

Imię i nazwisko autora rozprawy	Michał Świątek
Rok urodzenia autora rozprawy	1986
Imię i nazwisko promotora rozprawy	Paweł F. Góra
Wydział	FAIS UJ
Instytut/ Katedra	Instytut Fizyki Teoretycznej
Dziedzina wg klasyfikacji KBN	Nauki fizyczne
Nadawany tytuł	doktor

Tytuł rozprawy w języku polskim	Modelowanie komputerowe własności polimerowych <i>neck linkera</i> z porównaniem do zmutowanych sekwencji białkowych, w kontekście dynamiki wewnętrznej całej struktury kinezyiny.
Słowa kluczowe (maksymalnie 5)	Biofizyka, Białka motoryczne, Kinezyina, Dynamika molekularna, termodynamika nierównowagowa
Streszczenie rozprawy (maksymalnie 1 400 znaków)	Poniższa praca doktorska dotyczy biopolimerów i ich przemian strukturalnych w odpowiedzi na gwałtowne perturbacje, którym mogą, podlegać jako funkcjonalna część większych systemów biologicznych. Kinezyina to białko 'kroczące' po mikrotubulach i umożliwiające szybki anterogradowy transfer aksjonalny. Charakterystycznym funkcjonalnym elementem jej struktury, jest tzw. <i>neck linker</i>, 'łącznik' pomiędzy szyją, kinezyiny a jej głową. Jest to krótki fragment łańcucha, którego długość nie osiąga nawet 20 aminokwasów, mimo tego, że jego obecność jest kluczowa dla funkcjonowania tego białka motorycznego. Udział tego 'łącznika' w krokach kinezyiny jest wyrażany poprzez przeskakiwanie pomiędzy odpowiednimi stanami konformacyjnymi. Zjawisko to posiada wiele podobieństw do eksperymentów rozciągania biopolimerów przy użyciu metod typu AFM, czy też szczypiec optycznych, w których układ znajdował się, daleko od równowagi termodynamicznej. Dzięki równaniu Jarzyńskiego, jesteśmy w stanie wyznaczać różnice w energii swobodnej pomiędzy stanami konformacyjnymi tego 'łącznika'. Analiza drgań normalnych została wykorzystana do oceny własności 'łącznika' w kontekście natywnej struktury kinezyiny. Przeprowadzono symulacje Dynamiki Molekularnej w ramach protokołu, który został opracowany w celu uzyskania przybliżonego zespołu statystycznego dla eksperymentów rozciągania 'łącznika'. Równanie Jarzyńskiego zostało wykorzystane do określenia zmian

energii swobodnej dla przeskakiwania między stanami konformacyjnymi. Protokół zastosowano także dla grupy 'zmutowanych' peptydów, uzyskanych poprzez modyfikację, natywnej struktury 'łącznika'. Znalezione zależności między obecnością, mutacji punktowych w sekwencji 'łącznika' a różnicą energii swobodnej dla przeskakiwania pomiędzy stanami konformacyjnymi. Praca składa się, z pięciu rozdziałów. Pierwszy rozdział zawiera omówienie zagadnień istotnych dla tematyki pracy. Składa się, on z siedmiu części. W pierwszej części przedstawione zostały cele pracy. Druga zawiera historię procesu odkrywania białek motorycznych. Trzecia tłumaczy rolę kinezyzny w transporcie wewnątrz komórkowym i wzmiankuje teoretyczne modele ruchu kinezyzny. W czwartej części przybliżone zostają, parametry struktur zdeponowanych w Protein Data Bank. Piąta część zawiera przybliżenie sekwencji 'łącznika' w kontekście całej cząsteczki kinezyzny. Część szósta wprowadza interpretację biopolimerów jako mechanicznych łańcuchów. Finalnie, w części siódmej przedstawiony zostaje koncept badania zmiany energii swobodnej podczas rozciągania polimerów. W drugim rozdziale, podzielonym na dwie części, wprowadzone zostają, teoretyczne podstawy analizy drgań normalnych i analizy domenowej. Następnie przedstawione zostaje, jak można użyć tych metod do wyróżnienia oddzielnych, relatywnie sztywnych domen w strukturze białka. Kolejna część zawiera dyskusje, rezultatów analizy i pokazuje, że podział na domeny w strukturze kinezyzny przebiega zgodnie z oczekiwaniami, wynikającymi z funkcji tego białka. W trzecim rozdziale przybliżone zostają podstawy Dynamiki Molekularnej, a także pojęcia i metody użyte w protokole zastosowanym do przeprowadzenia symulacji rozciągania 'łącznika' i jego 'mutantów'. Następnie pojawia się opis samego protokołu, umożliwiającego generowanie obszernych zespołów statystycznych dla procesu rozciągania peptydów. Finalnie, przedstawione są, rezultaty analizy trajektorii, z naciskiem na rocznice pomiędzy 'łącznikiem' a 'zmutowanymi' peptydami. Rozdział czwarty zawiera teoretyczny opis najważniejszych statystycznych własności termodynamicznego układu, wliczając w to różnicę energii swobodnej. Rozdział zawiera też omówienie równania Jarzyńskiego i twierdzenia fluktuacyjnego Crooksa oraz wynikających z nich konsekwencji dla rozciągania biopolimerów. Uwaga zwrócona zostaje na ograniczenia w wyznaczaniu różnicy swobodnej energii za pomocą, równania Jarzyńskiego i zdefiniowane zostają alternatywne

	estymatory różnicy swobodnej energii np. estymator Bennetta. Rozdział jest zwieńczony dyskusją na temat znaczenia różnicy energii swobodnej między stanami konformacyjnymi dla biologicznej funkcji 'łącznika'. Dokonane zostało także porównanie między 'łącznikiem' a 'zmutowanymi' peptydami i ocena, jak substytucja danego typu aminokwasów w sekwencji wpływa na profil energetyczny 'łącznika'. W piątym i ostatnim rozdziale następuje podsumowanie pracy badawczej, która towarzyszyła przygotowaniu tej pracy doktorskiej. Podkreślone zostają, najważniejsze rezultaty i zasugerowany zostaje możliwy kierunek dalszych badań.
--	--

Tytuł rozprawy w języku pracy *	Computational modelling of neck linker's polymeric properties with comparison to mutated protein sequences in the context of kinesin's overall dynamical properties
Słowa kluczowe (maksymalnie 5)	Biophysics, Motor proteins, Kinesin, Molecular Dynamics, non-equilibrium thermodynamics
Streszczenie rozprawy (maksymalnie 1 400 znaków)	This doctoral thesis is chiefly about biopolymers and rapid perturbations they are subjected to, in the context of greater biological systems of which they are functional elements. Neck linker, a biopolymer that served as a basis of my inquiries, is a critical part of kinesin, a motor protein that drives anterograde axonal transport. Neck linker is but a small part of kinesin sequence, its length does not reach 20 amino acid residues, and yet it is a part upon which the function of kinesin hinges. It is known that neck linker's contribution to kinesin's walking along microtubule involves switching conformational states. In fact, that process shares many similarities with pulling experiments, in which biopolymers are stretched while the system is far from equilibrium. Thanks to Jarzynski equality, it is possible to derive free energy differences for these processes. This thesis presents a complex approach to biopolymers. Normal Mode Analysis is used to assess neck linker's dynamical properties in context of the native kinesin structure. Molecular Dynamics simulations are employed to carry out a protocol designed to approximate a large ensemble of non-equilibrium neck linker pulling experiments. Jarzynski equality serves to derive free energy difference of neck linker's switching between conformational states. Several 'mutated' peptides are derived from original neck linker and subjected to the same protocol. A connection has been found between point mutations and

	free energy difference of conformational state switching. The thesis is divided into five chapters. First chapter states the objectives of the thesis, introduces the biological context, within which kinesin motor protein exist, the basics of its function and history of its discovery. Then it goes on to touch upon Protein Data Bank as a source of native structures, neck linker's role in kinesin's stepping and how well defined is neck linker's sequence. Finally it reframes neck linker as a polymer, briefly describes basics of pulling experiments and hints at the concept of free energy as well as Jarzynski equality. Second chapter introduces the concept of Normal Mode Analysis and Domains Analysis and presents results of applying these methods to the native structure of kinesin obtained from Protein Data Bank. Third chapter introduces the principles of Molecular Dynamics and defines several associated concepts relevant to subsequent simulations. It goes on to describe a simulation protocol designed in order to acquire an unusually large ensembles of stretching simulations and presents results of relevant trajectory analysis, focusing on comparison between neck linker and 'mutated' peptides. Fourth chapter delves into theoretical descriptions of several statistical properties of a system, including free energy and its difference. It then introduces Jarzynski equality and highlights its implications for pulling experiments. What follows is an introduction of Crooks fluctuation theorem. After that, practical limitations of Jarzynski equality are mentioned and other estimators, i.e. the Bennett estimator, are also introduced. Lastly, the chapter discusses implications of the free energy difference between various conformational states for neck linker's biological function, makes comparison between the neck linker and 'mutated' peptides and assesses how the free energy profile of the neck linker is influenced by amino acid substitutions. Fifth and final chapter summarizes the investigations done for the preparation of this thesis, highlights the most important results and hints at avenues for further research.
--	--

Tytuł rozprawy w języku angielskim	Computational modelling of neck linker's polymeric properties with comparison to mutated protein sequences in the context of kinesin's overall dynamical properties
Słowa kluczowe (maksymalnie 5)	Biophysics, Motor proteins, Kinesin, Molecular Dynamics, non-equilibrium thermodynamics
Streszczenie rozprawy (maksymalnie 1 400 znaków)	This doctoral thesis is chiefly about biopolymers and rapid perturbations they are subjected to, in the context

of greater biological systems of which they are functional elements. Neck linker, a biopolymer that served as a basis of my inquiries, is a critical part of kinesin, a motor protein that drives anterograde axonal transport. Neck linker is but a small part of kinesin sequence, its length does not reach 20 amino acid residues, and yet it is a part upon which the function of kinesin hinges. It is known that neck linker's contribution to kinesin's walking along microtubule involves switching conformational states. In fact, that process shares many similarities with pulling experiments, in which biopolymers are stretched while the system is far from equilibrium. Thanks to Jarzynski equality, it is possible to derive free energy differences for these processes. This thesis presents a complex approach to biopolymers. Normal Mode Analysis is used to assess neck linker's dynamical properties in context of the native kinesin structure. Molecular Dynamics simulations are employed to carry out a protocol designed to approximate a large ensemble of non-equilibrium neck linker pulling experiments. Jarzynski equality serves to derive free energy difference of neck linker's switching between conformational states. Several 'mutated' peptides are derived from original neck linker and subjected to the same protocol. A connection has been found between point mutations and free energy difference of conformational state switching. The thesis is divided into five chapters. First chapter states the objectives of the thesis, introduces the biological context, within which kinesin motor protein exist, the basics of its function and history of its discovery. Then it goes on to touch upon Protein Data Bank as a source of native structures, neck linker's role in kinesin's stepping and how well defined is neck linker's sequence. Finally it reframes neck linker as a polymer, briefly describes basics of pulling experiments and hints at the concept of free energy as well as Jarzynski equality. Second chapter introduces the concept of Normal Mode Analysis and Domains Analysis and presents results of applying these methods to the native structure of kinesin obtained from Protein Data Bank. Third chapter introduces the principles of Molecular Dynamics and defines several associated concepts relevant to subsequent simulations. It goes on to describe a simulation protocol designed in order to acquire an unusually large ensembles of stretching simulations and presents results of relevant trajectory analysis, focusing on comparison between neck linker and 'mutated' peptides. Fourth chapter delves into

	theoretical descriptions of several statistical properties of a system, including free energy and its difference. It then introduces Jarzynski equality and highlights its implications for pulling experiments. What follows is an introduction of Crooks fluctuation theorem. After that, practical limitations of Jarzynski equality are mentioned and other estimators, i.e. the Bennett estimator, are also introduced. Lastly, the chapter discusses implications of the free energy difference between various conformational states for neck linker's biological function, makes comparison between the neck linker and 'mutated' peptides and assesses how the free energy profile of the neck linker is influenced by amino acid substitutions. Fifth and final chapter summarizes the investigations done for the preparation of this thesis, highlights the most important results and hints at avenues for further research.
--	--

* Jeżeli rozprawa jest napisana w języku polskim wystarczy wypełnić pierwszą rubrykę.