

Warszawa, 20.11.2024 r.

Mgr Urszula Budniak
Pracownia Krystalochemii
Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski

Autoreferat rozprawy doktorskiej pod tytułem:

‘Characterization of intermolecular interactions of nucleobases and other nucleic acid components in small molecule crystals and in protein-RNA complexes with the use of the UBDB databank’

Tytuł w języku polskim:

„Charakterystyka międzycząsteczkowych oddziaływań zasad azotowych i innych komponentów kwasów nukleinowych w kryształach małych cząsteczek i w kompleksach białko-RNA z wykorzystaniem banku UBDB”

Promotor: prof. dr hab. Paulina Maria Dominiak

Określenie struktury i energii oddziaływań związków biologicznie czynnych jest niezbędne w projektowaniu leków, zrozumieniu mechanizmów procesów biologicznych oraz określeniu relacji struktura-funkcja w białkach. Dzięki metodom obliczeniowym możliwe jest oszacowanie energii oddziaływań elektrostatycznych wybranych kompleksów i wskazanie obszarów, których modyfikacje mogą zmieniać siłę oddziaływań. Energia elektrostatyczna ma największy udział w energii oddziaływań (szczególnie w układach biologicznych), dlatego jest najlepszym narzędziem do szacowania energii oddziaływań w biolakromolekułach. Pożądane są prostsze metody obliczeniowe niż obliczenia mechaniki kwantowej. W mojej pracy doktorskiej przedstawiam, w jaki sposób metoda zwana UBDB+EPMM (University at Buffalo Pseudoatom DataBank + Exact Potential Multipole Moments) może być stosowana do małych kryształów cząsteczek organicznych, ale także większych kompleksów białko-RNA.

W pierwszej części mojej pracy skupiłam się na zasadach azotowych występujących w kwasach nukleinowych i ich analogach. Udało mi się uzyskać dobrej jakości kryształy chlorku izoguaniny i izocytozyny, dla których przeprowadziłem analizę strukturalną, którą wsparłam obliczeniami energii oddziaływań elektrostatycznych (Ees). W przypadku izoguaniny bank UBDB został wykorzystany do rekonstrukcji gęstości ładunku, a dla izocytozyny stanowił punkt wyjścia do modelowania eksperymentalnej gęstości ładunku. W strukturze chlorku izoguaniny zaobserwowano dwa rodzaje taśm molekularnych, które zostały utworzone przez dimery kationów izoguaniny oddziałujących z anionami chlorkowymi.

Analiza Ees wykazała, że kationy w jednym rodzaju taśmy były zorientowane tak, aby zminimalizować odpychające oddziaływania elektrostatyczne. Izocytozyna nie tworzyła sieci warstwowej. W kryształach izocytozyny występowały dwie formy tautomeryczne w jednej jednostce asymetrycznej połączone potrójnym wiązaniem wodorowym, a taki układ był bardzo korzystny energetycznie.

Druga część mojego projektu miała na celu scharakteryzowanie oddziaływań elektrostatycznych w wybranych kompleksach białek IFIT z RNA. Na początku musiałam rozszerzyć UBDB o nowe typy atomów używane do opisu oddziaływań grupy trójfosforanowej RNA z białkami i jonami magnezu oraz zweryfikować funkcjonalność rozszerzonego banku. Następnie przeanalizowałam struktury białek IFIT1 i IFIT5, nałożyłam UBDB do rekonstrukcji rozkładu gęstości elektronowej i obliczyłam energie oddziaływań wybranych kompleksów białko-RNA. Na podstawie przeprowadzonych obliczeń byłam w stanie przeanalizować wpływ sekwencji białka lub RNA na energię oddziaływań w kompleksach IFIT-RNA. Obliczone energie oddziaływań porównałam ze stałymi dysocjacji kompleksów z literatury oraz z wynikami eksperymentów biofizycznych przeprowadzonych przeze mnie metodą termoforezy w mikroskali (MST). Wykazałam, że zgodnie z obliczeniami i wstępnymi wynikami eksperymentalnymi uzyskanymi metodą MST, białko IFIT1 powinno wiązać pppRNA z podobną siłą jak wiąże cap0RNA. Udowodniłam również, że zgodnie z obliczeniami energii elektrostatycznej, oddziaływania białka IFIT5 z RNA nie zależą od sekwencji pierwszych trzech nukleotydów RNA. Ponadto zidentyfikowałam ważne energetycznie aminokwasy, których mutacje mogą wpływać na siłę wiązania RNA przez białko.

Moja praca pokazuje, że energia elektrostatyczna oddziaływań obliczona metodą UBDB+EPMM może wspierać eksperymenty, zarówno w fazie projektowania, jak i weryfikacji uzyskanych danych. Elektrostatyka ma moc predykcyjną, np. może wskazać silnie oddziałujące aminokwasy, których mutacja może mieć znaczący wpływ na siłę wiązania białko-ligand.

Rozprawa doktorska została napisana w języku angielskim. Przedstawione wyniki badań zostały opublikowane w dwóch artykułach naukowych w czasopiśmie o charakterze międzynarodowym, trzeci artykuł jest w trakcie publikowania.