

Zastosowanie technik symulacyjnych do modelowania struktur dimeru mitofuzyny 2 i jej patologicznych mutantów

Krystiana A. Krzyśko¹, Łukasz Charzewski¹

¹ Wydział Fizyki, Uniwersytet Warszawski, ul. L. Pasteura 5, 02-093 Warszawa

Mitofuzyna 2 (MFN2) jest białkiem zewnętrznej błony mitochondrialnej kodowanym w genomie jądrowym. Uczestniczy w procesach fuzji mitochondriów oraz ich oddziaływaniach z siateczką śródplazmatyczną. Zaburzenie równowagi fuzji i fragmentacji sieci mitochondrialnej zwiększa wrażliwość komórki na stres oksydacyjny. Prawdopodobnie MFN2 bierze też udział w regulacji transkrypcji genów kodujących białka łańcucha oddechowego. Zmiany stężenia MFN2 oraz mutacje modyfikujące sekwencję aminokwasową wykrywa się w niektórych przypadkach neuropatii obwodowej, cukrzycy i chorób serca.

W genie mitofuzyny 2 znanych jest niemal 60 mutacji. Większość z nich to mutacje punktowe zmiany sensu. Jednak znane są także mutacje typu delecja/insercja nukleotydów. Nas zainteresowały mutacje prowadzące do choroby Charcot-Marie-Tooth typu 2A (CMT2A). Najczęściej spotykaną mutacją wśród niespokrewnionych pacjentów z CMT2A jest mutacja 94 kodonu, w wyniku której reszta argininy ulega zamianie na resztę glutaminy lub tryptofanu. Mutacje te u pacjentów dają różne objawy kliniczne - R274W powoduje silniejsze osłabienie organizmu niż R274Q oraz dodatkowo wywołuje łagodne upośledzenie umysłowe [1]. Ta neuropatia obwodowa nie jest w pełni zrozumiała, a mechanizm molekularny pozostaje nieznanym, niemniej eksperymenty z komórkami wydzielającymi MFN2 wykazały zwiększoną biogenezę mitochondriów i metabolizm energetyczny [2]. Dlatego zdecydowaliśmy się zbadać wpływ tej mutacji na strukturę białkową, a ponieważ aminokwas 274 zlokalizowany jest w domenie katalitycznej, może mieć wpływ na oddziaływanie z natywnym ligandem. W toku prac zainteresowaliśmy się również innymi mutacjami w okolicy miejsca aktywnego.

Korzystając z technik modelowania homologicznego na podstawie białka BDLP [3] oraz metod mechaniki i dynamiki molekularnej przygotowaliśmy pełny strukturalny model MFN2. Ponieważ MFN2 występuje powszechnie w postaci dimeru, dlatego przygotowaliśmy modele dimerów osadzonych w warstwie lipidowej. Ponadto tworzenie kompleksu MNF2-GTP wpływa na dimeryzację tego białka, dlatego określiliśmy najbardziej prawdopodobne konformacje GTP w kompleksie z MNF2 przy użyciu dokowania molekularnego. Tak otrzymane dimery kompleksów MNF2-GTP poddano symulacjom metodami dynamiki molekularnej. Podczas 44 ZFP przedstawione zostaną najnowsze wyniki tych badań.

[1] Kotruchow K., Kabzinska D. & Kochanski, A. *Acta Neurobiol. Exp. (Wars.)* **75**, 1-15 (2015).

[2] Kawalec, M., Boratyńska-Jasińska, A., Beręsewicz, M., Dymkowska, D., Zabłocki, K., Zabłocka, B., *PLoS. ONE*. Jul 31; **10** (7) (2015)

[3] Low, H.H. & Lowe, J., *Nature* **444**, 766-769 (2006).

Podziękowania: Praca była częściowo finansowana z funduszy BST-176600/BF i z grantu NCN NN402474640. Autorzy dziękują prof. B. Zabłockiej, M. Beręsewicz i A. Boratyńskiej-Jasińskiej z Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mossakowskiego PAN za udostępnienie wyników ich badań eksperymentalnych.