarna od plew” zależy od konkretnego procesu, dla którego katalizatora poszukujemy i ich wyjaśnienie wykracza niestety poza możliwości niniejszego tekstu. Istotną dla nas charakterystyką selekcji *in vitro* jest to, że choć prowadzi ona do wyodrębnienia DNA o właściwościach enzymów, to jednak czyni to wyłącznie na podstawie kryterium aktywności. Innymi słowy pozwala stwierdzić, że cząsteczka DNA o określonej sekwencji jest enzymem, nie wyjaśnia jednak jakie jej cechy są przyczyną jej aktywności katalitycznej.

Gdyby DNAzemy (enzymy DNA) miały pozostać jedynie laboratoryjną ciekawostką, można by zapewne pogodzić się z tą białą plamą w naszym ich zrozumieniu. Paradoksalnie jednak, wspomniana na początku stabilność i inertność cząsteczek DNA sprawia, że enzymy skonstruowane z tego budulca mają duże szanse znaleźć szereg zastosowań w biotechnologii, przemyśle, a nawet terapii. By tak się jednak stało, konieczne jest opanowanie umiejętności racjonalnego projektowania DNAzymów o określonych właściwościach, a więc dogłębne zrozumienie reguł sterujących ich działaniem. Rodzi to potrzebę strukturalnych i mechanistycznych badań tego typu cząsteczek. Choć podobne badania były prowadzone od lat, głównie przy pomocy niskorozdzielczych metod biofizycznych, dopiero ostatnie dwa lata przyniosły pierwsze dwie wysokorozdzielcze struktury krystalograficzne cząsteczek z rodziny DNAzymów. Struktury te pokazały, że enzymy DNA funkcjonują jako maszyny molekularne o wysokim stopniu ustrukturyzowania – znacznie wyższym niż sugerowały to wcześniejsze częściowe eksperymenty. Dwie struktury to jednak dopiero kropla w morzu wobec ilości DNAzymów zidentyfikowanych do tej pory.

Niniejszy projekt ma na celu istotne poszerzenie zasobu dostępnych informacji strukturalnych na temat DNAzymów, poprzez wysokorozdzielcze badania strukturalne dwóch ważnych DNAzymów oraz wstępne badania strukturalne serii kolejnych. Głównymi obiektami planowanych badań będą DNAzemy określane symbolami 8-17 i I-R2. Pierwszy z nich katalizuje cięcie nici RNA w ściśle określonych punktach sekwencji, zaś drugi zdolny jest do promowania reakcji własnej hydrolizy również w ściśle określonym punkcie. Obie te cząsteczki zostaną poddane wysokorozdzielczym badaniom strukturalnym metodami spektroskopii jądrowego rezonansu magnetycznego (NMR) w roztworze. Spektroskopia NMR stanowi jedyną metodę takich badań w fazie ciekłej, a więc w naturalnym środowisku działania DNAzymów.