

## **Badania strukturalne białek herpeswirusowych zaangażowanych w replikację DNA**

Herpeswirusy są jednymi z najczęściej spotykanych patogenów człowieka. Wywołują zakażenie, które trwa całe życie, a co jakiś czas aktywują się i powodują objawy chorobowe. Herpeswirusy są szczególnie groźne dla osób, których układ odpornościowy nie funkcjonuje prawidłowo. Zakażenie niektórymi z herpeswirusów wiąże się także z innymi poważnymi chorobami, w tym nowotworami. Najlepiej zbadanym herpeswirusem jest wirus opryszczki pospolitej typu 1 (ang. Herpes simplex virus type 1, HSV-1), który wywołuje opryszczkę na wargach oraz w ich okolicach.

Niezbędnym krokiem w produkcji nowych cząsteczek wirusowych jest utworzenie nowych kopii materiału genetycznego wirusa. U herpeswirusów, podobnie jak w organizmach komórkowych, informacja genetyczna zakodowana jest w cząsteczce DNA, która tworzy podwójną helisę złożoną z dwóch nici zbudowanych z nukleotydów – pojedynczych liter genetycznego alfabetu. Kopiowanie dwuniciowego DNA rozpoczyna się zazwyczaj w szczególnym miejscu w jego obrębie. Począwszy od tego miejsca, nici DNA muszą zostać rozdzielone, a następnie każda z nich służy jako matryca – wzorzec, w oparciu o który może zostać zbudowana nowa nić poprzez dołączanie pasujących nukleotydów. Ten skomplikowany proces przeprowadzany jest przez grupę białek, które wspólnie tworzą małą maszynę, nazywaną replisomem. Herpeswirusy posiadają swój własny zestaw sześciu lub siedmiu białek potrzebnych do wytworzenia nowej kopii DNA. Mimo że wszystkie te białka były szeroko badane, wciąż nie rozumiemy ich mechanizmów molekularnych. Nie jest też jasne, w jaki sposób ich różnorodne funkcje są koordynowane, by w wydajny sposób produkować nowe DNA.

W niniejszym projekcie przeprowadzimy badania, które dążą do wyjaśnienia, w jaki sposób powielane jest genomowe DNA herpeswirusów. Aby zwizualizować ten proces, określimy trójwymiarowe struktury białek, które biorą w nim udział. Określimy położenie tysięcy atomów w każdym z białek korzystając z dwóch metod: krystalografii rentgenowskiej oraz mikroskopii krioelektronowej. Badania z wykorzystaniem tych metod mogą posłużyć do uzyskania bardzo szczegółowych, trójwymiarowych obrazów białek, w których uwidoczniony jest każdy z ich atomów. Szczególnie interesuje nas zwizualizowanie tych białek związanych z fragmentami DNA, by zrozumieć, w jaki sposób rozpoznają one preferowane przez siebie formy cząsteczek DNA. Uzyskamy również struktury kompleksów złożonych z kilku białek, by dowiedzieć się, w jaki sposób są one ułożone względem siebie w kompleksie. Związanie się białka z innym białkiem lub z cząsteczką kwasu nukleinowego często powoduje zmianę jego kształtu, a w efekcie także niektórych jego właściwości. Planowane przez nas badania strukturalne wyjaśnią rolę tych zmian w procesie powielania DNA. Gdy określimy, w jaki sposób białka te oddziałują ze sobą oraz z DNA, będziemy mogli zrozumieć, jak gromadzą się one na DNA, by stworzyć molekularną maszynę, która bezbłędnie i w zsynchronizowany sposób syntetyzuje dwie nowe nici DNA.

W oparciu o te struktury mamy nadzieję wyjaśnić, jak działa replisom i w jaki sposób aktywności jego składowych są regulowane i koordynowane. Wyniki tego projektu będą wartościowym zasobem w przyszłych działaniach dążących do uzyskania nowych leków przeciwko herpeswirusom. Powielanie wirusowego DNA jest absolutnie niezbędne do namnażania się wirusa. Jeśli uda nam się lepiej zrozumieć ten proces, będziemy w stanie opracować nowe sposoby by go zahamować i pokonać wirusa. Ponadto proces powielania DNA herpeswirusów jest pod wieloma względami podobny do powielania DNA, które zachodzi w naszych własnych komórkach jak i w innych organizmach. Kluczową różnicą jest to, że w wyższych organizmach proces ten wymaga niezwykle skomplikowanej, a przez to trudnej do badania maszynery białkowej. Replisom herpeswirusa jest złożony jedynie z sześciu białek i dzięki temu jest on dostępnym i wartościowym modelowym systemem do badania procesu powielania DNA.