

Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Wydział Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej

**Charakter rozkładu oddziaływań niewiążących
(elektrostatycznych, vdW) wobec rozkładu oddziaływań
hydrofobowych w strukturach białek.**

Magdalena Ptak-Kaczor

Rozprawa doktorska wykonana pod kierunkiem
prof. dr. hab. Irena Roterman-Konieczna



Kraków 2022

Spis treści

1. Wprowadzenie	2
2. Oddziaływania	4
2.1. Oddziaływania niewiążące	4
2.2. Oddziaływania hydrofobowe	6
2.3. Model rozmytej kropli oliwy (FOD)	7
3. Materiały i metody	11
3.1. Pole siłowe Gromacs – oddziaływania elektrostatyczne i vdW	11
3.2. Opis procedury w programie GROMACS dla pojedynczej struktury	12
4. Wyniki	14
4.1 TITINA - 1TIT	15
4.2 STRUKTURY: A β (15-40) - 2MPZ, A β (1-40) - 2MVX, A β (11-42) - 2MXU, α -synukleina – 2N0A oraz Tau – 5O3L	18
4.3. TRANSTYRETYNA – 1DVQ	29
5. Wnioski	32
Bibliografia	36
Załączniki	45
Artykuł 1	45
Artykuł 2	Błąd! Nie zdefiniowano zakładki.
Artykuł 3	45
Artykuł 4	45
Artykuł 5	45

1. Wprowadzenie

Podręcznikowa wiedza mówi, że stabilność struktury trzeciorzędowej jest zapewniona przez obecność jądra hydrofobowego wraz z systemem wiązań dwusiarczkowych [1]. Ten drugi jest uwarunkowany ewolucyjnie, podczas gdy ten pierwszy zawdzięcza swoje właściwości interakcjom wewnątrz łańcuchowym oraz między łańcuchem białkowym a jego środowiskiem – w tym środowiskiem wodnym w szczególności [2],[3],[4],[5].

Różne sekwencje aminokwasów mają różną skłonność do tworzenia struktur micelarnych. W szczególności białka szybko fałdujące się (ang. fast-folding) [4], białka niezamarzające typu II (ang. antifreeze) [5] oraz zdecydowana większość domen białkowych (traktowanych, jako samodzielne jednostki strukturalne) wykazują silną zgodność między obserwowanym rozkładem hydrofobowości a odpowiadającym jej rozkładem modelowym (teoretycznym) mającym na celu uzyskanie doskonałej miceli sferycznej [6].

Praca ta ma na celu określenie, czy inne typy oddziaływań stosują się do modelu centrycznej koncentracji oddziaływań, jaki jest obecny w odniesieniu do oddziaływań hydrofobowych.

Aby odpowiedzieć na zadane pytanie, oddziaływania elektrostatyczne i van der Waalsa (vdW) zostały poddane analizie, podobnej do tej, jaką przeprowadzono dla hydrofobowości. Obserwowane rozkłady porównano z dwoma modelami referencyjnymi: teoretycznym rozkładem gaussowskim (oznaczonym jako T) oraz rozkładem jednolitym, w którym każdej reszcie przypisano taką samą wartość danego oddziaływania (oznaczonym jako R). Odległość względna (Relative Distance - RD) została następnie obliczona jako ilościowa miara odchylenia od któregośkolwiek z tych rozkładów, przy czym wartości niższe niż 0,5 wskazują, że obserwowany rozkład odzwierciedla T, natomiast wartości wyższe niż 0,5 wskazują na silniejsze powinowactwo do R.

W badaniach wykorzystano białko wzorcowe (titinę) [7], [8], które wykazuje wysoką zgodność między obserwowanym rozkładem hydrofobowości a rozkładem teoretycznym (gaussowskim), struktury amyloidalne [9], [10] pochodzące z PDB oraz transtystyretynę - białko globularne znane z podatności na przemiany amyloidalne [11].

Zastosowano model rozmytej kropli oliwy (FOD) [3],[4],[12], który sugeruje, że trzeciorzędową budowę białka – szczególnie globularnego – można porównać do miceli sferycznej. Podczas procesu fałdowania, reszty hydrofilowe są eksponowane na powierzchni,

podczas gdy reszty hydrofobowe są zatrzymywane wewnątrz białka. Wynikający z tego rozkład hydrofobowości może być modelowany matematycznie, jako 3D Gauss. W odróżnieniu od wewnętrznych algorytmów optymalizacji energii, które nie zawierają żadnych warunków wstępnych dotyczących struktury polipeptydu, proponowany przez nas model rozmytej kropli oliwy zakłada, że proces fałdowania jest napędzany obecnością wodnego rozpuszczalnika, który sprzyja micelizacji łańcucha polipeptydowego.

Jeśli analiza wykaże, że interakcje niewiążące są rozłożone w podobny sposób jak hydrofobowość, możemy stwierdzić, że wewnętrzne algorytmy optymalizacji energii powinny rozpoznawać i odzwierciedlać tę właściwość wewnętrznego pola siłowego.

Bazując na otrzymanych wynikach można stwierdzić, że w titinie wyraźnie występuje jądro hydrofobowe, podczas gdy ani oddziaływania elektrostatyczne (OE), ani van der Waalsa (OV) nie wykazują żadnego "jądrowego" stężenia. W szczególności zaobserwowano brak jakiegokolwiek stężenia elektrostatycznego i vdW w środkowej części cząsteczki, pomimo ścisłego upakowania atomów i reszt w tym miejscu.

Podobna sytuacja ma miejsce w amyloidach, gdzie zarówno rozkład elektrostatyczny, jak i vdW ściśle pokrywają się z rozkładem R. O ile pod względem oddziaływań hydrofobowych amyloidy bardzo różnią się od białek sferycznych (np. titiny), o tyle podobne różnice w zakresie rozkładów elektrostatycznych i vdW nie są możliwe do zaobserwowania.

W odniesieniu do transtyretyny - jej rozkład hydrofobowości może być uważany za przypadek pośredni. Białko zawiera scentralizowane, jądro hydrofobowe, ale także wykazuje duże odchylenia od wzoru gaussowskiego. Natomiast rozkłady elektrostatyczne i vdW są podobne do tych obserwowanych w innych analizowanych białkach i w dużej mierze zgodne z rozkładem R.

Reasumując: wewnętrzne algorytmy optymalizacji energii w warunkach wstępnych dotyczących procesu fałdowania białka powinny uwzględniać środowisko wodne jedynie dla oddziaływań hydrofobowych.

2. Oddziaływania

2.1. Oddziaływania niewiążące

Podziału obserwowanych potencjałów elektrostatycznych i van der Waalsa (vdW) dokonano za pomocą programu Gromacs [13] działającego na zasobach obliczeniowych dostarczonych przez Cyfronet AGH w infrastrukturze PL-Grid (<http://plgrid.pl/> (sierpień 2019)). Wybraną cząsteczkę, której strukturę została zaczerpnięta z PDB [14], poddano minimalizacji energii w celu wyeliminowania zderzeń sferycznych wprowadzonych przez włączenie atomów H na podstawie badań dyfrakcji rentgenowskiej.

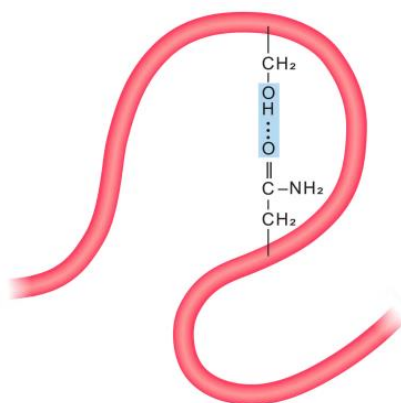
Po optymalizacji przy użyciu oprogramowania Gromacs (a konkretnie Gromacs 5.0.7 z all-atom OPLS-AA/L pole siłowe), obliczyliśmy siłę oddziaływania elektrostatycznego i vdW pomiędzy każdą resztą jej otoczenia przy zastosowaniu odległości odcięcia (ang. cutoff distance). Dało to rozkład obu rodzajów oddziaływań w całym cieple białka, wyrażony matematycznie, jako zbiór wartości E_i i V_i , który można bezpośrednio porównać z naszymi rozkładami referencyjnymi (T i R) podanymi przez model rozmytej kropli oliwy [3].

- **Sily van der Waalsa** to bardzo słabe oddziaływania między atomami występującymi blisko siebie. Posiadają one bardzo duże znaczenie w przyrodzie, za ich pomocą zachodzi, bowiem wiele procesów fizykochemicznych. Są to powszechnie występując oddziaływania odpowiedzialne za adsorpcję, czy też budowę białek. Odgrywają również ważną rolę w oddziaływaniach białko-białko, w których dochodzi do dopasowania. Jako przykład takiej sytuacji możemy podać sytuację, w której dochodzi do rozpoznania antygeny przez przeciwciało.

Można wyróżnić kilka rodzajów sił van der Waalsa:

- oddziaływanie typu dipol-dipol, kiedy dwie cząsteczki posiadające moment dipolowy przyciągają się;
- oddziaływanie dipol-dipol indukowany mające miejsce, gdy jedna cząsteczka z momentem dipolowym indukuje moment dipolowy u drugiej cząsteczki i dochodzi do ich przyciągania;
- oddziaływanie dipol indukowany-dipol indukowany występujące, gdy obie cząsteczki nie posiadające momentu dipolowego uzyskują chwilowe momenty dipolowe i dochodzi do ich przyciągania.

- **Oddziaływania elektrostatyczne** (Coulombowskie) mają charakter zarówno przyciągający, jaki i odpychający w zależności od rodzaju aminokwasów. Jest to rodzaj siły ładunek-ładunek występującej w odniesieniu do każdej pary atomów. Pełnią one rolę w oddziaływaniach pomiędzy białkiem i ligandem oraz podczas, gdy występują kompleks wielobiałkowy. Siła tych oddziaływań jest zależna odwrotnie proporcjonalnie od odległości między danymi parami atomów.
- **Wiązanie wodorowe** to rodzaj oddziaływania elektrostatycznego pomiędzy atomem wodoru a atomem elektroujemnym zawierającym wolne pary elektronowe. Wiązanie wodorowe w białkach powstaje pomiędzy grupą karbonylową jednego z aminokwasów a grupą iminową drugiego aminokwasu. Do najważniejszej roli wiązania wodorowego w białkach zalicza się stabilizację struktury alfa-helisy i beta-kartki.

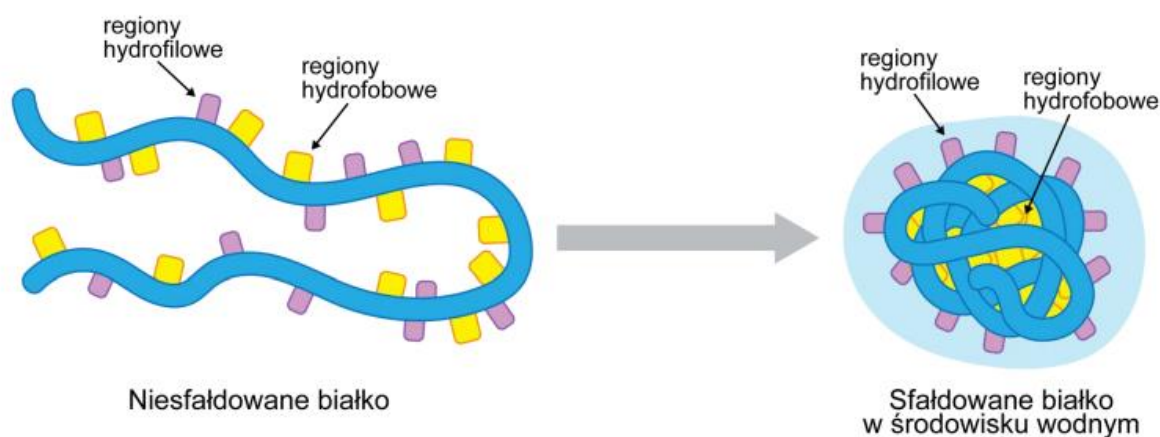


Rysunek 1. Przykład oddziaływania wodorowego w białku.

- **Mostki dwusiarczkowe** powstają, gdy dwie grupy tiolowe (-SH) połączą się ze sobą wiązaniem kowalencyjnym (orbital molekularny). Mogą one występować zarówno w dwóch różnych związkach albo w jednym. Pełnią one ważną rolę w fałdowaniu oraz stabilności wielu białek. Poprzez utrzymanie części białka razem stabilizują jego ufałdowaną formę. Rola wiązań dwusiarczkowych w kontekście centrycznego rozkładu hydrofobowości jest zróżnicowana. Zidentyfikowano białka, w których układ wiązań SS sprzyja generowaniu jądra hydrofobowego stanowiąc łącznie silną stabilizację. Zidentyfikowano też białka, gdzie układ wiązań SS pozostaje w konflikcie z rozkładem centrycznym wprowadzając znaczące lokalne odstępstwa od uporządkowania oczekiwanego dla oddziaływań hydrofobowych.

2.2. Oddziaływania hydrofobowe

Oddziaływania hydrofobowe występują w cząsteczkach, które w swojej budowie posiadają regiony hydrofobowe i hydrofilowe. Regiony hydrofilowe to części cząsteczki, które mają budowę polarną, czyli „lubią” wodę. Woda jest, bowiem cząsteczką polarną posiadającą ładunki elektrostatyczne rozłożone w swojej cząsteczce nierównomiernie. Regiony hydrofobowe to części cząsteczki, które mają budowę niepolarną, czyli „nie lubią” wody. Reasumując: oddziaływania hydrofobowe polegają na ograniczeniu możliwości dostępu do wody częścią cząsteczki, które są hydrofobowe. Jeżeli przykładowo posiadamy jedną dużą cząsteczkę, w której występują regiony hydrofobowe i hydrofilowe, to taka cząsteczka ulegnie procesowi zwijania oraz zmianie w położeniu do stopnia, który umożliwi jak najmniejszy kontakt z wodą odcinkom hydrofobowym. W celu obrazowego opisu tego procesu możemy powiedzieć, że cząsteczka po swojej zewnętrznej stronie, czyli w kierunku cząsteczek wody, będzie kierować swoje hydrofilowe fragmenty, natomiast fragmenty hydrofobowe schowa niejako do swojego wnętrza. Oddziaływania hydrofobowe ilustruje poniższy obraz (Rysunek 2.).



Rysunek 2. Oddziaływania hydrofobowe są wymagane do prawidłowego fałdowania się białek.

W długim łańcuchu polipeptydowym mogą występować liczne regiony hydrofobowe, które są oddzielone regionami hydrofilowymi. Taki układ będzie sprzyjał fałdowaniu białek – regiony hydrofobowe schowają się do “środku” białka, podczas gdy regiony hydrofilowe wystawią się na zewnątrz.

Program Gromacs pozwala na uwzględnienie obecności wody w postaci określonej liczby indywidualnych molekuł wody (wynikającej z gęstości wody), nie jest to jednak opcja stała i należy ją włączyć podczas symulacji. Opisany wyżej proces, w którym w skutek interakcji ze środowiskiem wodnym dąży się do ekspozycji reszt hydrofilowych na

powierzchnie cząsteczki (w naszym wypadku białka), z punktu widzenia wykorzystanych zasobów pamięci oraz czasu obliczeń jest procedurą bardzo wymagającą.

W prezentowanej pracy zastosowano model tzw. *fuzzy oil drop model* wywodzący się z analizy struktur miceli. W tym miejscu warto będzie zauważyć, że każdy z aminokwasów w łańcuchu polipeptydowym ma przypisaną sobie hydrofobowość własną. W literaturze dostępnych jest wiele skali hydrofobowości opartych zarówno na pomiarach eksperymentalnych lub też wyznaczonych teoretycznie. Dla przeprowadzonych przez nas badań stosujemy własną skalę hydrofobowości [15], która jest zbliżona do istniejących – np. Eisenberga [16] czy Doolittle [17] – w takim stopniu, że w kontekście opisywanych działań jest to nieistotna różnica.

2.3. Model rozmytej kropli oliwy (FOD)

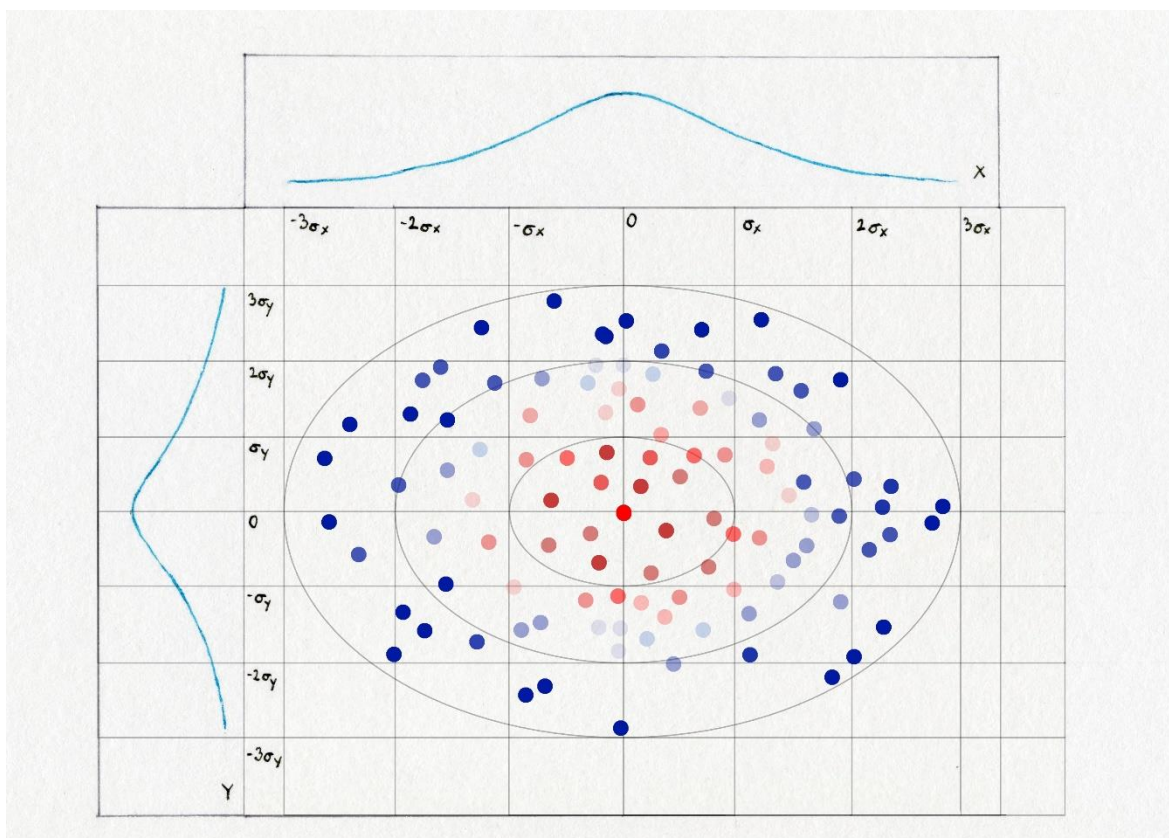
Szczegółową prezentację modelu rozmytej kropli oliwy można znaleźć w licznych publikacjach [3], [4], [12]. W związku z tym ograniczymy się do krótkiego podsumowania jej głównych koncepcji istotnych dla przedstawionych w rozdziale 3 wyników.

W modelu FOD hydrofobowość stale rośnie od powierzchni do środka cząsteczki (Rysunek 3.). Teoretyczną funkcję hydrofobowości definiuje się następująco:

$$Ht_i = \frac{1}{Ht_{sum}} \exp\left(\frac{-(x_i - \bar{x})^2}{2\sigma_x^2}\right) \exp\left(\frac{-(y_i - \bar{y})^2}{2\sigma_y^2}\right) \exp\left(\frac{-(z_i - \bar{z})^2}{2\sigma_z^2}\right)$$

$\bar{x}, \bar{y}, \bar{z}$ - pozycje centrum molekuły;

$\sigma_x, \sigma_y, \sigma_z$ - 1/6 największych odległości między atomami wzdłuż odpowiednich osi



Rysunek 3: Przedstawienie teoretycznego rozkładu hydrofobowości dla przykładowej struktury białka. Hydrofobowość osiąga maksymalną wartość w środku cząsteczki (kolor czerwony) i spada do zera na powierzchni (kolor niebieski). Wykresy panelowe przedstawiają wymiary X i Y funkcji Ht Gaussa. Pokazane są również odległości określone przez odchylenia standardowe (σ). Środek układu koordynacyjnego znajdował się w geometrycznym środku cząsteczki, który jest również równy $\bar{x}$ i $\bar{y}$.

Zastosowany do analizy model rozmytej kropli oliwy opiera się na porównaniu rozkładu hydrofobowości w białkach: rozkład wyidealizowany (T) (wyrażony funkcją 3D Gaussa); oraz obserwowany rozkład (O) — wynik interakcji międzyresztowej. Porównanie tych dwóch rozkładów pozwala na ilościową ocenę stanu białka wobec wyidealizowanego rozkładu typu micelle-like. Porównanie jest ilościowo wyrażone przez parametr RD (odległość względna), który mierzy odległość między obserwowanym rozkładem hydrofobowości (O) w białku w porównaniu z dwoma rozkładami referencyjnymi: T i R. Rozkład T reprezentuje stan z wyidealizowanym centrycznym rdzeniem hydrofobowym obecny (T), podczas gdy R reprezentuje hydrofobowość równomiernie rozłożoną w całym ciele białkowym, co oznacza, że nie ma rdzenia hydrofobowego. Im mniejsza odległość między O i T w porównaniu z odległością między O i R, tym bardziej wyrazista jest obecność hydrofobowego rdzenia. W konsekwencji rozważanemu białku przypisuje się niższą wartość RD.

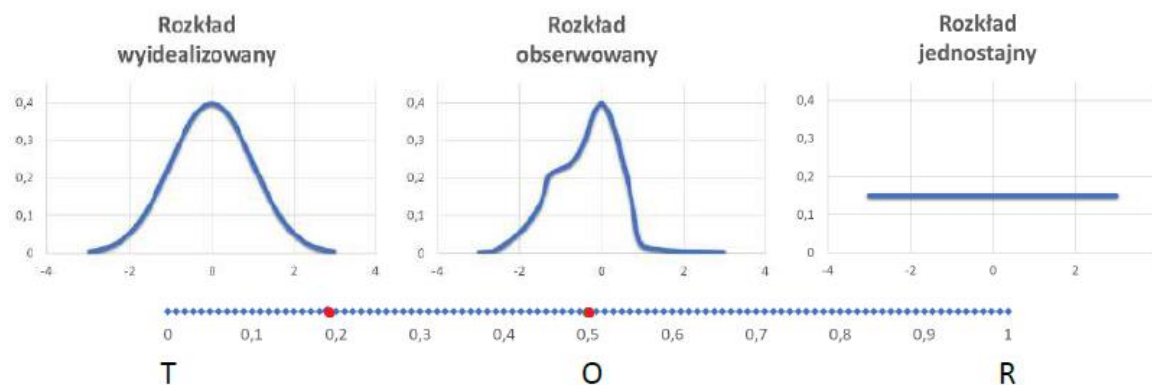
Obserwowany rozkład hydrofobowości w cząsteczce białka jest determinowany przez interakcje między jego łańcuchami bocznymi aminokwasów. Oddziaływania te zależą zarówno od wewnętrznej hydrofobowości każdej reszty, jak i od separacji między sąsiednimi resztami. Nasze obliczenia oparte są na funkcji zaproponowanej w [18]. Po otrzymaniu obserwowanego rozkładu (O), możemy go porównać z odpowiadającym mu teoretycznym rozkładem (T), gdzie każdej reszcie przypisana jest wartość hydrofobowości (T_i) równa wartości 3D Gaussa w jej położeniu, (która w założeniu odpowiada tzw. atomowi efektywnemu, czyli uśrednionym położeniom wszystkich atomów wchodzących w skład danego aminokwasu). Gaussa 3D otrzymujemy się przez zamknięcie korpusu białkowego w odpowiednio ukształtowanej elipsoidalnej kapsułce, której wymiary wyrażone są przez współczynniki sigma (oznaczone σ_x , σ_y i σ_z).

Normalizacja T i O pozwala na bezpośrednie porównanie obu rozkładów. Odbywa się to poprzez zastosowanie parametru entropii względnej zaproponowanego przez Kullback i Leiblera [19]. Parametr ten, oznaczony, jako D_{KL} , wyraża „odległość” pomiędzy dwoma rozkładami: obserwowanym (O) i wyidealizowanym (T), z których ten ostatni jest traktowany, jako rozkład odniesienia. W rezultacie T opisuje wyidealizowane białko globularne, w którym hydrofobowość szczytuje w środku i pozostaje nisko na powierzchni. Wartości D_{KL} nie można być jednak interpretowana sama w sobie, ponieważ jest ona miarą entropii. Dlatego też konieczny jest inny rozkład odniesienia, aby ułatwić sensowne porównania. Ten drugi rozkład odniesienia - zwany R - jest zdefiniowany, jako przeciwieństwo T. Zgodnie z R, każdej reszcie przypisuje się wartość $1 / N$ (N oznacza całkowitą liczbę reszt w łańcuchu). Zatem R opisuje sytuację, w której w żadnym punkcie ciała białka nie występuje stężenie hydrofobowości. Obliczanie D_{KL} zarówno dla O-T, jak i O-R mówi nam, czy O przybliży się do T czy R, przy czym niższe wartości wskazują na większe podobieństwo. Aby uniknąć konieczności zajmowania się dwiema odrębnymi wartościami, parametr odległości względnej – ang. Relative Distance (RD) jest wprowadzany, jako stosunek $D_{KL}(O-T)$ do sumy $D_{KL}(O-T)$ i $(O-R)$. $RD < 0,5$ wskazuje na obecność jądra hydrofobowego.

RD jest obliczane w następujący sposób:

$$RD = \frac{D_{KL}(O - T)}{D_{KL}(O - T) + D_{KL}(O - R)}$$

Możemy, zatem powiedzieć, że obecność jądra hydrofobowego w danej strukturze otrzymujemy dla wartość RD (Relative Distance) poniżej 0.5. Na poniższym rysunku przedstawiono tę sytuację w formie graficznej [3].



Rysunek 4. Wizualizacja modelu dla 1D Gaussa. Wartość RD jest równa 0.194.

Na pokazanej ilustracji graficznej (Rysunek 4.) wartość RD jest mniejsza niż 0.5, co oznacza, że rozkład obserwowany (środkowy) wykazuje stopień podobieństwa wobec rozkładu wyidealizowanego (po lewej stronie), wystarczający dla przyjęcia rozkładu centrycznego. Pokazany tutaj rozkład obserwowany nie ma w tej analizie statusu zbliżonego do rozkładu jednostajnego (rozkład po prawej stronie).

Symulacja procesu fałdowania z uwzględnieniem modelu FOD zachodzi nie tylko według procedury minimalizacji energii wewnętrznej, ale także minimalizacji różnic między rozkładem T i O, to znaczy minimalizacji wartości RD.

3. Materiały i metody

W pracy wykorzystano dane pochodzące z PDB (Protein Data Bank; (<https://www.rcsb.org/>)). Struktury form dostępnych w momencie opracowywania pracy podano w tabeli (Tabela 1.).

Nazwa	PDB ID	Długość łańcucha	Referencja
<i>Titina (Tytyna)</i>	1TIT	89 aa	(Importa et al., 1996)
<i>Amyloid Aβ(1-40)</i>	2MVX	40 aa	(Shültz et al., 2015)
<i>Aβ(15-40)</i>	2MPZ	26 aa	(Sgourakis et al., 2015)
<i>Aβ(11-42)</i>	2MXU	32 aa	(Xiao et al., 2015)
<i>Tau</i>	5O3L	73 aa	(Fitzpatrick et al., 2017)
<i>α-synukleina</i>	2N0A	140 aa	(Tuttle et al., 2016)
<i>Transtyretyna</i>	1DVQ	115 aa	(Klaubunfe et al., 2000)

Tabela 1. Lista analizowanych białek.

Praca została wykonana z wykorzystaniem Infrastruktury PLGrid (Cyfronet AGH).

3.1. Pole siłowe Gromacs – oddziaływania elektrostatyczne i vdW

Zastosowane pole siłowe obecne w pakiecie Gromacs uwzględnia oddziaływania elektrostatyczne i vdW. Wszystkie obliczenia wykonano za pomocą Gromacs [13] działającego na zasobach obliczeniowych dostarczanych przez Cyfronet AGH w infrastrukturze PL-Grid. przez włączenie atomów H na podstawie badań dyfrakcji rentgenowskiej. Obliczeń dokonano w celu sprawdzenia udziału oddziaływań elektrostatycznych i van der Waalsa w lokalnej stabilizacji badanej struktury.

GROMACS to pakiet do symulacji dynamiki molekularnej przeznaczony głównie dla białek, lipidów i kwasów nukleinowych. Został pierwotnie opracowany na wydziale chemii biofizycznej Uniwersytetu w Groningen, a obecnie jest utrzymywany przez współpracowników na uniwersytetach i ośrodkach badawczych na całym świecie. GROMACS jest jednym z najszybszych i najpopularniejszych dostępnych pakietów oprogramowania i może działać na jednostkach centralnych (CPU) i procesorach graficznych (GPU). Jest to darmowe oprogramowanie o otwartym kodzie źródłowym wydane na licencji GNU General Public License (GPL) i począwszy od wersji 4.6, GNU Lesser General Public License (LGPL).

3.2. Opis procedury w programie GROMACS dla pojedynczej struktury

Szczegółowy opis procedury w programie Gromacs wygląda następująco:

1. Uzupełnienie brakujących elementów struktury pobranej z bazy PDB za pomocą programu swiss pdb-viewer v4.1.0 [<https://spdbv.vital-it.ch/>]
2. Struktura dostępna w PDB została uzupełniona obecnością atomów wodoru – za pomocą PyMol-a modułu Pythona 3.5. [www.pymol.org] – uwaga: struktura poddana dalszej modyfikacji pochodzi z działania programu (patrz punkt 1)
3. Przeprowadzenie minimalizacji energii mające na celu usunięcie kolizji wynikające m. in. z faktu uzupełnienia obecności atomów wodoru.
[<http://www.mdtutorials.com/gmx/lysozyme/>]
 - a) do przeprowadzenia minimalizacji energii użyto Gromacsa 5.0.7:
Aby przekonwertować strukturę i skonstruować topologię, użyto polecenia *pdb2gmx*. Polecenie to ma na celu budowanie topologii dla cząsteczek składających się z odrębnych bloków konstrukcyjnych, takich jak aminokwasy.
 - b) wybór pola siłowego: OPLS-AA/L all-atom force field (2001 aminoacid dihedrals)
 - c) umieszczenie białka w pudełku – białko zostaje wyśrodkowane oraz umieszczone w pudełku, co najmniej 1,0 nm od jego krawędzi. Pudełko zdefiniowane jest, jako sześćcian.
 - d) dodanie rozpuszczalnika – wody
 - e) użycie polecenia *grompp* oraz wygenerowanego pliku *minim.mdp* w celu przeprowadzenia minimalizacji energii
4. Stworzenie dodatkowych plików wymaganych do policzenia energii:
 - a) *index.ndx* – pliku zawierającego numery, nazwy łańcuchów, atomów, reszt, itd.
 - b) *topol.tpr* – pliku zawierającego strukturę początkową symulacji, topologię molekularną i wszystkie parametry symulacji
5. Użycie pakietu *g_mmpbsa*, który został zainicjowany w ramach Open Source Drug Discovery Consortium (OSDD), która jest platformą współpracy w celu projektowania i odkrywania nowych leków na zaniedbane choroby tropikalne, takie jak malaria,

gruźlica, leishmanioza itp. g_mmpbsa jest rozwijany przy użyciu dwóch powszechnie używanych programów open source, tj. GROMACS i APBS i ma podobny interfejs użytkownika, jak inne narzędzia GROMACS [20], [21].

6. użycie GROMACS 5.0.7 oraz APBS 1.5

- Obliczanie trzech komponentów energii:

- a) *Obliczanie energii potencjalnej w próżni* – wygenerowanie pliku zawierającego m.in. van der Waalsa, oddziaływania elektrostatyczne i niezwiązaną energię potencjalną między białkiem a inhibitorem.
- b) *Obliczanie polarnej energii solwatacji* – wygenerowanie pliku zawierającego m. in. polarną energię solwatacji dla niezwiązanego białka, niezwiązanego inhibitora i kompleksu białko-inhibitor.
- c) *Obliczanie niepolarnej energii solwatacji tylko dla modelu SASA oraz SAV* – wygenerowanie pliku zawierającego m. in. niepolarną energię solwatacji dla niezwiązanego białka, niezwiązanego inhibitora i kompleksu białko-inhibitor.

- Obliczenie średniej energii wiązania

4. Wyniki

Biorąc pod uwagę, że wiele białek wykazuje silną zgodność między obserwowanym rozkładem hydrofobowości a teoretycznym Gaussem, interesujące jest spekulowanie, czy inne oddziaływania niewiążące (szczególnie potencjały elektrostatyczne i vdW obliczone przez Gromacsa [13] przebiegają według podobnego schematu. W konsekwencji obliczono wartości E_i i V_i dla każdej reszty, wyrażając (odpowiednio) ich potencjały elektrostatyczne i van der Waals'a. Zaobserwowane wartości zostały następnie porównane z T w celu określenia, czy oddziaływania elektrostatyczne i vdW przebiegają według schematu scentralizowanego, podobnego do oddziaływań hydrofobowych.

W tabeli wyników 2 przedstawiono wartości odległości względnej (RD) dla modeli T-O-R dla oddziaływań elektrostatycznych (OE), oddziaływań OV - vdW oraz OH wyrażających hydrofobowe oddziaływania. W każdym przypadku, jako odniesienia wykorzystano dystrybucje T (Gaussa) i R.

PDB ID	RD dla interakcji		
	Elektrostatyczne OE	vdW OV	Hydrofobowe OH
1TIT	0.839	0.807	0.382
2MPZ	0.749	0.809	0.541
2MXU	0.806	0.757	0.513
2MVX	0.858	0.826	0.608
2N0A*	0.870	0.789	0.506
5O3L	0.815	0.767	0.664
1DVQ**	0.850	0.864	0.652

Tabela 2. Wartości parametrów RD dla każdej interakcji.

*analiza ograniczona do fragmentu 30-100,

**transtyretyna. Wartości te opisują stan łańcuchów traktowanych, jako część kompleksu.

Wszystkie rysunki użyte w rozdziale 4 pochodzą z załączonej pracy: „*Internal force field in selected proteins*”.

4.1 TITINA - 1TIT

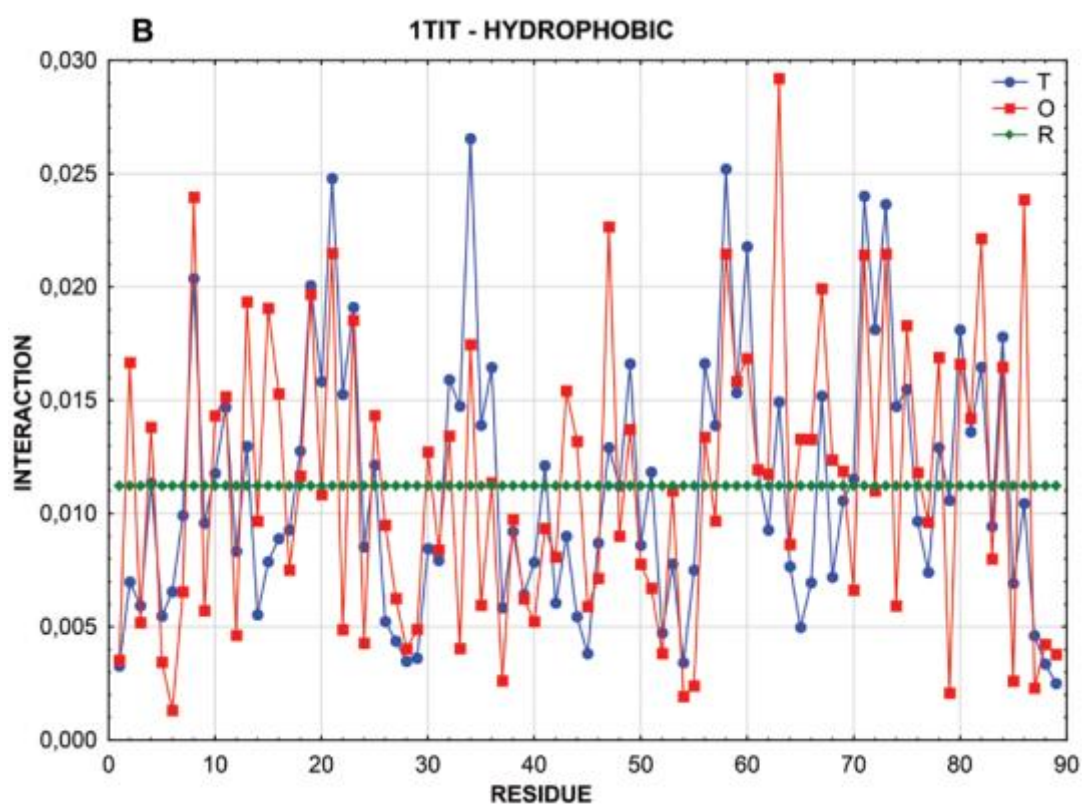
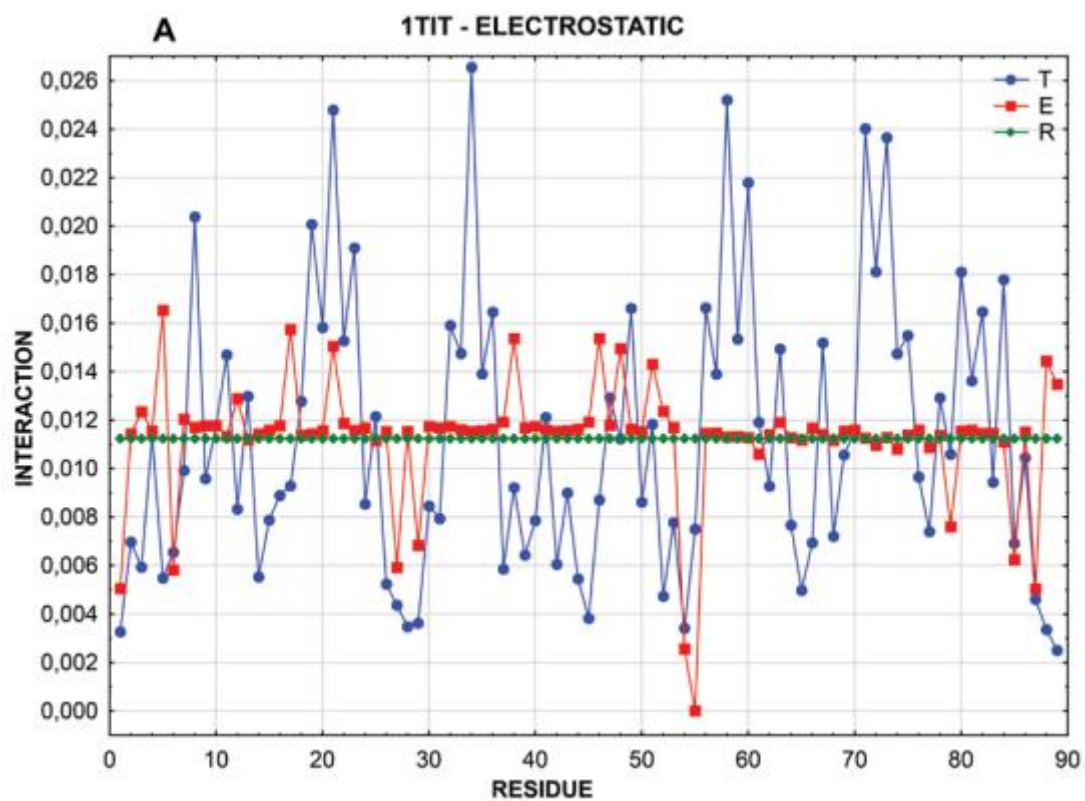
Titina lub Tytyna jest kluczowym składnikiem w budowie i funkcjonowaniu mięśni poprzecznie prążkowanych kręgowców. Zapewnia połączenia na poziomie poszczególnych mikrowłókien, przyczynia się do dokładnego zrównoważenia sił między dwiema połówkami sarkomeru. Wielkość i rozciągliwość wiązań poprzecznych są głównymi wyznacznikami właściwości rozciągliwości sarkomerów mięśni. W komórkach niemięśniowych wydaje się odgrywać rolę w kondensacji i segregacji chromosomów podczas mitozy [22].

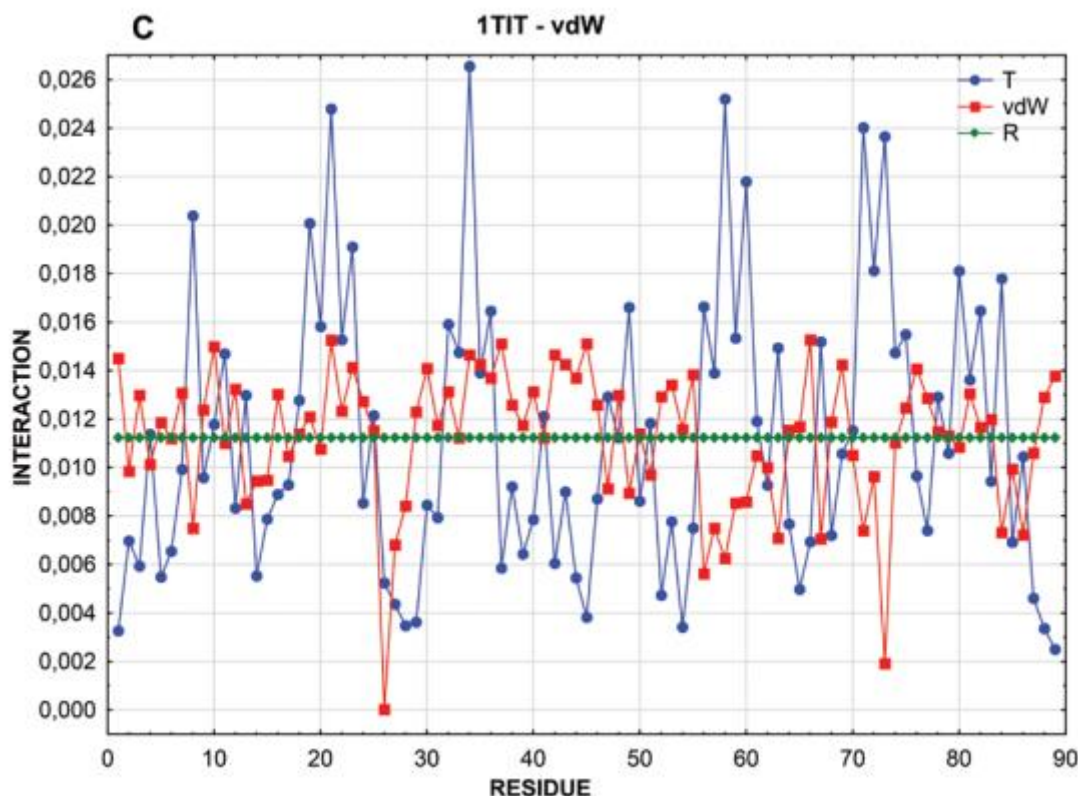
Wady w budowie titiny są przyczyną m.in. np.

- dziedzicznej miopatii z wczesną niewydolnością oddechową (HMERF); znaną również jako miopatia Edstroma. HMERF jest chorobą postępującą powoli, która najczęściej rozpoczyna się między trzecią a piątą dekadą życia. Do objawów tej choroby najczęściej zaliczamy: zaburzenia chodu lub nocne objawy oddechowe.[23].
- rodzinnej kardiomiopatii przerostowej typu 9 (CMH9) – jest to rodzaj dziedzicznej choroby serca, która charakteryzuje się przerostem komór, który najczęściej jest asymetryczny i często obejmuje przegrodę międzykomorową [24].
- kardiomiopatii typu 1G (CMD1G). Kardiomiopatia rozstrzeniowa (kardiomiopatia zastoinowa, kardiomiopatia przekwenna) jest zaburzeniem charakteryzującym się rozszerzeniem komór i upośledzeniem funkcji skurczowej, powodującym zastoinową niewydolność serca i arytmie. Pacjenci są narażeni na przedwczesną śmierć [25], [26], [27].
- późnej dystrofii mięśni piszczelowych (TMD). Osłabienie i atrofia mięśni są zwykle ograniczone do przedniego przedziału podudzia, w szczególności mięśnia piszczelowego przedniego. Objawy kliniczne zwykle pojawiają się w wieku 35-45 lat lub znacznie później [28], [29].
- dystrofii mięśniowej kończynowo-obręczowej typu 2J (LGMD2J). Choroba ta charakteryzuje się postępującym osłabieniem mięśni miednicy i obręczy barkowej. Poważną niepełnosprawność pacjentów dotkniętych tą chorobą obserwuje się w ciągu 20 lat od zachorowania.
- wczesnej miopatii z kardiomiopatią śmiertelną (EOMFC). Są to dziedziczne zaburzenia mięśniowe, które zwykle objawiają się od momentu urodzenia lub dzieciństwa, z hipotonią, osłabieniem mięśni i opóźnionym rozwojem motorycznym. EOMFC to tzw. titinopatia, która, w przeciwieństwie do opisanych wcześniej przykładów chorób,

obejmuje zarówno serce, jak i mięsień szkieletowy, ma wrodzony początek i jest czysto recesywna [30].

Rysunek 5 przedstawia podsumowanie wyników profili rozkładu T, OH, OE i OV dla titiny. Zielona pozioma linia reprezentuje rozkład R. Niebieski profil przedstawia wyidealizowany (T) rozkład podany przez 3D Gaussa. Czerwona linia reprezentuje rozkład O dla analizowanej interakcji. Obserwowany profil oddziaływań hydrofobowych jest wyraźnie podobny do modelu teoretycznego. Wartość RD dla tytyny jest bardzo niska i wynosi 0,382 (Tabela 2). Widoczne są jednak duże różnice pomiędzy OH a pozostałymi dwoma obserwowanymi rozkładami. Interakcje niewiążące wydają się być bardziej zbliżone do równomiernego rozkładu (R), a zatem równomiernie rozłożone na całej długości łańcucha, bez zauważalnych szczytów. Linia czerwona jest wyrównywana z linią zieloną zarówno na Rysunku 5A jak i na Rysunku 5C, a odpowiednie wartości RD są bardzo wysokie: 0,839 dla OE i 0,807 dla OV. Te wysokie wartości ujawniają silne wyrównanie zarówno OE, jak i OV z R. Na podstawie tych obserwacji można stwierdzić, że w titinie wyraźnie występuje hydrofobowy rdzeń, podczas gdy ani OE, ani OV nie wykazują żadnego "rdzeniowego" stężenia. W szczególności zaobserwowano brak jakiegokolwiek stężenia elektrostatycznego i vdW w środkowej części cząsteczki, pomimo ścisłego upakowania atomów i reszt w tym miejscu.





Rysunek 5. Profile dystrybucji dla 1TIT (białko wzorcowe charakteryzujące się niską wartością RD dla oddziaływań hydrofobowych): A - elektrostatyczny (OE), B - hydrofobowość (OH), C - vdW (OV).

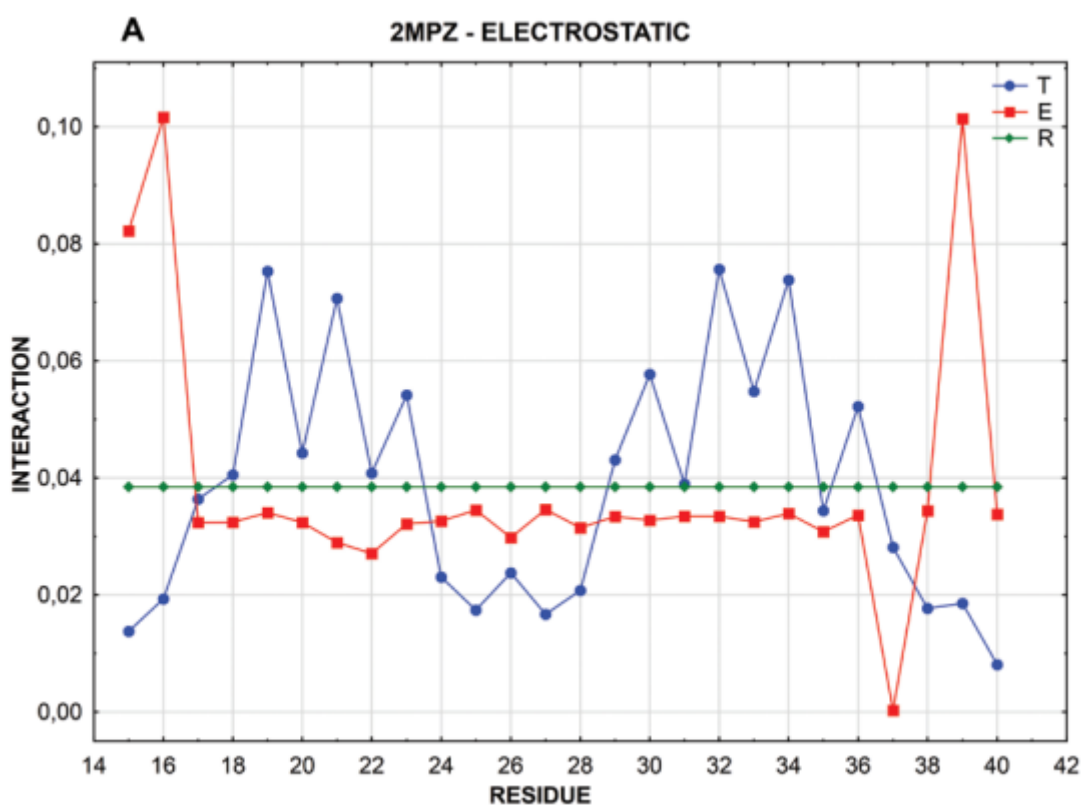
4.2 STRUKTURY: A β (15-40) - 2MPZ, A β (1-40) - 2MVX, A β (11-42) - 2MXU, α -synukleina – 2N0A oraz Tau – 5O3L

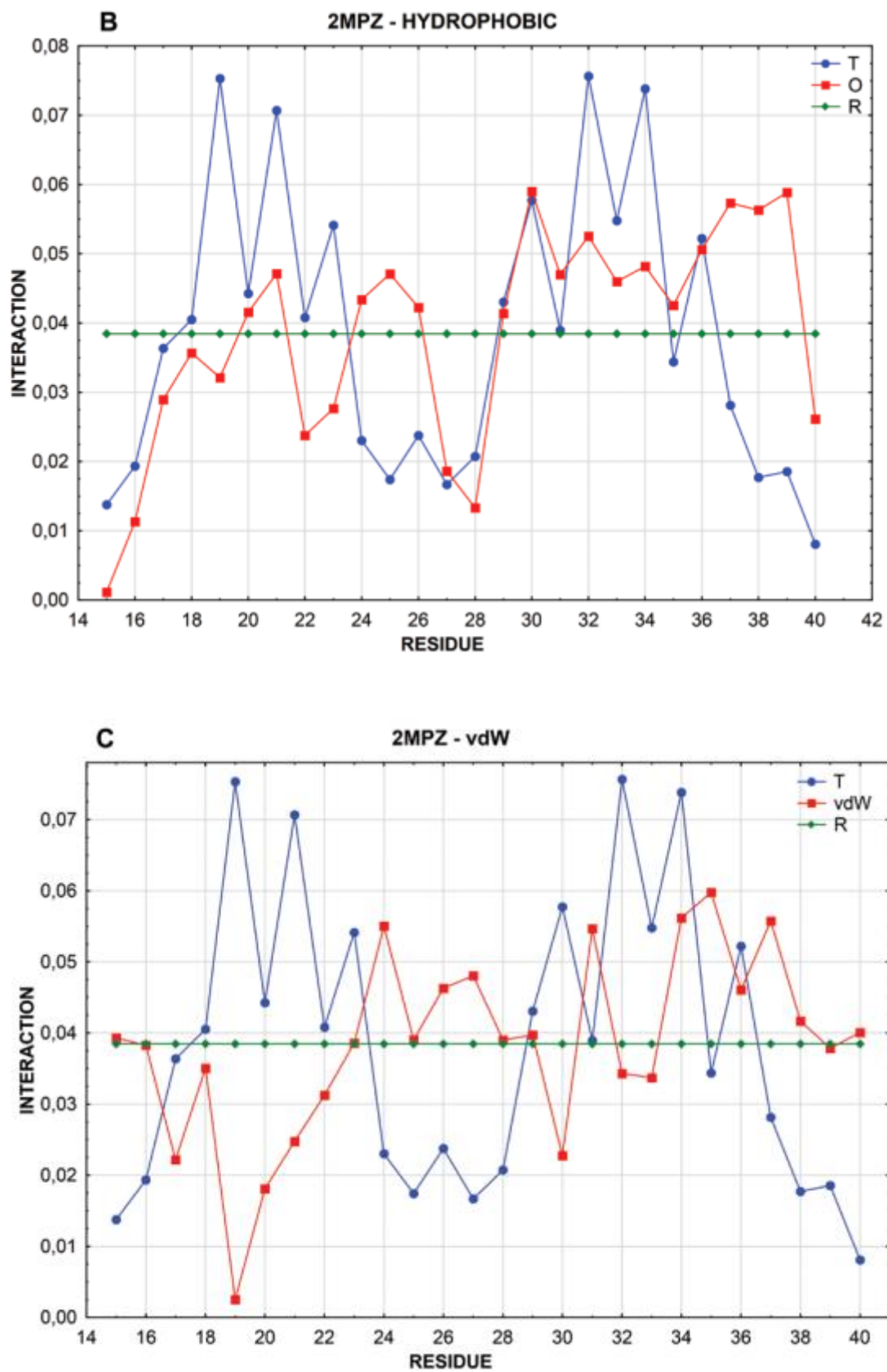
Struktura A β (15-40) i A β (1-40) - 2MVX oraz A β (11-42) - 2MXU, działa, jako receptor powierzchniowy komórki i pełni funkcje fizjologiczne na powierzchni neuronów związane ze wzrostem neurytów, adhezją neuronalną i aksonogenezą. Zaangażowany w ruchliwość komórek i regulację transkrypcji poprzez interakcje białko-białko [31], [32], [33], [34], [35].

Wady w budowie wyżej wymienionych struktur są przyczyną takich chorób jak np.:

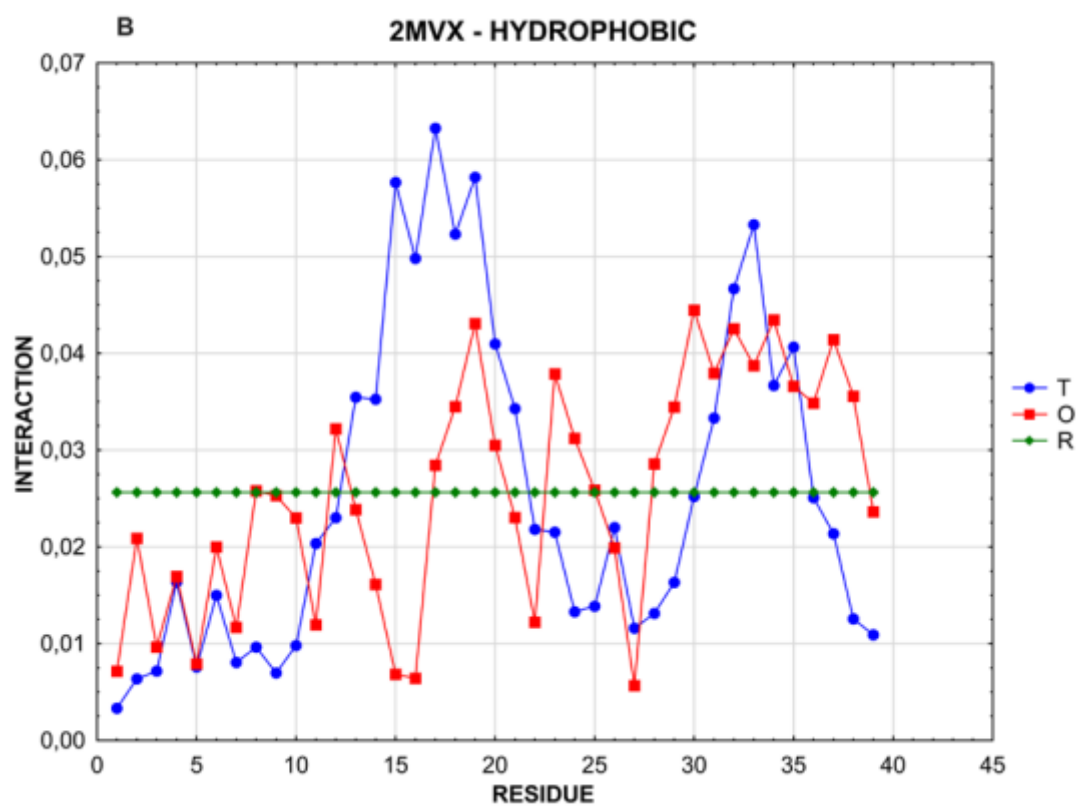
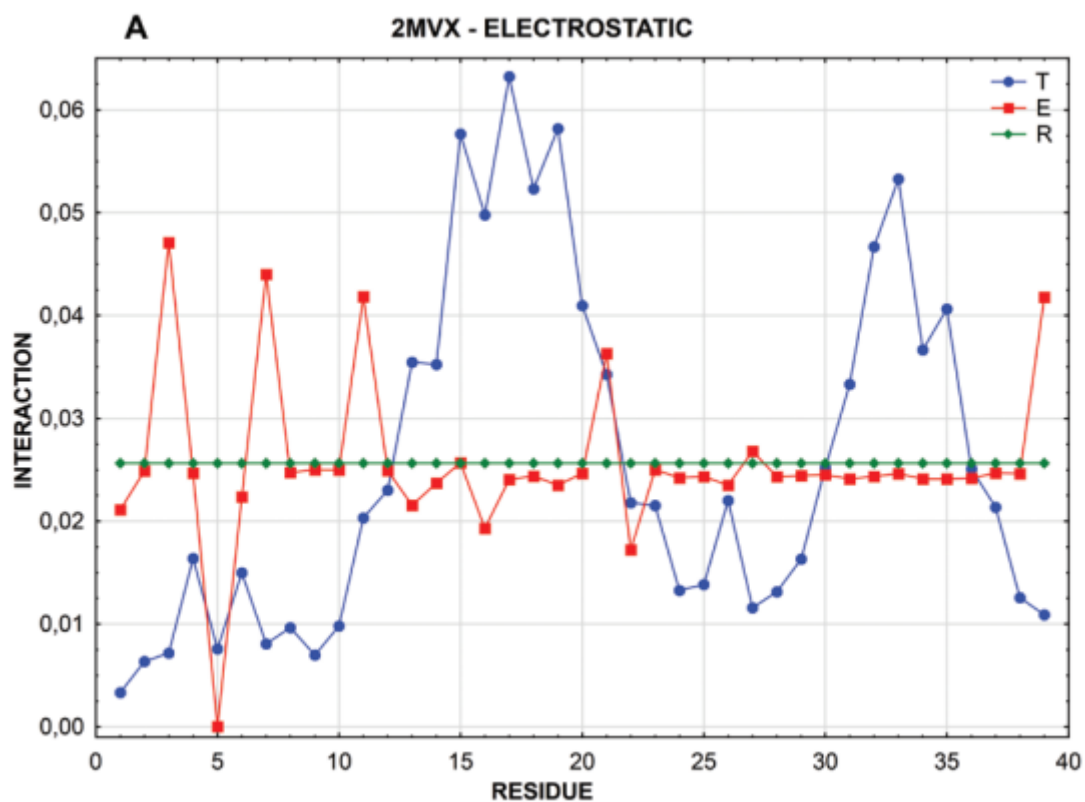
- Alzheimera typu 1 (AD1). AD1 to rodzinna postać choroby Alzheimera o wczesnym początku. Choroba Alzheimera jest zaburzeniem neurodegeneracyjnym charakteryzującym się postępującą demencją, utratą zdolności poznawczych a także odkładaniem włóknistych białek amyloidowych. [36], [37], [38], [39], [40].
- mózgowej angiopatii amyloidowej związanej z APP (CAA-APP). Główne cechy kliniczne to nawracające krwotoki mózgowe i mózdzkowe, nawracające udary,

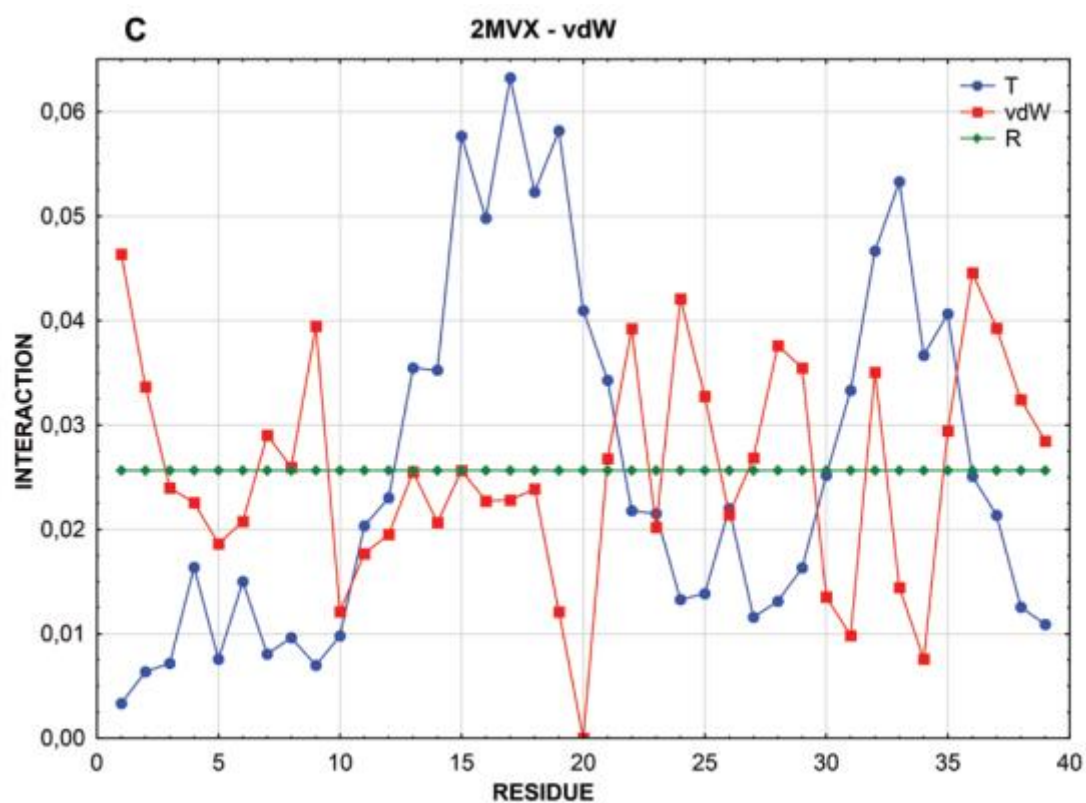
niedokrwienie mózgu, zawał mózgu oraz postępujące pogorszenie stanu psychicznego. Proces powstawania choroby pozostaje wciąż niejasny. Istnieje wiele teorii na temat powstawania tej choroby. Istotną kwestią jest, że choroba ta wynika z zakłócenia równowagi między produkcją a eliminacją β -amyloidu z mózgu pacjenta [41], [42], [43], [44], [45].



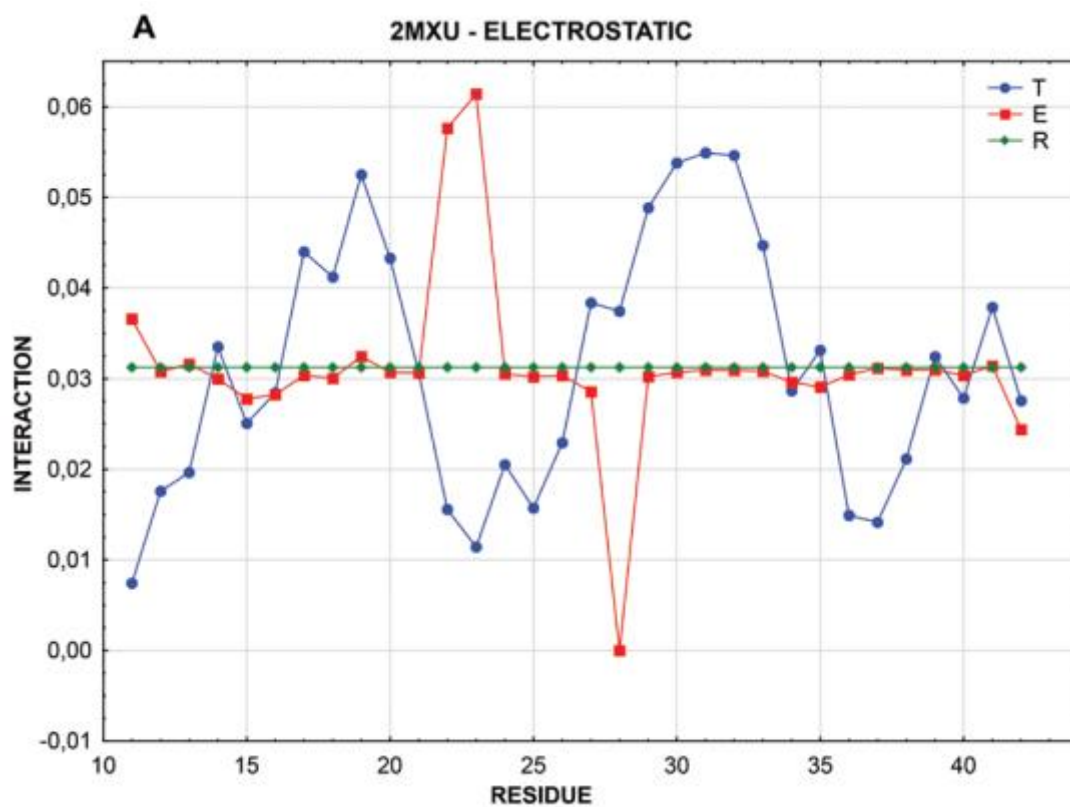


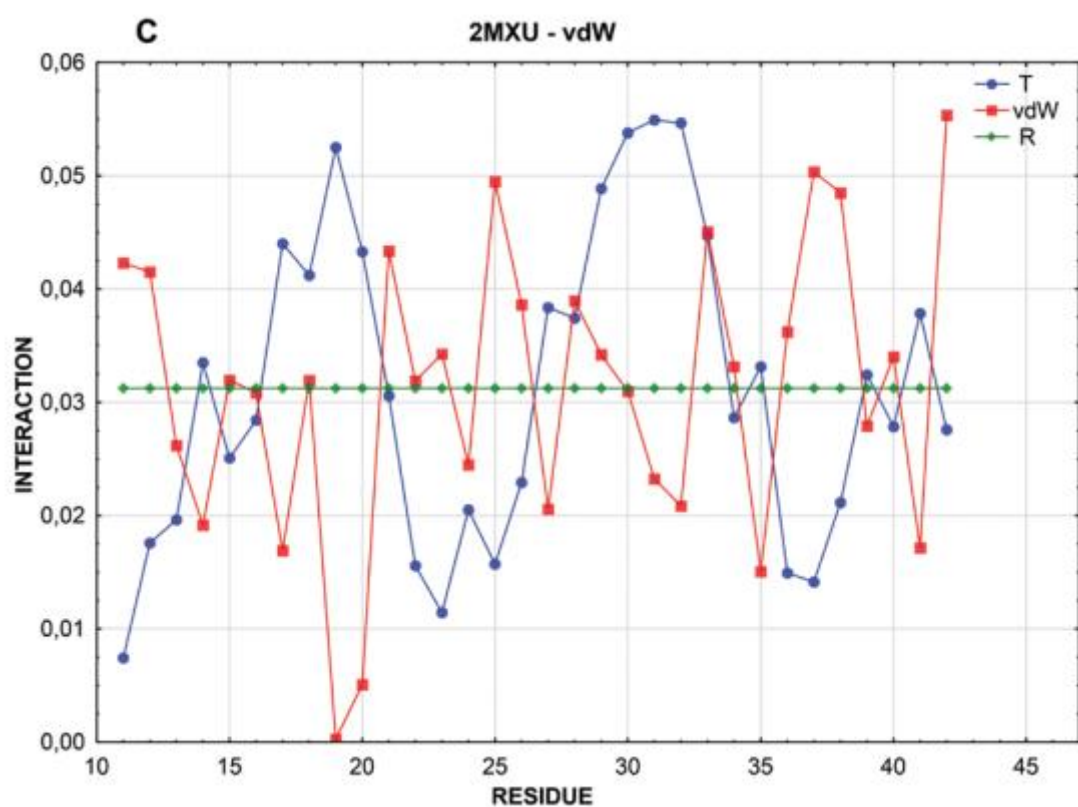
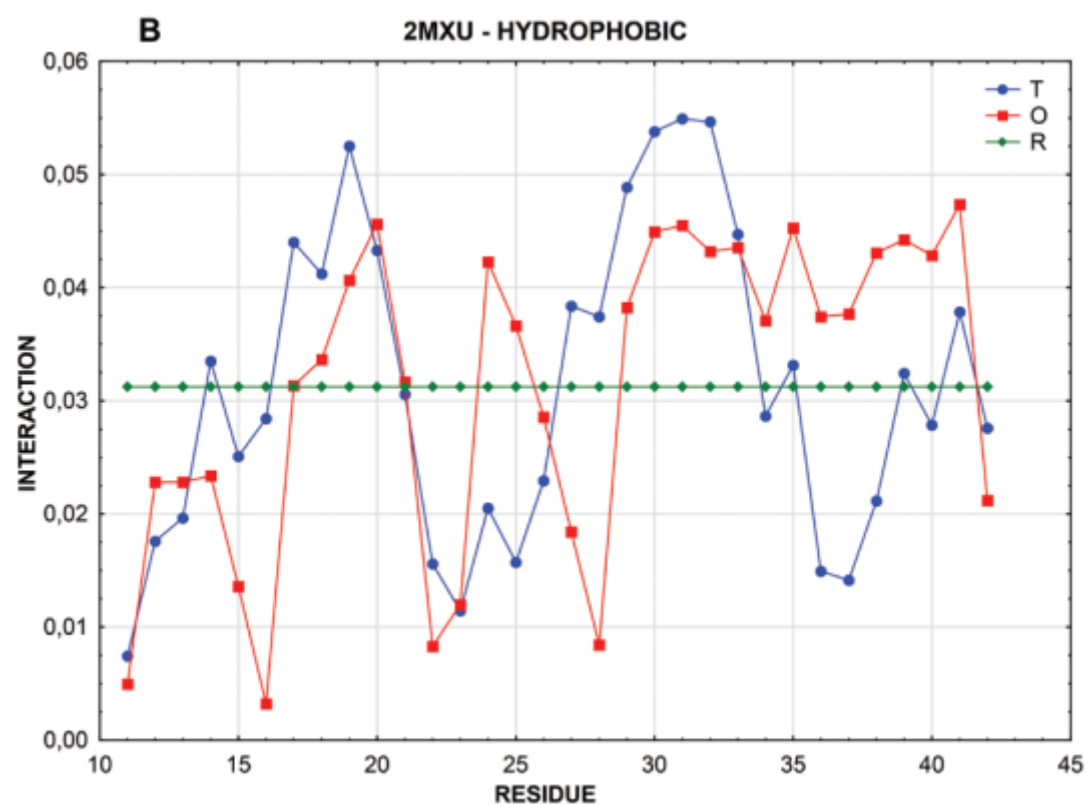
Rysunek 6. Profile dystrybucyjne dla białek amyloidowych: $A\beta(15-40)$ z mutacją D23N (2MPZ)





Rysunek 7. Profile dystrybucyjne dla białek amyloidowych: $A\beta(1-40)$ (2MVX)



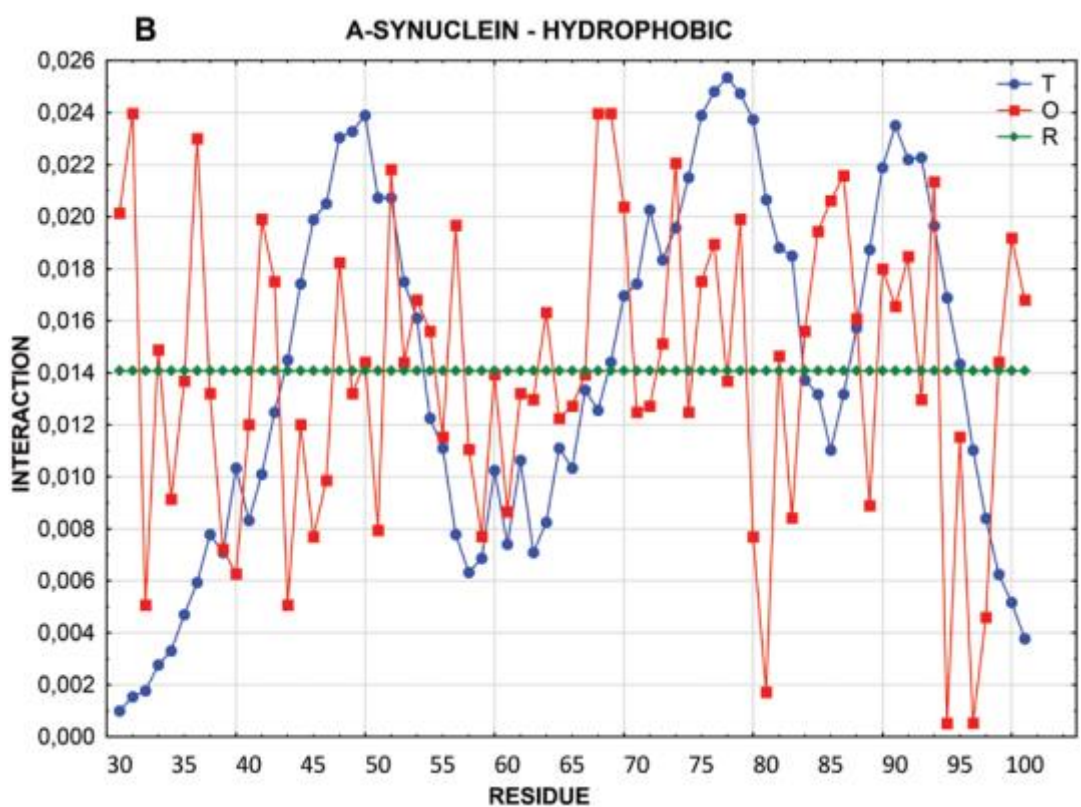
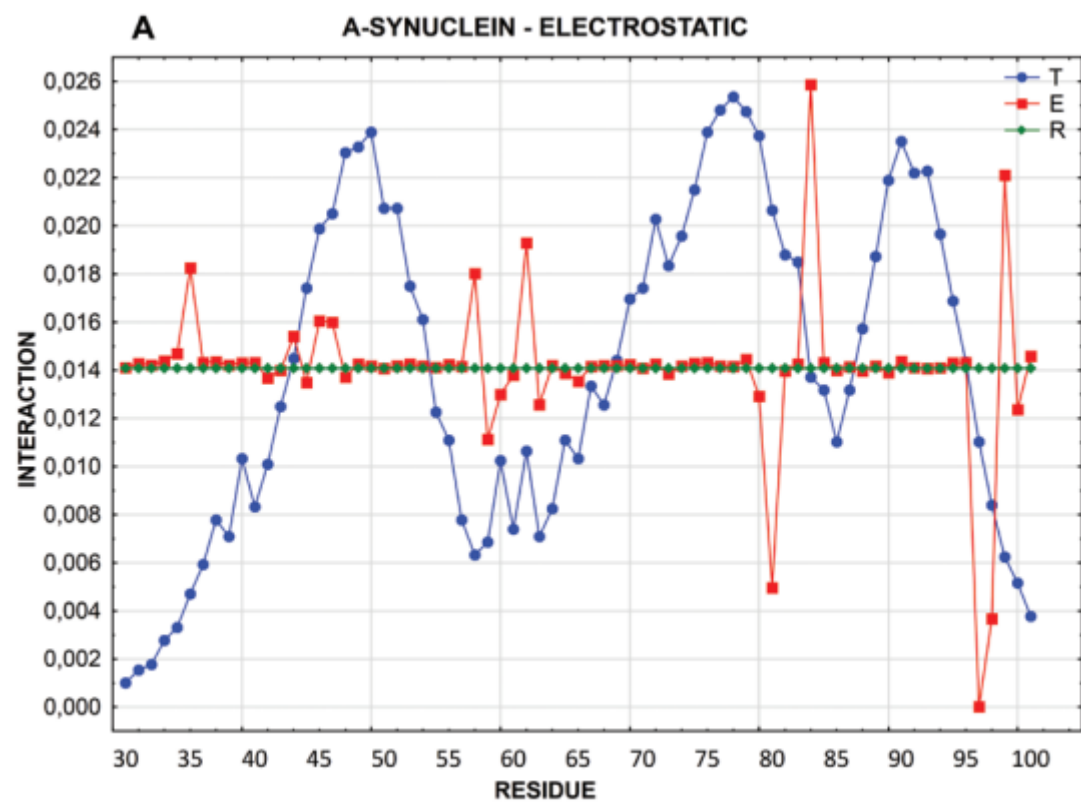


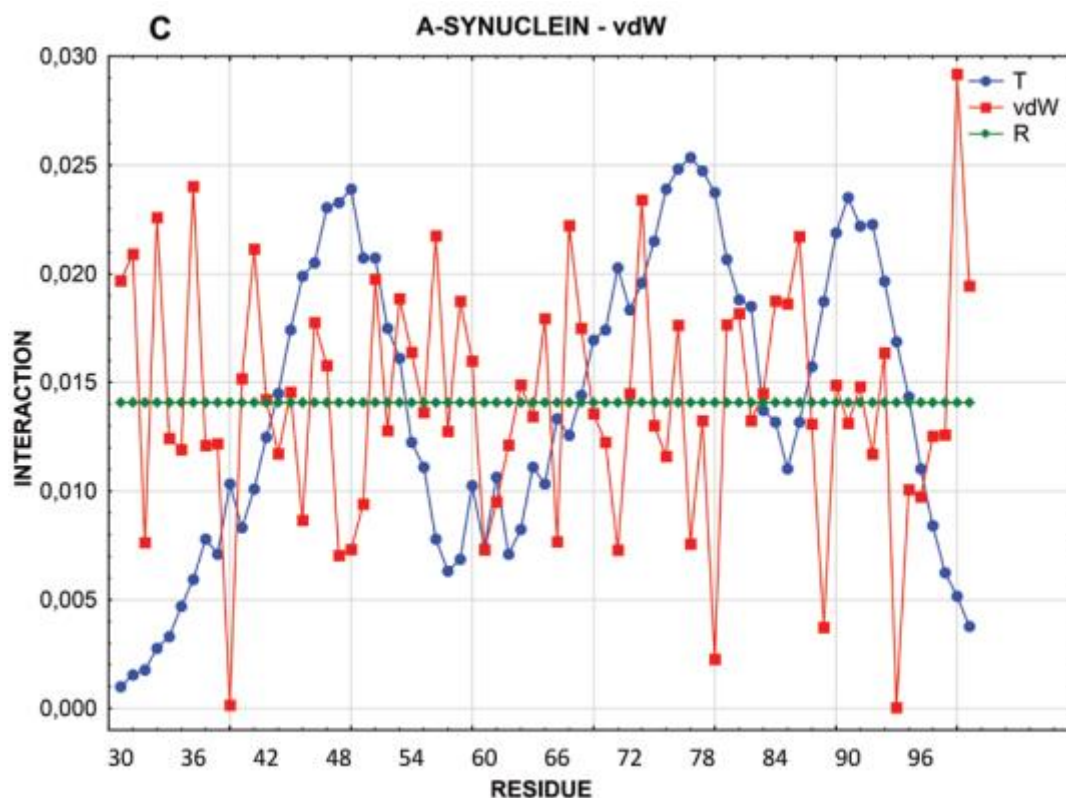
Rysunek 8. Profile dystrybucyjne dla białek amyloidowych: $A\beta(11-42)$ z (mutacją E22 Δ) (2MXU)

Struktura α -synukleina – 2N0A może brać udział w regulacji uwalniania i transportu dopaminy. Indukuje fibrylizację białka tau związanego z mikrotubulami. Zmniejsza reaktywność neuronów na różne bodźce apoptotyczne, prowadząc do zmniejszonej aktywacji kaspazy-3.

Wady w 2N0A są przyczyną choroby np.:

- Parkinsona typu 1 (PARK1). Złożona choroba neurodegeneracyjna charakteryzująca się spowolnieniem ruchowym, drżeniem spoczynkowym, niestabilnością postawy i sztywnością mięśni. Choroba ta ma charakter postępujący i zwykle objawia się po 50 roku życia, chociaż znane są w historii przypadki wczesnego początku (przed 50 rokiem życia). Większość przypadków tej choroby ma charakter sporadyczny, co może sugerować wieloczynnikową etiologię opartą na czynnikach środowiskowych lub/i genetycznych. Niektórzy pacjenci cierpiący na tę chorobę mają dodatni wywiad rodzinny. W takim wypadku choroba zwykle zaczyna się we wczesnym wieku pacjenta i wiąże się z nietypowymi cechami klinicznymi [46], [47], [48].
- Parkinsona typu 4 (PARK4). Złożona choroba neurodegeneracyjna z objawami od typowej choroby Parkinsona po demencję z ciałami Lewy'ego. Objawy kliniczne obejmują objawy dla parkinsonizmu (patrz informacje powyżej), a także otępienie, rozsianą patologię ciał Lewy'ego, dysfunkcję autonomiczną, omamy i paranoję.
- otępienia spowodowane obecnością ciał Lewy'ego (DLB). Zaburzenie neurodegeneracyjne, klinicznie charakteryzujące się upośledzeniem umysłowym prowadzącym do parkinsonizmu, demencji, często ze zmiennymi funkcjami poznawczymi, upadkami, epizodami omdleń, halucynacjami wzrokowymi i wrażliwością na leki neuroleptyczne. Do najistotniejszej cechy patologicznej zaliczamy nagromadzenie zagregowanych białek w pniu mózgu lub korze mózgowej (ciała Lewy'ego).





Rysunek 9. Profile dystrybucji dla białek amyloidowych: α -synukleina (2N0A)

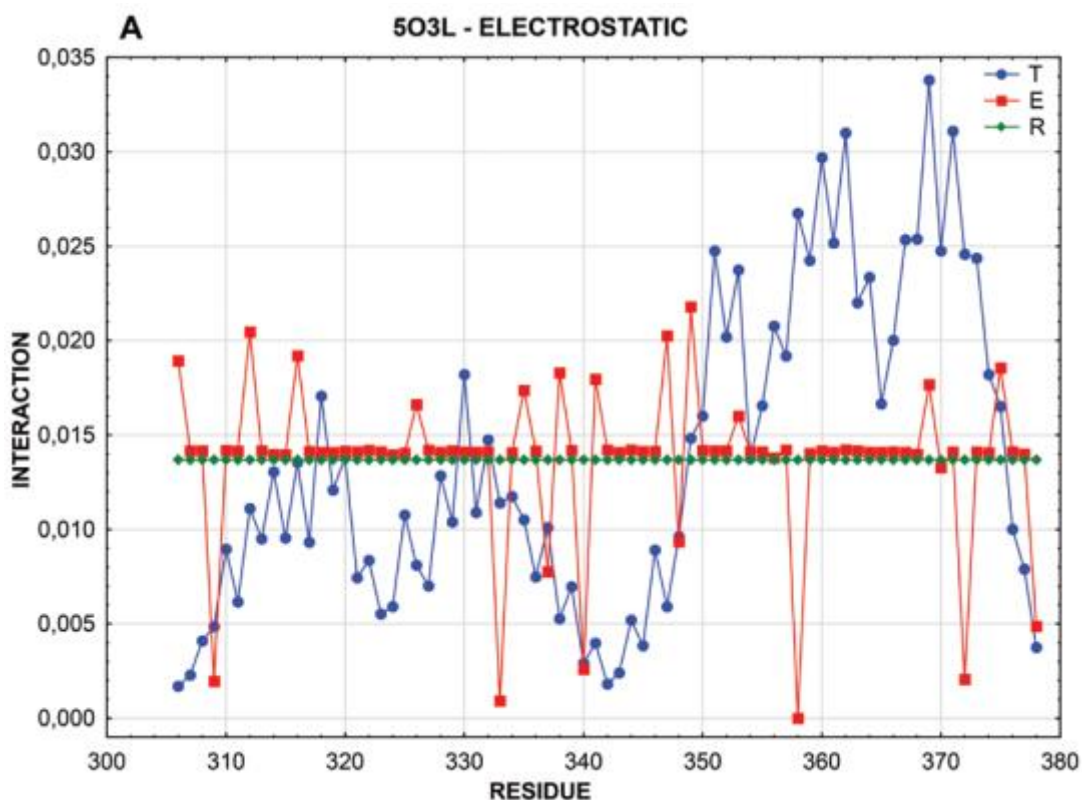
Struktura Tau – 5O3L wspomaga tworzenie i stabilność mikrotubul oraz może brać udział w ustalaniu i utrzymywaniu polaryzacji neuronów. C-koniec wiąże mikrotubule aksonów, podczas gdy N-koniec wiąże składniki błon komórkowych komórek nerwowych, co sugeruje, że tau działa, jako białko łącznikowe między obydwoma. Polarność aksonów jest z góry określona przez lokalizację TAU/MAPT (w komórce neuronalnej) w domenie ciała komórki określonej przez centrosom (ciałko środkowe, śródciałko). Krótkie izoformy pozwalają na plastyczność cytoszkieletu, podczas gdy dłuższe izoformy mogą preferencyjnie odgrywać rolę w jego stabilizacji [49].

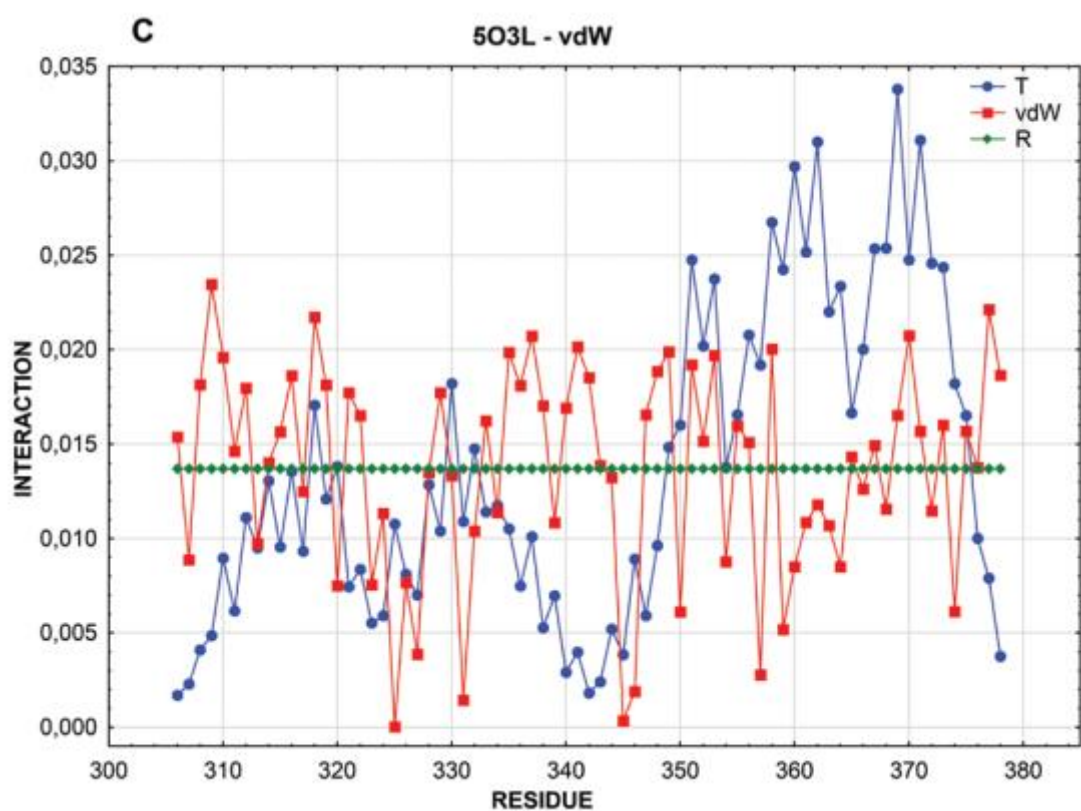
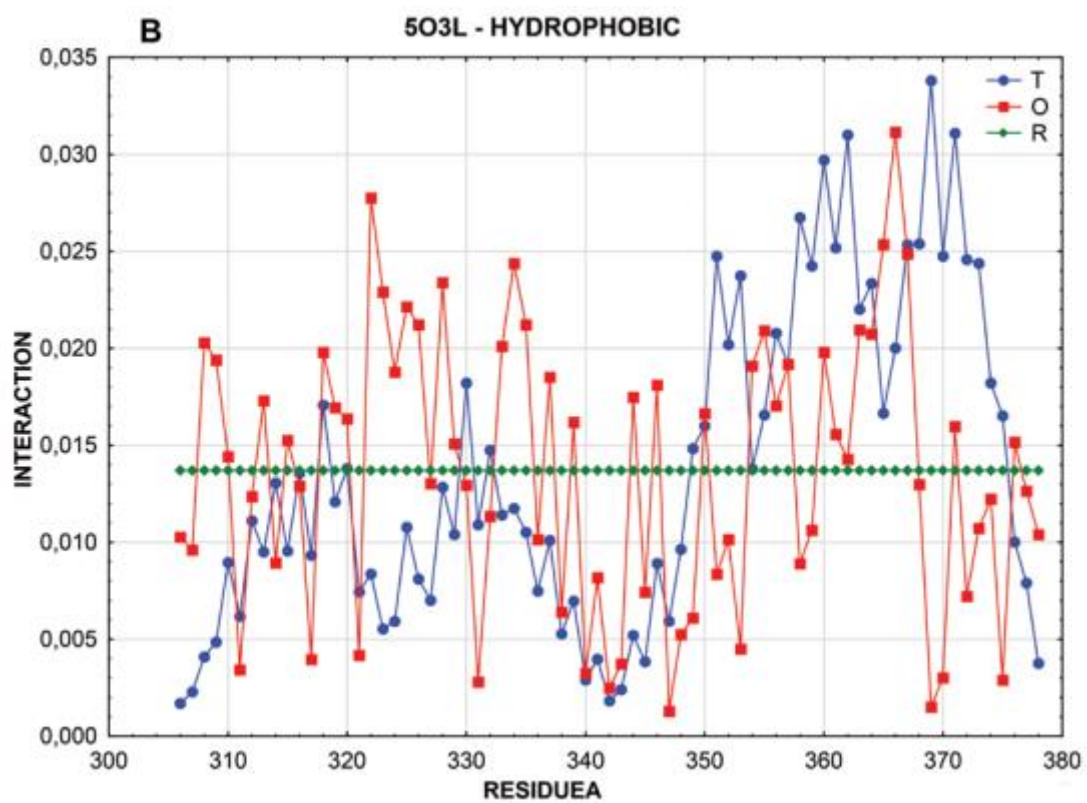
Defekty w białku Tau są przyczyną:

- otępienia czołowo-skroniowego (FTD); historycznie nazywanego kompleksem Picka. Choroba ta charakteryzuje się demencją przedstarczą ze zmianami behawioralnymi, utratą pamięci i pogorszeniem zdolności poznawczych. W niektórych przypadkach możemy zaobserwować objawy parkinsonizmu. W większości przypadków złogi białka

tau znajdują się w komórkach glejowych i/lub neuronach [50], [51], [52], [53], [54], [55].

- choroby mózgu Picka (PIDB). Jest to rzadka forma demencji, patologicznie definiowana, jako utrata neuronów, ciężka atrofia oraz glejoza. Cechy kliniczne obejmują splątanie, anomię, afazję, apraksję, utratę pamięci i pogorszenie osobowości [56], [57], [58], [59], [60], [61], [62].
- zwyrodnienia korowo-podstawnego (CBD). Cechy neuropatologiczne występujące w tej chorobie mogą nakładać się na chorobę Alzheimera, postępujące porażenie nadjądrowe i chorobę Parkinsona [63], [64], [65].
- zespołu otępienia Parkinsona (PARDE). Zespół charakteryzujący się drżeniem parkinsonowskim, demencją, otępieniem, sztywnością i objawami piramidowymi. Zwyrodnienie neurofibrylarne możemy zaobserwować w hipokampie, jądrach pnia mózgu oraz jądrach podstawnych [66], [67], [68].





Rysunek 10. Profile dystrybucyjne dla białek amyloidowych: tau (503L)

Podobna sytuacja (jak na Rysunku 5.) ma miejsce w amyloidach, gdzie zarówno rozkład elektrostatyczny, jak i vdW ściśle pokrywają się z rozkładem R. O ile pod względem oddziaływań hydrofobowych amyloidy bardzo różnią się od białek sferycznych (np. tytyny), o tyle podobne różnice w zakresie rozkładów elektrostatycznych i vdW nie są możliwe do zaobserwowania (Rysunki. 6-10).

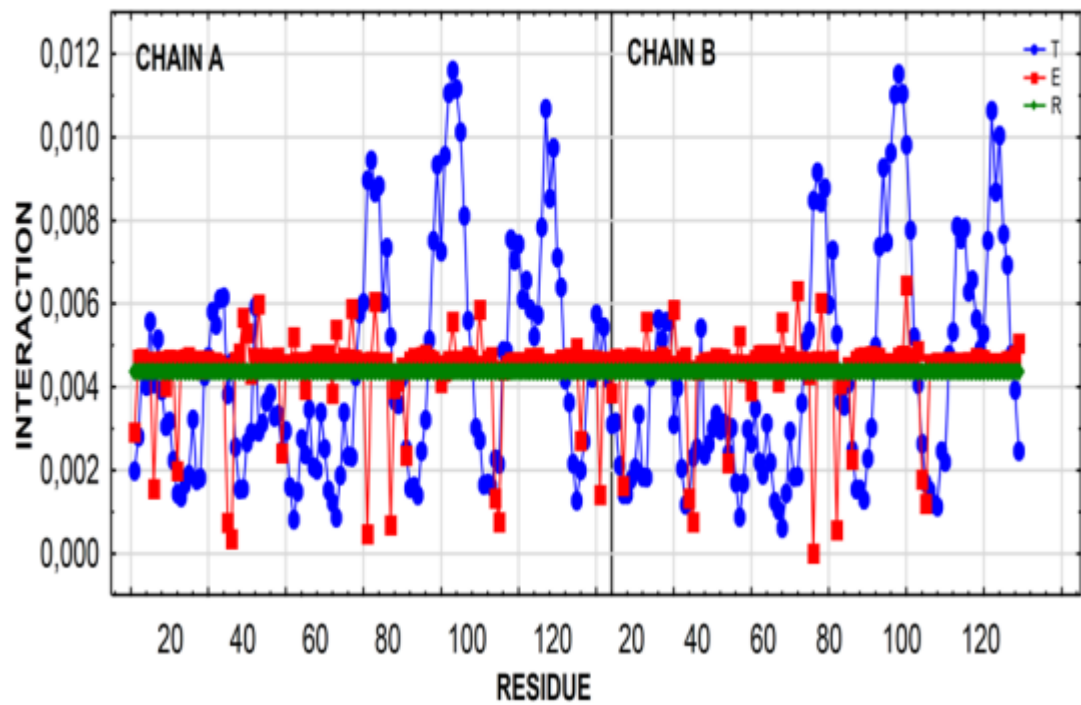
4.3. TRANSTYRETYNA – 1DVQ

Transtyretyna jest to białko wiążące hormony tarczycy. Prawdopodobnie transportuje tyroksynę z krwiobiegu do mózgu [69].

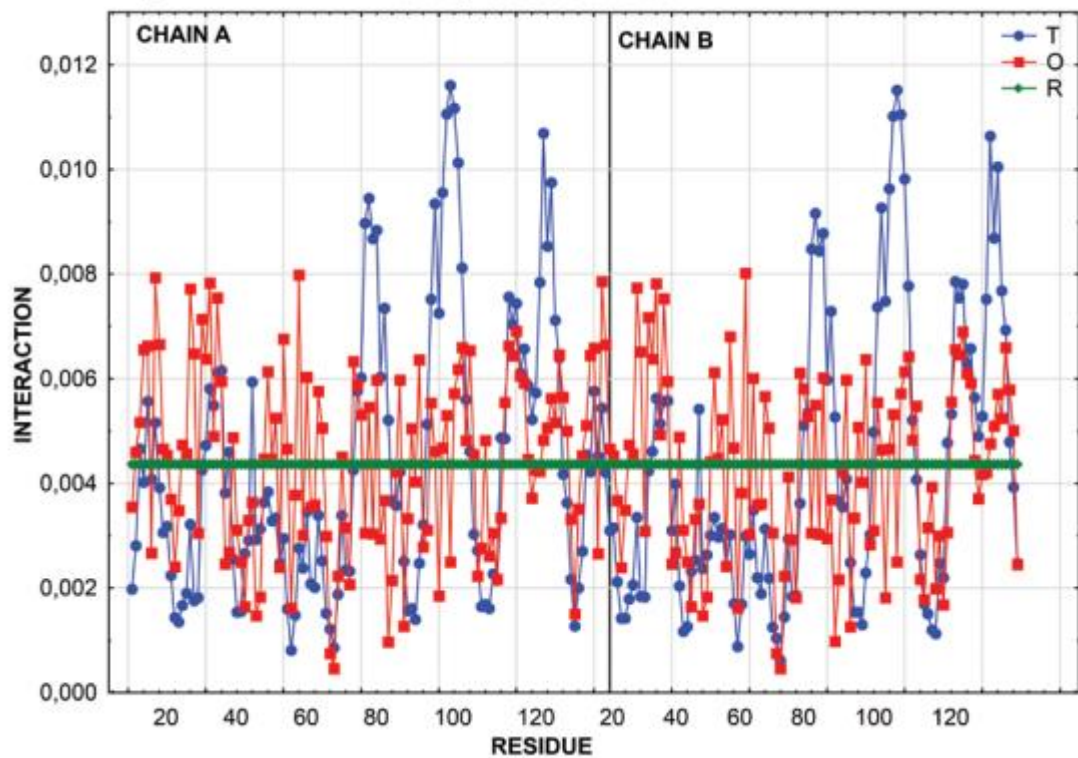
Wady w budowie transtyretyny są przyczyną:

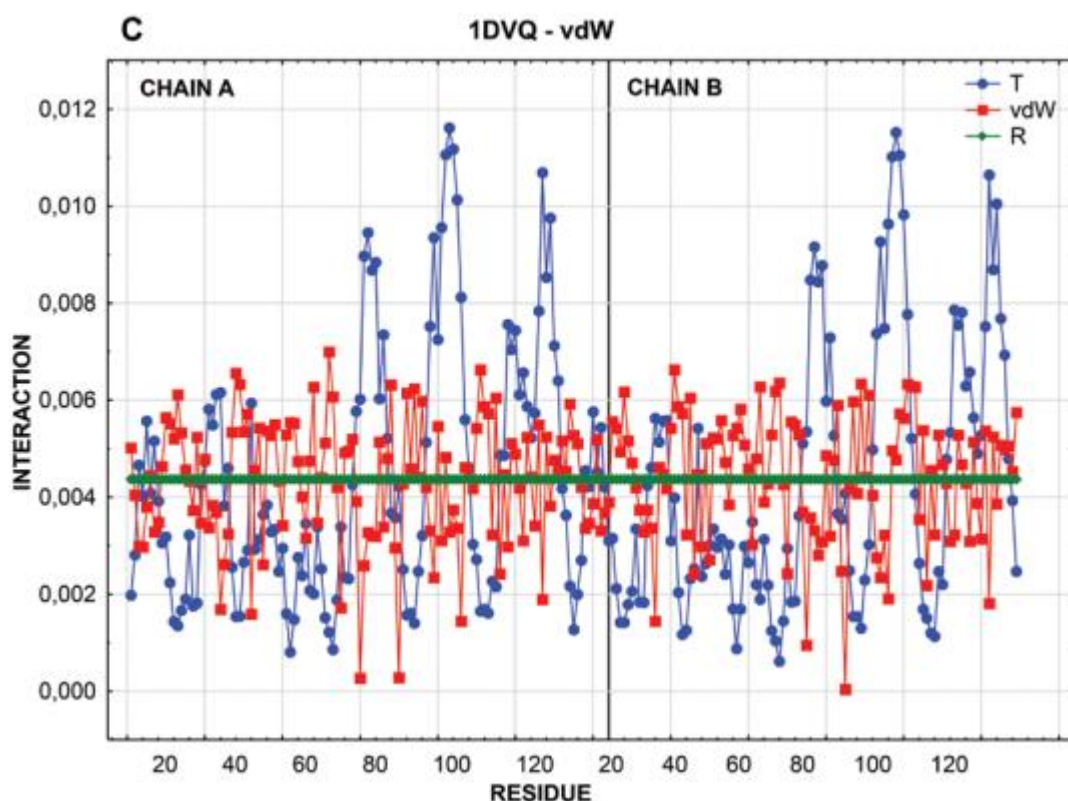
- amyloidozy związanej z transtyretyną (AMYL-TTR) – jest to choroba dziedziczna. Włókna białkowe mogą tworzyć się w różnych tkankach, prowadząc do polineuropatii amyloidowych, zespołu cieśnienia nadgarstka, układowej amyloidozy starczej oraz kardiomiopatii amyloidotycznej. Cechy kliniczne obejmują między innymi: otępienie, pogorszenie psychomotoryczne, napady padaczkowe, epizody udaropodobne i zmienne odkładanie amyloidu w ciele szklistym [70], [71], [72], [73], [74], [75], [76], [77], [78], [79], [80].
- zespołu cieśnienia nadgarstka typu 1 (CTS1). Objawy choroby obejmują piekący ból oraz parestezje obejmujące palce i brzuszną powierzchnię dłoni, które mogą promieniować proksymalnie. Mogą dojść do zaburzenia czucia w rozmieszczeniu nerwie pośrodkowym. Ten stan może być związany z powtarzającymi się urazami: zawodowymi oraz/lub nadgarstka, neuropatiami amyloidowymi, reumatoidalnym zapaleniem stawów [81].

A 1DVQ - ELECTROSTATIC



B 1DVQ - HYDROPHOBIC





Rysunek. 11. Profile dystrybucji transtyretyny (1DVQ), białka znany ze swojej skłonności do transformacji amyloidu. A - hydrofobowość (OH), B - elektrostatyczny (OE), C - vdW (OV).

W odniesieniu do transtyretyny - jej rozkład hydrofobowości może być uważany za przypadek pośredni. Białko zawiera scentralizowany, hydrofobowy rdzeń, ale także wykazuje duże odchylenia od wzoru gaussowskiego. Natomiast rozkłady elektrostatyczne i vdW są podobne do tych obserwowanych w innych analizowanych białkach i w dużej mierze zgodne z jednolitym wzorcem (Rysunek. 11).

Przeprowadzona analiza podkreśla różnicę między białkami kulistymi a amyloidami. Wcześniejsze publikacje podkreślały różnice związane z rozkładami hydrofobowości, wskazując obszary, w których obserwowany rozkład jest sprzeczny z modelem teoretycznym [11], [82], [83]. Fragmenty te uważane są za "nasiona amyloidu" - jednak w kontekście oddziaływań elektrostatycznych i vdW nie mają one żadnych szczególnych właściwości w porównaniu z resztą łańcucha amyloidального.

5. Wnioski

Bazując na wiedzy podręcznikowej wiemy, że stabilność struktury trzeciorzędowej jest zapewniona przez obecność jądra hydrofobowego wraz z systemem wiązań dwusiarczkowych [1]. Ten pierwszy zawdzięcza swoje właściwości interakcjom między łańcuchem białkowym a jego środowiskiem wodnym, podczas gdy ten drugi jest uwarunkowany ewolucyjnie. Optymalizacja takich interakcji wiąże się z narażeniem reszt hydrofilowych na działanie powierzchniowe oraz uzewnętrznieniem reszt hydrofobowych, co zapewnia entropijnie korzystny kontakt z rozpuszczalnikiem. Możemy, zatem uznać takie białko (zwłaszcza globularne) za prawie-globularną micelę.

Różne sekwencje aminokwasów mają różną skłonność do tworzenia struktur micelarnych. W szczególności białka niezamarzające typu II (ang. antifreeze)[5], białka szybko fałdujące się (ang. fast-folding) [4], a także zdecydowana większość domen białkowych (traktowanych jako samodzielne jednostki strukturalne) wykazują silną zgodność między obserwowanym rozkładem hydrofobowości a odpowiadającym jej rozkładem modelowym, teoretycznie mającym na celu uzyskanie doskonałego micela sferycznego [6]. Ten ostatni "wyidealizowany" (lub "teoretyczny" rozkład) może być modelowany matematycznie, jako 3D Gauss [7]. Zakres i stopień odchyień od tego rozkładu są charakterystycznymi właściwościami każdego białka i często są związane z jego funkcją biologiczną. Niezgodność może przybrać jedną z dwóch postaci: miejscowy nadmiar hydrofobowości na powierzchni i miejscowy niedobór hydrofobowości. Ta ostatnia zazwyczaj wskazuje na obecność jamy wiążącej, zdolnej do pomieszczenia ligandu lub substratu [9], przy czym ten pierwszy sugeruje potencjalne miejsce kompleksowania [10]. Ukierunkowany charakter rozbieżności między obserwowanymi i teoretycznymi rozkładami hydrofobowości zapewnia wysoką specyficzność oddziaływań molekularnych.

W odróżnieniu od wewnętrznych algorytmów optymalizacji energii, które nie zawierają żadnych warunków wstępnych dotyczących struktury polipeptydu, model rozmytej kropli oliwy zakłada, że proces fałdowania jest napędzany obecnością wodnego rozpuszczalnika, który sprzyja micelizacji łańcucha polipeptydowego [3],[4],[12].

Model rozmytej kropli oliwy sugeruje, że trzeciorzędową budowę białka - szczególnie globularnego - można porównać do miceli sferycznej. Podczas procesu fałdowania, reszty

hydrofilowe są odsłaniane na powierzchni, podczas gdy reszty hydrofobowe są kierowane do wnętrza białka. Wynikający z tego rozkład hydrofobowości może być modelowany matematycznie, jako 3D Gauss. Model rozmytej kropli oliwy jest uderzająco skuteczny w wyjaśnianiu właściwości białek niezamarzających typu II i białek szybko fałdujących się, a także zdecydowanej większości domen białkowych.

Praca ta ma na celu ustalenie, czy podobne mechanizmy mają zastosowanie do innych interakcji niewiążących, co pokazano dla białek globularnych.

Aby odpowiedzieć na zadane pytanie, oddziaływania elektrostatyczne i van der Waalsa (vdW) zostały poddane analizie, podobnej do tej, jaką przeprowadzono dla hydrofobowości. Obserwowane rozkłady porównano z dwoma modelami referencyjnymi: teoretycznym rozkładem gaussowskim (oznaczonym jako T) oraz rozkładem jednolitym, w którym każdej reszcie przypisano taką samą wartość danego oddziaływania (oznaczonym jako R). Odległość względna (Relative Distance - RD) została następnie obliczona jako ilościowa miara odchylen od któregośkolwiek z tych rozkładów, przy czym wartości niższe niż 0,5 wskazują, że obserwowany rozkład odzwierciedla T, natomiast wartości wyższe niż 0,5 wskazują na silniejsze powinowactwo do R.

W badaniach wykorzystano białko wzorcowe (titinę), które wykazuje wysoką zgodność między obserwowanym rozkładem hydrofobowości a rozkładem teoretycznym (gaussowskim), transtystyretynę - białko znane z podatności na przemiany amyloidalne, dla której również pokazano, że rozkład elektrostatyczny i vdW jest typu R.

Na podstawie obserwacji otrzymanych wyników (patrz Rysunek 5.) można stwierdzić, że w titinie wyraźnie występuje hydrofobowy rdzeń, podczas gdy ani OE (oddziaływanie elektrostatyczne), ani OV (oddziaływanie vdW) nie wykazują żadnego "rdzeniowego" stężenia. W szczególności zaobserwowano brak jakiegokolwiek stężenia elektrostatycznego i vdW w środkowej części cząsteczki, pomimo ścisłego upakowania atomów i reszt w tym miejscu.

W pracy zostały również uwzględnione inne struktury amyloidalne pochodzące z bazy PDB. Zjawisko błędnego fałdowania (ang. misfolding) - szczególnie w kontekście białek amyloidalnych - przyciągnęło na przestrzeni lat wiele uwagi naukowej. Co istotne, struktury amyloidalne wykazują inne wzorce rozkładu hydrofobowości niż białka globularne. W amyloidach rozkład ten jest liniowy z pasmami zmiennymi o wysokiej i niskiej

hydrofobowości rozciągającymi się wzdłuż osi włókien [11]. W związku z tym amyloid można opisać, jako micelę przypominającą wstążkę. Obecność krótkich fragmentów, których lokalny rozkład hydrofobowości jest sprzeczny z modelem teoretycznym, wynika z ogólnoustrojowej niezdolności peptydu amyloidального do osiągnięcia kulistej konformacji [82], [83]. Szybki wzrost włókien amyloidalnych jest, zatem związany z nadrzędną potrzebą ochrony pozostałości hydrofobowych poprzez przyciąganie i dołączanie dodatkowych peptydów. W wyniku tego procesu powstaje specyficzny rodzaj wydłużonego rdzenia hydrofobowego w postaci centralnie umieszczonego pasma hydrofobowego.

Nie można zidentyfikować podobnego mechanizmu w zakresie oddziaływań elektrostatycznych i vdW [11], [82], [83]. Dlatego też algorytmy przewidywania struktury białek, które opierają się wyłącznie na składzie sekwencji wejściowej, są poprawne w zastosowaniu modelu, w którym występuje brak różnic dla tych oddziaływań niezależnie, w jakim kierunku są one mierzone. Rozkład zależny od kierunku, w którym mierzone są oddziaływania wydaje się występować tylko w odniesieniu do sił hydrofobowych, co powoduje izolację hydrofobowych reszt we wnętrzu miceli sferycznej (lub w środkowej części wstęgi amyloidalnej).

W przypadku transtyretyny jej rozkład hydrofobowości może być uważany za przypadek pośredni. Białko to zawiera scentralizowane hydrofobowe jądro, ale także wykazuje duże odchylenie od wzoru Gaussowskiego. Natomiast rozkłady elektrostatyczne i vdW są podobne do tych obserwowanych w innych analizowanych białkach i w dużej mierze zgodne z jednolitym wzorcem.

Przeprowadzona analiza podkreśla różnice pomiędzy białkami globularnymi a amyloidami. Wcześniejsze publikacje podkreślały różnice związane z rozkładem hydrofobowości, wskazując obszary, w których obserwowany rozkład jest sprzeczny modelem teoretycznym [2], [11],[83]. Fragmenty te uważane są za tzw. „nasiona amyloidu” – jednak w kontekście analizy oddziaływań elektrostatycznych i vdW nie mają one żadnych szczególnych właściwości w porównaniu z resztą łańcucha amyloidального.

Praktyczny wniosek z symulacji składania białka jest taki, że nieukierunkowana optymalizacja może być zastosowana do minimalizacji energii wyrażającej interakcje elektrostatyczne i vdW, podczas gdy ukierunkowana optymalizacja może zostać zastosowana

w interakcjach hydrofobowych, w których ma miejsce tendencja do wytwarzania hydrofobowego rdzenia.

Bibliografia

1. Devlin TM (2010) (Editor) *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*, 7th edn. ISBN: 978-0-470-28173-4
2. Dygut J, Kalinowska B, Banach M, Piwowar M, Konieczny L, Roterman I (2016) Structural interface forms and their involvement in stabilization of multidomain proteins or protein complexes. *Int J Mol Sci* 17. pii: E1741
3. Kalinowska B, Banach M, Konieczny L, Roterman I (2015) Application of divergence entropy to characterize the structure of the hydrophobic core in DNA interacting proteins. *Entropy* 17: 1477–1507
4. Roterman I, Konieczny L, Jurkowski W, Prymula K, Banach M (2011) Two-intermediate model to characterize the structure of fast-folding proteins. *J Theor Biol* 283: 60–70
5. Banach M, Prymula K, Jurkowski W, Konieczny L, Roterman I (2012) Fuzzy oil drop model to interpret the structure of antifreeze proteins and their mutants. *J Mol Model* 18: 229–237
6. Sałapa K, Kalinowska B, Jadczyk T, Roterman I (2012) Measurement of hydrophobicity distribution in proteins – non-redundant protein data bank. *Bio-Algorithms and Med-Systems* 8: 327–338
7. Banach M, Konieczny L, Roterman I (2014a) The fuzzy oil drop model, based on hydrophobicity density distribution, generalizes the influence of water environment on protein structure and function. *J Theor Biol* 359: 6–17
8. Banach M, Roterman I, Prudhomme N, Chomilier J (2014b) Hydrophobic core in domains of immunoglobulin-like fold. *J Biomol Struct Dyn* 32: 1583–1600
9. Dułak D, Gadzała M, Banach M, Ptak M, Wiśniowski Z, Konieczny L (2018a) Filamentous aggregates of tau proteins fulfil standard amyloid criteria provided by the fuzzy oil drop (FOD) Model *Int J Mol Sci* 19: 2910
10. Dułak D, Banach M, Gadzała M, Konieczny L, Roterman I (2018b) Structural analysis of the A β (15-40) amyloid fibril based on hydrophobicity distribution. *Acta Biochim Pol* 65: 595–604
11. Lim KH, Dasari, AK, Hung I, Gan Z, Kelly JW, Wright PE, Wemmer DE (2016) Solid-state NMR studies reveal native-like β -sheet structures in transthyretin amyloid. *Biochemistry* 55: 5272–5278

12. Konieczny L, Bryliński M, Roterman I (2006) Gauss-function-Based model of hydrophobicity density in proteins. *In Silico Biol* **6**: 15–22
13. Van der Spoel D, Lindahl E, Hess B, Groenhof G, Mark AE, Berendsen HJ (2005) GROMACS: fast, flexible, and free. *J Comput Chem* **26**: 1701–1718
14. Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, Shindyalov IN, Bourne PE (2000) The Protein Data Bank *Nucleic Acids Res* **28**: 235–242
15. Bryliński, M.; Konieczny, L.; Roterman, I. Fuzzy-oil-drop hydrophobic force field – a model to represent late-stage folding (In Silico) of lysozyme. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2006, 23, 519–528
16. Eisenberg, D.; Schwarz, E.; Komaromy, M.; Wall, R. Analysis of membrane and surface protein sequences with the hydrophobic moment plot. *J. Mol. Biol.* 1984, 179, 125–142
17. Kyte, J.; Doolittle, R.F. A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. *J. Mol. Biol.* 1982, 157, 105–132
18. Levitt M (1976) A simplified representation of protein conformations for rapid simulation of protein folding. *J Mol Biol* **104**: 59–107
19. Kullback S, Leibler RA (1951) On information and sufficiency. *Ann Math Stat* **22**: 79–86
20. Kumari A, Kumar R, Open Source Drug Discovery Consortium and Lynn A. g_mmpbsa - A GROMACS tool for high-throughput MM-PBSA calculations. *J. Chem. Inf. Model.* 2014; 54:1951-1962
21. Baker N, Sept D, Simpson J, Holst M and McCammon A. Electrostatics of nanosystems: Application to microtubules and the ribosome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001; 98:10037-10041
22. Mayans O, van der Ven PF, Wilm M, Mues A, Young P, Furst DO, Wilmanns M, Gautel M. Structural basis for activation of the titin kinase domain during myofibrillogenesis. *Nature.* 1998 Oct 29;395(6705):863-9
23. Lange S, Xiang F, Yakovenko A, Vihola A, Hackman P, Rostkova E, Kristensen J, Brandmeier B, Franzen G, Hedberg B, Gunnarsson LG, Hughes SM, Marchand S, Sejersen T, Richard I, Edstrom L, Ehler E, Udd B, Gautel M. The kinase domain of titin controls muscle gene expression and protein turnover. *Science.* 2005 Jun 10;308(5728):1599-603
24. Satoh M, Takahashi M, Sakamoto T, Hiroe M, Marumo F, Kimura A. Structural analysis of the titin gene in hypertrophic cardiomyopathy: identification of a novel disease gene. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999 Aug 27;262(2):411-7

25. Itoh-Satoh M, Hayashi T, Nishi H, Koga Y, Arimura T, Koyanagi T, Takahashi M, Hohda S, Ueda K, Nouchi T, Hiroe M, Marumo F, Imaizumi T, Yasunami M, Kimura A. Titin mutations as the molecular basis for dilated cardiomyopathy. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002 Feb 22;291(2):385-93
26. Gerull B, Gramlich M, Atherton J, McNabb M, Trombitas K, Sasse-Klaassen S, Seidman JG, Seidman C, Granzier H, Labeit S, Frenneaux M, Thierfelder L. Mutations of TTN, encoding the giant muscle filament titin, cause familial dilated cardiomyopathy. *Nat Genet.* 2002 Feb;30(2):201-4
27. Matsumoto Y, Hayashi T, Inagaki N, Takahashi M, Hiroi S, Nakamura T, Arimura T, Nakamura K, Ashizawa N, Yasunami M, Ohe T, Yano K, Kimura A. Functional analysis of titin/connectin N2-B mutations found in cardiomyopathy. *J Muscle Res Cell Motil.* 2005;26(6-8):367-74
28. . Hackman P, Vihola A, Haravuori H, Marchand S, Sarparanta J, De Seze J, Labeit S, Witt C, Peltonen L, Richard I, Udd B. Tibial muscular dystrophy is a titinopathy caused by mutations in TTN, the gene encoding the giant skeletal-muscle protein titin. *Am J Hum Genet.* 2002 Sep;71(3):492-500
29. Van den Bergh PY, Bouquiaux O, Verellen C, Marchand S, Richard I, Hackman P, Udd B. Tibial muscular dystrophy in a Belgian family. *Ann Neurol.* 2003 Aug;54(2):248-51
30. Carmignac V, Salih MA, Quijano-Roy S, Marchand S, Al Rayess MM, Mukhtar MM, Urtizberea JA, Labeit S, Guicheney P, Leturcq F, Gautel M, Fardeau M, Campbell KP, Richard I, Estournet B, Ferreira A. C-terminal titin deletions cause a novel early-onset myopathy with fatal cardiomyopathy. *Ann Neurol.* 2007 Apr;61(4):340-51
31. Walter MF, Mason PE, Mason RP. Alzheimer's disease amyloid beta peptide 25-35 inhibits lipid peroxidation as a result of its membrane interactions. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997 Apr 28;233(3):760-4
32. Kimberly WT, Zheng JB, Guenette SY, Selkoe DJ. The intracellular domain of the beta-amyloid precursor protein is stabilized by Fe65 and translocates to the nucleus in a notch-like manner. *J Biol Chem.* 2001 Oct 26;276(43):40288-92
33. Rank KB, Pauley AM, Bhattacharya K, Wang Z, Evans DB, Fleck TJ, Johnston JA, Sharma SK. Direct interaction of soluble human recombinant tau protein with Abeta 1-42 results in tau aggregation and hyperphosphorylation by tau protein kinase II. *FEBS Lett.* 2002 Mar 13;514(2-3):263-8

34. Nikolaev A, McLaughlin T, O'Leary DD, Tessier-Lavigne M. APP binds DR6 to trigger axon pruning and neuron death via distinct caspases. *Nature*. 2009 Feb 19;457(7232):981-9
35. Takuma K, Fang F, Zhang W, Yan S, Fukuzaki E, Du H, Sosunov A, McKhann G, Funatsu Y, Nakamichi N, Nagai T, Mizoguchi H, Ibi D, Hori O, Ogawa S, Stern DM, Yamada K, Yan SS. RAGE-mediated signaling contributes to intraneuronal transport of amyloid-beta and neuronal dysfunction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Nov 24;106(47):20021-6.
36. Denman RB, Rosenzwaig R, Miller DL. A system for studying the effect(s) of familial Alzheimer disease mutations on the processing of the beta-amyloid peptide precursor. *Biochem Biophys Res Commun*. 1993 Apr 15;192(1):96-103.
37. Wakutani Y, Watanabe K, Adachi Y, Wada-Isoe K, Urakami K, Ninomiya H, Saido TC, Hashimoto T, Iwatsubo T, Nakashima K. Novel amyloid precursor protein gene missense mutation (D678N) in probable familial Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004 Jul;75(7):1039-42
38. Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, Brown J, Crawford F, Fidani L, Giuffra L, Haynes A, Irving N, James L, et al.. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature*. 1991 Feb 21;349(6311):704-6
39. Yoshioka K, Miki T, Katsuya T, Ogihara T, Sakaki Y. The 717Val----Ile substitution in amyloid precursor protein is associated with familial Alzheimer's disease regardless of ethnic groups. *Biochem Biophys Res Commun*. 1991 Aug 15;178(3):1141-6
40. Naruse S, Igarashi S, Kobayashi H, Aoki K, Inuzuka T, Kaneko K, Shimizu T, Iihara K, Kojima T, Miyatake T, et al.. Mis-sense mutation Val----Ile in exon 17 of amyloid precursor protein gene in Japanese familial Alzheimer's disease. *Lancet*. 1991 Apr 20;337(8747):978-9
41. Miravalle L, Tokuda T, Chiarle R, Giaccone G, Bugiani O, Tagliavini F, Frangione B, Ghiso J. Substitutions at codon 22 of Alzheimer's abeta peptide induce diverse conformational changes and apoptotic effects in human cerebral endothelial cells. *J Biol Chem*. 2000 Sep 1;275(35):27110-6
42. Levy E, Carman MD, Fernandez-Madrid IJ, Power MD, Lieberburg I, van Duinen SG, Bots GT, Luyendijk W, Frangione B. Mutation of the Alzheimer's disease amyloid gene in hereditary cerebral hemorrhage, Dutch type. *Science*. 1990 Jun 1;248(4959):1124-6

43. Grabowski TJ, Cho HS, Vonsattel JP, Rebeck GW, Greenberg SM. Novel amyloid precursor protein mutation in an Iowa family with dementia and severe cerebral amyloid angiopathy. *Ann Neurol.* 2001 Jun;49(6):697-705
44. Greenberg SM, Shin Y, Grabowski TJ, Cooper GE, Rebeck GW, Iglesias S, Chapon F, Tournier-Lasserre E, Baron JC. Hemorrhagic stroke associated with the Iowa amyloid precursor protein mutation. *Neurology.* 2003 Mar 25;60(6):1020-2
45. Obici L, Demarchi A, de Rosa G, Bellotti V, Marciano S, Donadei S, Arbustini E, Palladini G, Diegoli M, Genovese E, Ferrari G, Coverlizza S, Merlini G. A novel AbetaPP mutation exclusively associated with cerebral amyloid angiopathy. *Ann Neurol.* 2005 Oct;58(4):639-44
46. Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, Pike B, Root H, Rubenstein J, Boyer R, Stenroos ES, Chandrasekharappa S, Athanassiadou A, Papapetropoulos T, Johnson WG, Lazzarini AM, Duvoisin RC, Di Iorio G, Golbe LI, Nussbaum RL. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science.* 1997 Jun 27;276(5321):2045-7
47. Kruger R, Kuhn W, Muller T, Woitalla D, Graeber M, Kosel S, Przuntek H, Epplen JT, Schols L, Riess O. Ala30Pro mutation in the gene encoding alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Nat Genet.* 1998 Feb;18(2):106-8
48. Zarranz JJ, Alegre J, Gomez-Esteban JC, Lezcano E, Ros R, Ampuero I, Vidal L, Hoenicka J, Rodriguez O, Atares B, Llorens V, Gomez Tortosa E, del Ser T, Munoz DG, de Yebenes JG. The new mutation, E46K, of alpha-synuclein causes Parkinson and Lewy body dementia. *Ann Neurol.* 2004 Feb;55(2):164-73.
49. Yoshida H, Goedert M. Phosphorylation of microtubule-associated protein tau by AMPK-related kinases. *J Neurochem.* 2012 Jan;120(1):165-76
50. Liu F, Shi J, Tanimukai H, Gu J, Gu J, Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Gong CX. Reduced O-GlcNAcylation links lower brain glucose metabolism and tau pathology in Alzheimer's disease. *Brain.* 2009 Jul;132(Pt 7):1820-32
51. Goedert M, Spillantini MG, Jakes R, Rutherford D, Crowther RA. Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron.* 1989 Oct;3(4):519-26
52. Rademakers R, Dermaut B, Peeters K, Cruts M, Heutink P, Goate A, Van Broeckhoven C. Tau (MAPT) mutation Arg406Trp presenting clinically with Alzheimer disease does not share a common founder in Western Europe. *Hum Mutat.* 2003 Nov;22(5):409-11

53. Poorkaj P, Bird TD, Wijsman E, Nemens E, Garruto RM, Anderson L, Andreadis A, Wiederholt WC, Raskind M, Schellenberg GD. Tau is a candidate gene for chromosome 17 frontotemporal dementia. *Ann Neurol*. 1998 Jun;43(6):815-25
54. Dumanchin C, Camuzat A, Campion D, Verpillat P, Hannequin D, Dubois B, Saugier-Weber P, Martin C, Penet C, Charbonnier F, Agid Y, Frebourg T, Brice A. Segregation of a missense mutation in the microtubule-associated protein tau gene with familial frontotemporal dementia and parkinsonism. *Hum Mol Genet*. 1998 Oct;7(11):1825-9
55. Hutton M, Lendon CL, Rizzu P, Baker M, Froelich S, Houlden H, Pickering-Brown S, Chakraverty S, Isaacs A, Grover A, Hackett J, Adamson J, Lincoln S, Dickson D, Davies P, Petersen RC, Stevens M, de Graaff E, Wauters E, van Baren J, Hillebrand M, Joosse M, Kwon JM, Nowotny P, Che LK, Norton J, Morris JC, Reed LA, Trojanowski J, Basun H, Lannfelt L, Neystat M, Fahn S, Dark F, Tannenberg T, Dodd PR, Hayward N, Kwok JB, Schofield PR, Andreadis A, Snowden J, Craufurd D, Neary D, Owen F, Oostra BA, Hardy J, Goate A, van Swieten J, Mann D, Lynch T, Heutink P. Association of missense and 5'-splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature*. 1998 Jun 18;393(6686):702-5
56. Liu F, Shi J, Tanimukai H, Gu J, Gu J, Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Gong CX. Reduced O-GlcNAcylation links lower brain glucose metabolism and tau pathology in Alzheimer's disease. *Brain*. 2009 Jul;132(Pt 7):1820-32
57. Goedert M, Spillantini MG, Jakes R, Rutherford D, Crowther RA. Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron*. 1989 Oct;3(4):519-26
58. Rademakers R, Dermaut B, Peeters K, Cruts M, Heutink P, Goate A, Van Broeckhoven C. Tau (MAPT) mutation Arg406Trp presenting clinically with Alzheimer disease does not share a common founder in Western Europe. *Hum Mutat*. 2003 Nov;22(5):409-11
59. Murrell JR, Spillantini MG, Zolo P, Guazzelli M, Smith MJ, Hasegawa M, Redi F, Crowther RA, Pietrini P, Ghetti B, Goedert M. Tau gene mutation G389R causes a tauopathy with abundant pick body-like inclusions and axonal deposits. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1999 Dec;58(12):1207-26
60. Pickering-Brown S, Baker M, Yen SH, Liu WK, Hasegawa M, Cairns N, Lantos PL, Rossor M, Iwatsubo T, Davies Y, Allsop D, Furlong R, Owen F, Hardy J, Mann D, Hutton M. Pick's disease is associated with mutations in the tau gene. *Ann Neurol*. 2000 Dec;48(6):859-67

61. Rizzini C, Goedert M, Hodges JR, Smith MJ, Jakes R, Hills R, Xuereb JH, Crowther RA, Spillantini MG. Tau gene mutation K257T causes a tauopathy similar to Pick's disease. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2000 Nov;59(11):990-1001
62. Neumann M, Schulz-Schaeffer W, Crowther RA, Smith MJ, Spillantini MG, Goedert M, Kretzschmar HA. Pick's disease associated with the novel Tau gene mutation K369I. *Ann Neurol*. 2001 Oct;50(4):503-13
63. Liu F, Shi J, Tanimukai H, Gu J, Gu J, Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Gong CX. Reduced O-GlcNAcylation links lower brain glucose metabolism and tau pathology in Alzheimer's disease. *Brain*. 2009 Jul;132(Pt 7):1820-32
64. Goedert M, Spillantini MG, Jakes R, Rutherford D, Crowther RA. Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron*. 1989 Oct;3(4):519-26
65. Rademakers R, Dermaut B, Peeters K, Cruts M, Heutink P, Goate A, Van Broeckhoven C. Tau (MAPT) mutation Arg406Trp presenting clinically with Alzheimer disease does not share a common founder in Western Europe. *Hum Mutat*. 2003 Nov;22(5):409-11
66. Liu F, Shi J, Tanimukai H, Gu J, Gu J, Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Gong CX. Reduced O-GlcNAcylation links lower brain glucose metabolism and tau pathology in Alzheimer's disease. *Brain*. 2009 Jul;132(Pt 7):1820-32
67. Goedert M, Spillantini MG, Jakes R, Rutherford D, Crowther RA. Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron*. 1989 Oct;3(4):519-26
68. Rademakers R, Dermaut B, Peeters K, Cruts M, Heutink P, Goate A, Van Broeckhoven C. Tau (MAPT) mutation Arg406Trp presenting clinically with Alzheimer disease does not share a common founder in Western Europe. *Hum Mutat*. 2003 Nov;22(5):409-11
69. Herbert J, Wilcox JN, Pham KT, Freneau RT Jr, Zeviani M, Dwork A, Soprano DR, Makover A, Goodman DS, Zimmerman EA, et al.. Transthyretin: a choroid plexus-specific transport protein in human brain. The 1986 S. Weir Mitchell award. *Neurology*. 1986 Jul;36(7):900-11
70. Sebastiao MP, Lamzin V, Saraiva MJ, Damas AM. Transthyretin stability as a key factor in amyloidogenesis: X-ray analysis at atomic resolution. *J Mol Biol*. 2001 Mar 2;306(4):733-44
71. Neto-Silva RM, Macedo-Ribeiro S, Pereira PJ, Coll M, Saraiva MJ, Damas AM. X-ray crystallographic studies of two transthyretin variants: further insights into amyloidogenesis. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*. 2005 Mar;61(Pt 3):333-9

72. Ruiz-Canada C, Kelleher DJ, Gilmore R. Cotranslational and posttranslational N-glycosylation of polypeptides by distinct mammalian OST isoforms. *Cell*. 2009 Jan 23;136(2):272-83
73. Mita S, Maeda S, Shimada K, Araki S. Analyses of prealbumin mRNAs in individuals with familial amyloidotic polyneuropathy. *J Biochem*. 1986 Nov;100(5):1215-22
74. Maeda S, Mita S, Araki S, Shimada K. Structure and expression of the mutant prealbumin gene associated with familial amyloidotic polyneuropathy. *Mol Biol Med*. 1986 Aug;3(4):329-38
75. Tawara S, Nakazato M, Kangawa K, Matsuo H, Araki S. Identification of amyloid prealbumin variant in familial amyloidotic polyneuropathy (Japanese type). *Biochem Biophys Res Commun*. 1983 Nov 15;116(3):880-8
76. Dwulet FE, Benson MD. Primary structure of an amyloid prealbumin and its plasma precursor in a hereditary familial polyneuropathy of Swedish origin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984 Feb;81(3):694-8
77. Cornwell GG 3rd, Sletten K, Johansson B, Westermark P. Evidence that the amyloid fibril protein in senile systemic amyloidosis is derived from normal prealbumin. *Biochem Biophys Res Commun*. 1988 Jul 29;154(2):648-53
78. Kametani F, Ikeda S, Yanagisawa N, Ishi T, Hanyu N. Characterization of a transthyretin-related amyloid fibril protein from cerebral amyloid angiopathy in type I familial amyloid polyneuropathy. *J Neurol Sci*. 1992 Apr;108(2):178-83
79. Harding J, Skare J, Skinner M. A second transthyretin mutation at position 33 (Leu/Phe) associated with familial amyloidotic polyneuropathy. *Biochim Biophys Acta*. 1991 Oct 21;1097(3):183-6
80. Skare J, Jones LA, Myles N, Kane K, Milunsky A, Cohen A, Skinner M. Two transthyretin mutations (glu42gly, his90asn) in an Italian family with amyloidosis. *Clin Genet*. 1994 Jun;45(6):281-4
81. Moses AC, Rosen HN, Moller DE, Tsuzaki S, Haddow JE, Lawlor J, Liepnieks JJ, Nichols WC, Benson MD. A point mutation in transthyretin increases affinity for thyroxine and produces euthyroid hyperthyroxinemia. *J Clin Invest*. 1990 Dec;86(6):2025-33
82. Roterman I, Banach M, Kalinowska B, Konieczny L (2016) Influence of the aqueous environment on protein structure – a plausible hypothesis concerning the mechanism of amyloidogenesis. *Entropy* **18**: 351

83. Dułak D, Gadzała M, Banach M, Konieczny L, Roterman I (2019) Structural analysis of the A β (11-42) amyloid fibril based on hydrophobicity distribution. *J Comp-Aided Mol Des*.
84. Kalinowska B, Banach M, Wiśniowski Z, Konieczny L, Roterman I (2017) Is the hydrophobic core a universal structural element in proteins? *J Mol Model* **23**: 205
85. Marchewka D, Banach M, Roterman I (2011) Internal force field in proteins seen by divergence entropy. *Bioinformation* **6**: 300–302
86. Roterman I (2019) *From globular proteins to amyloids*. Irena Roterman-Konieczna ed, Elsevier, 2019 (in press)

Załączniki

Artykuł 1

Artykuł 2

Artykuł 3

Artykuł 4

Artykuł 5