

Streszczenie pracy doktorskiej, pt.

„Modelling and characterisation of one- and two-photon absorption for chosen green and yellow fluorescent proteins with theoretical chemistry methods”

Autor: mgr inż. Dawid Grabarek

Białka fluorescencyjne stanowią zróżnicowany zestaw narzędzi wykorzystywanych do wizualizacji różnych procesów *in vivo*. Dzięki inherentnej fluorescencji, nietoksyczności i zdolności do tworzenia stabilnych struktur z natywnymi białkami gospodarza, białka fluorescencyjne znalazły mnóstwo zastosowań w nowoczesnej biochemii, medycynie i nauce.

Celem niniejszej pracy doktorskiej jest opisanie wpływu otoczenia chromoforu białek fluorescencyjnych na widma absorpcji jedno- (OPA, ang. one-photon absorption) i dwufotonowej (TPA, ang. two-photon absorption). Witalną częścią każdego białka fluorescencyjnego jest chromofor, znajdujący się wewnątrz białka. To oznacza, że można racjonalnie rozwijać nowe białka fluorescencyjne jeśli rozumie się mechanizm według którego otoczenie chromoforu wpływa na jego właściwości spektralne. W tej pracy, autor wykorzystuje metody chemii teoretycznej aby zbadać naturę oddziaływań chromofor – otoczenie i opisać ich wpływ na wertykalne widma OPA i TPA.

Aby osiągnąć ten cel, autor podzielił badania na trzy etapy. W pierwszym etapie, autor oblicza widma OPA i TPA dla zestawu chromoforów białek fluorescencyjnych różniących się strukturą *in vacuo* (a więc z pominięciem białkowego otoczenia). Cel jest dwójaki. Po pierwsze, autor określa wydajny funkcjonal korelacyjno-wymienny w metodologii czasowo-zależnej teorii funkcjonału gęstości (TDDFT, ang. time-dependent density functional theory) dla obliczeń widm OPA i TPA. Po drugie, autor bada jak struktura samego chromoforu wpływa na widma absorpcyjne.

W drugim etapie, autor określa optymalny rozmiar białka fluorescencyjnego opisywanego na poziomie teorii mechaniki kwantowej (QM, ang. quantum mechanics) dla obliczeń widm OPA i TPA w osadzeniu elektrostatycznym i polaryzacyjnym. Systematycznie dodając reszty aminokwasowe i cząsteczki wody składające się na otoczenie chromoforu do podukładu QM, autor identyfikuje skład podsystemu QM, który zapewnia dobrą równowagę między wymaganymi zasobami obliczeniowymi i dokładnością obliczonych widm.

W etapie trzecim, autor bada wpływ białkowego otoczenia chromoforu na widma OPA i TPA, poprzez porównanie widm absorpcji dla (i) serii białek fluorescencyjnych różniących się sekwencją aminokwasową i (ii) różnych modeli tego samego białka fluorescencyjnego. Autor ujawnia w szczególności rolę reszt aminokwasowych oddziałujących przez wiązania wodorowe z chromoforem w kształtowaniu widm absorpcji. Ponadto, zbadana zostaje rola oddziaływań elektrostatycznych.

Autor proponuje, że absorpcja dwufotonowa może zostać wzmocniona przez wytworzenie bardziej pozytywnego pola elektrostatycznego działającego na fenylowy atom tlenu chromoforu. Może to zostać osiągnięte przez wprowadzenie większej ilości wiązań wodorowych z otoczeniem. Ponadto, wydaje się, że ekranowanie chromoforu przed polem elektrostatycznym z bardziej odległych źródeł, np. przez zwiększenie stałej dielektrycznej bezpośredniego otoczenia chromoforu, może prowadzić do jaśniejszego procesu TPA. Autor uważa, że niniejsza praca doktorska jest krokiem w kierunku racjonalnego i ukierunkowanego projektowania nowych białek fluorescencyjnych z naciskiem na wzmocnienie absorpcji dwufotonowej.