

## **Wpływ otoczenia molekularnego na strukturę, funkcję i oddziaływania makrocząsteczek biologicznych – zarys projektu.**

Nieustanny postęp w metodach biologii strukturalnej umożliwia wgląd w budowę coraz bardziej złożonych makrocząsteczek biologicznych. Patrząc na ich trójwymiarowe reprezentacje na ekranie komputera, łatwo zapomnieć, że funkcjonują one otoczone gęstym środowiskiem wodnym lub, że pozostają wbudowane w błony lipidowe. Ponieważ oddziaływania fizyczne ze strony cząsteczek ośrodka są podobnie istotne jak te, które pochodzą od samych makromolekuł, nie da się wyjaśnić stabilności, funkcji oraz interakcji makrocząsteczek biologicznych, nie biorąc pod uwagę wpływu otaczającego je środowiska. Niestety, trudność w eksperymentalnym określeniu roli i wielkości poszczególnych efektów, jak też złożoność koniecznego do tego opisu teoretycznego, sprawiają, że nasza wiedza odnośnie oddziaływań makromolekuł biologicznych z otoczeniem jest nadal ograniczona, a szereg problemów metodologicznych pozostaje nierozwiązanych. W niniejszym projekcie połączymy prace nad teoretycznym opisem roli wody w rozpoznawaniu biomolekularnym z symulacjami komputerowymi mającymi na celu analizę wpływu środowiska na fałdowanie i stabilność białek oraz ich funkcjonowanie w błonach lipidowych.

**A)** Opracujemy nową metodę pozwalającą na ilościowe określenie roli efektów hydratacyjnych w oddziaływaniach białek z ligandami, takimi jak cząsteczki leków. Asocjacja molekuł prowadzi z jednej strony do ich częściowej dehydratacji, a z drugiej, do powstania specyficznych oddziaływań, w których pośredniczą pojedyncze cząsteczki wody uwięzione w miejscu wiązania. Oba te efekty mają znaczący wkład do energii swobodnej wiązania, lecz ich ilościowa ocena na gruncie teoretycznym jest wyjątkowo trudna, stanowiąc jeden z istotniejszych, nierozwiązanych problemów metodologicznych komputerowo wspomaganego projektowania leków. W ramach pierwszego zadania opracujemy efektywną obliczeniowo metodę oceny wielkości wkładów hydratacyjnych opartą na naszym wcześniej wprowadzonym modelu teoretycznym, który uwzględnia zarówno oddziaływania realizowane przez indywidualne cząsteczki wody jak i, za pośrednictwem teorii pola średniego, wpływ całego środowiska. Przewidywania modelu zostaną połączone z wynikami funkcji oceniających bezpośrednio oddziaływania receptor ligand w celu zoptymalizowania oceny wyników dostarczanych przez metody dokowania molekularnego.

**B)** Opracujemy model pozwalający na typowanie obszarów powierzchni białek biorących udział w oddziaływaniach z innymi makrocząsteczkami. Znaczna część białek w komórce tworzy większe zespoły funkcjonalne lub uczestniczy w sieciach sygnałowych. Zważywszy na mnogość takich relacji, ich często chwilowy charakter oraz fakt, że większość uzyskiwanych struktur odpowiada stanom niezwiązanym, komputerowe przewidywanie oddziaływań pomiędzy białkami ma duże praktyczne znaczenie. Jedną z cech tych obszarów powierzchni białek, które biorą udział w tworzeniu kompleksów, jest ich stosunkowo słabsze oddziaływanie z wodą. Mając to na uwadze wykorzystamy zdolność naszego modelu do oceny właściwości warstwy hydratacyjnej przy jednoczesnym uwzględnieniu oddziaływań elektrostatycznych, efektów hydrofobowych i lokalnej topografii, w celu opracowania metody klasyfikacji powierzchni białka na obszary o dużym i małym prawdopodobieństwie udziału w interakcjach międzybiałkowych.

**C)** Przeanalizujemy podstawy stabilności i charakter oddziaływań w obrębie podstawowych jednostek strukturalnych białek, tzw. elementów struktury ponaddrugorzędowej. Teoria dotycząca pochodzenia złożonych domen białkowych zakłada, że powstały one w wyniku połączenia prostszych peptydów. Istotnie, ślad po takich prehistorycznych elementach stanowią sekwencyjnie i strukturalnie podobne fragmenty polipeptydowe, występujące we współczesnych, niepowiązanych ze sobą domenach białkowych. Biorąc pod uwagę, iż służą one jako załączki fałdowania dla domen białkowych sprawdzimy w oparciu o symulacje dynamiki molekularnej, czy cechują się one nadmiarową stabilnością w porównaniu do strukturalnie analogicznych, lecz sekwencyjnie niepowiązanych fragmentów białek. Ponadto, zbadamy co determinuje tę stabilność, uzyskując wgląd w: a) mechanizm, za pomocą którego łańcuchy polipeptydowe zwijają się, pokonując niekorzystny wpływ efektów hydratacyjnych, b) rolę hydrofobowych rdzeni białkowych, c) zasady pozwalające na projektowanie nowych struktur białkowych.

**D)** Zbadamy mechanizm rozpoznawania krzywizny błony lipidowej przez transbłonowe helisy białkowe. W odróżnieniu od białek membranowych o asymetrycznej budowie, których kształt w naturalny sposób pasuje do zakrzywionej błony, preferencja w tym względzie pojedynczych, cylindrycznych helis opiera się prawdopodobnie na rozpoznawaniu defektów upakowania lipidów na wypukłej powierzchni lub zwiększonej polarności wklęsłej powierzchni dwuwarstwy. By zbadać fizyczne podstawy tych efektów przeprowadzimy wieloskalowe symulacje modelowych peptydów transbłonowych, w ramach których zmodyfikujemy elementy ich struktury tak, aby osiągnąć powinowactwo do określonej krzywizny błony. Peptydy o najciekawszych właściwościach zostaną przetestowane eksperymentalnie, otwierając perspektywy do konstrukcji sond białkowych rozpoznających topografię membran lipidowych.