



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗΣ

Τίτλος εκπονούμενης διατριβής:

ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΠΟΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗΣ
ΚΑΙ ΤΩΝ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ ΤΗΣ ΓΗΡΑΝΣΗΣ

2η έκθεση προόδου
ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΣ 2024 - ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ 2024

Ονοματεπώνυμο Υποψήφιου Διδάκτορα: Γιάτρο Σπυρίδων Μάριος

Αριθμός Μητρώου: 2207

Επιβλέπων Καθηγητής: Ματσούκας Μίνως-Τιμόθεος, Επίκουρος Καθηγητής

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

Ματσούκας Μίνως-Τιμόθεος, Επίκουρος Καθηγητής

Σκουρολιάκου Αικατερίνη, Καθηγήτρια

Καλατζής Ιωάννης, Καθηγητής

Το αντικείμενο της διατριβής είναι η μελέτη των μοριακών μηχανισμών της κυτταρικής αποδιαφοροποίησης, της γήρανσης και της σχέσης μεταξύ τους. Η γήρανση σε κυτταρικό επίπεδο θεωρείται επιγενετικό φαινόμενο [1] και συνεπώς για την κατανόηση της είναι απαραίτητο να μελετηθούν οι μηχανισμοί με τους οποίους το κύτταρο ρυθμίζει το επιγονιδίωμα του δηλαδή την χρωματίνη του.

Στα πλαίσια αυτά μετά από την ενδελεχή βιβλιογραφική έρευνα, επιλέχθηκε το ένζυμο Sirt6 (Nad dependent protein deacetylase 6) ώστε να μοντελοποιηθεί η αλληλεπίδραση του με την ιστόνη H3, την οποία αποκετυλιώνει με υψηλή ευαισθησία στην λυσίνη 9 (H3K9ac), μια τροποποίηση με καθοριστικό ρόλο στην αύξηση της συγγένειας (ηλεκτροστατικής έλξης) μεταξύ ιστόνης και DNA, μειώνοντας την προσβασιμότητα άλλων πρωτεϊνών (RNA μεταγραφάση, μεταγραφικοί παράγοντες) στην περιοχή αυτή [2].

Η κατάλυση της αντίδρασης αυτής περιγράφεται ως εξής [3]:

Η Sirt6 προσδένει τον συμπαράγοντα NAD⁺ στο εσωτερικό του υδρόφοβου καναλιού μέσα σε μια κλασική τεταρτοταγή δομή Rossmann fold. Στην έξοδο του καναλιού, προσδένεται το υπόστρωμα, που στην περίπτωση αυτή είναι η ακετυλιωμένη πλευρική αλυσίδα της λυσίνης 9 του αμινοτελικού άκρου της ιστόνης 3. Η ριβόζη του NAD⁺ χάνει το πρωτόνιο της στο οξυγόνο 3 δ, με το πρωτόνιο του αζώτου 1 από το νικοτιναμίδιο να μεταπηδά από αυτό στο οξυγόνο της ριβόζης (σπάζοντας τον δεσμό νικοτιναμιδίου ADPR) και μετά στο οξυγόνο της ακετυλομάδας της λυσίνης, με τελικό προορισμό το άζωτο της λυσίνης όπου και γίνεται πυρηνόφιλη επίθεση στον δεσμό άνθρακα αζώτου, με τον δεσμό να σπάει και την ακετυλομάδα πλέον προσδεδεμένη στην ADP ριβόζη με αιθερικό δεσμό.

Σκοπός μας είναι να αυξήσουμε την ταχύτητα της αντίδρασης αυτής, καθώς θεωρείται πως η υπερλειτουργία της Sirt6 μπορεί να βελτιώσει τον επιγενετικό θόρυβο αλλά και την γονιδιακή αστάθεια [4]. Έτσι θελήσαμε να εξετάσουμε αφενός την δομική πληροφορία για το σύμπλοκο του ενζύμου με το νουκλεόσωμα, και αφετέρου την στόχευσή του με μικρό μόριο ενεργοποιητή. Το σύστημα μοντελοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το AlphaFold3 [5], ενσωματώνοντας το ένζυμο, το υπόστρωμα (ιστόνη H3) τον συμπαράγοντα (NAD⁺) και έναν γνωστό ενεργοποιητή (12q) [6], με τα 4 να βρίσκονται στην ίδια κοιλότητα επαφής. Η κοιλότητα αυτή, χρησιμοποιήθηκε για εικονική σάρωση βιβλιοθήκης με μικρά μόρια, ώστε να βρεθούν πιθανοί προσδέτες. Η ευκινησία της κοιλότητας της πρωτεΐνης μελετήθηκε με προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής.

Για την εικονική σάρωση χρησιμοποιήθηκε η βιβλιοθήκη της molport. Τα smiles της βιβλιοθήκης μετατράπηκαν σε τρισδιάστατες διαμορφώσεις χρησιμοποιώντας το rdkit [7]. Οι ενώσεις πρωτονιώθηκαν σε PH 7, μέσω του openbabel [8]. Αφαιρέθηκαν όσες δεν ικανοποιούσαν βασικά κριτήρια φαρμακευτικής καταλληλότητας (διαπερατότητα μεμβρανών, διαλυτότητα, τοξικότητα, ειδικότητα ως προς την πρόσδεση), δηλαδή όσες ενώσεις ήταν εκτός των κατωφλίων των κανόνων του Lipinski [9] ή χαρακτηρίζονται ως PAINS [10] ή Brenk [11].

Επόμενο βήμα είναι η αξιολόγηση της σημαντικότητας των αλληλεπιδράσεων που παρατηρούνται στις προβλεπόμενες πόξες, σε συνδυασμό με πειραματικά δεδομένα αξιολόγησης βιοδραστικότητας αλλά και δομικά δεδομένα των μοντέλων του AlphaFold3. Παρόμοια δομική ανάλυση της αλληλεπίδρασης του με το νουκλεόσωμα έπεται και για τον βασικό ρυθμιστή της επαγωγής της πολυδυναμίας, Oct4 [11], και υπογήφιο παράγοντα κλειδί στην αναγέννηση ιστών ακόμη και σε παθήσεις όπως η προγηρία [12], αλλά και για πρωτεΐνες που ενδέχεται να μπορούν να προκαλέσουν την έκφραση του και είναι σημαντικά πιο βολικές για την στόχευση τους με μικρά μόρια ή και πεπτίδια, όπως η διαμεμβρανικοί υποδοχείς των οικογενιών Frizzled, BMPR, IGF1R, FGFR, ACVR [13].

Βιβλιογραφία:

- [1] Wang, Kang, et al. "Epigenetic regulation of aging: implications for interventions of aging and diseases." *Signal Transduction and Targeted Therapy* 7.1 (2022): 374.
- [2] Korotkov, Anatoly, Andrei Seluanov, and Vera Gorbunova. "Sirtuin 6: linking longevity with genome and epigenome stability." *Trends in cell biology* 31.12 (2021): 994-1006.
- [3] Sauve, Anthony A., and Dou Yeon Youn. "Sirtuins: NAD⁺-dependent deacetylase mechanism and regulation." *Current opinion in chemical biology* 16.5-6 (2012): 535-543.
- [4] Kang, Wenjia, et al. "Activation of SIRT6 Deacetylation by DNA Strand Breaks." *ACS omega* 8.44 (2023): 41310-41320.
- [5] Abramson, Josh, et al. "Accurate structure prediction of biomolecular interactions with AlphaFold 3." *Nature* (2024): 1-3.
- [6] Chen, Xiuli, et al. "Discovery of potent small-molecule SIRT6 activators: structure–activity relationship and anti-pancreatic ductal adenocarcinoma activity." *Journal of Medicinal Chemistry* 63.18 (2020): 10474-10495.
- [7] Landrum, Greg. "RDKit: A software suite for cheminformatics, computational chemistry, and predictive modeling." *Greg Landrum* 8.31.10 (2013): 5281.
- [8] O'Boyle, Noel M., et al. "Open Babel: An open chemical toolbox." *Journal of cheminformatics* 3 (2011): 1-14.
- [9] Lipinski, Christopher A., et al. "Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings." *Advanced drug delivery reviews* 23.1-3 (1997): 3-25.
- [10] Baell, Jonathan B., and Georgina A. Holloway. "New substructure filters for removal of pan assay interference compounds (PAINS) from screening libraries and for their exclusion in bioassays." *Journal of medicinal chemistry* 53.7 (2010): 2719-2740.

[11] Brenk, Ruth, et al. "Lessons learnt from assembling screening libraries for drug discovery for neglected diseases." *ChemMedChem: Chemistry Enabling Drug Discovery* 3.3 (2008): 435-444.

[12] Shi, Guilai, and Ying Jin. "Role of Oct4 in maintaining and regaining stem cell pluripotency." *Stem cell research & therapy* 1 (2010): 1-9.

[13] Kim, Junyeop, et al. "Transcriptional activation of endogenous Oct4 via the CRISPR/dCas9 activator ameliorates Hutchinson-Gilford progeria syndrome in mice." *Aging cell* 22.6 (2023): e13825.

[14] Endo, Yoshinori, Ken-ichiro Kamei, and Miho Inoue-Murayama. "Genetic signatures of evolution of the pluripotency gene regulating network across mammals." *Genome Biology and Evolution* 12.10 (2020): 1806-1818.