

## **Bio-QCr: wykorzystanie pełnego potencjału trójwymiarowej dyfrakcji elektronów w krytalografii makromolekularnej z użyciem krytalografii kwantowej**

**Paulina M. Dominiak**

**Cel projektu.** Każda żywa istota składa się z białek, kwasów nukleinowych, lipidów, węglowodanów, metabolitów i wody. Cząsteczki te, mimo że są zbudowane z ograniczonego zestawu atomów, różnią się od siebie liczbą atomów i sposobem, w jaki te atomy łączą się, tworząc trójwymiarową strukturę. Celem projektu jest udoskonalenie doświadczalnego procesu wyznaczania struktur 3D makrocząsteczek biologicznych. Znacząca struktura atomowej i elektronowej biomakromolekuł jest bardzo ważna dla zrozumienia ich funkcji.

Trójwymiarowa dyfrakcja elektronów (3DED, microED) umożliwia określenie struktury makrocząsteczek z rozdzielczością zbliżoną do atomowej lub atomową w oparciu o kryształy mniejsze niż 1  $\mu\text{m}$ . 3DED to nowo powstała technika w biologii strukturalnej, oferująca unikalne możliwości w porównaniu z tradycyjną dyfrakcją rentgenowską (XRD) i nowatorską kriogeniczną mikroskopią elektronową pojedynczych cząstek (cryoEM). Analiza danych 3DED jest jednak skomplikowana i wciąż stwarza szereg wyzwań. Jednym z nich jest możliwość uwzględnienia w analizie efektu oddziaływań pomiędzy atomami w makrocząsteczkach. Ta część analizy strukturalnej należy do obszaru krytalografii kwantowej (QCr). Celem tego projektu jest głęboka integracja świata QCr z biologią strukturalną i umożliwienie dostępu do informacji kwantowo-krytalograficznej uzyskiwanej z bardzo małych kryształów biomakromolekuł.

**Powody podjęcia tej tematyki badawczej.** Dokładne opisy strukturalne biomakromolekuł są niezbędne do pogłębiania naszej wiedzy z zakresu biologii, medycyny, biotechnologii i rolnictwa. Są one niezbędne do zrozumienia procesów życiowych na poziomie pojedynczych cząsteczek i atomów. Znajdują zastosowanie w badaniach korelacji struktura-funkcja; wyjaśnianiu mechanizmów procesów komórkowych, reakcji enzymatycznych i szlaków sygnałowych; racjonalnym projektowaniu i rozwoju leków; projektowaniu enzymów i innych makromolekuł do celów przemysłowych; itp.

Istotą eksperymentów 3DED, XRD czy cryoEM jest obserwacja, jak wiązka elektronów lub promieni rentgenowskich rozprasa się na badanej próbce. Analizując otrzymany obraz rozproszenia (dyfrakcji w przypadku kryształów) możemy zrekonstruować układ atomów naszej próbki w przestrzeni. Aby właściwie przeanalizować obraz, musimy modelować, w jaki sposób każdy atom rozprasa wiązkę. Modele te nazywamy „czynnikami rozpraszania”. Podejścia QCr są stosowane od wielu lat w krytalografii rentgenowskiej, między innymi w celu zapewnienia lepszych modeli czynników rozpraszania. Do XRD wprowadzono asferyczne atomowe czynniki rozpraszania, zastępując konwencjonalny model rozpraszania sferycznego niezależnego atomu (IAM). Również w krytalografii elektronowej skupiającej się na małych cząsteczkach, przetestowano niedawno podejście asferyczne zwane TAAM, oparte na multipolowej reprezentacji gęstości elektronowej i na banku danych MATTS, z obiecującymi wynikami.

Rozpraszanie elektronów jest znacznie bardziej wrażliwe na skutki redystrybucji gęstości elektronowej atomów pomiędzy oddziałującymi atomami niż promieniowanie rentgenowskie. Dzieje się tak, ponieważ elektrony oddziałują z potencjałem elektrostatycznym próbki, który zależy od delikatnej równowagi pomiędzy ładunkiem ujemnym gęstości elektronowej atomu a ładunkiem dodatnim jądra atomu, w przeciwieństwie do promieni rentgenowskich oddziałujących wyłącznie z gęstością elektronową. Ta wrażliwość jest najbardziej widoczna przy niskich kątach rozpraszania (w niskich zakresach rozdzielczości). Eksperymenty dyfrakcyjne dla makromolekularnych kryształów próbują rozpraszanie przy niskich kątach znacznie lepiej niż w przypadku małych cząsteczek. Stawiamy hipotezę, że połączenie asferycznych czynników rozpraszania z danymi 3DED dla biomakromolekuł prowadzi do informacji strukturalnej o lepszej jakości, a dla danych 3DED o wyjątkowo wysokiej jakości możliwe jest nawet wydobycie z nich ilościowych informacji na temat drobnych szczegółów potencjału elektrostatycznego biomakrocząsteczki.

**Opis badań.** Wdrożymy podejście asferycznych czynników rozpraszania do powszechnie używanego oprogramowania do krytalografii biomakromolekularnej, aby przeprowadzić udokładnienia na dużej ilości danych dyfrakcyjnych dla biomakromolekuł o różnej rozdzielczości i jakości, korzystając z pozostałych metodologii wspierających udokładnienia biomakromolekularne opracowanych przez lata i już wdrożonych. Określimy ilościowo, w jakim stopniu modele rozpraszania asferycznego są lepsze od IAM w krytalografii biomakromolekularnej i zdefiniujemy obszary ich zastosowania. Odpowiemy na pytanie, czy obecnie dostępne dane eksperymentalne 3DED wykazują większą wrażliwość na modele rozpraszania niż XRD. Planujemy także zbieranie nowych danych 3DED i zastosowanie opracowanych metod do ciekawych problemów naukowych, takich jak mechanizmy fotosyntezy, w szczególności transfer elektronów w ferredoksynach czy transfer energii świetlnej przez chlorofil w kompleksach antenowych.

**Najważniejsze spodziewane efekty.** W rezultacie szeroko otworzymy standardowe biomakromolekularne eksperymenty krytalograficzne 3DED i XRD na podejścia QCr i przeniesimy standardową krytalografię biomakromolekularną z poziomu zwykłej analizy połączeń atomów na wyższy poziom oceny właściwości elektrostatycznych i struktury elektronowej biomakromolekuł. Projekt będzie miał znaczący wpływ na wszystkie nauki o życiu.