

Adenowirusy są dużymi wirusami pozbawionymi otoczki błonowej których genom zbudowany jest z dwuniciowego DNA. U ludzi infekcje adenowirusami zwykle przebiegają łagodnie, ale u dzieci, osób starszych i pacjentów z niedoborem odporności mogą mieć poważne konsekwencje. Mutanty adenowirusów mogą służyć jako narzędzia do wprowadzania do komórek ludzkich genów mających potencjał terapeutyczny. Wykorzystuje się je w próbach stworzenia szczepionek oraz w próbach terapii onkologicznych. Dlatego szczegółowa znajomość procesów zachodzących w czasie replikacji adenowirusów może mieć praktyczne znaczenie przy próbach stworzenia lepszych terapii.

W czasie namnażania wirusów produkowane są duże ilości kilku typów białek. Białka wirusowe są często syntetyzowane w postaci prekursorów które ulegają specyficznemu proteolizie i zmianom strukturalnym dla uformowania dojrzałych białek. Białka będące składnikami cząsteczek wirusowych mają często tendencję do agregacji. Wirusy korzystają w procesie syntezy własnych białek z pomocy białek opiekuńczych komórki gospodarza. Białka opiekuńcze, nazywane często białkami szoku cieplnego, biorą udział w nadawaniu i utrzymywaniu prawidłowej struktury przestrzennej białek w komórce, a w procesie infekcji wirusowej pełnią tę samą rolę dla białek wirusa. Jedno z białek opiekuńczych, nazywane Hsp90, okazało się niezbędne dla namnażania wielu wirusów, dlatego postanowiliśmy sprawdzić czy jest tak również w przypadku ludzkiego adenowirusa 5.

Rezultaty naszych dotychczasowych badań pokazują, że zahamowanie aktywności Hsp90 powoduje całkowite zahamowanie namnażania adenowirusa 5 i silne zahamowanie procesu replikacji wirusowego DNA. Proponowane badania mają na celu ustalenie, jakie procesy w trakcie infekcji wirusem są zakłócone przez brak Hsp90, oraz jakie białka wirusa są zależne od opiekuńczej aktywności Hsp90. Wpływ hamowania Hsp90 na syntezę białek wirusa będzie badany przy użyciu przeciwciał rozpoznających specyficznie te białka. Przeciwciała te zostaną użyte dla określenia ilości i lokalizacji w komórce syntetyzowanych białek wirusa. Sprawdzimy, które białka tworzą kompleksy z Hsp90 w komórkach ludzkich. Tworzenie kompleksów będzie również badane przy użyciu techniki, w której wiązanie się dwu białek prowadzi do aktywacji genu produkującego inne białko, o łatwej do zmierzenia aktywności enzymatycznej (ang. two-hybrid assay). Użyjemy również mikroskopu elektronowego dla obserwacji lokalizacji wewnątrz komórki tworzących się wirusów.

W cytopazmie ludzkich komórek występują dwa białka Hsp90, nazywane Hsp90 α i β . Zauważyliśmy, że jedynie Hsp90 β jest niezbędne dla namnażania adenowirusa a samo Hsp90 α nie wystarcza dla namnażania tego wirusa. Zamierzamy sprawdzić, które fragmenty Hsp90 β są niezbędne dla wspomaganie replikacji wirusa przez badanie aktywności hybrydowych Hsp90, w których fragmenty sekwencji Hsp90 β zostaną zastąpione odpowiednimi fragmentami Hsp90 α . Hsp90 wydaje się niezbędne dla namnażania wszystkich wirusów, ale rola jaką pełni jest inna w przypadku różnych wirusów. Dane zebrane w wyniku proponowanych badań pozwolą na poszerzenie wiedzy na ten temat. W badaniach nad Hsp90 często pomija się fakt, że w istocie są to dwa różne białka. Udowodnienie, że tylko Hsp90 β jest aktywne w procesie namnażania adenowirusa po raz pierwszy zwraca uwagę na to, że oba białka Hsp90 mogą pełnić różną rolę w procesie infekcji wirusowej. Inhibitory Hsp90 są intensywnie badane jako potencjalne leki w terapiach onkologicznych. Wyniki naszych badań pokażą, że związki takie mogą być potencjalnie użyteczne również w leczeniu infekcji wirusowych. Pomimo zidentyfikowania kilkuset białek oddziałujących z Hsp90 i licznych badań nad mechanizmem działania Hsp90 niewiele wiadomo na temat tych oddziaływań na poziomie struktury białek. Określenie które fragmenty Hsp90 są odpowiedzialne za aktywność opiekuńczą względem białek wirusowych poszerzy naszą wiedzę na temat mechanizmów tej aktywności.