



## **PRIOPĆENJE ZA JAVNOST**

Institut Ruđer Bošković, Ured za odnose s javnošću

Tel.: +385 (1) 457-1269, (99) 3126-606

[info@irb.hr](mailto:info@irb.hr) | [irb.hr](http://irb.hr) | [fb.me/irb.hr](https://fb.me/irb.hr) | [twitter.com/institutrb](https://twitter.com/institutrb)

### **'Računalna priča dva enzima'**

#### **Istraživanje znanstvenika IRB-a objavljeno u uglednom časopisu JACS**

*Rezultati u radu opisuju mehanizam djelovanja dva različita enzima, nastala na odvojenim granama evolucije, te postavljaju ključne temelje za buduća istraživanja u potrazi za procesima koji bi bili ekološki prihvatljiviji i omogućili kvalitetnije recikliranje i upotrebu glicerola.*

**ZAGREB, 20. 07. 2018. - Računalni kemičari Instituta Ruđer Bošković (IRB) u suradnji s kanadskim i australskim kolegama Gregom Sandalom i Leom Radomom, objavili su rad u jednom od najistaknutijih svjetskih časopisa u području kemije - Journal of the American Chemical Society (IF 14.357).**

Riječ je o radu zanimljivog naslova "Računalna priča dva enzima: dehidrataza glicerola s ili bez vitamina B<sub>12</sub>" čiji su autori Ruđerovci dr. sc. Borislav Kovačević, dr. sc. Danijela Barić, dr. sc. Darko Babić, Luka Bilić, Marko Hanževački i dr. sc. David Smith, a koji u radu objašnjavaju dva različita mehanizma jedne biološki važne reakcije koja bakterijama omogućava dobivanje energije iz alkohola glicerola.

#### **Ekološki doprinos istraživanja**

Rezultati istraživanja prikazani u radu značajni su i s ekološkog gledišta. Naime, glicerol se danas uglavnom smatra otpadnom sirovinom koja nastaje pri proizvodnji biodizela i pri raspadanju biomase. Kako bi bio koristan za industriju glicerol se prevodi u aldehid (3-hidroksipropanal) raznim kemijskim postupcima koji stvaraju štetne nusprodukte.

"Činjenica da je u ovom radu razjašnjen način kako dvije evolucijski daleke klase enzima kataliziraju pretvorbu glicerola u 3-hidroksipropanal, metabolit i korisnu sirovinu za industriju, postavlja ključne temelje za buduća istraživanja u potrazi za novim katalizatorima i biološki inspiriranim procesima koji bi bili ekološki prihvatljiviji i omogućili kvalitetnije recikliranje i upotrebu glicerola." – objašnjava Luka Bilić, doktorand u Grupi za računalne bioznanosti, jedan od autora.

U studiji znanstvenici su proučavali pretvorbu glicerola u odgovarajući aldehid, koja se u bakterijama može odvijati uz pomoć dva različita enzima. Kod oba enzima tijekom katalize stvaraju se slobodni radikali, ali jedan se aktivira uz pomoć vitamina B<sub>12</sub> (B<sub>12</sub>-ovisna glicerol dehidrataza), a drugi, B<sub>12</sub>-neovisni enzim, reakciju započinje uz pomoć radikala koji sadrži sumpor.

Pretpostavlja se da je B<sub>12</sub>-neovisna dehidrataza evolucijski starija i da datira još iz doba kada je u atmosferi bilo vrlo malo kisika. Na prvi pogled ta dva nesrodna enzima bitno su različita, ali uvidom u aktivno mjesto, pozornicu na kojoj se odvija kemijska transformacija supstrata glicerola, počinje se nazirati sličnost. S obzirom na uočenu sličnost, nameće se pitanje: odvija li se ova reakcija u oba enzima na jednak način?

### **Računalne metode rekonstruiraju cjelovite kemijske promjene na potpuno novi način**

Kemijski radikali su vrlo reaktivne i kratkoživuće vrste. Stoga je istraživanje radikalskih reakcija eksperimentalnim tehnikama vrlo zahtjevno i često nepotpuno, a ključni detalji kemijske promjene ostaju djelomično u domeni nagađanja i mašte. S druge strane, računalnim metodama moguće je simulirati dinamičku prirodu enzima, ali i detaljno opisati sve stupnjeve kemijske reakcije koji bi inače ostali nepoznati, a uključivanjem dostupnih eksperimentalnih rezultata moguća je rekonstrukcija cjelovite kemijske promjene u novom i potpunom svjetlu.

Koristeći hibridnu računalnu metodu koja kombinira kvantno-mehanički i molekulsko-mehanički pristup, tzv. QM/MM metodu, u ovom radu su detaljno opisani načini kako se odvija pretvorba glicerola u svakom od spomenutih enzima. Aktivno mjesto u kojem se događa kemijska reakcija opisano je uz pomoć QM pristupa, a udaljeniji dijelovi enzima molekulskom mehanikom. Ovako složena metodologija potrebna je za dobar opis kompliciranih biokemijskih reakcija jer uspješno reproducira kemijski okoliš u kojemu se zbiva proučavana promjena.

Pokazano je da reakcijski put u B<sub>12</sub>-ovisnoj dehidratazi uključuje nekoliko koraka: glicerol prelazi u radikalski međuprodukt, nakon kojeg slijedi pregradnja toga radikala tako da je moguć nastanak aldehidnog radikala praćen izlaskom vode. Kod B<sub>12</sub>-neovisne dehidrataze pregradnja nije potrebna i eliminacija vode ide direktno s glicerilnog radikala.

Opisana razlika je posljedica neznatno različite kemijske okoline u samom središtu enzima, gdje se analogne aminokiseline važne za katalizu razlikuju tek po protonacijskom stanju. Naime, kada bi kemijski okoliš u aktivnom mjestu B<sub>12</sub>-ovisne dehidrataze bio takav da omogućiti direktni izlazak vode iz glicerola, kao što je to slučaj u B<sub>12</sub>-neovisnoj glicerol dehidratazi, došlo bi do potpune blokade enzima jer bi nastao vrlo stabilan međuprodukt nesposoban za nastavak reakcije. To pokazuje kako se u biološkim procesima često radi o vrlo delikatnoj ravnoteži između produktivne reakcije i katastrofe.

## Rezultati studije potvrđeni su i eksperimentom

"Uzbudljiva slučajnost je da je u članku objavljenom u najnovijem broju časopisa *Biochemistry* (**2018**, 57 (23), 3222–3226) prikazano eksperimentalno istraživanje napravljeno u laboratoriju dr. Emily Balskus sa Sveučilišta u Harvardu, u kojemu autori, koristeći tehniku izotopnog obilježavanja, proučavaju dehidrataciju diola kataliziranu s dva različita enzima: B<sub>12</sub>-ovisnom i B<sub>12</sub>-neovisnom dioldehidratazom. Njihovi rezultati nedvojbeno potvrđuju naše računalno predviđanje." - objašnjava dr. sc. Borislav Kovačević, voditelj Grupe za računalne bioznanosti.

Istraživanje je rađeno u sklopu projekta Hrvatske zaklade za znanost 'Računalna rješenja u bioznanostima: Značaj savitljivosti molekula' (CompSoLS-MolFlex, IP-11-2013-8238).

**NAPOMENA:** *Istraživanje na radu dr. sc. Smith radio je prije preuzimanja dužnosti ravnatelja IRB-a.*

### REFERENCA NA RAD:

*J. Am. Chem. Soc.*, 2018, 140 (27), 8487–8496

<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021%2Fjacs.8b03109>

### DODATNE INFORMACIJE

---

#### Međunarodna suradnja – mobilnost istraživača kao preduvjet za izvrsnu znanost

Ovo istraživanje dio je veće cjeline, koja se odnosi na tzv. radikalske enzime. Naime, računalno istraživanje enzima koji kataliziraju biokemijske reakcije stvarajući pri tome slobodne radikale jedan je od fokusa HrZZ projekta ComSoLS-MolFlex. Voditelj projekta, David M. Smith, na početku karijere u suradnji s profesorom Radomom sa Sveučilišta u Sydneyu istraživao je i modelirao kemijske reakcije koje uključuju molekulu vitamina B<sub>12</sub> u neenzimskom okruženju, kod kojih također dolazi do stvaranja slobodnih radikala. Nakon što se zaposlio na IRB-u, u istraživanje radikalskih reakcija uveo je biološke makromolekule, enzime, uključivši u to i suradnju s grupom L. Radoma. Borislav Kovačević i Danijela Barić su na svojim poslijedoktorskim usavršavanjima kod profesora Radoma radili upravo na toj tematici i dio rezultata u ovom radu ostvaren je u to vrijeme. Gregory Sandala, rođenjem Kanađanin, također je bio postdoktorand u grupi Lea Radoma pa je postao dio tima. G. Sandala je također bio na 6-mjesečnom studijskom boravku na IRB-u gdje je nastavio raditi na molekulskom modeliranju enzimski kataliziranih mehanizama.

**O ČASOPISU:** Časopis Američkog kemijskog društva (JACS), pokrenut je 1879. godine i vodeći je časopis Američkog kemijskog društva te jedan od najistaknutijih svjetskih časopisa u području kemije. Ovaj časopis posvećen je objavljivanju temeljnih istraživačkih radova i godišnje objavljuje oko 19.000 stranica članaka. Faktor utjecaja 14.357 za 2017.