

Krajobraz energetyczny białek o nietrywialnej topologii - opracowanie modelu do rekonstrukcji białek o nietrywialnej topologii na podstawie mapy gęstości elektronowej, X-Ray

prof. dr hab. Wlodek Minor wladek@iwonka.med.virginia.edu Department of Molecular Physiology and Biological Physics, University of Virginia
krystalografia
prof. dr hab. Anna Gambin aniag@mimuw.edu.pl Wydział Matematyki, Informatyki, Mechaniki, Uniwersytet Warszawski
matematyka, statystyka, bioinformatyka
dr Joanna Sulkowska jsulkowska@chem.uw.edu.pl Wydział Chemii, Centrum Nowych Technologii, Uniwersytet Warszawski
fizyka, teoria węzłów, modelowanie molekularne, bioinformatyka, biofizyka

Cel badań

Celem projektu jest identyfikacja cech charakterystycznych białek o nietrywialnej topologii. analiza krajobrazu energetycznego oraz stworzenie na tej podstawie modelu do przekształcania map gęstości elektronowej w przestrzenne modele. Pod pojęciem krajobrazu energetycznego rozumie się wszystkie czynniki fizykochemiczne mające wpływ na przybieraną konformację białka, a w konsekwencji na funkcjonowanie biologiczne. Wyznaczenie krajobrazu energetycznego ma na celu zrozumienie dlaczego niektóre białka zwijają się zawsze w formę zawężoną oraz jaki wpływ na funkcje ma topologia struktury. W szerszej perspektywie celem jest poznanie biologicznej roli jaką pełnią węzły.

Opis problematyki

Węzły odgrywają istotną rolę w wielu fizycznych sytuacjach. Jak obserwujemy nawet w życiu codziennym, obecność węzłów może stabilizować dany układ - np. nie jest łatwo spowodować samoczynne rozwiązanie sznurówek. Chociaż do niedawna powszechnie sądzono, iż struktury zawierające węzły są zbyt skomplikowane by móc pojawiać się w białkach, dziś wiemy, że zawężone białka występują w prawie wszystkich formach życia. Obecne metody teoretyczne wyznaczania struktury na podstawie danych doświadczalnych nie pozwalają na wykrycie węzłów. Jednakże ilość skryształizowanych białek z węzłami jest zaskakująco mała w porównaniu z obfitością węzłów znaną w innych polimerach (np. DNA). Zakłada się, że taki stan rzeczy jest wypadkową dwóch procesów: węzły w białkach zostały ewolucyjnie wyeliminowane, gdyż zbyt powolnie zwijające się białka mogą prowadzić do struktur amyloidalnych; z drugiej strony, ostatnio zostało pokazane (Sulkowska, PNAS, 2012), iż węzły w białkach są zachowane ewolucyjnie, co z kolei sugeruje, iż w pewnych przypadkach powolne zwijanie jest kompensowane przez korzystny wpływ obecności węzła na funkcje białka. Obecnie znanych jest ponad 1300 struktur (Sulkowska, NAR, 2015) o nietrywialnej topologii. Prawdopodobnie jest ich znacznie więcej, jednakże ich poznanie wymaga poprawnej rekonstrukcji danych doświadczalnych przy użyciu odpowiednich narzędzi - np. map gęstości elektronowych (dane X-Ray), z których rekonstruowana jest ciągła przestrzenna struktura białka. Dostosowanie takich narzędzi do problematyki białek z węzłami jest jednym z celów niniejszej pracy.

Metody

Cele projektu będą realizowane na kilka sposobów:

- Po pierwsze konieczne będzie określenie jak głęboko informacja o topologii zakodowana jest w sekwencji i jak przedkłada się ona na funkcję białek. Ta część będzie polegała na kompleksowej analizie sekwencji aminokwasów, identyfikacji kluczowych aminokwasów, typowych motywów drugo i trzeciorzędowych. Przy zastosowaniu odpowiednich testów statystycznych możliwe będzie określenie nadreprezentacji występowania określonych typów obiektów (aminokwasów, motywów) w sekwencji w rejonie węzła i poz nim. Zbadany zostanie również wpływ topologii na aktywność biologiczną, poprzez analizę położenia centrum aktywnego w rejonie węzła i poza nim. Do przeprowadzenia tego typu analiz niezbędna będzie znajomość biologicznych baz danych, statystyki, teorii grafów oraz bioinformatycznych metod analizy struktur i sekwencji. Przebadanych zostanie 16 reprezentacyjnych rodzin zawężonych białek. Ta analiza pozwoli odpowiedzieć między

innymi na pytanie jakie cechy chemiczne i geometryczne (strukturalne) posiada struktura w okolicach węzła.

- Rola białek z węzłami zbadana będzie w ujęciu biologii systemów poprzez analizę sieci interaktomów oraz miejsca występowania w nich białek zawężlonych. Sieć zostanie podzielona na funkcjonalne moduły z użyciem algorytmu BCD (Chunlin Wang, Genome Biology, 2007). Biologiczna interpretacja tych danych pozwoli na zidentyfikowanie procesów komórkowych dla których istnienie węzła jest krytyczne.
- Wyznaczenie krajobrazu energetycznego oraz określenie makroskopowych własności węzłów określone zostanie na podstawie podstawie ruchów molekularnych wyznaczonych poprzez wielkoskalowe modele oraz klasyczne dynamiki molekularne. Opis makroskopowy jest motywowany następującymi faktami: białka z węzłami prawdopodobnie występują częściej w organizmach termofilnych, więzy topologiczne zapewniałyby tu odporność na temperaturę. Analiza danych o zmianach konformacyjnych białek pochodzących z różnych typów symulacji jest niezbędna dla wyznaczenia krajobrazu energii.

Zrealizowanie tego projektu wymaga interdyscyplinarnego podejścia łączącego elementy matematyki (charakterystyka topologiczna białek, poszukiwania cech metodami statystycznymi, teoria grafów), biofizyki (krajobraz energetyczny, metody modelowania własności układu w różnych skaldach czasowych), bioinformatyki (analiza struktur, sekwencji, sieci interaktomów), chemii (opracowanie modelu do rekonstrukcji modeli białek) i biologii (biologiczna interpretacja danych).

Opiekunowie

Analiza map gęstości elektronowej i na jej podstawie budowanie modelu do rekonstrukcji białek będzie wykonane pod opieką prof. dr. hab. Władka Minora. Prof. Minor jest światowej klasy specjalistą od techniki X-Ray, którą wykorzystuje do zrozumienia związku pomiędzy strukturą i funkcją białek. Skryształizował on już m.in. kilka białek z węzłami. Jego wiedza i czynny udział w projekcie gwarantuje sukces opracowania nowej metody. Prof. Minor przyjeżdża do Polski co najmniej 4 razy w roku, jest też współpracownikiem w grancie dr. Joanny Sułkowskiej; planujemy także kilka krótkich staży w jego laboratorium w USA.

Analiza statystyczna i bioinformatyczna będzie wykonana pod kierunkiem dr. hab. Anny Gambin, a charakterystyka krajobrazu energetycznego i modelowanie własności makroskopowych pod kierunkiem dr. Joanny Sułkowskiej w obu przypadkach w CeNT, UW. Projekt będzie realizowany w interdyscyplinarnym zespole i współfinansowany będzie z funduszy opiekuna, dr. Joanny Sułkowskiej (grant Sonata BIS).