

**THE SILESIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY
FACULTY OF CHEMISTRY**

Karolina Mitusińska

DOCTORAL THESIS

**Implications of loop reconstruction model on
protein functionality**

**Analiza skutków wyboru modelu
zrekonstruowanej pętli na funkcjonalność
białka**

Supervisor: dr hab. Artur Góra

GLIWICE 2020

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Analiza skutków wyboru modelu zrekonstruowanej pętli na funkcjonalność białka

mgr Karolina Mitusińska

promotor: dr hab. Artur Góra

Wyniki badań przedstawionych w poniższej rozprawie doktorskiej dotyczą problematyki modelowania homologicznego struktur przestrzennych białek. Na strukturę drugorzędową białek składają się uporządkowane i niezbyt elastyczne α -helisy oraz β -kartki, a także nieuporządkowane i elastyczne pętle. Pętle łączą ze sobą uporządkowane elementy struktury drugorzędowej, biorą udział w procesie fałdowania białka i stabilizują jego strukturę. Dodatkowo, regiony te mogą być zaangażowane w transport substratów i/lub produktów do/z centrum aktywnego enzymu, oddziaływania z małymi cząsteczkami, DNA, RNA bądź innymi białkami. Na podstawie ich ruchliwości i możliwości zmian konformacyjnych pętle można podzielić na statyczne i elastyczne. Pętle statyczne stabilizują strukturę białka, z kolei pętle elastyczne, dzięki możliwości szybkiej zmiany konformacji, najczęściej pełnią inne, ściśle zdefiniowane funkcje, związane wprost z regulacją aktywności, selektywności lub z transdukcją sygnału.

Praca skupia się na osiągnięciu dwóch celów: i) opracowaniu metody wspomagającej selekcję modeli pętli na podstawie ich parametrów geometrycznych, która pozwoli na odróżnienie pętli statycznej od elastycznej bez konieczności prowadzenia symulacji dynamiki molekularnej, oraz ii) opracowaniu metody analizy symulacji dynamiki molekularnej pozwalającej na zidentyfikowanie i zbadanie funkcjonalnych przestrzeni znajdujących się wewnątrz białka.

Metoda selekcji modeli pętli znalazła zastosowanie w kolejnych projektach prowadzonych przez grupę badawczą do której należy doktorantka, w tym w badaniach prowadzonych we współpracy z Narodowym Instytutem Onkologii w Gliwicach dotyczących chorób rzadko występujących w populacji.

Metoda analizy funkcjonalności białka opierająca się na śledzeniu małych cząsteczek (cząsteczek wody, kosolwentów, ligandów itp.) wewnątrz białka w czasie symulacji dynamiki molekularnej została zaimplementowana w programie AQUA-DUCT. W 2017 roku pojawiła się pierwsza publikacja dotycząca tego narzędzia, a dwa lata później AQUA-DUCT doczekał się dodatkowych funkcjonalności, takich jak identyfikacja regionów bardziej atrakcyjnych (tzw. hot-spotów) dla analizowanych cząsteczek, co znalazło zastosowanie podczas projektowania inhibitorów skierowanych przeciwko głównej proteazie wirusa SARS-CoV-2. Metoda analizy funkcjonalności białka została zastosowana podczas dotychczas opublikowanych badań:

- prowadzonych we współpracy z ośrodkiem z Holandii, który odpowiadał za część eksperymentalną badań, dotyczących ludzkiej i świńskiej oksydazy D-aminokwasów (DAAO) oraz izomerazy fosfoglukozy *Pyrococcus furiosus*; w obu przypadkach metoda została wykorzystana do wyjaśnienia mechanizmu zmiany aktywności zaprojektowanych wariantów białka;
- nad hydrolazą epoksydową ziemniaka (*Solanum tuberosum*), w których wykorzystano nowe funkcjonalności programu AQUA-DUCT do wytypowania aminokwasów, które mogą wpływać na zmianę aktywności i/lub selektywności białka, oraz
- nad wspomnianą wcześniej główną proteazą wirusa SARS-CoV-2, które były prowadzone we współpracy z zagranicznymi ośrodkami. Pierwsze wyniki badań zostały opublikowane w kwietniu, zaś prace nad zaprojektowaniem inhibitorów przeciwko temu enzymowi wciąż trwają.