

mgr Katarzyna Kulczycka-Mierzejewska  
Wydział Chemii  
Uniwersytet Warszawski

Autoreferat rozprawy doktorskiej pod tytułem:

***Investigation of interactions of lincosamides with bacterial ribosome  
using computational modelling methods***

Tytuł w języku polskim:

*Badanie oddziaływań linkozamidów z rybosomem bakteryjnym  
z wykorzystaniem metod modelowania komputerowego*

Promotorzy:

*prof. dr hab. Joanna Sadlej,  
Wydział Chemii, UW  
dr hab. Joanna Trylska, prof. UW,  
Centrum Nowych Technologii, UW*

Blisko 100 letnia, nie zawsze dobra, praktyka stosowania antybiotyków w przypadkach infekcji bakteryjnych przyczyniła się do rozwoju oporności wśród bakterii. Zrozumienie mechanizmów za nią stojących jest zasadnicze dla skutecznego projektowania nowych związków antybakteryjnych. Niniejsza rozprawa poświęcona jest linkozamidom, grupie antybiotyków, których działanie polega na hamowaniu syntezy białek bakteryjnych, zachodzącej na rybosomie. Bakteryjna oporność wobec linkozamidów powodowana jest m. in. poprzez modyfikację ich miejsca wiązania do rybosomu bakteryjnego. Wiadomo, że mutacje pewnych nukleotydów (np. A2058) przyczyniają się do braku skuteczności działania przeciwbakteryjnego linkozamidów.

Motywacją do moich badań była chęć scharakteryzowania właściwości fizykochemicznych cząsteczek poszczególnych linkozamidów, jak i porównanie właściwości natywnego i zmutowanego miejsca wiązania linkozamidów do rybosomu bakteryjnego. Aby osiągnąć postawione cele przyjąłem cztery różne, wyjściowe modele badanych układów wraz z odpowiednimi dla nich metodami badań, tj.: **(i)** obliczenia kwantowo-mechaniczne dla pojedynczych molekuł linkozamidów, **(ii)** symulacje dynamiki molekularnej cząsteczki klindamycyny (antybiotyku o najlepszych właściwościach farmakokinetycznych spośród linkozamidów), **(iii)** pełnoatomowa oraz **(iv)** hybrydowa (kwantowo-klasyczna) dynamika molekularna (MD) fragmentu rybosomu zarówno natywnego, jak i z wprowadzoną mutacją adeniny 2058 na guaninę.

Obliczenia kwantowo-mechaniczne w fazie gazowej, jak i z uwzględnieniem środowiska, wykonane w pierwszym etapie badań pozwoliły scharakteryzować właściwości fizykochemiczne dla pojedynczych cząsteczek linkozamidów: klindamycyny, linkomycyny oraz pirlimycyny, w szczególności zidentyfikować wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe stabilizujące cząsteczkę klindamycyny.

Kolejnym etapem było przeprowadzenie symulacji dynamiki molekularnej dla cząsteczki klindamycyny, które pozwoliły zbadać elastyczność cząsteczki antybiotyku. Symulacje wykonałam stosując trzy techniki obliczeniowe: kwantową MD dla molekuly w próżni, hybrydową oraz pełnoatomową MD dla cząsteczki w komórce elementarnej wypełnionej molekułami wody. Analiza otrzymanych symulacji pozwoliła opisać wewnętrzną dynamikę cząsteczki klindamycyny oraz wpływ środowiska na zmiany konformacji badanej molekuly. Zmiany geometrii wewnętrznej klindamycyny zaobserwowałam zarówno w przypadku symulacji cząsteczki w próżni, jak i w komórce elementarnej wypełnionej cząsteczkami wody, jednak w różnych skalach czasowych.

Symulacje hybrydowej oraz pełnoatomowej dynamiki molekularnej natywnego, jak i zmutowanego (A2058G) fragmentu rybosomu zawierające miejsce wiązania klindamycyny stanowią następny etap pracy. Aby uzyskać opis oddziaływań między miejscem wiązania a klindamycyną wykonałam symulacje MD natywnego i zmutowanego fragmentu rybosomu w kompleksach z antybiotykiem. Przeanalizowałam własności fizykochemiczne symulowanych układów m. in.: dynamikę wewnętrzną, strukturę geometryczną, a także rodzaje oddziaływań rybosomu z antybiotykiem oraz pomiędzy wybranymi nukleotydami. Opierając się na wynikach pełnoatomowej oraz hybrydowej dynamiki molekularnej, w szczególności analizie wiązań wodorowych, wykazałam, że cząsteczka klindamycyny tworzy bardziej stabilny kompleks ze zmutowanym (A2058G) rybosomem, niż z rybosomem natywnym. Ponadto wykazałam, że kompleks klindamycyny ze zmutowanym (A2058G) fragmentem rybosomu przyjmuje nieco inną geometrię. W układzie klindamycyna - natywny fragment rybosomu cząsteczka antybiotyku wiąże się w taki sposób, że blokuje tunel, poprzez który wydostają się łańcuch syntezowanych na rybosomie białek. W przypadku wprowadzenia mutacji cząsteczka klindamycyny wiąże się w takim modzie, że antybiotyk nie znajduje się w świetle tunelu, którym wydostają się syntezowane łańcuchy polipeptydowe, tj. nie blokuje ich wyjścia z rybosomu, a co za tym idzie nie blokuje syntezy białek bakteryjnych. Przeprowadzone symulacje techniką hybrydowej MD okazały się bardzo wymagające dla tak złożonego i dużego układu.

Wyniki opisane w niniejszej pracy mogą być podstawą do zaprojektowania pochodnych linkozamidów, które byłyby aktywne również wobec bakterii opornych na znane obecnie: klindamycynę, linkomycynę i pirlimycynę.

Rozprawa doktorska napisana została w języku angielskim. Wyniki badań zostały zaprezentowane w dwóch oryginalnych artykułach naukowych opublikowanych w czasopiśmie z listy filadelfijskiej, a kolejna jest w przygotowaniu. Wyniki prezentowane były w sumie na 28 konferencjach międzynarodowych i krajowych, zarówno w formie referatów, jak i plakatów.