

Tematy prac magisterskich dla studentów specjalności „Biofizyka molekularna” na kierunku „Zastosowanie fizyki w biologii i medycynie” i specjalności „Biofizyka” na kierunku „Fizyka” w r. akad. 2014/2015

1. Opiekun: prof. dr hab. Jan Antosiewicz, jantosi@biogeo.uw.edu.pl tel. 55 40 786

„Analiza jonizacji reszt tyrozynowych w badaniach strukturalnych białek”

Opis: Reszty tyrozynowe w białkach mają często podwyższoną wartość stałej równowagi kwasowej dysocjacji K (zwykle podawane jako $pK = -\log_{10} K$). Powodem jest zwykle brak dostępu tych reszt do rozpuszczalnika w natywnej strukturze białek. Reszty te zaczynają dysocjować protony, gdy pH osiągnie wartość wystarczająco dużą do rozpoczęcia zmian strukturalnych. To można wykorzystać do badania pewnych aspektów struktury i zmian w strukturze pod wpływem podwyższania pH. Wykonanie pracy polegać będzie na twórczej analizie literatury dotyczącej tego zagadnienia. Dla chętnych możliwe własne badania doświadczalne (spektroskopia absorpcyjna i emisyjna w zakresie UV-Vis, stacjonarna i kinetyczna) i teoretyczne (symulacje metodami elektrostatyki molekularnej).

2. Opiekun: prof. dr hab. Maria Agnieszka Bzowska, abzowska@biogeo.uw.edu.pl
tel. 55 40 789

„Właściwości katalityczne i próba uzyskania struktury przestrzennej mutantów heksamerycznej fosforylasy nukleozydów purynowych S90T i S90Y”

Opis: Fosforylasy nukleozydów purynowych (PNP) to kluczowe enzymy metabolizmu składników kwasów nukleinowych, znajdujące się praktycznie w każdej żywej komórce. Fosforylasy izolowane z różnych źródeł oraz silne selektywne inhibitory fosforylaz z tkanek ludzkich czy organizmów chorobotwórczych mają potencjalne ogromne znaczenie jako leki immunosupresyjne czy przeciwpasożytnicze, a mniej specyficzne fosforylasy z niektórych bakterii - w chemii nukleozydów purynowych oraz w opracowywanej terapii genowej niektórych nowotworów. Fosforylasy heksametyczne, np. z *E. coli*, strukturalnie będące trimerem dimerów, wykazują silną negatywną kooperację między podjednostkami w dimerze, a realizowany przez nas projekt ma na celu m.in. zrozumienie, jaką korzyść katalityczną przynosi enzymowi taka kooperacja. Osobie zainteresowanej wykonaniem pracy magisterskiej proponujemy zbadanie właściwości dwóch zupełnie nowych mutantów heksamerycznego PNP (*E. coli*), S90T i S90Y. Mutanty te, wg niektórych danych literaturowych (P.O. de Giuseppe et al., 2012) mogą nie wykazywać kooperacji między podjednostkami, ze względu na zastąpienie mniejszej reszty (seryny) aminokwasem większym, wprowadzającym zawadę przestrzenną w przekazaniu sygnału do sąsiedniej podjednostki. W związku z tym, że są to zupełnie nowe mutanty, w pierwszej kolejności zostaną (metodami spektroskopowymi) scharakteryzowane ich właściwości katalityczne, natomiast inne metody badawcze zostaną dobrane w zależności od tych właściwości, mogą to być np. spektroskopia CD w bliskim i dalekim nadfiolecie, miareczkowania fluorescencyjne i kalorymetryczne, próba krystalizacji białka i, jeśli zostanie uzyskany rozpraszający kryształ, dyfrakcja rentgenowska.

P.O. de Giuseppe et al., 2012, “Insights into Phosphate Cooperativity and Influence of Substrate Modifications on Binding and Catalysis of Hexameric Purine Nucleoside Phosphorylases” PloS One 7(9), e:44282.

3. i 4. Opiekun: prof. dr hab. Edward Darżynkiewicz, edek@biogeo.uw.edu.pl tel.

tel. 55 40 787; **Współopiekun: dr hab. Janusz Stępiński,** jastep@biogeo.uw.edu.pl

Dwa jednakowe tematy dla dwóch magistrantów:

„Synteza oligorybonukleotydowych analogów 5' mRNA kapu w aspekcie badań nad specyficznością enzymów hydrolizujących kap oraz faktorów białkowych oddziaływujących z kapem”

Opis: Eukariotyczne mRNA zakończone są na końcu 5' strukturą m⁷GpppN, zwaną kapem. Ostatnio odkrywano coraz to nowe enzymy odpowiedzialne za komórkową hydrolizę kapu. W ramach grantu prowadzimy szeroko zakrojone badania nad specyficznością substratową tych enzymów, tj. zależnością nie tylko od samej struktury kapu, ale też jego najbliższego sąsiedztwa. W ramach pracy magisterskiej przewidywana jest synteza pochodnych kapu z łańcuchem oligonukleotydowym o różnej sekwencji i długości, a następnie zbadanie ich podatności na hydrolizę przez wybrane enzymy serii Nudt i DcpS. Przewidziana jest również synteza nośników chromatografii powinowactwa, w których koniec 3' kapowanego oligonukleotydu będzie zakończony biotyną. Posłużą one do identyfikacji nowych komórkowych aktywności enzymatycznych oraz charakteryzacji enzymów będących w posiadaniu laboratorium. Niektóre pochodne zostaną zastosowane w badaniach nad specyficznością ich oddziaływania z komórkowymi faktorami, np. eIF4E czy CBC, biorącymi udział w kap-zależnych procesach komórkowych (inicjacja translacji, transport wewnątrzkomórkowy mRNA i U snRNA). **Tematyka jest na tyle obszerna, że może być realizowana przez dwie osoby.**

5. Opiekun: dr hab. Jacek Jemielity prof. UW, jacekj@biogeo.uw.edu.pl tel. 55 40 774 „Nukleotydy znakowane pirenem jako sondy molekularne - badania oddziaływań z białkami i pochodnymi grafenu”

Temat przydzielony; magistrantka: Renata Kasprzyk

Opis: Piren ze względu na swoje właściwości fluorescencyjne, w tym zdolność do tworzenia ekscymerów, jest wykorzystywany do tworzenia sond molekularnych. W pracy zbadane zostaną właściwości nukleotydów, w tym analogów końca 5' mRNA, znakowanych pirenem pod kątem ich wykorzystania jako sond molekularnych. Stosując metody spektrofluorymetryczne zbadane zostaną oddziaływania znakowanych nukleotydów z białkami wiążącymi koniec 5' mRNA (eIF4E, DcpS) oraz z pochodnymi grafenu. Zbadany zostanie wpływ różnych czynników takich jak pH, siła jonowa, temperatura na zmianę właściwości fluorescencyjnych kompleksów nukleotydów z nano- lub biomateriałami. Wyniki badań zostaną przedyskutowane pod kątem konstruowania sond pozwalających na wyznaczanie stężenia specyficznych białek będących celami terapeutycznymi w warunkach in vitro oraz in vivo. Przedstawione zostaną przykładowe zastosowania najciekawszych nukleotydów znakowanych pirenem do przesiewowych badań poszukiwania inhibitorów pirofosfataz.

6. Opiekun: prof. dr hab. Borys Kierdaszuk, borys@biogeo.uw.edu.pl tel. 55 40 784 „Badania właściwości emisyjnych białek i ich wykorzystanie w charakterystyce oddziaływania z ligandami (substratami, inhibitorami)”

Opis: Wpływ oddziaływania elektrostatycznego między makromolekulą (białkiem) i molekulą (ligandem) na ich widma absorpcji i emisji fotonów umożliwia ilościową charakterystykę kompleksów (asocjatów) białko-ligand. Nauczymy się jak na podstawie zależności tych widm od stężenia liganda i temperatury w roztworze można wyznaczyć powinowactwo, tj. stałą asocjacji i liczbę molekul liganda wiązanych przez jedną makromolekulę białkową (stechiometrię). Praca magisterska dotyczy określenia wymagań wybranego enzymu i sformułowania na tej podstawie modelu mechanizmu reakcji enzymatycznej na bazie precyzyjnych informacji o strukturze i własnościach fizycznych enzymu, ligandów i asocjatów enzym-ligand. Uwzględniony będzie wzajemny wpływ enzymu na ligand(y) i vice versa. Planowane jest wykorzystanie szeregu mutantów tego

enzymu w celu ustalenia wpływu struktury miejsca aktywnego na jego powinowactwo do ligandów. Odpowiemy na pytanie: jakich parametrów należałoby się spodziewać w przypadku bardzo dobrego inhibitora enzymu - potencjalnego leku? Uzyskane wyniki będą podstawą pracy magisterskiej.

7. Opiekun: prof. dr hab. Borys Kierdaszuk, borys@biogeo.uw.edu.pl tel. 55 40 784
„Zastosowanie zwiększonej rozdzielczości czasowej i przestrzennej laserowej fluorescencyjnej mikroskopii konfokalnej w badaniach kompleksów enzym - ligand znakowanych sondami fluorescencyjnymi.

Opis: Celem pracy magisterskiej jest wykorzystanie zwiększonej rozdzielczości przestrzennej i czułości metod fluorescencyjnych poprzez zastosowanie laserowej fluorescencyjnej mikroskopii konfokalnej, gdzie aby podwyższyć rozdzielczość przestrzenną i czasową wykorzystuje się wygaszanie stanów wzbudzonych za pomocą emisji stymulowanej (Stimulated Emission Depletion, STED) trójwymiarowego obrazowania struktury za pomocą przestrzennego rozkładu czasów życia stanów wzbudzonych (Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy, FLIM). Badania te mogą być rozszerzone o badania dyfuzji cząsteczek i makrocząsteczek biologicznych, np. białek i ich kompleksów z ligandami (substratami, inhibitorami) in vitro oraz in vivo w za pomocą fluorescencyjnej spektroskopii korelacyjnej (Fluorescence Correlation Spectroscopy, FCS). W badaniach tych uwzględnione będą następujące zjawiska fizyczne i ich ewentualny wpływ na emisję (fluorescencję) cząsteczek i ich kompleksów:

- (a) Kinetyka rozpoznawania się (asocjacji) enzymów z ligandami na podstawie wpływu zmieszania składników kompleksu na ich fluorescencję;
- (b) Oddziaływania elektrostatyczne, np. typu wiązań wodorowych;
- (c) Bezpromieniste (rezonansowe) przeniesienie energii wzbudzenia w wyniku oddziaływania dipol-dipol między donorem w stanie wzbudzonym i akceptorem w stanie podstawowym.
- (d) Śledzenie dyfuzji, liczby cząsteczek ich masy cząsteczkowej oraz asocjacji.

8. Opiekun: prof. dr hab. Borys Kierdaszuk, borys@biogeo.uw.edu.pl tel. 55 40 784
„Entalpia swobodna oddziaływania enzym-inhibitor”

Opis: Zbadanie wpływu oddziaływania elektrostatycznego między makromolekułą (białkiem) i molekułą (ligandem) na ich widma absorpcji i emisji fotonów umożliwia ilościową charakterystykę kompleksów (asocjacji) białko-ligand (enzym-inhibitor). Nauczymy się jak na podstawie zależności tych widm od stężenia liganda w roztworze białka oraz temperatury tego roztworu można wyznaczyć entalpię swobodną asocjacji wybranego enzymu z inhibitorem. Wyniki będą mogły być wykorzystane w projektowaniu inhibitorów (leków) o selektywnych właściwościach terapeutycznych wobec enzymów izolowanych z pasożytów (np. nicieni) i mikroorganizmów chorobotwórczych (bakterii, wirusów), na podstawie różnic między enzymami ludzkimi i ich odpowiednikami w mikroorganizmach chorobotwórczych. Porównanie selektywności substratowo-inhibitorowej z różnicami strukturalnymi i kinetycznymi między enzymami ludzkimi, zwierzęcymi i z mikroorganizmów (bakterii, wirusów) przyczyni się także do lepszego zrozumienia mechanizmu reakcji katalitycznych. Odpowiemy na pytanie, jakiej entalpii należałoby się spodziewać w przypadku „silnych inhibitorów” (potencjalnych leków).

9. Opiekun: prof. dr hab. Borys Kierdaszuk, borys@biogeo.uw.edu.pl tel. 55 40 784
„Analiza własności spektralnych chloroplastów roślin i kompleksów LHCII – obrazowani strukturalne”

Opis: Chloroplasty są to obiekty makromolekularne składające się między innymi z chromoforów (kilku typów chlorofilu, karotenoidów), białek i błon lipidowych. O ich

własnościach spektralnych i funkcjonalnych decydują głównie własności kompleksów białkowo-chromoforowych. Kompleksy białkowo-chromoforowe absorbują i emitują fotony światła widzialnego, odpowiednio w zakresie 350-750 i 620-800 nm. Ponadto zainteresujemy się także rozpraszaniem światła oraz porównamy absorpcję, emisję i rozpraszanie w przypadku chloroplastów izolowanych z różnych roślin, np. wrażliwych i odpornych na chłód. Nauczymy się jak przestrzenny rozkład charakterystycznych czasów zaniku emisji fotonów (fluorescencji) może być podstawą obrazowania przestrzennego chloroplastów za pomocą fluorescencyjnej mikroskopii konfokalnej (ang. Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy, FLIM). Zbadamy czy środowisko wpływa na strukturę chloroplastów oraz czy ten wpływ ma znaczenie dla ich roli biologicznej.

10. Opiekun: prof. dr hab. Borys Kierdaszuk, borys@biogeo.uw.edu.pl tel. 55 40 784
„Wyznaczanie odległości między białkiem (enzymem) i ligand (inhibitorem) na podstawie rezonansowego transferu energii wzbudzenia fluorescencji”

Opis: W połowie XX wieku T. Foerster opracował fizyczne podstawy transferu energii wzbudzenia fluorescencji (ang. *Fluorescence Resonance Energy Transfer*, FRET) między molekułami zwanymi odpowiednio donorem i akceptorem energii. Głównym elementem teorii Foerстера jest oddziaływanie dipol-dipol między stanem wzbudzonym donora i podstawowym akceptora. Foerster pokazał, że transfer ten jest **rezonansowy**, tzn. widmo emisji donora powinno chociaż częściowo przykrywać się z widmem absorpcji akceptora. Jako konsekwencja oddziaływania dipolowego, wydajność transferu energii powinna być proporcjonalna do czynnika orientacji wzajemnej ($\cos^2$) dipolowych momentów przejść - emisyjnego w przypadku donora i absorpcyjnego w przypadku akceptora oraz odwrotnie proporcjonalna do szóstej potęgi odległości (R^6) między nimi. Badając te dwie zależności nauczmy się podstaw modelu Foerстера.

11. Opiekun: dr Joanna Kowalska, asia@biogeo.uw.edu.pl tel. 55 40 774
„Fluorofosforanowe analogi nukleotydów jako wszechstronne narzędzia do badań ^{19}F NMR”

Temat przydzielony; magistrant: Marek Baranowski

Opis: Jądra ^{19}F mają wiele właściwości korzystnych dla badań NMR, takich jak spin jądrowy równy $1/2$, wysoki współczynnik żyromagnetyczny i 100% abundancję. Właściwości te powodują, że czułość spektroskopii ^{19}F NMR jest równa 83% czułości ^1H NMR. Jednakże, w przeciwieństwie do wodoru, związki naturalne praktycznie nie zawierają fluoru. Ponadto, jądra ^{19}F charakteryzują się większą dyspersją przesunięć chemicznych i są bardziej czułe na zmiany lokalnego otoczenia. Dlatego też, związki znakowane fluorem i ich przekształcenia można selektywnie obserwować za pomocą ^{19}F NMR nawet w złożonych mieszaninach. Nie dziwi więc fakt, że znakowanie ^{19}F nukleotydy i kwasy nukleinowe znajdują szerokie zastosowanie w biochemicznych i biofizycznych eksperymentach opartych o ^{19}F NMR, włączając w to eksperymenty bezpośredniego wiązania, zastąpienia ligandu, badania enzymatyczne, a także strukturalne i funkcjonalne. Celem proponowanego projektu jest opracowanie wydajnych metod wprowadzania znacznika fluorowego w obrębie reszty (oligo) fosforanowej w nukleotydach lub 5'-oligonukleotydach poprzez utworzenie grupy fluorofosforanowej, a następnie zbadanie użyteczności otrzymanych związków w różnego rodzaju eksperymentach ^{19}F NMR.

12. Opiekun: dr Maciej Łukaszewicz, mlukas@biogeo.uw.edu.pl tel. 55 40 781
„Charakterystyka wybranego enzymu z rodziny Nudix hydrolizującego strukturę kapu”
Opis: Usunięcie struktury kapu (7-metyloguanozyny przyłączonej do pierwszego transkrybowanego nukleotydu mostkiem trifosforanowym, m7GpppN) jest jednym z

kluczowych etapów regulujących stabilność mRNA w komórce. Jednym z enzymów hydrolizujących strukturę kapu jest Dcp2 – fosfohydrolaza z rodziny Nudix (Nucleoside Diphosphate linked to X). Dcp2 hydrolizuje kap przyłączony do długich łańcuchów mRNA zawierających powyżej 25 nukleotydów (odcina m⁷Gpp) i tym samym inicjuje degradację w kierunku 5'→3'. Ostatnio opisano nowe enzymy z rodziny Nudix zaangażowane w hydrolizę struktury kapu i kontrolę jakości kapowania mRNA (np. hNudt16, hNudt12, hNudt15 czy Dxo1), co sugeruje że regulacja procesu degradacji mRNA (a tym samym stabilność mRNA) odbywa się na wielu ścieżkach, które mogą być specyficzne w zależności od typu transkryptu RNA czy typu komórki. Dokładna wiedza na temat regulacji degradacji mRNA w komórkach staje się dziś niezwykle ważna ze względu na coraz szersze wykorzystanie mRNA jako cząsteczki terapeutycznej. Praca magisterska będzie związana z otrzymywaniem oczyszczonego wybranego enzymu z rodziny Nudix, a następnie charakterystyki jego specyficzności substratowej w wybranych warunkach reakcji oraz wyznaczenie podstawowych parametrów kinetycznych.

13. Opiekun: dr Maciej Łukaszewicz, mlukas@biogeo.uw.edu.pl tel. 55 40 781

„Modyfikowane analogi struktury kapu 5'-końca mRNA jako potencjalne inhibitory kap-zależnej translacji - badania w układach translacji in vitro.”

Opis: Modyfikowane analogi struktury kapu 5'-końca mRNA są badane pod kątem zastosowań terapeutycznych: jako inhibitory białka eIF4E nadprodukowanego w niektórych typach nowotworów, i jako element struktury mRNA terapeutycznego poprawiający jego stabilność w warunkach komórkowych i właściwości translacyjne (np. Piecyk, Łukaszewicz, Darzynkiewicz, Jankowska-Anyszka: „Triazole-containing monophosphate mRNA cap analogs as effective translation inhibitors.” RNA 2014). Praca będzie dotyczyła charakterystyki nowych serii modyfikowanych analogów kapu, m.in: analizy ich właściwości inhibitorowych w układzie translacji in vitro oraz analizy oporności na enzymy dekapujące (DcpS, Nudt), w celu wytypowania związków do testów in vivo.

14. Opiekun: dr Beata Toczyłowska (IBB PAN), beatat@ibb.waw.pl

Współopiekun: dr Maciej Łukaszewicz, mlukas@biogeo.uw.edu.pl tel. 55 40 781

„Metody ekstrakcji lipidów z próbek biologicznych do zastosowania w metabolomice opartej na spektroskopii NMR”

Temat przydzielony; magistrantka: Aneta Mierzejewska

Opis: Celem pracy jest przetestowanie znanych metod ekstrakcji lipidów i fosfolipidów na potrzeby analizy metabolomicznej z wykorzystaniem spektroskopii NMR. Badane będą co najmniej dwie metody ekstrakcji dla płynów ustrojowych na przykładzie surowicy oraz dwie metody ekstrakcji tkanek - hodowanych komórek i mózgu szczura (ekstrakcja lipidów będzie wykonywana w IMDiK PAN pod kierunkiem dr. n.med. Elżbiety Ziemińskiej). Metody ekstrakcji będą sprawdzane przez wykonanie i analizę widm protonowych i fosforowych. Zostanie wybrana najlepsza metoda ekstrakcji do otrzymania określonych lipidów i fosfolipidów np z błon komórkowych. W razie potrzeby metody będą modyfikowane tak, aby te związki były najlepiej widoczne w widmach.

15. Opiekun: dr Anna Modrak-Wójcik, ankam@biogeo.uw.edu.pl tel. 55 40 779

„Badania kompleksów czynnika inicjacji translacji eIF4E z inhibitorowym białkiem 4E-BP1 oraz analogami kapu metodami spektroskopii dichroizmu kołowego”

Opis: Inicjacja translacji w komórkach eukariotycznych jest złożonym procesem tworzenia kompleksów wielu białek oraz RNA i determinuje wypadkową szybkość biosyntezy białek. Szczególną rolę odgrywa białkowy czynnik translacyjny eIF4E, który inicjuje translację przyłączając się do charakterystycznej struktury kapu na 5'-końcu mRNA. Podwyższone

stężenie eIF4E występuje w wielu rodzajach komórek nowotworowych. Białko 4E-BP1 (4E binding protein), poprzez utworzenie kompleksu z eIF4E i uniemożliwienie przyłączania się kolejnych czynników translacyjnych, prowadzi do zahamowania procesu translacji. Znajomość molekularnego mechanizmu oddziaływania białek eIF4E i 4E-BP1 może okazać się istotna z medycznego punktu widzenia. Dotychczasowe badania wykazały, że miejsca wiązania kapu i 4EBP1 w eIF4E, choć przestrzennie odległe, nie są niezależne. Wyniki te sugerują zachodzenie reorganizacji strukturalnej w miejscu wiązania 4E-BP1 na skutek związania kapu i vice versa – w miejscu wiążącym kap po przyłączeniu 4E-BP1. Praca będzie dotyczyła obserwacji tworzenia kompleksów podwójnych 4E-BP1/eIF4E i eIF4E/kap oraz potrójnych 4E-BP1/eIF4E/kap z wykorzystaniem spektroskopii dichroizmu kołowego w dalekim i bliskim ultrafiolecie (far-UV i near-UV CD).

16. Opiekun: dr Beata Wielgus-Kutrowska, beata@biogeo.uw.edu.pl tel. 55 40 789
„Właściwości spektroskopowe jednotryptofanowych mutantów fosforylasy nukleozydów purynowych (PNP) ze śledziona cielej jako markerów procesu zwijania białka”

Opis: Fosforylasy nukleozydów purynowych (PNP – ang. purine nucleoside phosphorylase) rozszczepiają wiązanie glikozydowe rybo- i dezoksyrybonukleozydów w obecności nieorganicznego fosforanu prowadząc do utworzenia zasady purynowej i rybozo- lub dezoksyrybozo-1-fosforanu. PNP odgrywają kluczową rolę w metabolizmie nukleozydów, a fakt, że genetycznie uwarunkowany brak aktywności enzymu prowadzi do braku odporności komórkowej przy zachowaniu odporności humoralnej spowodował, że są one przedmiotem intensywnych i wszechstronnych badań.

Obiektem pracy magisterskiej będą trzy jednotryptofanowe mutanty PNP ze śledziona cielej. W każdej podjednostce enzymu typu dzikiego znajdują się trzy tryptofany w pozycjach 16, 94 i 178. Tryptofan jest aminokwasem, którego fluorescencja zależy od otoczenia. W związku z tym obserwacja zmian emisji tryptofanu przy przechodzeniu od środowiska hydrofilowego w roztworze wodnym do hydrofobowego we wnętrzu białka, jest metodą badania zwijania się biomolekuł do struktury natywnej. Zamiana dwóch z trzech tryptofanów obecnych w podjednostce białka na fenyloalaninę powoduje, że w obserwowane w procesie zwijania zmiany fluorescencji tryptofanu będą związane ze zmianą otoczenia w określonym miejscu biomolekuły. W ramach pracy magisterskiej zbadamy właściwości spektroskopowe uzyskanych samodzielnie białek, ustalimy jak zmienia się fluorescencja w trakcie ich zwijania i odpowiemy na pytanie czy zaprojektowane mutanty są odpowiednimi obiektami do badania procesu fałdowania PNP ze źródeł ssaczyc.

17. Opiekun: dr Beata Wielgus-Kutrowska, beata@biogeo.uw.edu.pl tel. 55 40 789
„Oddziaływanie mutantów Asp204Ala-PNP, Arg217Ala-PNP i Asp204Asn-PNP fosforylasy nukleozydów purynowych (PNP) z bakterii *E. coli* z wybranymi ligandami oraz próba uzyskania dobrze rozpraszających kryształów Asp204Asn-PNP”

Opis: Fosforylasy nukleozydów purynowych (PNP – ang. purine nucleoside phosphorylase) rozszczepiają wiązanie glikozydowe rybo- i dezoksyrybonukleozydów w obecności nieorganicznego fosforanu prowadząc do utworzenia zasady purynowej i rybozo- lub dezoksyrybozo-1-fosforanu. Genetycznie uwarunkowany brak aktywności enzymu prowadzi do braku odporności komórkowej przy zachowaniu odporności humoralnej. W tej sytuacji selektywne inhibitory fosforylaz mogą stać się lekami immunosupresyjnymi. Jednocześnie fosforylasy z mikroorganizmów, w tym PNP z *E. coli*, charakteryzujące się niższą specyficznością niż PNP ze źródeł ssaczyc mogą znaleźć zastosowanie w terapii genowej niektórych nowotworów. Obiektami pracy magisterskiej będą mutanty PNP z bakterii *Escherichia coli*: Asp204Ala-PNP, Arg217Ala-PNP i Asp204Asn-PNP. Szczególnie interesujący wydaje się mutant Asp204Asn-PNP, w którym zastąpienie kwasu

asparaginowego asparaginą powoduje zmianę specyficzności enzymu bakteryjnego na zbliżoną do białek ze źródeł ssaczych. Zbadamy oddziaływanie tych mutantów z wybranymi ligandami. Podejmiemy próbę krystalizacji Asp204Asn-PNP z niezajętym miejscem wiązania fosforanu. Jeśli uzyskamy kryształ to zostaną zebrane dane dyfrakcyjne umożliwiające rozwiązanie struktury białka w tej formie.

18. Opiekun: dr Joanna Żuberek, jzuberek@biogeo.uw.edu.pl 55 40 781

„Badania oddziaływań benzytowych analogów kapu z izoformami ludzkiego białka eIF4E”

Temat przydzielony; magistrant: Mateusz Dobrowolski

Opis: Inicjacja translacji u organizmów eukariotycznych jest skomplikowanym procesem polegającym na utworzeniu wielobiałkowego kompleksu z mRNA, który umożliwia przyłączenie rybosomu do kodonu startu. Na 5' końcu eukariotycznego mRNA znajduje się struktura zwana kapem, którą tworzy 7-metyloguanozyna połączona wiązaniem 5'-5' trifosforanowym z następnym nukleozydem (m⁷GpppN). Jej rozpoznanie przez eukariotyczny czynnik inicjacji translacji 4E (eIF4E) stanowi kluczowy etap inicjacji biosyntezy białka. Dostępność i aktywność białka eIF4E regulowana jest w komórce na wielu poziomach, między innymi poprzez fosforylację i oddziaływanie z białkami wiążącymi eIF4E (4E-IP). Wiele badań wskazuje, że wysoki poziom eIF4E w komórkach może mieć udział w rozwoju nowotworów poprzez stymulację translacji puli mRNA kodujących czynniki wzrostu oraz proto-onkogeny, a które ulegają translacji w zdrowych komórkach na bardzo niskim poziomie. Z tego względu związki blokujące aktywność eIF4E w komórkach nowotworowych mogłyby stać się skutecznymi lekami w terapii antynowotworowej. Potencjalnymi związkami aktywnie blokującymi dostępność eIF4E wydają się być analogi kapu posiadające w pozycji N7 zamiast grupy metylowej grupę benzyłową. Praca magisterska obejmuje zbadanie oddziaływań benzyłowych analogów kapu z czterema białkami z rodziny białek eIF4E u człowieka.

19. Opiekun: dr Michał Koliński, kolinski.michal@gmail.com tel.

Współopiekun: prof. Bogdan Lesyng, lesyng@gmail.com tel. 55 40 809

„Badanie dimeryzacji receptorów GPCR na przykładzie receptorów opioidowych z wykorzystaniem wieloskalowych symulacji dynamiki molekularnej”

Temat przydzielony; magistrant: Maciej Ciemny

Opis: Receptory opioidowe to białka błonowe należące do rodziny GPCR (ang. G protein coupled receptors). Ze względu na fakt, iż białka te pełnią niezwykle ważną rolę w regulacji odczuwania bólu stały się ważnym celem dla projektowania nowych leków. Wyniki badań eksperymentalnych sugerują, że receptory GPCR mogą tworzyć funkcjonalne dimery. Zbadanie procesu dimeryzacji receptorów jest kluczowe dla projektowania nowych leków selektywnych względem danego dimeru. Praca magisterska polegać będzie na zaplanowaniu i przeprowadzeniu serii symulacji dynamiki molekularnej spontanicznego formowania się dimerów trzech typów receptorów opioidowych. Badane układy będą symulowane z rozdzielczością pełnoatomową oraz z zastosowaniem reprezentacji gruboziarnistej co umożliwi zbadanie ewolucji układów dla długich skal czasowych. Szczegółowa analiza otrzymanych trajektorii pozwoli na zbadanie procesu spontanicznego formowania homo- i hetero-dimerów trzech podtypów receptorów opioidowych, roli cholesterolu, analizę geometrii stworzonych struktur i ocenę profilu energetycznego dla zaobserwowanych interfejsów oddziałujących białek. Ponadto zostaną zidentyfikowane reszty aminokwasowe kluczowe dla stabilizacji konformacji otrzymanych dimerów receptorów.

Tematy prac magisterskich dla studentów specjalności „Projektowanie molekularne i bioinformatyka” na kierunku „Zastosowanie fizyki w biologii i medycynie” w r. akad. 2014/2015

1. Opiekun: dr Krystiana A. Krzyśko, krzysko@bioexploratorium.pl tel. 55 40 794

Współopiekun: prof. dr hab. Bogdan Lesyng, lesyng@gmail.com tel. 55 40 809

„Modelowanie wybranych deubikwitynaz i ich inhibitorów oraz molekularnych onkogennych procesów regulacyjnych z nimi związanych”

Opis: Aktualny stan wiedzy w dziedzinach biofizyki teoretycznej i bioinformatyki pozwala na badania onkogennych procesów na poziomie molekularnym. W niektórych typach nowotworów istotną rolę odgrywają ubikwitynazy i deubikwitynazy - enzymy zaangażowane w procesy komórkowej utylizacji wykorzystanych już białek, lub białek o błędnej strukturze. Współdziałanie ubikwitynaz oraz deubikwitynaz oraz ich oddziaływania z takimi szlakami sygnałowymi jak JAK/STAT odgrywa istotną rolę w onkogennych procesach. Celem pracy jest modelowanie wybranych deubikwitynaz oraz ich niskocząsteczkowych inhibitorów oraz analiza procesów regulacyjnych w których one uczestniczą. W badaniach wykorzystane będą metody modelowania i projektowania molekularnego oraz metody bioinformatyki. Przewiduje się współpracę z MD Anderson Cancer Center w Houston.

2. Opiekun: prof. dr hab. Bogdan Lesyng, lesyng@gmail.com tel. 55 40 809

Współopiekun: dr Franciszek Rakowski (Pracownia Bioinformatyki IMDiK PAN),
rakowski@icm.edu.pl

„Modelowanie wybranych kinaz białkowych oraz procesów regulacyjnych z nimi związanych, zaangażowanych w mechanizmy formowania się pamięci”

Opis: Aktualny stan wiedzy w obszarach biofizyki teoretycznej oraz fizyki molekularnej pozwala na badania mechanizmów formowania się pamięci w mózgowych strukturach. Jest to gorący i bardzo ciekawy obszar badań podstawowych oraz potencjalnych biomedycznych zastosowań. Istotną rolę w tych mechanizmach odgrywają niektóre kinazy białkowe (enzymy aktywujące inne białka w procesach fosforylacji), takie jak m.in. kinaza PKMzeta. Celem pracy jest opis struktury i mechanizmów funkcjonowania tej i innych kinaz, w tym jej/ich interakcji z innymi obiektami biomolekularnymi zaangażowanymi w proces tworzenia się pamięci. Wykorzystane będą metody molekularnego modelowania oraz metody obliczeniowe fizyki i/lub (bio)informatyki.

3. Opiekun: prof. dr hab. Bogdan Lesyng, lesyng@gmail.com tel. (22) 554 08 09

Współopiekun: dr Franciszek Rakowski, (Pracownia Bioinformatyki IMDiK PAN),
rakowski@icm.edu.pl

„Modelowanie wybranych receptorów komórkowych oraz procesów regulacyjnych z nimi związanych, zaangażowanych w mechanizmy formowania się pamięci”

Opis: Aktualny stan wiedzy w dziedzinach biofizyki teoretycznej oraz fizyki molekularnej pozwala na badania mechanizmów formowania się pamięci w mózgowych strukturach. Jest to gorący i bardzo ciekawy obszar badań podstawowych oraz potencjalnych biomedycznych zastosowań. Istotną rolę w tych mechanizmach odgrywają niektóre receptory komórkowe, takie jak m.in. receptor kwasu glutaminowego. Celem pracy jest opis struktury i mechanizmów funkcjonowania tego receptora i/lub jego homologów, w tym jego/ich interakcji z innymi obiektami biomolekularnymi zaangażowanymi w proces tworzenia się pamięci. Wykorzystane będą metody molekularnego modelowania oraz metody obliczeniowe fizyki i/lub (bio)informatyki.

4. Opiekun: prof. dr hab. Bogdan Lesyng, lesyng@gmail.com tel. 55 40 809

Współopiekun: dr Marcin Mielecki (Pracownia Bioinformatyki IMDiK PAN),
marcinm@ibb.waw.pl

„Modelowanie wybranych kinaz RIO i ich inhibitorów oraz molekularnych, onkogennych procesów z nimi związanych”

Opis: Aktualny stan wiedzy w dziedzinach biofizyki teoretycznej i bioinformatyki pozwala na badania onkogennych procesów na poziomie molekularnym. W niektórych typach nowotworów istotną rolę odgrywają kinazy RIO - enzymy zaangażowane m.in. w procesy molekularnego składania rybosomów. Celem pracy jest modelowanie wybranych kinaz RIO oraz projektowanie ich niskocząsteczkowych inhibitorów, jak również analiza procesów regulacyjnych w których kinazy RIO uczestniczą. W badaniach wykorzystane będą metody modelowania i projektowania molekularnego oraz metody bioinformatyki. Przewiduje się współpracę z Instytutem Krystalografii Włoskiej Akademii Nauk w Bari.

5. Opiekun: dr hab. Joanna Trylska (CeNT UW) joanna@cent.uw.edu.pl tel. 55 43 683

Współopiekun: dr Paweł Grochowski (ICM UW);

“Symulacje oddziaływania jonów z kwasami nukleinowymi z wykorzystaniem równania Poissona oraz dynamiki Monte-Carlo”

Opis: Kwasy nukleinowe, takie jak DNA i RNA, istnieją w środowisku wodnym jako polianiony zawierające zjonizowane grupy fosforanowe, których ładunek jest równoważony przez kationy, najczęściej jony sodu i/lub magnezu. Część tych jonów jest unieruchomiona w tak zwanych miejscach wiążących na powierzchni kwasów, a pozostałe jony pływają swobodnie w roztworze. Oddziaływanie jonów z kwasami ma charakter elektrostatyczny i może być opisane równaniem Poissona, w którym woda traktowana jest jako ośrodek ciągły o wysokiej stałej dielektrycznej. Rozkład i przemieszczanie się jonów wokół kwasów mogą być symulowane metodą Monte-Carlo. W pracy będzie stosowany program ION rozwijany w CeNT i ICM (<https://bionano.cent.uw.edu.pl/Software/ION>), w którym są zaimplementowane powyższe metody. Obiektem badań będą przykładowe fragmenty DNA i RNA pochodzące z bazy strukturalnej. Wymagana jest minimalna znajomość środowiska Linux i języka C. W przypadku osób mających doświadczenie programistyczne możliwe jest rozszerzenie tematu pracy i rozbudowa programu polegająca na uwzględnieniu dodatkowych jonów rozmytych opisanych rozkładem Boltzmanna.

6. Opiekun: dr hab. Joanna Trylska (CeNT UW) joanna@cent.uw.edu.pl tel. 55 43 683

„Modele zredukowane kwasów nukleinowych w symulacjach dynamiki molekularnej”

Opis: Poważnym problemem w symulacjach klasycznej dynamiki molekularnej modeli pełnoatomowych jest ich kosztowność obliczeniowa. Procesy biologiczne z udziałem kwasów nukleinowych, DNA czy RNA, zajmują często sekundy, a w symulacji dużym wysiłkiem uzyskiwane są skale mikrosekund. Jednym ze sposobów na zmniejszenie tej różnicy jest stosowanie modeli zredukowanych (grubo-ziarnistych, ang. *coarse-grained*), w których jeden nukleotyd reprezentuje się przez jedno lub więcej centrów interakcji. W naszej grupie stworzyliśmy oprogramowanie RedMDStream do tworzenia i optymalizacji takich zredukowanych modeli (<https://bionano.cent.uw.edu.pl/Software/RedMD>). Celem projektu będzie zastosowanie RedMDStream do jednego z istniejących modeli gruboziarnistych (jednokulkowych) służących symulacji dynamiki i przewidywania struktury RNA. Pozwoli to sprawdzić, czy model jest optymalny, czy też niewielkie modyfikacje parametrów modelu poprawią wyniki. Następnym etapem będzie stworzenie i sparаметryzowanie własnego modelu dwukulkowego RNA i wykorzystanie modelu do symulacji dynamiki przykładowego RNA.

Opis: waż w wielu procesach biologicznych. Pojedyncze nici RNA występujące w żywych organizmach mogą mieć od kilkunastu do kilkudziesięciu tysięcy nukleotydów długości. W wielu z nich znajdują się niestandardowe nukleotydy będące pochodnymi podstawowych czterech: adeniny, guaniny, cytozyny i uracylu. Modyfikacje mogą polegać na zmianie pojedynczych atomów, czy dodaniu całych grup funkcyjnych. Wśród struktur RNA zdeponowanych w bazie danych PDB znajduje się obecnie prawie 600 różnych modyfikacji standardowych nukleotydów. Tylko dla około 20 z nich istnieją publicznie dostępne parametry pól siłowych do symulacji dynamiki molekularnej. Celem projektu będzie stworzenie bazy danych parametrów pola siłowego dla modyfikowanych nukleotydów w RNA. Będzie to wymagało zautomatyzowania tego procesu: dostawiania wodorów, optymalizacji struktury metodami kwantowo-mechanicznymi oraz wyznaczania parametrów. Konieczne będzie opracowanie łatwej procedury dodawania do opracowanej bazy danych kolejnych cząsteczek. Wykonawca projektu zdobędzie doświadczenie w stosowaniu technik obliczeniowych (dynamiki molekularnej czy obliczeń kwantowo-mechanicznych) używanych powszechnie w biofizyce obliczeniowej, w szczególności w badaniach kwasów nukleinowych.