

## Kataliza, rodzaj metalu i ewolucja dysmutaz ponadtlennokowych

Chociaż zdecydowana większość biomasy, na którą składają się białka, lipidy (tłuszcze) i kwasy nukleinowe (DNA i RNA), zbudowana jest jedynie z sześciu pierwiastków chemicznych (węgla, wodoru, azotu, tlenu, fosforu i siarki), to całe życie na Ziemi jest całkowicie zależne od małego podzbioru podstawowych metali. Metale te odgrywają kluczową rolę w metabolizmie biologicznym, pełniąc decydujące funkcje w katalizie enzymatycznej, określaniu struktury białek oraz sygnalizacji wewnątrzkomórkowej oraz między komórkami. Przykładem może być atom żelaza (Fe) będący kluczem do funkcji hemoglobiny, która transportuje tlen i dwutlenek węgla w naszej krwi, a której atom ten nadaje charakterystyczny czerwony kolor. Fe, a także inne metale, takie jak mangan (Mn), miedź i cynk, są niezbędne dla wszystkich żywych organizmów.

Szacuje się, że około jedna trzecia wszystkich białek wytwarzanych przez życie na Ziemi potrzebuje niezbędnego dla funkcji metalu. Metaloproteiny są zwykle „swoiste dla metalu”, tj. działają poprawnie tylko wtedy, gdy są związane z właściwym metalem. Nie jest jednak jasne, w jaki sposób białka kontrolują tę specyficzność względem metali. Zakłada się, że każde białko, które fałduje się w bardzo specyficzny trójwymiarowy kształt, może precyzyjnie kontrolować chemię związanego z nim metalu, optymalizując w ten sposób swoją reaktywność celem zmaksymalizowania zdolności katalizowania pożądanej reakcji chemicznej. Pomimo dziesięcioleci badań, w których analizowano biochemię i strukturę molekularną metaloprotein, pozostaje niewiele strukturalnych wskazówek, w jaki sposób białka te osiągają specyficzność względem metali. Zrozumienie tego zjawiska jest głównym celem badań mojego laboratorium.

W ramach projektu NCN Maestro planujemy dokonać fundamentalnych odkryć nauki podstawowej dotyczących sposobu, w jaki metaloproteiny osiągają specyficzność względem metali, przeprowadzając szczegółowe badania biochemiczne, biofizyczne i strukturalne jednej z wszechobecnych rodzin metaloprotein, dysmutaz ponadtlennokowych (SOD). Enzymy te detoksykują nadtlenek, reaktywną formę tlenu, która jest naturalnym produktem ubocznym metabolizmu tlenowego, i dlatego też wszystkie organizmy żyjące w obecności tlenu są na niego narażone. Nadtlenek jest również używany przez układ odpornościowy jako broń przeciwko bakteriom patogennym, przez co są one narażone na jego wyjątkowo wysoki poziom podczas infekcji. Sprawia to, iż SOD są potencjalnym celem dla rozwoju przyszłych leków przeciwbakteryjnych.

We wcześniejszych badaniach, moje laboratorium dokonało ważnych odkryć dotyczących struktury, funkcji i ewolucji SOD. Zidentyfikowaliśmy dwa enzymy SOD pochodzące z bakterii *Staphylococcus aureus*, z której stworzyliśmy unikalny system modelowy, aby ułatwić badania nad SOD. Chociaż oba enzymy są bardzo blisko spokrewnione, wykazują bardzo różną specyficzność dla wiązanych metali; jedna z dysmutaz jest całkowicie zależna od Mn (zwana MnSOD) i wykazuje znikomą aktywność katalityczną po związaniu z Fe, podczas gdy drugi enzym gronkowcowy jest dysmutazą kambialistyczną, co oznacza, iż wykazuje podobną aktywność katalityczną z Mn lub Fe (zwany camSOD).

W niniejszym projekcie wykorzystamy wyżej opisany modelowy system SOD, a także naszą bibliotekę dysmutaz pochodzących z różnych organizmów, począwszy od bakterii, aż po ludzi, oraz nasze szerokie doświadczenie metodologiczne i eksperymentalne, w celu pogłębienia wiedzy na temat funkcjonowania SOD i sposobu określania ich swoistości wobec metali. Przede wszystkim (i) określimy strukturę badanych SOD w niespotykanej dotąd rozdzielczości, co pozwoli na zlokalizowanie niezbędnych protonów w ich aktywnych miejscach, a następnie wykorzystamy te badania do określenia mechanizmu katalitycznego; (ii) zbadamy, w jaki sposób architektura białka reguluje katalizę, precyzyjnie kontrolując reaktywność metalu, co skutkuje specyficznością enzymu wobec metalu; oraz (iii) zbadamy, w jaki sposób właściwości enzymów SOD, w tym ich specyficzność wobec metali, ewoluowały przez okres czasu, podczas którego zróżnicowały się na drzewie ewolucyjnym; przeprowadzimy również bezpośrednio badania eksperymentalne ich ewolucji.

Niniejszy projekt rozwinie naszą podstawową wiedzę na temat funkcjonowania SOD. Dane uzyskane w projekcie pozwolą opracować modele funkcji metaloprotein, które będą miały zastosowanie do ogromnej liczby metaloprotein obserwowanych w przyrodzie. Nasze wyniki wpłyną również na rozwijającą się dziedzinę biologii syntetycznej, której celem jest wyprodukowanie syntetycznych metaloprotein przeprowadzających nowe reakcje chemiczne, bądź do zastosowań biotechnologicznych, takich jak zielona chemia lub biodegradacja i odkażanie niebezpiecznych długotrwałych chemikaliów, np. tworzyw sztucznych. Ponadto, ponieważ SOD odgrywają ważną rolę w obronie immunologicznej przeciwko bakteriom patogennym, badania te będą również wspierać przyszłe wysiłki w zakresie odkrywania leków w celu opracowania nowych związków przeciwbakteryjnych.