

Kojarzone zwykle z kanoniczną podwójną helisą Watsona-Cricka, cząsteczki DNA mogą w rzeczywistości przyjmować wiele różnych struktur przestrzennych, z których niektóre mają duże znaczenie dla funkcji biologicznej DNA. Projekt niniejszy koncentruje się na jednej z tych niekanonicznych form DNA, zwanych G-kwadrupeksami (G4). Ich zasadniczym elementem strukturalnym jest tzw. G-tetrada, czyli płaski zestaw czterech zasad guaninowych utrzymywanych razem przez układ cyklicznych wiązań wodorowych. Układając się jedna na drugą, G-tetrazy tworzą rdzeń G4 z czterema nićmi guaninowymi połączonymi trzema pośredniczącymi pętlami o różnej sekwencji i konformacji. Sekwencje zdolne do tworzenia G-kwadrupeksów są szeroko rozpowszechnione w genomach (np. ponad 700 000 sekwencji w ludzkim genomie). Stwierdzono także, że są one znacznie wzbogacone w regionach regulatorowych, w tym w obrębie telomerów (do 25 % wszystkich G4) i w promotorach genów. W związku z tym istnieje coraz więcej dowodów na to, że G4 są zaangażowane w regulację ekspresji genów i utrzymanie stabilności chromosomów. Jednocześnie, ze względu na ich różnorodność i plastyczność strukturalną, segmenty typu G4 mogą być także wykorzystywane jako wygodne i potencjalnie programowalne elementy budulcowe w chemii, inżynierii materiałowej i nanotechnologii. Polimorfizm strukturalny G-kwadrupeksów mogących przyjmować wiele stabilnych stanów zwiniętych (topologii), w zależności od sekwencji i warunków środowiskowych (w szczególności rodzaju i stężenia kationów metali alkalicznych) stwarza zarówno możliwości, jak i wyzwania dla racjonalnego projektowania. Z jednej strony pozwala na dokonywanie różnorodnych wyborów projektowych, ale z drugiej strony wymaga niezawodnego sposobu przewidywania i kontrolowania struktury G-kwadrupeksów. Niestety, pomimo szeroko zakrojonych badań, ogólne ramy teoretyczne pozwalające na takie przewidywania w arbitralnych sytuacjach nie zostały dotąd opracowane.

Wobec powyższego, celem obecnego projektu jest **zrozumienie związku między sekwencją nici DNA bogatych w guaninę a strukturą tworzonych przez nie G-kwadrupeksów, w stopniu pozwalającym na projektowanie G-kwadrupeksów DNA o pożądanej topologii zwiniętej**. Osiągnięcie tego to celu będzie wymagało systematycznego przeszukiwania wszystkich możliwych struktur G4 dla szerokiego zestawu sekwencji DNA oraz analizy czynników strukturalnych i energetycznych leżących u podstaw zróżnicowanej stabilności tych struktur. Projekt koncentruje się na trzech głównych zadaniach badawczych (wyszczególnionych poniżej), które zostaną zrealizowane przy użyciu zintegrowanego podejścia łączącego wieloskalowe symulacje komputerowe i komplementarne metody eksperymentalne. Aby umożliwić takie multidyscyplinarne podejście, kierownik projektu, którego badania koncentrują się na zastosowaniu metod obliczeniowych do badania układów biomolekularnych, nawiązał współpracę z grupą mającą doświadczenie w badaniach eksperymentalnych nad G-kwadrupeksami. **1) Określenie i walidacja względnej stabilności dla szerokiego zestawu bogatych w guaninę sekwencji DNA zdolnych do tworzenia G4 z dwoma G-tetradami.** Prostota strukturalna dwu-tetradowych G4 czyni z nich doskonały układ modelowy do przewidywania i wyjaśniania stabilności za pomocą symulacji komputerowych. Dlatego najpierw wykorzystamy symulacje, w celu oceny stabilności wszystkich teoretycznie możliwych dwu-tetradowych G4 dla systematycznego zestawu sekwencji DNA. Następnie prognozy te zostaną zweryfikowane za pomocą szeregu metod eksperymentalnych, w tym spektroskopii NMR, CD i UV. **2) Szczegółowa analiza czynników strukturalnych i energetycznych leżących u podstaw względnej stabilności struktur G4.** Aby zidentyfikować molekularne podłoże obserwowanych różnic stabilności, przeanalizujemy obszerny zbiór danych uzyskane w 1) za pomocą metod statystycznych, uczenia maszynowego i teorii informacji. Zróżnicowana stabilność struktur G4 zostanie następnie wyjaśniona w kategoriach energetycznych i entropowych, co pozwoli na zbadanie równowagi sił leżących u podstaw formowania G-kwadrupeksów. **3) Rozszerzenie naszej analizy na trój-tetradowe G4 i przetestowanie opracowanego modelu jako narzędzia do przewidywania i projektowania struktury G-kwadrupeksów.** Aby ocenić i, jeśli to konieczne, rozszerzyć zastosowanie naszego podejścia do trój-tetradowych G4, przetestujemy dwie główne hipotezy dotyczące relacji pomiędzy stabilnością trój- i dwu-tetradowych G4. Ocenimy wreszcie wartość predykcyjną naszego modelu poprzez zaprojektowanie i eksperymentalną walidację zestawu trój-tetradowych G4.

Zakładamy, że pomyślne wykonanie powyższych badań zaowocuje stworzeniem modelu pozwalającego na przewidywanie dominujących topologii G4 na podstawie sekwencji zasad. Dzięki podejściu w pełni opartemu na strukturze, model ten będzie także w stanie wyjaśnić obserwowaną stabilność w kontekście oddziaływań w obrębie łańcucha DNA oraz pomiędzy tym łańcuchem a otoczeniem. Zarówno wartość predykcyjna, jak i objaśniająca modelu powinny znacznie ułatwić badania strukturalne nad G-kwadrupeksami. Oczekujemy, że nasze wyniki będą szczególnie użyteczne dla nanotechnologii DNA, ponieważ możliwość przewidywania struktur w dużej mierze wyeliminowałoby kosztowne podejście typu prób i błędów, zwykle stosowane przy projektowaniu G4 o właściwościach strukturalnych pożądanych w chemii, inżynierii materiałowej i biomedycznej.