



## Dr inż. Agnieszka Winiarska

Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera PAN

Rozmowa z autorką pracy:

„Tungsten aldehyde oxidoreductase from *Aromatoleum aromaticum* – biocatalyst for alcohol production”

*Jak wyjaśniłaby Pani przedmiot swoich badań osobie niezwiązanej z dziedziną?*

Przedmiotem moich badań było lepsze poznanie enzymu oksydoreduktazy aldehydu z bakterii *Aromatoleum aromaticum* (w skrócie AOR). W swojej pracy pokazałam nową aktywność AOR o potencjalnym znaczeniu praktycznym – redukcje kwasów karboksylowych przy użyciu wodoru cząsteczkowego jako ekologicznego reduktora, pozwalając na konserwację energii np. w formie bioalkoholu. Reakcje te zachodzą w centrum aktywnym zawierającym jon wolframu związany w organometaliczny kompleks. Chcąc poznać mechanizm działania AOR w tej niezwyklej reakcji, musiałam dokładniej zbadać jego strukturę, do czego poza mikroskopią krioelektronową, użyłam również metod modelowania molekularnego.

*Czy możliwe jest wyróżnienie przełomowego momentu Pani badań? Jeśli tak, poprosimy o jego przybliżenie?*

Charakteryzując AOR odkryłam jego nową, nigdy wcześniej nie odnotowaną dla enzymów wolframowych aktywność hydrogenazy. Oznacza to, że AOR jest zdolne do utleniania wodoru cząsteczkowego rozpuszczonego w wodzie, a uzyskane elektrony wykorzystuje do redukcji kwasów karboksylowych albo mediatorów elektronów takich jak dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NAD). To odkrycie skierowało moje badania nad AOR na bardziej aplikacyjne aspekty biokatalizy, m.in. na zastosowanie tego enzymu w kaskadach enzymatycznych do syntezy cennych związków.

Ważnym momentem w badaniach było również określenie koordynacji wolframu, dzięki połączeniu badań nad strukturą metodami teoretycznymi z mikroskopią elektronową pojedynczej cząsteczki AOR. Zoptymalizowane metodami klastrową QM i QM:MM geometrie modeli kofaktora o różnych możliwych koordynacjach wolframu zostały zweryfikowane przez porównanie ze strukturą krystaliczną AOR z *P. furiosus* oraz cryo-EM. Badania ujawniły najbardziej prawdopodobną strukturę utlenionego kofaktora wolframowego.

*Poprosimy o przedstawienie możliwości aplikacyjnych wyników Pani badań, szczególnie w świetle zgłoszeń patentowych, które ich dotyczyły.*

Aktywność AOR jako hydrogenazy może być wykorzystana na konserwację energii np. w formie bioalkoholu oraz w czystej i selektywnej (bez produktów ubocznych) syntezie aldehydów oraz ich pochodnych wykorzystywanych w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym i w nowoczesnych materiałach (tzw. hightech). Ze względu na selektywność procesu redukcji kwasu oraz czystą metodę regeneracji NADH, AOR ma duży potencjał do zastosowania jako biokatalizator w nowych

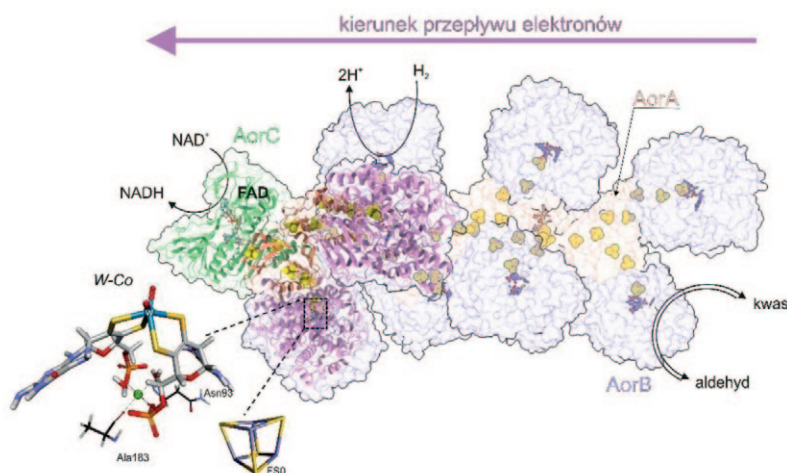
ścieżkach syntezy leków, dodatków do żywności (wanilina) i innych cennych związków. AOR katalizuje również utlenianie aldehydów nawet w bardzo niskich stężeniach, co może być wykorzystane w elektrodach do wykrywania lub usuwania tych często toksycznych związków.

*Jak ocenia Pani użyteczność zasobów informatycznych Cyfronetu na potrzeby wsparcia badań naukowych?*

Uważam, że zasoby Centrum dają możliwość prowadzenia badań na poziomie konkurującym z wiodącymi ośrodkami tego typu. W swojej pracy skorzystałam z wielu narzędzi zapewnianych przez Cyfronet do modelowania molekularnego metodami QM i QM:MM, do analizy struktury białka i dokowania molekularnego. Możliwość wykorzystania nowych wersji oprogramowania takiego jak Amber czy Gaussian na komputerach dużej mocy pozwoliło mi na zbadanie kofaktora wolframowego w największym, a przez to najdokładniejszym dotychczas optymalizowanym modelu tego typu kofaktora (tj. cały kofaktor zawierający dwa atomy metalu i część organiczną opisany metodami DFT, a enzym metodami mechaniki kwantowej), a muszę podkreślić, że wcześniejsze badania były podejmowane przez wiele grup, m.in. z USA. Bez takich zasobów prawdopodobnie struktura kofaktora dalej byłaby zagadką, a prowadzenie dalszych badań nad mechanizmem reakcji redukcji kwasów karboksylowych niemożliwe.

*Co jest, Pani zdaniem, kluczowe przy rozpoczynaniu i na wczesnych etapach ścieżki doktorskiej?*

Z pewnością nie jest to zaskakująca odpowiedź, ale uważam, że od początku kluczowy jest networking. Środowisko naukowe jest bardzo otwarte na współpracę i polecam od początku planować staże w innych jednostkach, wspólne projekty i badania. Wiele konkursów wspiera staże i promuje projekty uwzględniające badania w różnych jednostkach. Za takimi działaniami zawsze idą publikacje i kolejne projekty, a po doktoracie ta sieć kontaktów jest szczególnie istotna dla znalezienia pozycji post-doca czy napisania swojego projektu.



Rekonstrukcja filamentowej struktury AOR na podstawie struktury z cryo-EM, fotometrii mas oraz obliczeń QM:MM