

Numer rejestracyjny wniosku: 645657; kierownik projektu mgr Krzysztof Polaczek

## Opracowanie i badanie peptydowych inhibitorów fuzji błon flawiwirusów, w oparciu o region STEM białka E wirusa kleszczowego zapalenia mózgu

Flawiwirusy to rodzina wirusów, obejmujących patogeny takie jak wirus ZIKA czy Denga. W Europie i na terenie północnej Azji dominującym przedstawicielem tej rodziny jest jednak wirus kleszczowego zapalenia mózgu (KZM), którego obecność stanowi poważny problem zdrowotny m.in. ze względu na brak specyficznych metod leczenia. Co więcej, postępujące zmiany klimatyczne prowadzą do rozszerzenia siedlisk kleszczy – głównego wektora przenoszenia tego wirusa, powodując stały wzrost liczby nowych zakażeń. Naszą propozycją walki z KZM jest wykorzystanie peptydów, stanowiących fragmenty strukturalnego białka E. Białko to tworzy zewnętrzny płaszcz wirusa, który przechodzi zmiany konformacyjne wywołane niskim pH tuż po wnikięciu do komórki na drodze endocytozy. W wyniku tych zmian na powierzchni wirusa tworzą się białkowe trimery niezbędne do powstawania porów, przez które następuje transfer wirusowego RNA do komórki gospodarza. Dotychczasowe badania wykazały, iż analogiczne fragmenty białek wirusa Denga czy ZIKA, skutecznie blokują fuzję błon wirusa i gospodarza. Mając na uwadze strukturalne podobieństwo i wspólny mechanizm wnikania flawiwirusów, mogą one być również wykorzystane jako nowy typ strategii terapeutycznych lub profilaktycznych w walce z KZM oraz innych wirusów w obrębie tej rodziny.

Dlatego, głównym celem naszego projektu jest opracowanie nowych związków peptydowych zdolnych do zaburzenia procesu fuzji błon wirusa KZM i komórki gospodarza oraz szczegółowe zbadanie ich mechanizmu działania. Uważamy, że zaprojektowane w ten sposób cząsteczki będą wykazywały podobny mechanizm, do tego opisanego dotychczas dla innych flawiwirusów. Związki te mają za zadanie jednoczesne wiązanie się z błoną wirusa i białkami powierzchniowymi, a w efekcie - hamowanie tworzenia porów i transfer wirusowego RNA do wnętrza komórki. Ze względu na relatywnie niską toksyczność, dużą różnorodność strukturalną i łatwość syntezy, peptydy stanowią wartościowe narzędzie w badaniach *in vitro* nad mechanizmami działania m.in. związków przeciwwirusowych. Stanowią one również świetne narzędzie do poszukiwania struktur wiodących, których dalsza modyfikacja umożliwia otrzymanie stabilnych proteolitycznie i metabolicznie potencjalnych terapeutyków.

Projekt obejmuje trzy główne obszary badawcze: **1) badanie oddziaływań z błonami lipidowymi**, których celem jest śledzenie zmian konformacyjnych peptydów w obecności liposomów za pomocą spektroskopii dichroizmu kołowego, identyfikacja kluczowych reszt aminokwasowych, kotwiczących peptydy w błonie z wykorzystaniem spektroskopii NMR oraz badania mechanizmu interakcji z błonami lipidowymi z wykorzystaniem spektroskopii impedancyjnej (EIS); **2) badania biologiczne**, które pozwolą na określenie cytotoksyczności otrzymanych związków oraz hamowania efektu cytopatycznego względem linii komórkowych zakażonych wirusem KZM oraz innych flawiwirusów; **3) analiza powinowactwa peptydów do powierzchniowego białka E**, z wykorzystaniem mikroskalowej termoforezy kapilarnej oraz dla najbardziej aktywnych związków - badanie metodą Biotin-Streptavidin pull down sprzężonej z elektroforezą typu SDS-PAGE, umożliwiające ocenę powinowactwa do białka E w różnych stanach konformacyjnych. Dodatkowo, planujemy wykorzystać metody komputerowego projektowania wspomaganego sztuczną inteligencją (AI), w celu racjonalizacji w projektowaniu i optymalizacji sekwencji nowych peptydów.

Badania umożliwią opracowanie związków zdolnych do blokowania transferu wirusowego RNA na etapie fuzji błon wirusa oraz lepszego zrozumienia mechanizmu ich działania. Tego typu podejście może w przyszłości doprowadzić do opracowania nowego typu terapeutyków względem flawiwirusów.

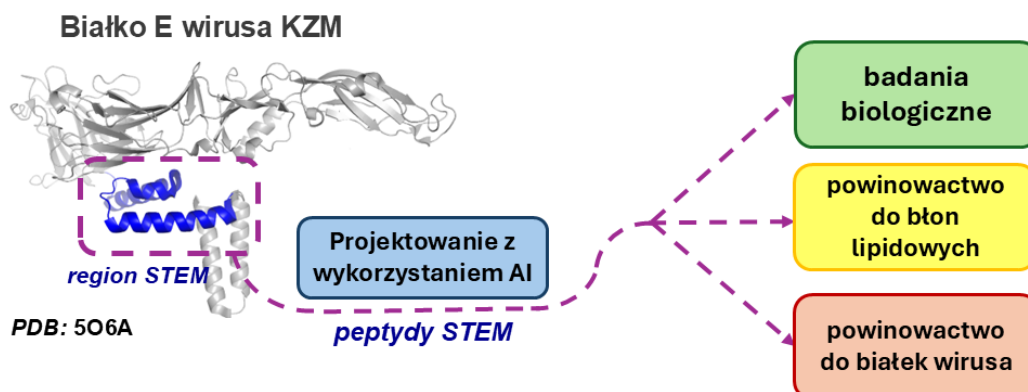


Diagram koncepcyjny projektu