Streszczenie rozprawy doktorskiej pt. „Oddziaływania neurotoksycznych ligandów z białkami błonowymi owadów"

Komary i inne owady roznoszą szereg niebezpiecznych chorób, takich jak malaria, denga, czy żółta febra, a zwiększający się przez zmiany klimatyczne zasięg ich występowania stanowi coraz poważniejsze zagrożenie. Insekty niszczą blisko 20% upraw rolnych, co w kontekście wzrostu liczby ludności i braku dostępnych terenów pod nowe uprawy, stwarza wyzwanie w zapewnieniu bezpieczeństwa żywnościowego wzrastającej liczby ludności. Główną metodą ograniczania rozprzestrzeniania się owadzich szkodników jest stosowanie repelentów i insektycydów – molekuł oddziałujących z białkami układu nerwowego. Powszechnie używane środki chemiczne tracą jednak skuteczność ze względu na postępującą odporność owadów. Konieczne jest więc poznanie mechanizmów molekularnych działania wykorzystywanych neurotoksyn i odporności na nie, by opracować nowe metody kontroli insektów.

Celem badań poznanie natury oddziaływań fizykochemicznych pomiędzy wybranymi neurotoksycznymi ligandami i reprezentantami dwóch klas białek targetowych: (1) receptorami muskarynowymi, odpowiedzialnymi m.in. za rozpoznawanie bodźców zapachowych; (2) bramkowanymi napięciem kanałami sodowymi odgrywającymi kluczową rolę w przewodnictwie nerwowym, stanowiącymi cel molekularny najpowszechniej używanych insektycydów. Do badań wykorzystano metody biofizyki obliczeniowej, metody bioinformatyczne i elektrofizjologiczne. Wyniki przedstawione zostały w formie trzech artykułów, stanowiących główną część rozprawy.

Wiązanie liganda indukuje zmiany konformacyjne odpowiadające za funkcję receptora. Stosując komputerowe symulacje dokowania i dynamiki molekularnej w skali setek nanosekund, przyczyniłam się do poszerzenia wiedzy o allosterycznych ścieżkach propagacji sygnału strukturalnego receptora muskarynowego z rodziny receptorów sprzężonych z białkiem G (Artykuł I). Opracowane przeze mnie modele receptora owadziego i kotwiczącej go owadziej błony komórkowej umożliwiły zbadanie różnic strukturalnych w działaniu ligandów na receptory ludzkie i owadzie, co ma duże znaczenie dla projektowania selektywnych środków. Ponadto podjęłam próbę zaprojektowania nowej klasy fotoaktywnych ligandów odstraszających owady, które mogą stanowić świetne narzędzie w badaniach przewodnictwa nerwowego, umożliwiając jego kontrolę za pomocą fotonów.

Porównałam również sposoby wiązania czterech toksyn peptydowych z ukwiałów do bramkowanego napięciem kanału sodowego karaczana *Periplaneta americana*. Wyniki

modelowania molekularnego są spójne z eksperymentami elektrofizjologicznymi prezentowanymi w Artykule II. Lepsze zrozumienie procesu szybkiej inaktywacji i jego blokowania przez neurotoksyny może przyczynić się do powstania selektywnych insektycydów, a także nowych leków przeciwbólowych.

Na podstawie analizy ścieżek dysocjacji owadobójczego liganda z grupy blokerów kanału sodowego – DCJW – określiłam drogę wejścia insektycydu do miejsca wiązania w kanale komara. Ponadto wyjaśniłam rolę mutacji powodującej odporność na tę klasę neurotoksyn oraz podstawę molekularną zwiększonej toksyczności metabolitu w porównaniu z preinsektycydem. Wyznaczyłam również reszty aminokwasowe stanowiące miejsce wiązania dwóch grup insektycydów – blokerów i pyretroidów, których mutacje mogą być zaangażowane w mechanizm odporności krzyżowej. Wyniki zaprezentowane zostały w formie preprintu manuskryptu, który został wysłany do recenzji (Artykuł III).

Podsumowując, wyniki modelowania komputerowego prezentowane w rozprawie w znaczny sposób pogłębiają wiedzę o mechanizmach molekularnych działania środków odstraszających owady. Symulacje w skali pojedynczych atomów umożliwiły zbadanie odpowiedzi białek targetowych na wiązanie neurotoksycznych ligandów, przyczyniając się do lepszego zrozumienia podstawowych procesów biofizycznych, takich jak szybka inaktywacja kanału sodowego czy aktywacja receptora muskarynowego.

Beata Nikles