

Profilowanie oddziaływań między poliaminami i białkami w komórkach rakowych metodami proteomiki chemicznej.

Ludzie lubią myśleć o sobie jako o organizmach biologicznie złożonych. Kiedy jednak na początku obecnego milenium opublikowano dane uzyskane z projektów sekwencjonowania różnych genomów, okazało się, że ludzki genom (zbiór genów) jest mniejszy niż pierwotnie przewidywano i nie jest nawet znacznie większy od genomu muszki owocowej, która jest modelowym organizmem wykorzystywanym w badaniach biologicznych. Ale jeśli nie z samego genomu, to skąd bierze się złożoność organizmu ludzkiego?

W rzeczywistości, biologiczna złożoność powstaje nie na poziomie genów, ale na poziomie maszyn molekularnych komórki, czyli białek, produkowanych (tłumaczonych) zgodnie z informacjami zawartymi w genomie. Po syntezy (post-translacyjnie) struktury i funkcje białek są modulowane w niezwykle zróżnicowany sposób tworząc biologiczną złożoność, a modulacja ta często obejmuje interakcje z cząsteczkami także produkowanymi w organizmie, ale znacznie mniejszymi od białek.

Do tej pory opisano już przykłady oddziaływań białek z dziesiątkami małych cząsteczek. Niektóre z nich zostały opisane jako oddziaływania trwałe a inne jako dynamiczne. Trwałe interakcje wynikają z wytworzenia się wiązania chemicznego pomiędzy białkiem a małą cząsteczką, podczas gdy te dynamiczne mogą przebiegać z lub bez wytworzenia się takiego wiązania. Bardzo ważne jest, aby zrozumieć różne aspekty oddziaływań pomiędzy małymi cząsteczkami i białkami, ponieważ wiele opisanych obecnie przykładów pokazuje, że są one niezbędne do regulacji istotnych procesów komórkowych, a gdy są rozregulowane, prowadzą do rozwoju wielu chorób. Jednakże, z uwagi na ich częsty dynamiczny charakter i nieraz niską obfitość, oddziaływania te są niezwykle trudne do zbadania. Pozy tym, istnieje bardzo ograniczony zestaw narzędzi molekularnych, które umożliwiają analizę oddziaływań małych cząsteczek z białkami w skomplikowanych systemach biologicznych, jakimi są żywe komórki lub modelowe organizmy.

W moim projekcie, wybrałem do badania oddziaływania białek z poliaminami (putrescyną, spermidyną, sperminą), wszechobecnymi cząsteczkami, które są bardzo ważne podczas różnicowania się komórek, w procesie wzrostu oraz kontrolowanej śmierci, a dysregulacja poziomu komórkowego tych małych cząsteczek została we wcześniejszych badaniach powiązana z rozwojem i postępem chorób, takich jak zaburzenia neurodegeneracyjne czy rak. Co ważne, oddziaływanie białek z poliaminami jest zjawiskiem, które z jednej strony zostało już opisane jako biorące udział w kontrolowaniu kluczowych procesów biologicznych, a z drugiej strony pozostaje nie w pełni wyjaśnione. Ponad to, przedstawione zostały dowody, że oddziaływania te mogą zachodzić na dwa sposoby, z wytworzeniem lub bez wytworzenia się wiązań chemicznych między białkami a poliaminami. W tym projekcie zamierzam określić, które z ludzkich białek oddziałują z poliaminami, oraz zbadać preferencje białek do wchodzenia w oddziaływania z każdą z trzech poliaminam z osobna. Planuję zbadać również, które z oddziaływań białek z poliaminami zachodzą bez wytworzenia się wiązań chemicznych, a które z wytworzeniem wiązań, a dla tej drugiej grupy, które oddziaływania są trwałe a które zachowują się dynamicznie. Następnie przeprowadzę szczegółowe badania nad wpływem oddziaływań z poliaminami na funkcje wybranych białek, istotnych w kontekście zdrowia i choroby (raka).

W moich badaniach planuję wykorzystać zaawansowane narzędzia molekularne (sondy chemiczne), które zaprojektowałem specjalnie dla tego projektu. Sondy te będą strukturalnie ściśle przypominać trzy główne poliaminy naturalnie występujące w komórce i dlatego będą dobrze rozpoznawalne przez białka wchodzące z nimi w interakcje w żywych komórkach. Jednakże, w odróżnieniu od naturalnych poliamin, sondy będą wyposażone w znacznik, który pozwoli na ich śledzenie, gdy tylko zaangażują się w interakcje z docelowymi białkami. Do badania oddziaływań niekowalencyjnych sondy będą dodatkowo wyposażone w element reaktywny aktywowany światłem UV, aby po napromieniowaniu umożliwić stabilizację oddziaływania do celów śledzenia. W ramach tego projektu sondy będą wykorzystywane do uzyskiwania map oddziaływań białek z poliaminami zachodzących w komórkach nowotworowych oraz specyficznych zmian w tych oddziaływaniach zachodzących w komórkach, w których aktywowano śmierć komórkową.

Projekt ten jest bardzo ciekawy, ponieważ pozwoli na odkrycie nowych procesów molekularnych w komórkach rakowych oraz na wyprodukowanie nowatorskich odczynników i metod analitycznych, które będą mogły być wykorzystane również poza jego opisanym zakresem. Tak więc, będą mogły one być stosowane do badań przesiewowych o wysokiej przepustowości w zakresie anomalii oddziaływań białek z poliaminami w różnych innych chorobach, w celu identyfikacji i walidacji nowych celów farmakologicznych i leków.