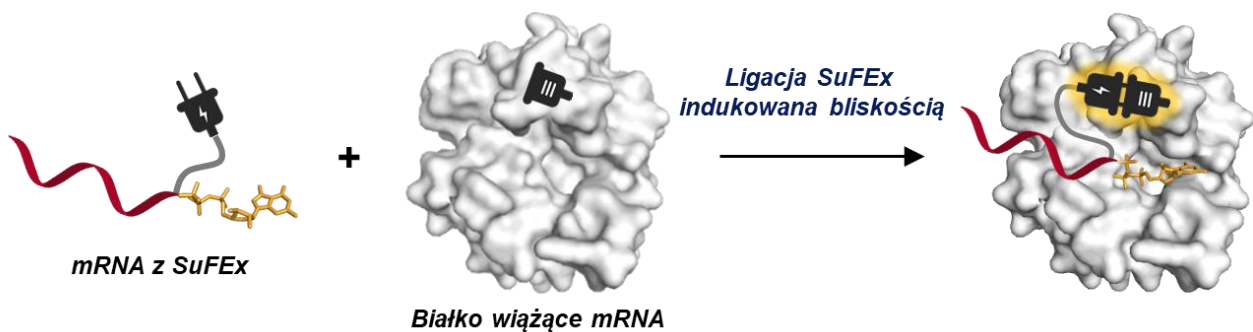


## **Poczuj chemię, jeśli jesteś wystarczająco blisko - indukowana efektem bliskości ligacja SuFEx dla biologii i medycyny mRNA**

Nukleotydy pełnią w komórkach szereg krytycznych funkcji, z których najbardziej oczywistą jest to, że są budulcem kwasów nukleinowych. Ponadto ich obecność jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania wielu enzymów (jako kofaktory) oraz biorą udział w sygnalizacji wewnątrz i międzykomórkowej. Ze względu na kluczową rolę nukleotydów, ich syntetycznie modyfikowane analogi oraz kwasy nukleinowe, które można z nich otrzymać, stanowią niezwykle cenne narzędzie dla biochemii i biologii. Ich zastosowanie przyczynia się do poznawania największych tajemnic naszego organizmu (np. procesów dziedziczenia) oraz napędza rozwój współczesnej medycyny. Modyfikowane nukleotydy i kwasy nukleinowe coraz częściej, stają się też podstawą farmakoterapii chorób, które do niedawna uważano za trudne w leczeniu lub wręcz uznane były za nieuleczalne. W szczególności RNA (w tym mRNA, które jest naszym komórkowym przepisem na białko) stało się obecnie niezwykle interesujące z punktu widzenia tworzenia nowych terapii przeciw nowotworom, chorobom zakaźnym oraz rzadkim chorobom genetycznym. Do wielkich sukcesów w tej dziedzinie zaliczyć można terapeutyczne siRNA (patisiran, givosiran) oraz szczepionki mRNA przeciwko SARS-Cov-2. W niniejszym projekcie proponujemy zastosowanie nowoczesnych narzędzi biochemicznych pozwalających na bardziej dogłębne zrozumienie procesów związanych z metabolizmem mRNA.



Nasz pomysł na badania w tej dziedzinie opiera się na zastosowaniu reakcji SuFEx (Sulfur-Fluorine Exchange) opisanej przez dwukrotnego noblistę Barrego K. Sharplessa. Jest to nowa i bardzo atrakcyjna reakcja typu „chemia click”, której zastosowanie w chemii nukleotydów i mRNA nie zostało dotychczas zademonstrowane. Grupy funkcyjne typu SuFEx, czyli zawierające wiązanie siarki (VI) i fluoru, mają wiele wyjątkowych właściwości chemicznych, które z powodzeniem są wykorzystywane między innymi w ogólnej chemii organicznej i chemii polimerów. Najbardziej niezwykłą cechą tych związków jest możliwość precyzyjnej i kontrolowanej aktywacji na ogół stabilnego wiązania S-F. Jednym z czynników wywołujących taką aktywację jest związanie się cząsteczki zawierającej grupę typu SuFEx w kieszeni wiążącej białka. W sytuacji ograniczonej przestrzeni, wymuszonej bliskości różnych grup funkcyjnych obecnych w białkach oraz różnych czynników chemicznych (np. sieci wiązań wodorowych), wiązanie S-F może zostać zerwane z wytworzeniem nowego wiązania pomiędzy siarką a łańcuchem bocznym aminokwasu. Cząsteczka łączy się wtedy z białkiem wiązaniem kowalencyjnym trwale zmieniając jego właściwości (np. hamując aktywność enzymatyczną). Zjawisko to wykorzystywane jest min. do projektowania małowiązanych inhibitorów, jednak przypadku nukleotydów i kwasów nukleinowych jest niemal nieznan. W celu wstępnego rozpoznania potencjału takiego podejścia w kontekście chemii i biochemii nukleotydów, wprowadziliśmy grupę typu SuFEx w odpowiednią pozycję monofosforanu guanozyny otrzymując bardzo silny inhibitor ludzkiej endonukleazy CNIIIB. Stosując spektrometrię mas udowodniliśmy, że efekt hamowania właściwości katalitycznych wynikał, zgodnie z założeniem, z kowalencyjnego (czyli trwałego) połączenia enzymu z inhibitorem. Wynik ten stanowi punkt wyjścia dla przedstawionego projektu, w ramach którego planujemy szeroko zakrojone badania nad zastosowaniem chemii typu SuFEx do modyfikacji nukleotydów i kwasów nukleinowych (przede wszystkim mRNA) oraz badań nad białkami zaangażowanymi ich rozpoznanie i metabolizm.

Zakończona sukcesem realizacja tego projektu po pierwsze pozwoli odpowiedzieć na pytania jakie białka oddziałują z poszczególnymi nukleotydami lub fragmentami mRNA w warunkach komórkowych, a po drugie pozwoli selektywnie wpływać na procesy w których uczestniczy mRNA. W efekcie, pozytywne wyniki tego projektu dostarczą nową wiedzę i narzędzia, które pozwolą na lepsze poznanie procesów komórkowych związanych z mRNA i funkcją enzymów zaangażowanych w jego metabolizm (degradacja, translacja). Zrozumienie czynników wpływających na selektywność wiązania mRNA z poszczególnymi białkami pomoże w przyszłości racjonalnie projektować bezpieczne terapeutyki o podwyższonej skuteczności.