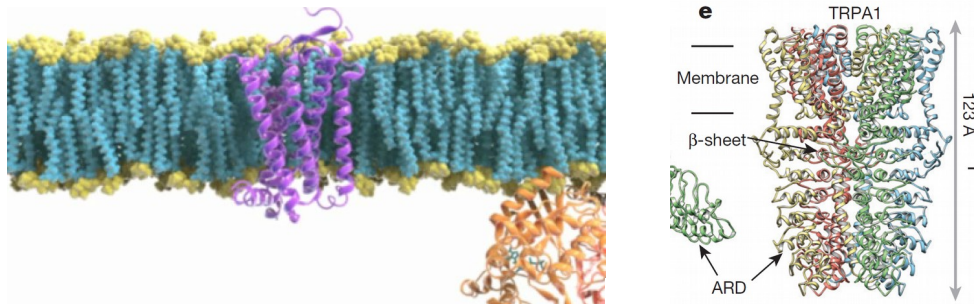


## Počítačové modelování membránových proteinů

RNDr. Ivan Barvík PhD. ([ibarvik@karlov.mff.cuni.cz](mailto:ibarvik@karlov.mff.cuni.cz) - <http://fu.mff.cuni.cz/biomolecules/> )

V rámci projektu či bakalářské/diplomové práce bude zkoumána struktura a dynamika vybraného membránového proteinu ukotveného v buněčné membráně a obklopeného vodní obálkou v závislosti na interakci s různými ligandy. MD simulace budou realizovány v superpočítačovém MetaCentru [<http://metavo.metacentrum.cz/cs/>].



Membránové proteiny jsou cílem více než poloviny současných léků. Experimentálně je přitom nesmírně obtížné určit jejich prostorové uspořádání na atomární úrovni. V proteinové databance tak membránové proteiny představují jenom zlomek dosud rozřešených struktur [1]. To vytváří obrovský prostor pro počítačové modelování [2]. Na základě dostupných krystalových struktur je možné vytvářet tzv. homologní modely sekvencně či strukturně blízkých membránových proteinů [3]. Dynamiku těchto modelů je možné zkoumat prostřednictvím metody molekulárně-dynamických (MD) simulací, která spočívá v numerickém řešení klasických pohybových rovnic [4-11]. Silové působení mezi atomy je přitom popsáno pomocí tzv. silového pole naparametrizovaného prostřednictvím kvantově-chemických výpočtů [12-14]. Základy metodiky MD simulací biomolekul položili nositelé Nobelovy ceny za chemii z roku 2013 (A. Warshel, M. Karplus, M. Levitt) v první polovině sedmdesátých let. V databázích malých molekul je pak možné hledat vhodné ligandy, které se budou dostatečně silně vázat k modelům medicínsky zajímavých membránových proteinů [15-16]. Alternativou je využít software, který dokáže reálně syntetizovatelný ligand s vlastnostmi léku nechat ve vazebném místě membránového proteinu „vyrůst“ [17]. Tzv. alchymistické molekulárně-dynamické simulace pak umožňují precizně postihnout relativní rozdíly ve vazebné volné energii různých ligandů do vazebného místa medicínsky zajímavého membránového proteinu [18-19].

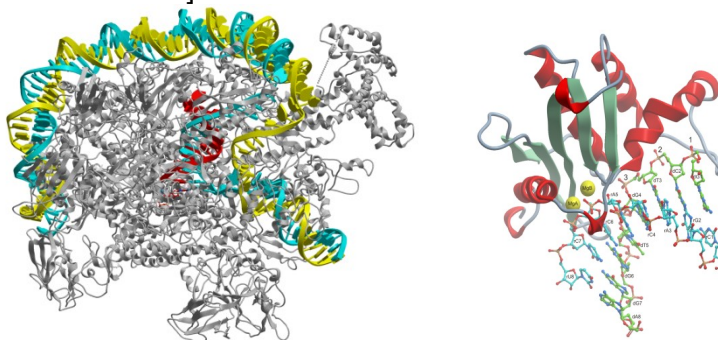
V tomto ohledu je v posledních letech v centru zájmu rodina tzv. receptorů svázaných s G proteiny (GPC receptory) [20-26]. Jedná se o cca. 800 membránových receptorů. Díky interakci s ligandem na vnější straně membrány dochází ke změně prostorového uspořádání receptoru i na vnitřní straně membrány. Interakcí receptoru s tzv. G-proteiny je posléze předán signál dále do nitra buňky. Díky GPC receptorům tak může buňka reagovat na rozmanité vnější podněty. V současné době je na GPC receptory cílena zhruba 1/3 všech současných léků. Racionálnímu návrhu struktury potenciálních léků interagujících s GPC receptory prostřednictvím počítačového modelování dlouho bránila absence výchozích krystalových struktur v proteinové databance. V tomto ohledu však v posledních letech došlo k zásadnímu průlomu (za což R. Lefkowitz a B. Kobilka získali v roce 2012 Nobelovu cenu za chemii [21-22]). Díky dlouholeté spolupráci se skupinou organických chemiků v UOCHB AV ČR syntetizujících analoga nukleových kyselin, je pro nás zajímavý např. medicínsky nesmírně důležitý adenosinový A2A GPC receptor [26]

Dále na FÚ MFF UK provádíme MD simulace modelů tzv. TRPA1 iontového kanálu [27-29]. Naše modely ověřují na spolupracujícím pracovišti ve Fyziologickém Ústavu AVČR prostřednictvím bodových mutací [28-29]. Membránové proteiny z rodiny TRP přitom nabízejí obrovský potenciál pro tvorbu nových analgetik [30-41].

## Počítačové modelování komplexů nukleových kyselin a proteinů

RNDr. Ivan Barvík PhD. ([ibarvik@karlov.mff.cuni.cz](mailto:ibarvik@karlov.mff.cuni.cz) - <http://fu.mff.cuni.cz/biomolecules/> )

V rámci projektu či bakalářské/diplomové práce bude zkoumána struktura a dynamika vybraného proteinu obklopeného vodní obálkou a jeho interakce s ligandy na bázi chemicky modifikovaných nukleových kyselin. MD simulace budou realizovány v superpočítačovém MetaCentru [<http://metavo.metacentrum.cz/cs/>].



V posledních letech došlo k zásadnímu přehodnocení úlohy, jakou mají nukleové kyseliny v metabolismu buňky. V roce 1998 byla objevena tzv. RNA interference, kdy krátká vlákna siRNA či miRNA molekul selektivně zamezují expresi genetické informace z mRNA. V roce 2006 získali objevitelé RNAi - A. Fire a C. Mello - Nobelovu cenu. Nedlouho poté bylo zjištěno, že krátké nukleové kyseliny se nacházejí i v tzv. exosomech či dokonce volně cirkulují v krvi pouze v komplexu s enzymem Argonaute, což buňkám umožňuje prostřednictvím RNAi „přeprogramovat“ okolní buňky (např. při šíření metastáz či při imunitní reakci). V posledních letech se dále ukazuje, že drtivá většina lidské DNA je transkribována, přičemž dochází k produkci obrovského množství různě dlouhých molekul RNA (od krátkých miRNA až po tzv. long non-coding RNA) ovlivňujících expresi genetické informace. Ještě před pár lety byla přítomnost za užitečná považována pouze 2% DNA kódující geny. To jak buňka prostřednictvím regulačních RNA ovládá expresi genetické informace z DNA se stalo inspirací pro vývoj potenciálních léků.

Krátká syntetická vlákna chemicky modifikovaných nukleových kyselin (tzv. antisense oligonukleotidy) mohou totiž tvořit dvoušroubovicovité komplexy s mRNA a selektivně tak inhibovat expresi genetické informace z vybraného konkrétního genu [1-6]. To může být podstatně efektivnější než inhibice výsledných proteinů prostřednictvím malých molekul (klasické léky). V bakteriích pak mohou antisense oligonukleotidy komplexovat s rRNA a znemožnit tak translaci genetické informace ribosomy. Antisense oligonukleotidy mohou navíc prostřednictvím enzymů RNáza H a Argonaute vyvolat degradaci cílové mRNA či rRNA [1-2]. Chemicky modifikované oligonukleotidy je dále možné využít k tomu, aby imitovaly přítomnost virové RNA v buňce a stimulovaly imunitní systém prostřednictvím interakce s tzv. Toll-like receptorem 9. Chemicky modifikované 25-oligoadenyláty je možné využít k vyvolání dimerizace enzymu RNáza L, který degraduje virovou RNA [7]. Analoga dinukleotidů či nukleotidů pak mohou působit jako inhibitory virové či bakteriální RNA polymerázy atd. [8-12].

Chemicky modifikované nukleové kyseliny (od nukleosidů, přes dinukleotidy, tetranukleotidy až po vlákna o délce 10-25 nukleotidů) tedy mohou být rozmanitým způsobem využity jako chemoterapeutika. Chemické modifikace je obvykle učiní stabilními v prostředí buňky. Počítačové modelování pak může významně napomoci při optimalizaci chemických modifikací tak, aby výsledné molekuly optimálně interagovaly s enzymy (virovou RNA dependentní RNA polymerázou, RNázou L, RNázou H, enzymem Argonaute atd.). Na Fyzikálním Ústavu MFF UK v tomto ohledu již mnoho let spolupracujeme [1-5, 7, 10] s organickými chemiky z UOCHB AV ČR, kteří syntetizují fosfonátová analoga nukleových kyselin obsahující P-C vazbu [1, 3-5, 13-15], tedy motiv, který se osvědčil u úspěšných antivirových na bázi acyklických fosfonátů [13].