

Projecte per beques d'estiu 2019

Dades del projecte:

Títol:	Exploració de la dinàmica conformacional de la Triptòfan sintasa
Supervisor:	Dr. Silvia Osuna, Miguel Ángel Maria-Solano
E-mail supervisor:	silvia.osuna@udg.edu
Grup de recerca:	CompBioLab
Destinat a estudiants:	3r i 4t any
Lloc de treball:	Parc UdG
Places ofertes:	1 (3r o 4t any)
Data d'inici:	A concretar amb l'estudiant
Data d'acabament:	A concretar amb l'estudiant
Seguiment:	Diària

Coneixements específics que ha de tenir l'estudiant:

Nocions bàsiques de química computacional o bioinformàtica.

Estudis en curs requerits:

Haver cursat Química Quàntica (Grau en Química) o Bioinformàtica (Grau en Biotecnologia o Biologia)

Formació que adquirirà l'estudiant en realitzar aquesta activitat:

- Ús d'eines i software de disseny biomolecular.

- Ús de recursos de supercomputació.

- Iniciar-se en la recerca científica: anàlisi crític dels resultats obtinguts i compilació dels mateixos en format article.

Descripció de l'activitat que ha de fer l'estudiant:

Els enzims són els catalitzadors més eficients, específics i selectius que coneixem, però tot i els grans avantatges que ofereixen hi ha molts processos que no presenten un enzim natural per catalitzar i accelerar les reaccions. Aquest fet ha portat a la biocatàlisi, que consisteix en l'adaptació i aplicació d'enzims naturals per a nous propòsits pels quals no van ser dissenyats originalment. Les indústries farmacèutiques estan començant a introduir enzims a les seves plantes de producció, i, per exemple la farmacèutica Merck fa servir una ruta biocatalítica per a la síntesi del seu fàrmac més venut (Januvia, pel tractament de la diabetis).

Tot i els grans avanços realitzats en els últims anys en el camp, encara hi ha moltes preguntes a respondre i reptes a superar. El principal problema que limita el procés és l'elevat cost econòmic que comporta evolucionar un biocatalitzador per a conferir la nova activitat, ja que s'han de provar milers de variants al laboratori. Per tal d'agilitar i disminuir els costos del procés és important que es

desenvolupi un protocol d'optimització del biocatalitzador purament computacional per tal de proposar mutacions i possibles punts de mutació i així reduir el número de proves a realitzar al laboratori. Al grup CompBioLab estem desenvolupant noves eines computacionals per al disseny racional d'enzims, totes elles basades en l'exploració de la dinàmica conformacional de l'enzim, és a dir, en investigar les diferents conformacions que l'enzim pot adoptar en solució i que son claus per a la seva funció.^[1]

L'al·lostèria és el procés en què dos llocs diferents llunyans d'una proteïna estan funcionalment connectats. Tot i que es va postular fa més de 50 anys, els processos al·lostèrics continuen sent una de les qüestions centrals de la bioquímica que sovint es coneix com el "segon secret de la vida". Aquesta comunicació al·lostèrica existent entre llocs distals és molt semblant a l'efecte dramàtic induït per mutacions remotes sobre l'activitat catalítica dels enzims. La racionalització de les similituds dels dos processos és altament rellevant per al disseny racional d'enzims, i en particular per al disseny de nous enzims d'aplicació a la indústria que no requereixen d'aquesta regulació al·lostèrica natural.

En aquest projecte es pretén estudiar la dinàmica conformacional d'un enzim anomenat triptòfan sintasa (TrpS). Es tracta d'un enzim heterodimèric format per dues subunitats A i B (TrpA i TrpB) altament regulades al·lostèricament, és a dir les dues subunitats en absència de l'altra tenen pèrdues dramàtiques en la seva activitat catalítica. Recentment la subunitat TrpB s'ha evolucionat a través de múltiples rondes d'evolució al laboratori per tal d'assolir una elevada activitat catalítica en absència de TrpA.^[2-3] En aquest estudi tenim com a objectiu estudiar la dinàmica conformacional de TrpA en la seva forma nativa (és a dir, formant el complex al·lostèric amb TrpB) i també en la seva forma aïllada per entendre la disminució de la seva activitat com a conseqüència de la manca de comunicació al·lostèrica exercida per TrpB. Així doncs, en aquest treball investigarem el procés d'al·lostèria, també conegut com el "segon secret de la vida" i, a més, intentarem resoldre la pregunta d'interès industrial per al disseny de noves variants aïllades: perquè TrpA necessita TrpB per a fer la seva funció de manera òptima?

Bibliografia

- [1] Maria-Solano, M. A.; Serrano-Hervas, E.; Romero-Rivera, A.; Iglesias-Fernandez, J.; Osuna, S., Role of conformational dynamics in the evolution of novel enzyme function. *Chem. Commun.* **2018**, 54 (50), 6622-6634.
- [2] Buller, A. R.; Brinkmann-Chen, S.; Romney, D. K.; Herger, M.; Murciano-Calles, J.; Arnold, F. H., Directed evolution of the tryptophan synthase beta-subunit for stand-alone function recapitulates allosteric activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2015**, 112 (47), 14599-14604.
- [3] Buller, A. R.; van Roye, P.; Cahn, J. K. B.; Scheele, R. A.; Herger, M.; Arnold, F. H., Directed Evolution Mimics Allosteric Activation by Stepwise Tuning of the Conformational Ensemble. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, 140 (23), 7256-7266.