



KAPITAŁ LUDZKI  
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI  
FUNDUSZ SPOŁECZNY



**Małgorzata Szelağ**  
**Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Wydział Biologii**  
**Zakład Genetyki Molekularnej Człowieka**

Stypendystka projektu pt. „Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski”, Poddziałanie 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

**Porównawcze modelowanie *in silico* białek STAT i IRF, jako nowe podejście do identyfikacji specyficznych związków chemicznych, działających jako inhibitory funkcjonalne**

Rodziny STAT (przebieżniki sygnału i aktywatory transkrypcji) i IRF (czynniki regulujące interferony) to białka, zbudowane z wielu domen strukturalnych. Biorą one udział w regulacji fundamentalnych procesów komórkowych, ale przede wszystkim współdziałają ze sobą w obronie organizmu przed patogenami oraz w przekazywaniu sygnałów w komórkach układu odpornościowego, związanych ze stanem zapalnym czy nowotworami. Cytokiny i czynniki wzrostu to główne narzędzia organizmu do walki z różnymi wyzwaniami immunologicznymi. STAT-y są aktywowane przez sygnały pochodzące od interferonów (IFN), interleukin (IL) i czynników wzrostu. Onkoproteiny również są aktywatorami STAT. Rodzina STAT składa się z siedmiu białek: STAT1, -2, -3, -4, -5A, -5B i -6, strukturalnie zbudowanych z pięciu domen. Aktywacja STAT indukowana jest przez fosforylację kluczowej reszty tyrozynowej w transaktywacyjnej domenie STAT. Prowadzi to do kaskady zdarzeń sygnalizacyjnych włączając dimeryzację STAT-STAT poprzez wzajemne oddziaływanie typu domena SH2-fosfotyrozyna (pTyr), migrację dimerów do jądra komórkowego, przyłączenie DNA i indukowanie transkrypcji genów docelowych w jądrze komórkowym. IRF-y są aktywowane przede wszystkim przez cytoplazmatyczne receptory rozpoznające wzorce (PRR) oraz są ściśle związane ze szlakiem sygnalizacyjnym receptorów Toll-podobnych (TLR). Mogą jednakże ulegać aktywacji przez interferony i interleukiny. Rodzina IRF składa się z dziewięciu białek: IRF1, -2, -3, -4, -5, -6, -7, -8 i -9, strukturalnie zbudowanych z konserwatywnych domen, z których najbardziej charakterystyczne są: domena wiążąca DNA (DBD) i domena regulatorowa. Aktywacja IRF-ów (niekiedy indukowana przez fosforylację kluczowej reszty serynowej) prowadzi do migracji do jądra komórkowego, przyłączenia do DNA i indukowania transkrypcji genów docelowych.

Anormalna aktywacja STAT- i IRF-zależnych szlaków sygnalizacyjnych występuje w wielu jednostkach chorobowych, spośród których można wymienić: astmę i alergię (STAT6), choroby autoimmunologiczne (STAT1, STAT2, STAT4, IRF5 i IRF9), choroby układu sercowo-naczyniowego (STAT1, STAT2, IRF8 i IRF9) oraz rozwój i progresję nowotworów (STAT3, STAT5A i IRF4). Inhibicja białek STAT i IRF może być cenna z punktu widzenia leczenia tych schorzeń.

Realizując swoją pracę doktorską dążę do zrozumienia molekularnego mechanizmu aktywacji STAT-ów, czyli wiązanie z receptorami i powstawanie dimerów poprzez specyficzne oddziaływanie peptydu fosfotyrozynowego (pTyr) z domeną SH2, we wszystkich STAT-ach. Ponadto chciałabym scharakteryzować sposób wiązania STAT i IRF z DNA, dynamikę asocjacji/dysocjacji kompleksów białko-DNA, jak również wzajemne oddziaływanie tych białek w makrokompleksach (np. ISGF3 zbudowany z STAT1, STAT2 i IRF9). Domeny strukturalne odpowiedzialne za wiązanie z DNA (STAT i IRF) oraz proces dimeryzacji (STAT) są wysoce konserwatywne i homologiczne. Oznacza to, że istniejące podobieństwa są istotnymi przeszkodami w specyficznej inhibicji STAT-ów i IRF-ów (np. tworzenie heterodimerów, wiązanie się z tą samą sekwencją DNA). Inhibicja wyżej wymienionych oddziaływań stanowi atrakcyjny cel terapeutyczny. Znalezienie różnic w budowie homologicznych domen tych białek, przyczyni się do skuteczniejszego wyszukiwania specyficznych inhibitorów w wirtualnych badaniach przesiewowych bibliotek lekopodobnych substancji i umożliwi znalezienie związków działających w sposób selektywny.

Schorzenia związane z dysfunkcją układu odpornościowego to powszechne zagrażające życiu choroby, ściśle związane z naszym trybem życia. Według WHO ilość przypadków raka wzrośnie o 57% w przeciągu następnych 20 lat. Ilość osób, które umrą w wyniku chorób sercowo-naczyniowych wzrośnie do 23.3 miliona w 2030 roku. Aktualnie 235 milionów osób cierpi na astmę, z czego większość to dzieci. W krajach rozwijających się 347 milionów osób ma cukrzycę. W 2030 roku będzie to jedna z siedmiu głównych przyczyn śmierci. Choroby autoimmunologiczne atakują kobiety i mężczyzn w każdym wieku. Toczeń rumieniowaty układowy stanowi w przybliżeniu 70% wszystkich przypadków kolagenoz, z czego połowa jest związana z uszkodzeniem narządów głównych: serce, płuca, nerki i mózg. Dlatego też ogromne znaczenie ma pogłębianie wiedzy na temat selektywnej inhibicji STAT-ów i IRF-ów bez wywierania wpływu na pozostałe białka należące do tych rodzin. Powinno się wkładać więcej zaangażowania w połączenie doświadczeń eksperymentalnych z poznawaniem biofizykochemicznej natury badanego mechanizmu bądź procesu z wykorzystaniem narzędzi, jakie oferuje bioinformatyka czy chemia teoretyczna. Po zrealizowaniu, mój projekt doktorski wniesie wiele istotnych informacji do zagadnienia, jakim jest mechanizm dimeryzacji rodziny STAT i pozwoli na poznanie różnic uzależnionych od budowy poszczególnych białek. Modelowanie inhibicji białek STAT, pozwoli na opracowanie

mechanizmu selektywnej manipulacji ich aktywności. Podobnie w przypadku rodziny białek IRF, zbadanie mechanizmu oddziaływania domeny DBD z DNA wyznaczy nowy, do tej pory nie badany, kierunek wpływania na anormalną aktywność szlaków prozapalnych. Ponadto identyfikacja alternatywnych miejsc wiążących inhibitory pozwoli na modulowanie aktywności STAT-ów i IRF-ów niezależne od dimeryzacji czy oddziaływania z DNA. Na podstawie wirtualnych porównawczych badań przesiewowych dążę do znalezienia nowych specyficznych inhibitorów dla potencjalnych celów terapeutycznych w miażdżycy – STAT1, toczeniu – STAT2 oraz chorobach nowotworowych – STAT3 i STAT5A, przeznaczonych do testowania w modelach komórkowych *in vitro*, które opracowaliśmy w Zakładzie Genetyki Molekularnej Człowieka, na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza.