

STRESZCZENIE

Modelowanie teoretyczne białek i ich oddziaływań na różnych poziomach rozdzielczości na przykładzie przewidywania struktury białek oraz wybranych procesów biochemicznych

Rozprawa doktorska

Magdalena Anna Mozolewska

Promotor pracy: prof. dr hab. Adam Liwo

Promotor pomocniczy: dr Magdalena Ślusarz

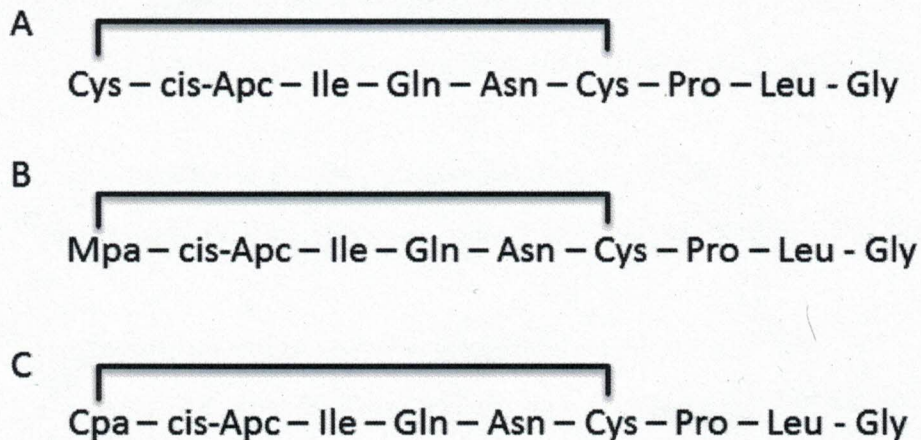
Celem mojej pracy doktorskiej, wykonanej w Pracowni Modelowania Molekularnego Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego pod kierownictwem prof. Adama Liwo, było modelowanie wybranych procesów biologicznych: fragmentu cyklu przenoszenia klastrów żelazowo-siarkowych z udziałem chaperonów, wiązania wybranych nienaturalnych analogów oksytocyny do receptora oksytocyny oraz wiązania nanorurek węglowych z receptorem TLR2.

Pierwszym z badanych układów był kompleks składający się z białek Icu1 (z ang. Iron sulfur cluster assembly protein 1) oraz Jac1 (z ang. J-type co-chaperone). Z uwagi na duży rozmiar oraz konieczność prowadzenia symulacji w długiej skali czasu, do symulacji tego kompleksu użyłam pola gruboziarnistego UNRES. Jednak w pierwszym etapie przetestowałam pole siłowe UNRES w eksperymencie CASP10 w celu weryfikacji, czy pole to jest wystarczającej jakości do prowadzenia planowanych przeze mnie symulacji

gruboziarnistych. W ramach eksperymentu CASP10 wykonałam przewidywania struktur trzech białek. Dwa z tych przewidywań okazały się dobrej jakości. W kontekście całości wyników uzyskanych w eksperymencie CAS10 przy użyciu metod opartych na polu UNRES można wywnioskować, że pole to może być użyte to przeprowadzenia wiarygodnych symulacji gruboziarnistych przemian konformacyjnych w białkach.

W drugim etapie mojej pracy doktorskiej przeprowadziłam badania nad białkami z drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, biorącymi udział w syntezie klastra żelazowo-siarkowego. Ponieważ jedno struktura białka (Isu1) nie została jeszcze rozwiązana eksperymentalnie, do otrzymania jej modelu wykorzystałam techniki modelowania porównawczego. Następnie wykonałam dokowanie molekularne badanych białek: Isu1 oraz Jac1 przy użyciu algorytmów genetycznych zaimplementowanych w programie AutoDock i serwera ZDOCK. Tak wykonany kompleks białek Isu1-Jac1 poddałam symulacjom dynamiki molekularnej w polu siłowym UNRES, co pozwoliło na dokładniejsze przeszukanie przestrzeni wzajemnych ułożeń oddziałujących białek oraz ocenę stabilności poszczególnych form ich kompleksu. Następnie przeprowadziłam szczegółową analizę oddziaływań reszt aminokwasowych biorących udział w tworzeniu kompleksu Isu1 i Jac1. Wykonałam również mutacje punktowe (zamiany pojedynczych reszt aminokwasowych) a następnie symulacje dynamiki w polu UNRES utworzonych mutantów kompleksu, co pozwoliło na zidentyfikowanie reszt aminokwasowych odpowiedzialnych za wiązanie się tych białek i stabilność kompleksu. Dzięki temu byłam w stanie zaproponować po raz pierwszy w literaturze kompletny interfejs oddziaływania pomiędzy tymi dwoma białkami. W kolejnych badaniach wymodelowałam, przy użyciu metod dokowania molekularnego, kompleks potrójny, stanowiący kolejny etap cyklu żelazowo-siarkowego u drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, w którego skład wchodzi białka Isu1, Jac1 oraz duże białko opiekuńcze (chaperonowe) Ssq1.

W kolejnym etapie swojej pracy przeprowadziłam badania na temat oddziaływania antagonistów oksytocyny (Rysunek 1) z ludzkim receptorem oksytocyny (OTR). Ponieważ struktura receptora nie została jeszcze otrzymana eksperymentalnie, przeprowadziłam modelowanie homologiczne używając innych receptorów związanych z białkiem G jako białek matrycowych. Otrzymaną strukturę wykorzystywałam do stworzenia kompleksów receptora oksytocyny z badanymi ligandami. Następnie przeprowadziłam szereg symulacji dynamiki molekularnej w celu zrelaksowania struktur i lepszego dopasowania ligandów do kieszeni wiążącej zarówno w wariantcie kanonicznym, jak i symulowanego wyżarzania.



Rysunek 1 Sekwencja aminokwasowa zbudowanych i używanych antagonistów oksytocyny. A) ligand 1; B) ligand 2; C) ligand 3.

Wykorzystałam również technikę SMD do przeprowadzenia symulacji wyciągania ligandów z kieszeni wiążącej receptora w celu sprawdzenia siły wiązania poszczególnych ligandów. Dzięki przeprowadzonym badaniom byłam w stanie wykazać, że zamiana reszty Cys1 oksytocyny na resztę Mpa (kwas merkaptopropionowy) oraz zamiana reszty Tyr2 na resztę cis-Apc (kwas cis-1-amino-4-fenilo-cykloheksylokarboksylowy) powoduje zwiększenie siły wiązania do kieszeni wiążącej OTR. Określiłam również, które oddziaływania są odpowiedzialne za silne wiązanie się liganda do receptora oksytocyny.

Ostatnim etapem było przeprowadzenie badań nad oddziaływaniem jednościennej nanorurki węglowej z receptorem TLR2. Symulacje dokowania nanorurki do kieszeni wiążącej receptora TLR2 przeprowadziłam przy użyciu techniki SMD, co umożliwiło mi dokładne zbadanie zachowania pętli okalających kieszeń wiążącą oraz zaobserwowanie optymalnego miejsca wiązania nanorurki do receptora. Przeprowadzone badania wykazały, że nanorurki węglowe o odpowiednich rozmiarach mogą oddziaływać z kieszenią wiążącą receptorów TLR2, blokując tym samym ich aktywność.