mgr. Dheeraj Kumar Sarkar

Symulacje procesów wiązania ligandów w białkach

Procesy biologiczne są wewnętrznie regulowane przez małe cząsteczki i ich interakcje, szczególnie w postaci kompleksów białko-ligand. Transport ligandów w białkach odgrywa kluczową rolę w wielu procesach biologicznych, w tym w transdukcji sygnału, katalizie enzymatycznej oraz transporcie składników odżywczych i metabolitów. Dlatego zrozumienie procesów wiązania ligandów ma ogromne znaczenie dla opartego na strukturze projektowania leków i inżynierii ulepszonych katalizatorów enzymatycznych. W szczególności znaczna część enzymów ma swoje aktywne miejsce znajdujące się w głęboko osadzonych przestrzeniach, a wyzwania polegają na udanym uchwyceniu procesów wiązania i uwalniania ligandów, ponieważ dostęp do tych głęboko osadzonych miejsc przez małe cząsteczki jest ogólnie ograniczony przez tunele białkowe i swego rodzaju bramki molekularne. Zmiany w tunelach białkowych często mogą prowadzić do zmiany aktywności, selektywności, niespecyficzności i stabilności. Aby zaradzić tym przeciwnościom, w swoich badaniach doktorskich przyczyniłem się do zbadania właściwości termicznych i kinetycznych poprzez ocenę wykorzystania małych cząsteczek przez tunele transportowe w białkach z miejscami aktywnymi znajdującymi się w głęboko osadzonych przestrzeniach. Zastosowano metody dynamiki molekularnej (MD) z ulepszonym próbkowaniem, aby skutecznie ocenić termodynamikę i kinetykę procesów wiązania ligandów, jednocześnie rozumiejąc leżące u podstaw mechanizmy molekularne. Praca składa się z trzech manuskryptów. Pierwsza część pracy koncentruje się na opracowaniu metody poprzez zaprojektowanie opartych na wiedzy schematów umiejscawiania ligandów w celu skutecznego badania procesów interakcji ligandów w dehalogenazie haloalkanowej. Metoda wykorzystuje adaptacyjne symulacje próbkowania do wysokoprzepustowego próbkowania zjawisk wiązania kierując się modelami stanów Markowa (*ang. Markov State Models – MSM*) w celu generowania znaczących modeli kinetycznych opisujących długotrwałe stany białko-ligand w formie związanej i niezwiązanej, oraz procesy ich interkonwersji. W drugiej części rozprawy masowe wykorzystanie tuneli molekularnych w celu ułatwienia transportu ligandów zostało ocenione i określone ilościowo, aby uzyskać bardziej szczegółowy wgląd w procesy transportu ligandów, pokazując zastosowanie wewnętrznie opracowanego narzędzia. Wreszcie trzecia część pracy dotyczy dostępności aktywnego miejsca cytochromu C dla zatłoczonych hydrotropów oraz roli ich wiązania na stabilność termiczną tego enzymu. Proces badano w dwóch temperaturach obejmujących trzy różne kompozycje hydrotropów, stosując adaptacyjne symulacje próbkowania kierowane modelami Markowa. Ujawniono kilka spostrzeżeń na temat roli rozpuszczalników hydrotropowych w zapewnianiu stabilności funkcjonalnym częściom cytochromu C i regulacji

dynamiki stanów otwartych i zamkniętych. Ogólnie rzecz biorąc, teza reprezentuje zastosowanie, ocenę, oraz opracowanie wysokoprzepustowego protokołu dynamiki molekularnej wykorzystującego kompleksy białko-ligand do badania procesów wiązania ligandów i jego roli w lepszym zrozumieniu sprzężenia między dynamiką a funkcją enzymów.

Słowa kluczowe

Adaptacyjne, wysokowydajne symulacje, procesy wiązania ligandów, modele stanów Markowa, enzymy, tunele, bramy