

Autoreferat rozprawy doktorskiej

Modelowanie oddziaływań białek i peptydów w zredukowanej przestrzeni konformacyjnej.

Promotor rozprawy: prof. dr hab. Andrzej Koliński

mgr Mateusz Kurciński

Pracownia Teorii Biopolimerów, Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski

Białka zajmują centralną pozycję w funkcjonowaniu żywych organizmów i są obecne w niemal wszystkich procesach zachodzących zarówno wewnątrz komórek jak i poza nimi. Białka występujące w znakomitej większości znanych organizmów składają się jedynie z 20 rodzajów aminokwasów. Liczba ta wydaje się niewielka, zważywszy na mnogość form i funkcji tych biomolekuł. Ogromne zróżnicowanie strukturalne białek wynika z astronomicznej liczby możliwości na jakie aminokwasy mogą się połączyć w liniowe polimery.

Białka mogą wypełniać tak wiele różnych zadań w organizmach dzięki swej unikalnej zdolności do przyłączania w selektywny sposób innych biomolekuł: cukrów, lipidów, kwasów nukleinowych czy innych białek. Najczęściej przyłączanie jakiegoś liganda zmienia przestrzenną strukturę białka, przez co zaczyna ona funkcjonować w odmienny sposób. Zrozumienie mechanizmów działania białek jest obecnie jednym z najważniejszych problemów stojących przed naukami biologicznymi. Z racji tak wielu funkcji, które pełnią białka w organizmach, stanowią one idealny cel dla działania leków, co stawia je również w centrum zainteresowania przemysłu farmaceutycznego.

Działanie białek opiera się na tworzeniu kompleksów z innymi molekułami. Dlatego poznanie trójwymiarowych struktur takich kompleksów stanowi niezbędny etap na drodze do zrozumienia mechanizmów ich działania. Za pomocą metod

eksperymentalnych, takich jak spektroskopia NMR i krystalografia, rozwiązuje się obecnie bardzo wiele struktur, lecz są to metody kosztowne i czasochłonne. Pozostawia to szerokie pole do działania dla metod teoretycznych.

Pod pojęciem dokowania białek kryje się problem przewidywania struktury przestrzennej kompleksu, przy danych strukturach jego izolowanych komponentów. Przez ostatnie 30 lat, od pierwszego sformułowania problemu, dokonał się w tej dziedzinie znaczny postęp. Jednak główną przeszkodą wciąż pozostaje uwzględnienie konformacyjnej giętkości molekuł w trakcie formowania kompleksów. Znakomita większość dostępnych już algorytmów traktuje molekuły, jako bryły sztywne, a ich dopasowanie dokonuje się na podstawie komplementarności kształtów powierzchni molekularnych. W rzeczywistości białka potrafią znacznie zmienić swoją strukturę na etapie tworzenia kompleksów, co w oczywisty sposób nie może być odzwierciedlone w modelu przy założeniu sztywności molekuł.

Celem mojej pracy doktorskiej było opracowanie opartej na modelu CABS metody służącej do przewidywania struktur kompleksów białkowych oraz do modelowania ich dynamiki. Unikalną cechą opracowywanej metody miała być możliwość przeprowadzenia symulacji dokowania przy zachowaniu pełnej giętkości molekuł. Jednocześnie moim pragnieniem było zaprojektowanie narzędzia uniwersalnego, stosowalnego zarówno do układów białko-peptyd, jak i do wielodomenowych kompleksów białkowych.

W pracy przedstawiłem szczegółowy opis konstrukcji automatycznej procedury CABSDock oraz zaprezentowałem przykłady jej praktycznego zastosowania. Opis procedury zawiera dokładną charakterystykę poszczególnych narzędzi wchodzących w skład pakietu. Konstrukcja procedury CABSDock wymagała ode mnie rozszerzenia modelu CABS, aby umożliwić symulacje wielu łańcuchów białkowych, przy jednoczesnym zachowaniu wysokiej efektywności oryginalnego programu. Ponadto opracowałem zestaw narzędzi (skrypty do konwersji formatów plików wymaganych przez poszczególne programy oraz do analizy statystycznej otrzymanych wyników) scalających poszczególne elementy CABSDock w automatyczną procedurę.

W celu przetestowania metody przeprowadziłem eksperyment przewidywania struktur na grupie białek z rodziny receptorów jądrowych skompleksowanych z peptydami będącymi fragmentami czynników transkrypcyjnych. W 50% przypadków otrzymałem modele dobrej lub bardzo dobrej jakości. Jednocześnie wykazałem zdolność algorytmu do bardzo efektywnego przeszukiwania powierzchni receptora pod kątem miejsca aktywnego dla liganda. We wszystkich przykładach peptydy zadokowane zostały we właściwym miejscu na powierzchni receptora jądrowego.

Zastosowałem schemat wieloskalowego modelowania struktury kompleksów białkowych obejmujących zarówno układy białko-peptyd, jak i kompleksy małych homodimerów. Badałem peptydy większych rozmiarów (do 31 aminokwasów), niż w przypadku receptorów jądrowych oraz posiadające elementy regularnej struktury II-rzędowej (α -helisy i β -wstęgi).

Model CABS został również wykorzystany do badania mechanizmu aktywacji receptora retinoidów RXR α przez cząsteczkę kwasu retinowego oraz fragment koaktywatora. Zbadałem różne scenariusze, które mogą zachodzić w trakcie tego procesu. Na podstawie otrzymanych wyników zaproponowałem możliwy mechanizm aktywacji. Jednocześnie zaprezentowałem metodę, dzięki której można szybko i tanio badać podobne procesy molekularne.

Zbadałem również mechanizm jednoczesnego zwijania się białka nieustrukturyzowanego pKID w trakcie tworzenia kompleksu z jedną z domen białka CREB. Przeprowadziłem szczegółową analizę ścieżki zwijania i stanów pośrednich takiego kompleksu. W konsekwencji zaobserwowałem podobieństwo mechanizmu jednoczesnego zwijania i łączenia się białek do mechanizmu nukleacji-kondensacji, typowego dla zwijania się jednodomenowych białek globularnych.

Symulacje z wykorzystaniem modelu CABS posłużyły również jako wsparcie teoretyczne badań eksperymentalnych ukierunkowanych na poszukiwanie szczepionki przeciw nerwiakowi zarodkowemu (neuroblastoma). Badałem stabilność kompleksów przeciwciała 14G2a z grupą peptydów imitujących obecność gangliozydu GD2, którego nadekspresja jest znakiem rozpoznawczym komórek zainfekowanych neuroblastoma.

Symulacje z użyciem CABSDock wykorzystano również do skonstruowania pierwszego teoretycznego modelu ludzkiej telomerazy – kompleksu białkowego składającego się z prawie 1200 reszt aminokwasowych, odpowiedzialnego in vivo za naprawianie błędów powstających w trakcie replikacji DNA. Przeprowadziłem wielostopniowy eksperyment dokowania kolejnych domen telomerazy oraz fragmentów nici RNA i DNA. Na podstawie uzyskanego modelu zaproponowano po raz pierwszy mechanizm działania tego kompleksu.

Wyniki wszystkich badań stanowiących podstawę rozprawy zostały opublikowane w ogólnie dostępnych czasopismach naukowych. Pakiet CABSDock został udostępniony do pobrania dla społeczności akademickiej, a z czasem planowane jest uruchomienie automatycznego serwera bazującego na opisanej metodzie.