

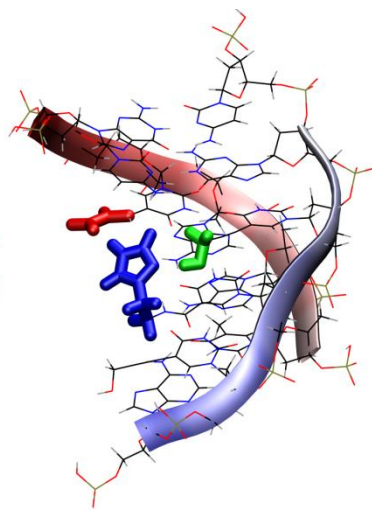
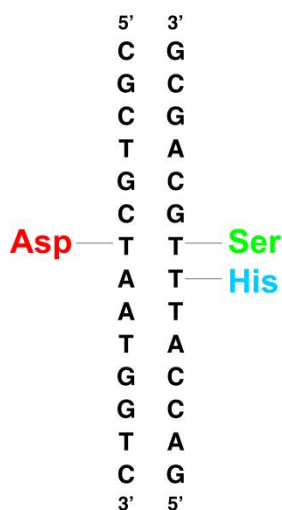
STRUCTURELE KARAKTERISERING VAN GEMODIFICEERD DNA: PREDICTIE EN CONFRONTATIE MET NMR DATA

Keywords: Structurele predictie, QM/MM, simulatie van NMR grootheden

In samenwerking met de onderzoeksgroep NMR en Structuuranalyse (o.l.v. Prof. José Martins), vakgroep Organische Chemie, UGent

Modificaties aan DNA treden in vivo op als gevolg van fysische of chemische schade en kunnen leiden tot kanker. Vanuit katalytisch oogpunt kan de synthetische introductie van modificaties in DNA echter een interessante opportuniteit bieden: de modulaire opbouw en relatief rigide structuur van de dubbele helix maken DNA immers een interessante templaاتمolecule om functionele groepen gecontroleerd dicht bij elkaar te brengen. In het laboratorium voor Organische en Biomimetische Chemie (o.l.v. Prof. Annemieke Madder) zijn enkele indrukwekkende ontwikkelingen verwezenlijkt in dit opzicht: een nieuwe methodologie voor het plaats specifiek cross-linken van nucleïnezuren en een nieuwe synthesesmethodologie voor het inbouwen van meerdere aminozuur-achtige zijketenfunctionaliteiten in een DNA duplex. Dit effent het pad voor de constructie van synthetische, gemodificeerde DNA systemen met een katalytische werking vergelijkbaar aan die van enzymen - "DNAzymes".

Een dergelijk construct, geïnspireerd op de serine protease katalytische site, is momenteel in ontwikkeling (zie figuur). De performantie hiervan hangt echter zeer sterk af van de uiteindelijke conformatie en dynamica: zijn de drie aminozuur-achtige modificaties voldoende in elkaars omgeving en zijn ze stabiel binnen die conformatie? Om een antwoord op deze vragen te vinden wordt in het laboratorium voor NMR en Structuuranalyse (o.l.v. Prof. José Martins) een nauwgezette analyse



uitgevoerd van de structuur van verscheidene sequenties met behulp van NMR spectroscopie. De complexiteit van de resulterende spectra belemmert echter een eenduidige analyse, verder bemoeilijkt doordat sommige gemodificeerde nucleobasen kunnen voorkomen in meerdere ionisatietoestanden.

Via simulaties biedt moleculaire modellering rechtstreeks inzicht in de conformatie en dynamica van deze molecules. Bovendien kan het ook aangewend worden om de NMR spectroscopische grootheden te simuleren voor een bepaalde structuur.

Doelstelling

Met behulp van moleculaire modellering wordt nagegaan in welke mate de drie-dimensionale structuur van een DNAzyme kan worden voorspeld uitgaande van de sequentie. Daarbij wordt vertrokken van een beschrijving van het hele DNA oligomeer in een geschikt krachtveld, waarbij voor de aminozuur-achtige modificaties bruikbare parameters zullen worden afgeleid. Voor de modificaties en hun directe moleculaire omgeving zal bovendien een kwantumchemische DFT methode worden gekozen in een zogenaamde QM/MM benadering. Op basis van deze beschrijving kan de optimale structuur worden afgeleid, aangevuld met een bepaling van de dynamica, gebruik makend van moleculaire dynamica simulaties.

Terugkoppeling met het NMR experiment is mogelijk door voor de optimale structuren de NMR grootheden te voorspellen: proton en koolstof chemische shifts. Bovendien kunnen deze simulaties ook worden uitgevoerd voor verscheidene structuren uit de dynamica, hetgeen een uniek beeld biedt op de invloed van dynamica en temperatuur op de verdeling van de chemische shifts.

Eenmaal een werkbaar protocol is uitgewerkt, kan deze methodiek worden toegepast op verscheidene sequenties waarvoor experimentele gegevens voorhanden zijn.

Promotoren: Prof. Dr. J. Martens – jose.martens@ugent.be (09/264.44.69),
Dr. E. Pauwels - ewald.pauwels@ugent.be (09/264.65.62) / **Begeleiding:** Dr. E. Pauwels -
ewald.pauwels@ugent.be (09/264.65.62) / <http://molmod.ugent.be/student-corner>