

Tytuł w języku polskim: Znaczenie utleniających i kwasowo-zasadowych właściwości centrów aktywnych dla ich aktywności - badania obliczeniowe dla enzymów zależnych od niehemowego żelaza

Tytuł w języku angielskim: Effect of redox and acidobasic properties of the active sites on the activity of non-heme iron dependent enzymes - computational studies

staż naukowy, dr Zuzanna Marta Wojdyła

Opis działania naukowego planowanego do realizacji. Enzymy zależne od niehemowego żelaza (NHFe) są efektywnymi biokatalizatorami zdolnymi do regioselektywnej aktywacji wiązań C-H. Kluczowym elementem dla ich aktywności jest reaktywne ugrupowanie ferrytowe ($\text{Fe}^{\text{IV}}\text{O}$); powstaje ono w centrum aktywnym na drodze redukcji tlenu cząsteczkowego i ma zdolność do oderwania atomu wodoru od atomu C substratu (aktywacji wiązania C-H). W ramach prezentowanego działania naukowego chciałabym zbadać, wykorzystując metody obliczeniowe, inherentne utleniające i kwasowo-zasadowe właściwości ugrupowania ferrytowego, by zrozumieć ich znaczenie dla przebiegu reakcji katalizowanych przez NHFe. Jak dotąd jest to zagadnienie słabo przebadane, a jego zrozumienie może być bardzo pomocne w inżynierii enzymów i projektowaniu katalizatorów biomimetycznych. Pragnę skupić się na enzymie z klasy hydroksylaz zależnych od pteryny (PDH) - ludzkiej hydroksylazie fenylo-alaniny (PheH) i na podstawie dostępnej struktury krystalicznej (kod PDB: 1KW0) przeprowadzić badania metodami chemii kwantowej (QM) i z użyciem metod hybrydowych QM/MM, aby uzyskać model centrum aktywnego, który będzie zgodny z dostępnymi wynikami badań eksperymentalnych. W następnym kroku model ten zostanie użyty do obliczenia potencjałów redoks i stałych dysocjacji kwasów (stałych kwasowości), które z kolei zostaną wykorzystane do wytłumaczenia zmienności wysokości barier determinujących szybkość reakcji. Badania te chciałabym przeprowadzić we współpracy z grupą Dr Martina Srneca-Computational Chemistry w J. Heyrovsky Institute of Physical Chemistry w Pradze (Republika Czeska).

PheH katalizuje reakcję, która nie jest typowa dla ugrupowania ferrytowego - hydroksylację pierścienia aromatycznego L-feniloalaniny (L-Phe) do L-tyrozyny. Reakcja ta przebiega na drodze przeniesienia atomu tlenu grupy $\text{Fe}^{\text{IV}}\text{O}$ do atomu węgla sp^2 pierścienia aromatycznego, po którym następuje wewnątrzcząsteczkowa migracja atomu H (Arch. Biochem. Biophys. 1986, 250(1) 180-85). Proces ten jest niewątpliwie różny od charakterystycznego dla $\text{Fe}^{\text{IV}}\text{O}$ oderwania atomu wodoru (*hydrogen atom abstraction*, HAA) od atomu węgla sp^3 , które prowadzi do różnorodnych przemian (hydroksylacji, odwodornienia, cyklizacji, epoksydacji, rearanżacji). HAA jest katalizowane przez PheH jedynie dla analogu substratu, 4-metylo-L-Phe, i tylko częściowo zastępuje natywną hydroksylację pierścienia aromatycznego. Stąd, chcielibyśmy przebadać termodynamiczne właściwości ugrupowania ferrytowego PDH (potencjały redoks i stałe kwasowości) jako potencjalny czynnik, który może utrudniać zajście HAA (na przykładzie reakcji z analogiem).

Motywacją dla badań obliczeniowych są wyniki nowych badań eksperymentalnych dla PDH (reprezentowanych przez hydroksylazę tryptofanu) (PNAS 2021, 118(15) e2022379118). Badania te, w oparciu o wyniki z metod spektroskopowych, pokazały, że żelazo w centrum aktywnym PDH jest bezpośrednio koordynowane przez atom tlenu grupy karbonylowej kofaktora - tetrahydrobiopteryny. Te wyniki stały się inspiracją dla badań nad właściwościami kompleksu ferrytu PDH, ponieważ wskazują na analogię między PDH a inną klasą enzymów wykorzystujących ugrupowanie $\text{Fe}^{\text{IV}}\text{O}$ - dioksygenazami zależnymi od 2-oksoglutaranu (ODD). Reakcje HAA katalizowane przez enzymy tej drugiej grupy badałam metodami obliczeniowymi podczas doktoratu, a czynniki kontrolujące reakcje angażujące $\text{Fe}^{\text{IV}}\text{O}$ są jednym z moich naukowych zainteresowań.

Badania obliczeniowe (QM) nad PheH były prowadzone już wcześniej w innych grupach badawczych, jednak wymodelowana w nich struktura centrum aktywnego niezupełnie pokrywa się z najnowszymi wynikami eksperymentalnymi. W pierwszym z badań pteryna jest położona w drugiej sferze koordynacyjnej żelaza, natomiast w drugim - koordynuje je dwukleszczowo (przez grupy: karbonylową i N(H)) (Chem. Eur. J 2003, 9(17) 4055-67; Eur. J. Inorg. Chem. 2011, 2011 (17) 2720-32). Tym razem, chcielibyśmy podejść do tego zagadnienia z wykorzystaniem metod QM/MM, w korzystaniu z których zdobyłam doświadczenie podczas badań do pracy doktorskiej. Można oczekiwać, że uwzględnienie kompletnego otoczenia centrum aktywnego umożliwi rzetelne opisanie geometrii kompleksu żelaza. Współpraca z grupą Computational Chemistry umożliwi opracowanie możliwie precyzyjnej metody do wyznaczania potencjałów redoks układów ferrytowych (na podstawie uzyskanego modelu centrum aktywnego); grupa ta ma doświadczenie w obliczeniach i interpretacji właściwości redoks kompleksów żelaza (J. Phys. Chem. C 2018, 122(20), 10773-82).

Staż w grupie Computational Chemistry pozwoli mi efektywnie przeprowadzić wstępne badania dla NHFe. Skorzystam z doświadczenia grupy w łączeniu inherentnych (elektronowych) właściwości ugrupowania ferrytowego z obserwowaną selektywnością reakcji, również w układach enzymatycznych (JACS 2016, 138(15) 5110-22). Oczekiwany rezultatami stażu będą: a) uzyskanie modelu centrum aktywnego PheH zgodnego z wynikami eksperymentów, i b) opracowanie wiarygodnej metody do obliczeń potencjałów redoks ugrupowania $\text{Fe}^{\text{IV}}\text{O}$ w środowisku enzymatycznym. Te dwa elementy będą punktem startowym dla kolejnego projektu badawczego, którego celem będzie zbadanie roli właściwości utleniających i kwasowo-zasadowych grupy $\text{Fe}^{\text{IV}}\text{O}$ w kontrolowaniu aktywności i selektywności reakcji w układach biologicznych.