Šifra projekta / Project code N1-0323

***Naključni hodec narejenih iz obvitih vijačnic in na novo načrtovanih proteinov / A random walker made of coiled helices and newly designed proteins* (CC-WALK)**

Vodja projekta:
dr. Ajasja Ljubetič

1. **VSEBINSKI OPIS PROJEKTA:**

Proteini so naravni nanoroboti, ki katalizirajo reakcije, prepoznavajo molekule in prenašajo tovor. Biomimetski nanotroji imajo ogromen potencial na mnogih področjih, vključno na področjih precizne medicine, terapevtskih učinkovin, nanomaterialov in senzorjov. Vendar jih omejuje nezadostna stabilnost naravnih proteinov. De novo zasnovani proteini so hiperstabilni in omogočajo oblike in lastnosti, ki jih ni mogoče najti v naravi.

Cilj CC-WALK projekta je postaviti osnovo za naslednji veliki izziv pri načrtovanju proteinov: ustvarjanje dinamičnih skupin proteinov, ki imajo več stanj in / ali opravljajo funkcije, kot je gibanje. S kombinacijo načrtovanja proteinov, računalniškega modeliranja in laboratorijskih poskusov, bo CC-WALK oblikoval proteine, ki bodo hodili po zasnovanih proteinskih vlaknih.

Naravne proteine je težko spreminjati, saj so se razvili za točno določen namen. Običajno imajo nizko toplotno stabilnost in izražanje. Sistem CC-WALK je sestavljen iz popolnoma de novo zasnovanih proteinov, ki so hiperstabilni in imajo visoko izražanje. Vse sestavine so lahko genetsko kodirane, kar omogoča, da se zasnovani nanorobot samostojno sestavi in deluje v živih celicah.

Projekt CC-WALK bo omogočil načrtovanje nanorobotov imel pa bo tudi koristne posredne rezultate (nove metode rigidnega spajanja, velike oligomere), ki bodo imeli visok vpliv na načtovanje proteinov in našo prihodnjo tehnologijo.

Proteins are nature's nano-robots, catalysing reactions, recognising molecules, and transporting cargo. Biomimetic nanomachines have great potential in many fields including precision medicine, therapeutic agents, nanomaterials, and sensors, however use is limited by inadequate stability of natural protein components. De novo designed proteins are hyper-stable and can achieve shapes and properties not found in nature.

CC-WALK aims to build a foundation for the next grand challenge in protein design: creating dynamic protein assemblies that have several states and/or perform functions such as motion. Combining protein engineering, computational modelling and wet-lab experiments, CC-WALK will design proteins capable of walking along a designed protein track.

Natural proteins are difficult to modify, since they have evolved for a specific purpose. They usually have low thermal stability and expression. The CC-WALK systems is comprised of completely de-novo designed proteins that are hyper-thermo stable and have high expression. All components are genetically encodable, potentially enabling the designed walker to self-assemble and function in living cells.

CC-WALK will pave the way towards designed nanorobots and produce useful intermediate results (novel method of rigid fusion, large oligomers), that will have a high impact on protein design and our future technology.

Sodelujoče organizacije:

a. osnovni podatki glede financiranja:

Projekt financira ARIS v okviru cenovne kategorije D za obdobje dveh let v obsegu 1466 letnimi urami. Pričetek financiranja je 1. 10. 2023.
The project is co-financed by ARRS with 3920 annual hours of price class D for a period of 2 years. Funding starts on October 1, 2023.

b. sestava projektne skupine s povezavami na SICRIS

Na Kemijskem inštitutu v projektni skupini sodelujejo / At the National Institute of Chemistry the project group includes:

dr. Ajasja Ljubetič; SICRIS št. 31709 https://cris.cobiss.net/ecris/si/sl/researcher/34466
dr. Hana Esih; SICRIS št. 53421 https://cris.cobiss.net/ecris/si/sl/researcher/49872
Eva Rajh, SICRIS št. 55264 https://cris.cobiss.net/ecris/si/sl/researcher/51964

2. faze projekta in njihova realizacija
Projekt ima dva glavna cilja:

O1: NAKLJUČNI HODEC

V okviru tega cilja bomo zasnovali proge ("načrtovana vlakna") in hodce ("načrtovani ciklični oligomeri"), ki se lahko linearno premikajo po progi. Proteini se bodo po progi premikali s pomočjo obvitih vijačnic (CC).

O2: OBLIKOVANJE SIDER ZA POSEBNO PRITRDITEV IN FUNKCIONALNOST TIRNIC

V O2 bomo zasnovali sidra, ki se lahko pritrdijo na oba konca vlaken in služijo za funkcionalizacijo koncev vlaken. To je uporabno za specifično pritrjevanje vlaken na površine, za specifično označevanje, v prihodnosti pa bi se lahko uporabilo kot priklopna postaja za robota za sortiranje tovora ali kot aktuator linearnega motorja.

3. bibliografske reference, ki izhajajo neposredno iz izvajanja projekta

1. VIDMAR, Sara, ŠMIDLEHNER, Tamara, AUPIČ, Jana, STRMŠEK, Žiga, LJUBETIČ, Ajasja, XIAO, Fei, HU, Guang, LIU, Chuan, BECK, Florian, ERDMANN, Philipp S., JERALA, Roman. Beyond dimerization: harnessing tetrameric coiled-coils for nanostructure assembly. *Angewandte*, 2025 [COBISS.SI-ID 221895427]

2. MEZGEC, Klemen, SNOJ, Jaka, ULČAKAR, Liza, LJUBETIČ, Ajasja, TUŠEK-ŽNIDARIČ, Magda, ŠKARABOT, Miha, JERALA, Roman. Coupling of spectrin repeat modules for the assembly of nanorods and presentation of protein domains. *ACS nano*. Oct. 22, 2024, vol. 18 [COBISS.SI-ID 214399491]

3. XIAO, Fei, LUO, Longfei, LIU, Xin, LJUBETIČ, Ajasja, JIN, Nengzhi, JERALA, Roman, HU, Guang. Comparative simulative analysis and design of single-chain self-assembled protein cages. *The journal of physical chemistry. B*. [Online ed.]. 2024, vol. 128 [COBISS.SI-ID 208525059

4. ARYSHEV, Alexandr, LA FLEUR, Alyssa, GROVES, Benjamin, MICHEL, Cirstyn, BAKER, David, LJUBETIČ, Ajasja, SEELIG, Georg. Massively parallel measurement of protein–protein interactions by sequencing using MP3-seq. Nature chemical biology. Nov. 2024, iss. 11, vol. 20, [COBISS.SI-ID 208415491]

5. SNOJ, Jaka, ZHOU, Weijun, LJUBETIČ, Ajasja, JERALA, Roman. Advances in designed bionanomolecular assemblies for biotechnological and biomedical applications. *Current opinion in biotechnology*. Apr. 2025, vol. 92 [COBISS.SI-ID 223429379]

4. logotip ARRS in drugih sofinancerjev

Javna agencija za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost Republike Slovenije