

Streszczenie

Glikozaminoglikany (GAGi) to liniowe anionowe polisacharydy zbudowane z powtarzających się jednostek dwucukrowych, składających się z heksozaminy i kwasu uronowego, wykazujących zróżnicowany stopień i wzór sulfatacji. Są istotnymi składnikami macierzy pozakomórkowej i odgrywają kluczową rolę w licznych procesach komórkowych poprzez oddziaływania z różnymi białkami. Specyficzność oddziaływań między GAGami a białkami, czyli zdolność receptora lub ligandu do rozróżniania podobnych do siebie partnerów wiązania i zdolność preferencyjnego tworzenia interakcji z jednym lub kilkoma wybranymi molekułami zależy w dużej mierze od właściwości strukturalnych i chemicznych GAGów, a także od cech strukturalnych samego białka. Zmiany wpływające na specyficzność wiązania mogą powodować zaburzenia w sygnalizacji między- i wewnątrzkomórkowej i wywoływać rozwój chorób takich jak choroby neurodegeneracyjne, nowotworowe, czy autoimmunologiczne. Zrozumienie mechanizmów wiązania ma zatem kluczowe znaczenie dla opracowania mimetyków GAGów do zastosowań terapeutycznych, które mogłyby odtwarzać, wzmacniać lub modyfikować oddziaływania GAGów z białkami.

Złożoność strukturalna GAGów utrudnia eksperymentalną izolację jednorodnych strukturalnie fragmentów, natomiast ich konformacyjna elastyczność i przejściowy charakter oddziaływań z białkami dodatkowo utrudniają analizy strukturalne. Szczegółowa charakterystyka specyficzności poszczególnych miejsc wiązania GAGów *in vitro* jest utrudniona dla oddziaływań białko/GAG z powodu obierania przez cząsteczki GAGów wielu pozycji w przestrzeni o porównowalnych powinowactwach. Połączenie metod eksperymentalnych i obliczeniowych jest więc korzystne dla uzyskania pełniejszego zrozumienia specyficzności interakcji białko/GAG.

Metody obliczeniowe pozwalają na wyjaśnienie mechanizmów wiązania oraz wpływu określonych cech GAGów na poziomie molekularnym. Mapowanie potencjału elektrostatycznego za pomocą modeli teoretycznych pozwala na identyfikację regionów białka, które są prawdopodobnymi miejscami oddziaływań z GAGami z uwagi na dominującą rolę elektrostatyki w ich interakcjach. Dokowanie oraz symulacje dynamiki molekularnej mogą posłużyć do identyfikacji

potencjalnych miejsc wiązania oraz do charakterystyki stabilności oddziaływań i zachodzących w wyniku wiązania zmian konformacyjnych. Podczas gdy atomistyczna dynamika molekularna opisuje ruch i interakcje każdego pojedynczego atomu, podejścia gruboziarniste grupują kilka atomów w reprezentatywne "ziarna", zachowujące kluczowe cechy fizykochemiczne i umożliwiając tym redukcję kosztów obliczeniowych. Powinowactwo wiązania GAGów z białkami można oszacować obliczając energię swobodną towarzyszącą ich oddziaływaniom, co pozwala na poznanie termodynamiki wiązania. Inne podejścia, takie jak uczenie maszynowe, pozwalają na klasyfikowanie interakcji na podstawie cech strukturalnych zarówno białek, jak i GAGów, ujawniając przy tym ukryte wzorce w mechanizmach wiązania.

Badania przedstawione w niniejszej rozprawie miały na celu eksplorację z wykorzystaniem metod obliczeniowych obszarów obecnie niedostępnych dla badań eksperymentalnych w zakresie specyficzności wiązania białko/GAG. Zastosowane modele obliczeniowe zostały zintegrowane z i poddane weryfikacji w oparciu o dane eksperymentalne, aby uzyskać kompleksowy obraz oddziaływań białko/GAG. Wpływ wiązania różnych typów GAGów na potencjał elektrostatyczny powierzchni białka przeanalizowano metodami obliczeniowymi i porównano z wynikami spektroskopii NMR z użyciem sond paramagnetycznych. Następnie przeprowadzone zostały symulacje atomistycznej dynamiki molekularnej kompleksów białko/GAG oraz białko/peptyd w celu zbadania wpływu oddziaływań elektrostatycznych w porównaniu do innych właściwości fizykochemicznych na specyficzność wiązania. Obliczenia energii swobodnej wraz z analizą elastyczności ligandów pozwoliły odróżnić interakcje z GAGami od tych z anionowymi peptydami. Zaimplementowano i sparametryzowano gruboziarnisty model heparyny w celu symulacji struktury i dynamiki łańcuchów heparyny o różnej długości oraz weryfikacji skuteczności modelu w odtwarzaniu biologicznego zachowania tych cząsteczek. Przeprowadzone zostały również symulacje dynamiki molekularnej GAGów o różnych wzorach sulfatacji w połączeniu z nienadzorowanym uczeniem maszynowym, aby powiązać cechy strukturalne GAGów ze specyficznością wiązania.

Badania przedstawione w tej rozprawie miały znaczący wkład w zrozumienie specyficzności oddziaływań białko/GAG. Opracowano innowacyjne narzędzia i schematy analizy dla symulacji gruboziarnistych, zwiększając efektywność modelowania oddziaływań białko/GAG, a zastosowane podejścia obliczeniowe stanowią podstawę dla przyszłych badań nad specyficznością wiązania białko/GAG.