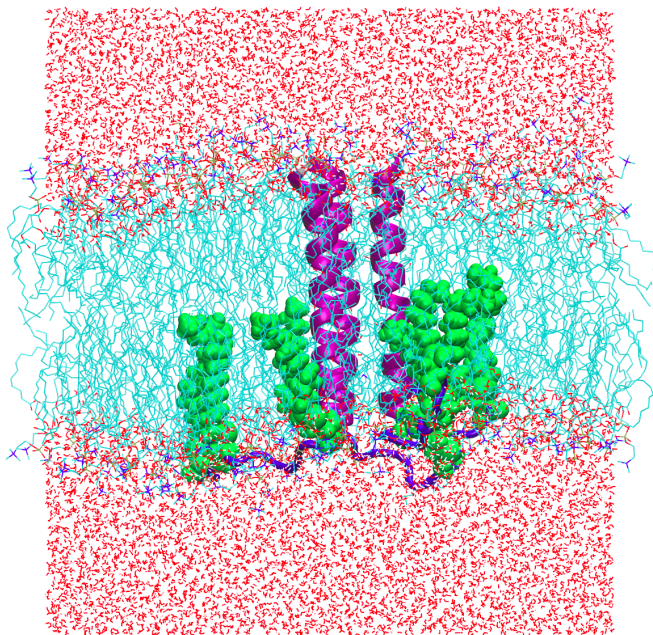


Grypa to choroba układu oddechowego, z którą ludzkość boryka się od czasów starożytnych. Obecnie szacuje się, że dotyka ona 10-20% światowej populacji rocznie, i pomimo stosunkowo niskiej śmiertelności, powoduje do 650 000 zgonów rocznie. Ponadto, ze względu na wysoką częstość mutacji, wirus grypy jest stałym zagrożeniem wybuchu pandemii. Wirus grypy wnika do komórki gospodarza w celu replikacji i jest to możliwe dzięki fuzji otoczki lipidowej wirusa z błoną komórkową gospodarza. Pomimo kilkudziesięciu lat badań szczególnie tego ważnego etapu w cyklu życiowym wirusa pozostają nieuchwytnie. Jego zrozumienie ma natomiast dużą wartość zarówno z naukowego punktu widzenia, jak i ze względów praktycznych, jako niezbędny krok do opracowania nowatorskich terapii ukierunkowanych na wysoce zachowanych domenach fuzyjnych. Obiecującym nowym sposobem leczenia grypy jest wykorzystywanie inhibitorów, które spowolnią lub całkowicie zablokują fuzję błony lipidowej i zapobiegną przedostawaniu się materiału genetycznego wirusa do komórki gospodarza.

W procesie fuzji pośredniczy wirusowe białko powierzchniowe - hemaglutynina (HA).

HA jest białkiem trimerycznym, która zakotwicza swoje N-końcowe domeny, znane jako peptydy fuzyjne, do błony gospodarza, a następnie przechodząc zmianę konformacyjną zbliża (ruchem nożycowym) błonę wirusa i gospodarza na bliską odległość, umożliwiając fuzję błon. Chociaż większość dotychczasowych badań koncentrowała się na peptydach fuzyjnych, rola domeny kotwiczącej HA w błonie wirusa okazuje się mieć coraz większe znaczenie. Składa się ona z domeny transbłonowej (ang. transmembrane domain, TMD) i ogona cytoplazmatycznego (ang. cytoplasmic tail, CT), który jest zakotwiczony po wewnętrznej stronie wirusa. Podejrzewa się, że bierze ona udział w zależnym od cholesterolu partycjonowaniu HA i wspiera przechyłanie HA w stosunku do błony wirusowej. Podczas gdy trójwymiarowa struktura zewnętrznej części HA została ustalona metodami eksperymentalnymi, struktura domeny zakotwiczonej w błonie wirusa jest całkowicie nieznana. Szczególnie niewiele wiadomo na temat CT. Jest to krótki, wysoce zachowany i eksponowany na wirusowy cytozol peptyd. Posiada pięć aminokwasów, które są niezmiennie we wszystkich typach HA i dwie lub trzy reszty cysteiny, które są potranslacyjnie modyfikowane kwasem palmitynowym i stearynowym. Co ciekawe, wysoka konserwacja tych aminokwasów sugeruje znaczenie funkcjonalne, ale szczegóły i faktyczna rola w procesie fuzji pozostają nieuchwytnie. Żadna metoda eksperymentalna nie jest w stanie ujawnić natywnej struktury domeny kotwiczącej HA ze względu na silną tendencję CT do agregacji w środowiskach naśladujących błonę. Możliwość wypełnienia luk w wiedzy eksperymentalnej jest oferowana przez coraz bardziej niezawodne podejścia obliczeniowe, które czerpią korzyści z ogromnego postępu technologicznego i metodologicznego w ostatnich latach.

W ramach tego projektu przeprowadzimy obszerne symulacje komputerowe kotwicy błonowej HA w pełnej rozdzielczości atomowej. Scharakteryzujemy przejścia sugerowanymi w eksperymencie geometriami TMD, które wspierają przechyłanie HA względem błony wirusa. Szczególną uwagę skupimy na wpływie stężenia cholesterolu na ten proces. Druga część tego projektu będzie poświęcona strukturalnej charakterystyce CT, uwzględniając w jej opisie wysoce zachowane sekwencje aminokwasów. Na koniec rozważymy pełną strukturę TMD-CT (ryc. 1), i porównując wyniki uzyskane dla samego TMD, określimy prawdopodobną rolę funkcjonalną CT, w szczególności udział tego elementu w wykrywaniu cholesterolu przez HA. Realizując ten projekt i wypełniając luki niedostępne dla badań eksperymentalnych, wniesiemy istotny wkład w obecną wiedzę dotyczącą struktury i funkcji domeny kotwiczącej HA.



Rysunek 1: Przykładowa klatka z symulacji TMD-CT w formie trimerycznej. Konfiguracja TMD (purpurowy) zależy od interakcji pomiędzy siłami międzycząsteczkowymi i oddziaływaniem z błoną. Ogon cytoplazmatyczny posiada S-acylowane cysteiny (zielony) i jest przedstawiony jako niebieska linia.