



## Dr Zuzanna Wojdyła

Rozmowa z autorką pracy:

**„Mechanizmy reakcji katalizowanych przez dioksygenazy zależne od 2-oksoglutaranu – badania metodami biochemii obliczeniowej”**

*Jak zaczęła się Pani przygoda z nauką?*

Z chemią obliczeniową zetknęłam się po raz pierwszy na wykładach prowadzonych przez prof. Ewę Broclawik na UJ. Spodobały mi się zagadki, które można rozwiązywać w oparciu o obliczenia kwantowo-chemiczne. Gdy dowiedziałam się, że chemię obliczeniową można połączyć z badaniem enzymów, wiedziałam, że jest to kierunek, w którym chcę pójść. I tak ukończyłam studia magisterskie, a potem doktoranckie.

*Jak widać – bardzo szybko ukierunkowały się Pani zainteresowania. Którymi enzymami postanowiła się Pani zajmować?*

Enzymy, którymi się zajmowałam – dioksygenazy zależne od 2-oksoglutaranu, mają duży, ale jeszcze niewykorzystany potencjał przemysłowy. Są one zdolne do rozciniwania i modyfikacji wiązań C-H. Reakcje te zachodzą z dużą selektywnością (powstaje niewiele produktów ubocznych). Dzięki temu mogłyby być wykorzystywane w produkcji złożonych związków chemicznych, w przypadku których szczególnie istotna jest czystość końcowego produktu, np. w przemyśle farmaceutycznym.

Wraz z zespołem wybraliśmy kilku przedstawicieli tej rodziny enzymów. Chcieliśmy zrozumieć, w jaki sposób kontrolują one przebieg reakcji i co sprawia, że różne dioksygenazy tej grupy, mimo wykorzystywania takiego samego centrum aktywnego, katalizują różne reakcje (hydroksylacji, odwodornienia lub cyklizacji). Wiedza ta znalazłaby zastosowanie na przykład w inżynierii enzymów do katalizowania pożądanych przemian – i taki był nasz dalekosiężny cel. Badania prowadzone w zespole łączą metody eksperymentalne i obliczeniowe, a nasza współpraca nadal się rozwija. Obliczenia pozwalają na uzupełnienie i interpretowanie wyników eksperymentów, a doświadczenia pozwalają na konfrontację wyników uzyskanych *in silico* z rzeczywistością. Taki sposób prowadzenia badań bardzo mi się podoba.

*Jaki aspekt chemii obliczeniowej jest dla Pani najbardziej interesujący?*

Moim ulubionym aspektem chemii obliczeniowej jest możliwość szczegółowego prześledzenia katalizowanej reakcji – od kompleksu enzym-substrat, do jej końcowych produktów. Interesująca jest możliwość testowania takich kanałów reakcji, które nie są obserwowane w doświadczeniach. Jest to ciekawe uzupełnienie badań eksperymentalnych, szczególnie że częstą „strategią” enzymów jest nie tylko obniżenie bariery energetycznej wybranej reakcji, ale również utrudnienie alternatywnych przemian. Dzięki obliczeniom można pokazać, w jaki sposób te przemiany są hamowane i wskazać czynniki promujące tę „właściwą” reakcję.

*Co w trakcie prowadzonych badań było największym wyzwaniem?*

Dla każdego badanego enzymu najciekawszym, ale i najbardziej wymagającym etapem było wyłuskanie efektu, który był tym decydującym dla zajścia obserwowanej reakcji. Enzymy mogą wpływać na reakcję na różne sposoby. Ścisłe determinują położenie substratu lub specyficzne oddziaływania. W zależności od analizowanego kompleksu enzym-substrat obserwuje się dominację odmiennych efektów, a te z kolei mają wpływ na powstawanie różnych produktów. Czasem identyfikacja tego kluczowego czynnika wymagała sporo wyobraźni i pracy.

W jaki sposób prowadzone były prace?

Modelowanie reakcji katalizowanych przez enzymy opierało się przede wszystkim na wynikach eksperymentów – jako punkt wyjścia potrzebna była struktura kompleksu enzym-substrat. Na późniejszych etapach zestawiałam obraz reakcji uzyskany w wyniku obliczeń z rezultatami doświadczalnymi. Dane eksperymentalne mogą oczywiście pochodzić z literatury, ale ciekawsza jest dla mnie możliwość porównania rezultatów uzyskanych *in silico* z wynikami prowadzonych równolegle przez zespół badań laboratoryjnych. Żeby choć częściowo uchwycić wieloaspektowość katalizy enzymatycznej, potrzeba wielu narzędzi, np. pakiet Amber do symulacji dynamiki molekularnej (uwzględnienie ruchliwości cząsteczki enzymu i związanego substratu), Gaussian (śledzenie przebiegu reakcji), NCI PLOT (wizualizacja oddziaływań w układzie). Korzystałam też z pisanych zespołowo (mini)programów.

Dla obliczeniowego badania enzymów duże moce obliczeniowe są nieodzowne, dlatego korzystałam z możliwości, jakie dawały superkomputery Zeus i Prometheus. Dzięki współpracy z Cyfronetem mogłam się skupić na (bio)chemicznych aspektach pracy, a w razie problemów technicznych mogłam liczyć na ekspertów obsługujących Helpdesk. To pozwoliło mi efektywnie wykorzystać czas, więc był to na pewno dobry wybór.

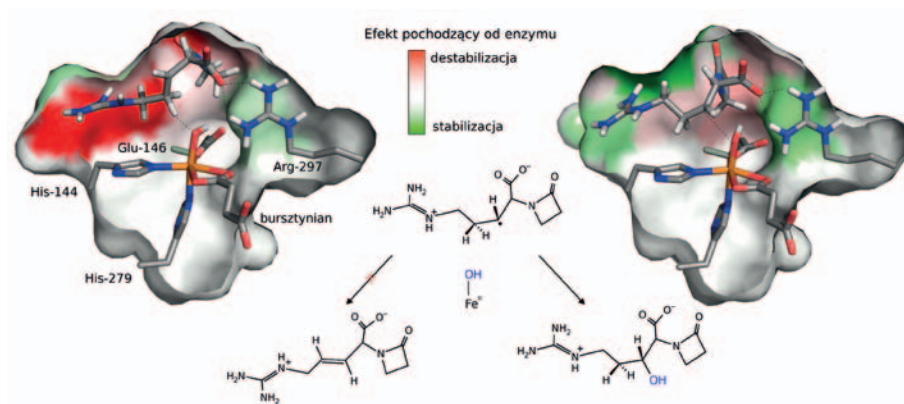
Co może zrobić młody naukowiec, gdy napotka jakieś przeszkody?

Myszę, że dobrą odpowiedzią będzie cytata z Thomasa Edisona: „Nie poniosłem porażki. Znalazłem dziesięć tysięcy rozwiązań, które nie działają”. To jest jeden z wielu cytatów, którym dzieli się Gaussian na koniec obliczeń i dość dobrze oddaje podejście, które pomogło mi w prowadzeniu badań.

Czy chciałaby Pani podzielić się z nami swoimi planami na przyszłość?

Planuję nowy projekt badawczy, w ramach którego chciałabym podejść do reakcji katalizowanych przez metaloenzymy nieco bardziej systematycznie – określić, w jaki sposób zmiany w otoczeniu (kieszeni wiążącej) i w samym centrum aktywnym wpływają na przebieg reakcji. To będzie wymagało zmiany perspektywy i na pewno będzie rozwijające.

Dziękuję za rozmowę i życzę spełnienia planów zawodowych.



Wizualizacja wpływu kieszeni wiążącej enzymu na selektywność katalizowanej reakcji – otoczenie zwiększa barierę energetyczną związaną z utworzeniem wiązania podwójnego (z lewej), obniża barierę dla hydroksylacji (z prawej)