

Formulár ZK - Záverečná karta projektu

Riešiteľ: Juraj Kóňa	Evidenčné číslo projektu: 0117-06
Názov projektu: Počítačové modelovanie, syntéza a biologické testovanie selektívnych inhibítorov Golgi manozidázy II	

Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený:	Chemický ústav, Centrum glykomiky, Slovenská Akadémia Vied, Bratislava
Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát):	Univerzita v Amiens, Francúzsko

Udelené patenty alebo podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory vychádzajúce z výsledkov projektu:	
Publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu (uved'te i publikácie prijaté do tlače): <i>Uvádzajte maximálne päť najvýznamnejších publikácií.</i>	J. Kóňa, I. Tvaroška "Comparative DFT study on the α -glycosidic bond in reactive species of galactosyl diphosphates", <i>Chem. Papers</i> , 2009 , 63, 598-607.
	J. Kóňa, I. Tvaroška, "Structural differences in the active sites of Golgi α -mannosidase II and lysosomal α -mannosidase: Insights from homology modeling, docking and pK _a calculations", 11th Bratislava Symposium on Saccharides, Smolenice, Slovensko, September 2008 , <i>Prednáška</i>
	C. Wheeler, G. R. Copeland, A. Siriwardena, S. Kozmon, J. Kóňa, I. Tvaroška, "Computer-aided structure-based design on selective inhibitors of Golgi mannosidase II", EUROCARB14 (14th European Carbohydrate Symposium), Luebeck, Nemecko, September 2007 , <i>Poster č.240</i>
	P. Both, L. Sobczak, C. Breton, S. Hann, K. Nöbauer, K. Paschinger, I. B.H. Wilson, J. Mucha "Distantly-related plant and nematode core α 1,3-fucosyltransferases display similar trends in structure-function relationships", <i>Glycobiology</i> , 2009 , poslané editorovi
	S. T. Ali, S. Jahangir, S. Karamat, W. M. F. Fabian, K. Nawara, J. Kóňa "Theoretical Study on the Redox Cycle of Bovine Glutathione Peroxidase GPx1: pK _a Calculations, Docking and Molecular Dynamics Simulations", <i>J. Chem. Theory Comput.</i> , 2009 , poslané editorovi
V čom vidíte uplatnenie výsledkov projektu:	Pri modelovaní enzýmov (vybudovaný počítačový server vrátane licencií na softvér); Pri vývoji nových liečiv na rakovinu (3 nasyntetizované látky s biologickou aktivitou voči α -manozidázam na mikro až milimolárnej úrovni, z toho jedna látka vykazujúca aj selektívne vlastnosti voči cieľovej Golgi α -manozidáze II; spracované ZINC a CSD databázy; pripravené štruktúrne 3-D modely ľudských α -manozidách); Etablovanie <i>in vitro</i> experimentálneho modelu testovania analógov-inhibítorov manozidáz s rôznou špecifitou poskytuje možnosť pokračovať v testovaní nových produktov, ktoré môžu nájsť uplatnenie v klinickej praxi.

Charakteristika výsledkov

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - slovensky:

Počítačové modelovanie: Bol vybudovaný počítačový server vrátane licencií na chemický softvér pre vedecké výpočty zamerané na modelovanie enzýmov a štruktúrny dizajn liečiv. Prevádzka serveru bude pokračovať minimálne ďalšie 3 roky. Boli spracované ZINC a CSD databázy zlúčenín pre programový balík Schrodinger a sú k dispozícii na ďalší dizajn manozidázových inhibítorov alebo inhibítorov iných glykozyl hydroláz. Pripravené štruktúrne 3-D modely ľudských α -manozidáz boli použité pri štruktúrnom dizajne selektívnych inhibítorov manozidáz pomocou dokovania a farmakofórneho modelu. Tieto homológne modely budú využité vo výskumných úlohách do doby kým nebudú k dispozícii ich kryštalové štruktúry. Výpočty týkajúce sa katalytického mechanizmu manozidáz a štruktúrnej charakterizácie tranzitného stavu systému enzým-substrát sú vo fáze dokončovania. QSAR model pre dizajn selektívnych inhibítorov ľudských α -manozidáz je tiež vo fáze dokončovania.

Syntéza: Z 26 nasyntetizovaných látok (deriváty manózy a analógy swainsonínu) 3 vykazovali biologickú aktivitu voči α -manozidázam na mikro až milimolárnej úrovni (SAV-31, MP-163 a MP-150), pričom látka SAV-31 vykazovala aj selektivitu voči cieľovej Golgi α -manozidáze II (12x vyššia ako pri lyzozomálnej manozidáze). Tieto látky budú použité v ďalších fázach dizajnu a prípravy nových selektívnych inhibítorov manozidáz. Syntézy počítačovo navrhnutých analógov manostatínu (MP-150-A1) a swainsonínu (SAV-31-A1) sú zatiaľ neukončené.

Molekulárna biológia: Výsledkom bioinformatickej analýzy genómu modelového organizmu *D. melanogaster* bolo originálne klonovanie a expresia dvoch katalyticky aktívnych manozidáz tzv. lyzozomálneho typu a jednej tzv. Golgi-ho typu. Tieto rekombinantné manozidázy tvoria súčasť *in vitro* experimentálneho modelu na testovanie účinnosti a selektivity komerčných a novosyntetizovaných analógov –inhibítorov. Optimalizácia heterológnej expresie a vypracovanie purifikačného postupu prípravy vytvorili predpoklad ich ďalšieho štúdia na molekulárnej úrovni a pri riešení terciárnej štruktúry.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - anglicky:

Computer modeling: A computer server with licenses for chemical software has been built for scientific calculations focused on enzyme modeling and structure-based drug design. The server will be in use at least 3 next years. The ZINC and CSD databases were processed for the Schrodinger program package and they are ready for use for subsequent design of mannosidase inhibitors or inhibitors of other glycosyl hydrolases. The prepared structural 3-D models of human α -mannosidases were used for the structure-based design of selective inhibitors of mannosidases by means of docking and pharmacophore model. These homology models will be used for the research tasks until their crystal structures are not available. Calculations on catalytic mechanism of mannosidases and structural characterization of transition state of the system enzyme-substrate are in progress. The QSAR model for the design of selective inhibitors of human α -mannosidases is in finishing stage.

Synthesis: From 26 synthesized compounds (derivatives of mannose and analogs of swainsonine) 3 compounds exhibited biological activity against α -mannosidases at the micro/mili molar level (SAV-31, MP-163 and MP-150), from which the compound SAV-31 also exhibited a selectivity for the goal Golgi α -mannosidase II. These compounds will be used in next stages of the design and preparation of novel selective inhibitors of the mannosidases. The synthesis of the proposed analogs of manostatatin (MP-150-A1) and swainsonine (SAV-31-A1) are not finished yet.

Molekulárna biológia: Bioinformatics analysis of *D. melanogaster* genome resulted into an original cloning and expression of two catalytically active mannosidases of lysosomal- type and one mannosidase of Golgi- type. These recombinant mannosidases constitute *in vitro* experimental model for testing of effectivity and selectivity of commercial and new-synthesized analogs-inhibitors. Optimization of heterologous expression and protein purification procedure assume their further characterization at molecular level, incl. 3-D structure solving.

Podpisom záverečnej karty riešiteľ vyjadruje svoj súhlas so zverejnením údajov v nej uvedených.

Podpis zodp. riešiteľa: Mgr. Juraj Kóňa, PhD

Dátum: 28.1.2010

Podpis štatutárneho zástupcu: Ing. Igor Tvaroška, DrSc.

Pečiatka: