

Zależny od cynku czynnik transkrypcyjny (MTF-1) rozpoznaje wahania poziomu cynku komórkowego. Wolne jony Zn(II) wiążą się z motywami palców cynkowych występującymi w białku MTF-1. W skutek związania i wysycenia motywów palców cynkowych przez jony Zn(II) dochodzi do aktywacji MTF-1. W wyniku tego MTF-1 poprzez palce cynkowe wiąże się do sekwencji promotora MRE, co skutkuje transkrypcją genów białek cynkowych tj.: metalotioneiny czy transportery cynkowe. Zależna od jonów Zn(II) aktywacja MTF-1 cechuje się wyjątkowo skomplikowanym mechanizmem. Jak dotąd badania nad aktywacją domeny palców cynkowych białka MTF-1 pod wpływem jonów Zn(II) dały niejednoznaczne wyniki, według których główną rolę podczas wiązania cząsteczki DNA odgrywają cztery pierwsze motywy palca cynkowego, natomiast motyw 5 oraz 6 pełnią funkcję regulatorową. Jednak, inne badania sugerują, że łączniki pomiędzy motywami palców cynkowych odgrywają znaczącą rolę regulatorową podczas zależnej od jonów metali aktywacji transkrypcji genów. Dlatego też, głównym celem niniejszego projektu jest określenie wpływu czynników strukturalnych oraz termodynamicznych mających wpływ na molekularny mechanizm aktywacji domeny palców cynkowych, ludzkiego białka MTF-1, w obecności „wolnego” Zn(II) komórkowego. Uzyskane przez nas badania wstępne przeprowadzone na motywach palca cynkowego 3 oraz 4 pokazują, że zarówno czynniki strukturalne jak i termodynamiczne wpływają na różnice w powinowactwie tych palców do jonów Zn(II) i tym samym powodują ich dywersyfikację. Dlatego też uważamy, że podstawy mechaniczne przekazywania sygnału i aktywacji MTF-1 w dużej mierze zależą od zróżnicowanego powinowactwa motywów palców cynkowych i ich wysycenia w obecności różnej dostępności Zn(II). Poza domeną palców cynkowych, białko MTF-1 posiada na C-końcu unikalny motyw bogaty w reszty cysteinowe. Motyw ten jest wysoce konserwatywny u wyższych eukariontów, co może sugerować o jego wyspecjalizowanej roli w aktywacji białka MTF-1. Uzyskane przez nas wyniki wstępne bazujące na krótszym i dłuższym fragmencie pochodzącym z regionu bogatego w reszty cysteinowe występującego w ludzkim białku MTF-1 pokazują, że motyw ten jest zdolny do wiązania jonów Zn(II) z powinowactwem zbliżonym do motywów palców cynkowych, pokrywającym zakres fluktuacji stężenia wolnego Zn(II) w komórce. Na podstawie otrzymanych wyników wstępnych, w dalszych etapach projektu zbadamy fizykochemiczne właściwości regionu bogatego w reszty cysteinowe w celu wyjaśnienia jego wyspecjalizowanej funkcji w ludzkim białku MTF-1. Zakres niniejszego projektu badawczego opiera się na przeprowadzeniu szeregu testów biofizycznych na fragmentach ludzkiego białka MTF-1 (domena palców cynkowych i motyw bogaty w reszty cysteinowe), w tym między innymi badań stabilnościowych a także pomiarów wiązania domeny palców cynkowych do DNA przy użyciu spektroskopii UV-Vis oraz technik fluorymetrycznych w warunkach kontrolowanego stężenia jonów wolnego Zn(II) oraz pod wpływem czynników stresowych.