

## **Anna Philips**

Rozprawa doktorska p.t.: „Nowe metody bioinformatyczne służące do przewidywania miejsc wiązania jonów metali i niskocząsteczkowych ligandów w strukturach RNA”

Głównym celem mojej rozprawy doktorskiej było stworzenie nowych programów komputerowych służących do przewidywania oddziaływań RNA z małymi organicznymi cząsteczkami (np. potencjalnymi lekami) i jonami metali.

Realizacja niniejszego projektu ma znaczenie dla postępu badań nad biologią RNA. RNA oraz jego funkcje są obecnie jednymi z najintensywniej badanych obszarów biologii molekularnej. Tak szeroki zakres prac wynika z niedawno odkrytego faktu, iż cząsteczki te są nie tylko nośnikami informacji genetycznej, ale biorą też udział w wielu kluczowych dla organizmu procesach, m.in. odkryto, że dzięki właściwościom katalitycznym i/lub regulatorowym mają ogromny wpływ na ekspresję informacji genetycznej.

W celu zrozumienia molekularnych mechanizmów działania RNA niezbędna jest wiedza o jego strukturze i oddziaływaniach z innymi cząsteczkami, gdyż to one determinują jego funkcje. Wiele z poznanych niekodujących RNA posiada dobrze określoną strukturę przestrzenną, stabilizowaną przez jony metali, gdyż przeprowadzenie reakcji enzymatycznych wymaga precyzyjnego ułożenia atomów w przestrzeni. Badania nad oddziaływaniami RNA z ligandami stwarzają ogromne perspektywy dla współczesnej medycyny. Obecnie w wielu ośrodkach na świecie prowadzone są prace nad ich wykorzystaniem w terapii chorób bakteryjnych, wirusowych, nowotworowych oraz zwyrodnieniowych. W każdym z wyżej wyniesionych przypadków uzyskanie pożądanego efektu terapeutycznego będzie możliwe dzięki odpowiednio przygotowanym ligandom, oddziałującym w pożądanym sposób z RNA. Dlatego też, tak ważne jest poznanie mechanizmów oddziaływania RNA z innymi cząsteczkami, a co za tym idzie, możliwość przewidywania miejsc ich wiązania. W przypadku, gdy istnieją struktury krystaliczne możliwa jest analiza oddziaływań RNA z innymi związkami – zarówno z jonami, czy ligandami, ale także białkami i kwasami nukleinowymi. W przypadku, gdy dane te nie są dostępne, jedyną alternatywą jest skorzystanie z narzędzi bioinformatycznych. Konieczność podjęcia realizacji prezentowanego projektu była motywowana brakiem wydajnych i w pełni automatycznych narzędzi tego typu.

Powstałe w realizacji prezentowanej pracy doktorskiej narzędzia umożliwiają modelowanie kompleksów struktur RNA z jonami metali i niskocząsteczkowymi ligandami.

Ocena siły wiązania opiera się na potencjałach statystycznych wyprowadzonych z bazy danych znanych struktur. Podejście to zostało wcześniej z powodzeniem zastosowane przez inne grupy badawcze do modelowania kompleksów małych cząsteczek z białkami (np. w metodzie DrugScore). W ramach niniejszego projektu został stworzony potencjał anizotropowy bazujący na wzajemnych odległościach atomów RNA i jonu metalu/atomów liganda, jak i na ich wzajemnej orientacji w przestrzeni. W oparciu o ten potencjał opracowano oprogramowanie komputerowe MetalionRNA, które wyznacza prawdopodobne miejsca wiązania jonów metali w dowolnej cząsteczce RNA o znanej strukturze przestrzennej oraz oprogramowanie LigandRNA, które służy do przewidywania miejsc wiązania i relatywnej siły wiązania RNA z niskocząsteczkowymi ligandami. Działanie obu narzędzi jest podobne, oba programy używają algorytmu który rozpina wokół zadanej cząsteczki RNA gęstą trójwymiarową siatkę sześcienną i wyznacza dla każdego sześciannu w tej sieci odpowiednią wartość preferencyjnego wiązania jonu w przypadku MetalionRNA i każdego typu atomu liganda przy zastosowaniu LigandRNA. Wartości te wykorzystują następujące funkcje: funkcja wyznaczająca potencjalne miejsca wiązania się jonów metali (w MetalionRNA) i funkcja oceniająca alternatywne konformacje (pozy) liganda/-ów względem receptora RNA (w LigandRNA). Wymienione funkcje zostały skalibrowane w taki sposób, aby móc za ich pomocą odróżniać jony/ligandy silnie wiążące się do zadanej cząsteczki RNA od tych, które nie wiążą się wcale lub wiążą się bardzo słabo.

Opracowywana w trakcie przebiegu niniejszego projektu metoda MetalionRNA została przetestowana poprzez walidację krzyżową (ang. cross validation) i analizę ROC w odniesieniu do zestawu danych znanych kompleksów RNA-jon metalu. Wyniki walidacji jasno potwierdziły wysoką skuteczność metody. Warto podkreślić, iż rezultaty testów, jak i sama metoda zostały opisane w publikacji wydanej w prestiżowym czasopiśmie naukowym *Bioinformatics*.

By udowodnić skuteczność metody LigandRNA zostanie ona użyta do oceny wiązań reprezentatywnych kompleksów RNA-ligand (publikacja w czasopiśmie RNA). Ponadto program LigandRNA posłuży do przeprowadzenia wirtualnej analizy przesiewowej dla struktur centrum peptydylotransferazy i centrum dekodującego bakteryjnych rybosomów, które są celem działania wielu antybiotyków. Zaproponowane przez LigandRNA potencjalne nowe inhibitory rybosomu bakteryjnego zostaną przetestowane doświadczalnie (już poza ramami niniejszego projektu) w laboratorium prof. Bujnickiego w Międzynarodowym Instytucie Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie.