

Homeostaza białek pełni kluczową rolę w utrzymaniu prawidłowych funkcji komórkowych, a jej deregulacja prowadzi do różnorodnych patologicznych schorzeń w tym do chorób nowotworowych. Jedną ze stosowanych strategii komórkowych mających na celu kontrolę homeostazy białek jest ich modyfikacja po biosyntezie. Istnieje wiele typów modyfikacji białek, jeden z nich polega na kowalencyjnym przyłączeniu małego białka SUMO do białek komórkowych w procesie określanym jako SUMOilacja. Sumoilacja białek komórkowych wpływa na ich aktywność, lokalizację, stabilność i interakcje z innymi białkami. Ważną cechą sumoilacji jest jej odwracalność przeprowadzana przez SUMO-specyficzne proteazy (SENPs). SENPs są również wymagane do aktywacji białek SUMO poprzez usuwanie krótkich C-końcowych fragmentów z pro-SUMO, tym samym SENPs ściśle regulują poziom sumoilacji białek komórkowych niezbędnych do utrzymania prawidłowej fizjologii komórki. Badania biologicznych funkcji SENP ujawniły, iż proteazy te odgrywają ważną rolę w rozwoju ludzkich chorób w tym chorób nowotworowych. Podwyższony poziom proteaz SENP obserwuje się w wielu typach nowotworów m.in. raku jelita grubego, piersi, płuc, jajnika, pęcherza, trzustki i wątroby. Z powyższych względów proteazy SENP stanowią atrakcyjny cel terapeutyczny w projektowaniu leków. Jednak, dokładna funkcja poszczególnych SENPs w stanach normalnych i patologicznych pozostaje niewyjaśniona. Selektowne narzędzia chemiczne mogłyby rzucić światło na możliwe mechanizmy działania SENPs w procesie nowotworzenia oraz pomóc w opracowaniu nowych strategii leczenia chorób nowotworowych. Głównym wyzwaniem w odkryciu selektywnych substratów i markerów chemicznych dla SENPs jest ich podobna specyficzność substratowa. SENPs są wysoce specyficzne względem białek SUMO, dlatego najczęściej stosowane narzędzia do badania SENPs oparte są na pełnej sekwencji aminokwasowej białek SUMO lub ich skróconej formie. Ze względu na brak selektywności, użycie tego typu narzędzi uniemożliwia dokładne określenie, która z proteaz SENP ulega nadekspresji lub supresji w zaburzeniach patologicznych. Biorąc to pod uwagę, celem tego projektu jest zaprojektowanie selektywnych narzędzi chemicznych opartych na strukturze SUMO dla SENPs. Niedawno nasza grupa opracowała nowe podejście chemiczne umożliwiające uzyskiwanie selektywnych substratów i markerów chemicznych dla proteaz (DUBs), które rozpoznają małe białko zwane ubikwityną. Selektowność substratów i markerów chemicznych opartych na strukturze ubikwityny w stosunku do poszczególnych DUBs została osiągnięta poprzez modyfikację tylko C-końcowego motywu ubikwityny. Z powyższych względów uważamy, że selektywne narzędzia chemiczne dla poszczególnych SENP można uzyskać poprzez modyfikację C-końcowego motywu SUMO. Co ważne, nigdy wcześniej w literaturze nie opisano selektywnych substratów i markerów chemicznych względem poszczególnych SENPs, co stanowi nowość projektu.

Realizacja powyższego celu badawczego będzie polegała na modyfikacji C-końcowego motywu SUMO. W celu wyboru aminokwasów, które będą wprowadzone do C-końca, zostaną określone preferencje substratowe SENPs. Substraty oparte na strukturze SUMO ze znacznikiem fluorescencyjnym i biotynylowane markery chemiczne zostaną zaprojektowane dla każdego SENP i zsyntetyzowane. Aktywność i selektywność narzędzi chemicznych opartych na SUMO zostaną określone w badaniach z użyciem rekombinowanych SENPs i lizatów komórkowych.

Nasze nowe narzędzia chemiczne oparte na SUMO znacznie rozszerzą istniejący „zestaw narzędzi” do badania SENPs. Selektowne substraty i markery chemiczne względem poszczególnych SENPs będą cennymi narzędziami biochemicznymi w ustaleniu ich dokładnej biologicznej funkcji w stanach normalnych i patologicznych. Markery chemiczne są najczęściej używanymi narzędziami chemicznymi w badaniach enzymów proteolitycznych, ponieważ umożliwiają monitorowanie aktywności proteazy w funkcji różnych biologicznych i chemicznych zaburzeń.