

Tudományos kutatási témák és programok

Balog Érika

Számítógépes molekuláris biofizika

Fehérjék szerkezeti és dinamikai vizsgálatának különböző kísérleti módszerei mellett az utóbbi évtizedekben egyre elterjedtebbé vált a makromolekulák dinamikájának számítógépes vizsgálata. Az alapvető kérdés, melyet különböző kísérleti és számítógépes technikákkal megközelítünk az, hogy milyen a kapcsolat a fehérje térszerkezete, illetve a hőmérséklet következtében fellépő konformációs mozgása és az általa végzett funkció között. Az általunk használt szimulációs módszer, a molekuláris dinamika (MD) a molekulát alkotó atomok mozgását írja le az idő függvényében. A számítógépek fejlődése napjainkban már lehetővé teszi, hogy több ezer atomból álló fehérje atomi szintű mozgását is nyomon követhessük. Míg kísérletek során általában a molekulák sokaságának átlagos viselkedését, addig szimuláció során egyetlen molekula mozgásának időbeli lefolyását követhetjük nyomon. Ezért, a szimulációs vizsgálatok napjainkban már fontos kiegészítői a szerkezetet/dinamikát vizsgáló kísérleteknek, ugyanis a fehérje mozgásának számítógépes nyomonkövetéséből olyan paraméterek számolhatóak, amelyek kísérleti eredményekkel összevetve, lehetővé teszik az eredmények mélyebb, atomi szintű értelmezését. A számítógépes vizsgálat egyik másik fontos előnye, hogy a mozgás során kölcsönható atomok azonosításával azokat a kulcsszerepet játszó atomokat/aminosavakat lehet feltérképezni, amelyek a fehérje működését meghatározzák, lehetővé téve ezzel annak befolyásolását. Érdeklődésünk fókuszpontjában a fehérjék kollektív mozgásainak nyomon követése áll. Ezen mozgások ismerete a ligandumkötődés során fellépő fehérje-flexibilitás változás fontos alkotóeleme. A probléma egyúttal napjaink *in silico* gyógyszertervezésének legnagyobb kihívása.

A foszfogllicerát kináz funkcionális domén-mozgásának vizsgálata

A foszfogllicerát kináz (PGK) a glikolízis kulcsenzime, amely az ATP szintézis első lépésében a foszfátcsoport reverzibilis átadását katalizálja az 1,3-bisz-foszfogllicerátról (3-PGA) az ADP-re. A PGK két doménből áll. A 3-PGA kötőhely az N doménen, az ADP kötőhelye pedig a C doménen található (ábra). A röntgendiffrakciós szerkezetek szerint domének közötti távolság (12-15 Å) túl nagy ahhoz, hogy a foszfát átadása megtörténhessen.



A PGK röntgendiffrakciós szerkezete ligandumokkal. Nyílak: domén mozgások.

Ezért feltételezték, hogy szubsztrát kötés hatására az enzim a domének elfordulásával 'nyitott' konformációból 'zárt' konformációba kerül, ezáltal a reagensek közelednek egymáshoz és a reakció végbemegy. MD szimulációt használva, munkánk célja ezen funkcionális doménmozgás jellemzése, a kulcsszerepet játszó aminosavak feltérképezése, mely egy fontos lépés a PGK-n alapuló vírus-, és rákellenes gyógyszerek számítógépes tervezésében.

Ligandumkötés szerkezet-lazító hatása a dihidrofolát redukáz enzim esetén

A dihidrofolát redukáz (DHFR) a dihidrofolát tetrahidrofoláttá való átalakítását katalizálja adenin dinukleotid foszfát (NADPH) jelenlétében. A tetrahidrofolát anyagcserefolyamatok, így a DNS szintézis kofaktoraként működik. Ennek következményeként a DHFR-t rákellenes célmolekulaként használják, mivel gátolhatja a DNS szintézist a gyorsan proliferálódó (pl. rákos) sejtekben. A gyógyszerkutatókban a metotrexátot (MTX) mint a DHFR folátantagonistáját már azonosították, és citotoxikus ágensként használják a rákgyógyításban. Kísérletileg kimutatták, hogy az általános felfogással szemben, mely szerint egy enzim megmerevedik szubsztrátkötés hatására, a DHFR szerkezete fellazul MTX kötés során. Adiabaticus kompresszibilitás mérések kompresszibilitás növekedést mutatnak MTX kötődés hatására. Korábban mi is közöltünk neutronszórásos eredményeket a DHFR-MTX komplex és apo- formáján, mely – kompresszibilitásra vonatkozó eredményekkel egybehangzóan – megnövekedett populáltságot mutat a vibrációs sűrűségfüggvény alacsony frekvenciájú ($<20\text{cm}^{-1}$) tartományában MTX kötődés hatására. Az alacsony frekvenciájú módusok kiütetett szerepet játszanak a működés tanulmányozásában, mivel a fehérje kollektív mozgásainak felelnek meg és lényeges járulékot szolgáltatnak a vibrációs szabadenergia értékéhez. Az alacsony frekvenciájú módusok populáltságának növekedése a ligandumkötődés hatására a fehérjeszerkezet fellazulásának a jele és azt mutatja, hogy a vibrációs energia lényegesen hozzájárul a teljes kötődési energiaértékhez. Ezek a kísérleti eredmények arra utalnak, hogy a szerkezetfellazulást atomi szinten kell értelmezni, mely a jövőben a számítógépes DHFR alapú hatékonyabb gyógyszertervezés fontos feltétele lehet. Különböző számítógépes szimulációs módszerekre alapozva munkánk célja a flexibilitásnövekedés atomi szintű megértése.

Honlap: <http://biofiz.sote.hu/people/ebalog>

Együttműködések:

David Perahia (Université Paris-Sud, Paris, France)

Corinne Lionne - Laurent Chaloin (CNRS-Université Montpellier, Montpellier, France)

Franci Merczel - Dušana Janežič (National Institute of Chemistry Ljubljana, Slovenia)

Vass Mária (MTA SZBK Enzimológiai Intézet)

1. E. Balog, M. Laberge, J. Fidy: *Molecular dynamics simulation reveals correlated domain motions in yeast phosphoglycerate kinase* Biophys. J. 92:1 (2007)
2. E. Balog, J. C. Smith, D. Perahia: *Conformational heterogeneity and low-frequency vibrational modes of proteins*, Phys. Chem. Chem. Phys. 8:5543 (2006)
3. E. Balog, J. Fidy: *A genomikától a proteomikáig és a molekuláris biológiáig*, Magyar Tudomány 5:526 (2006)
4. E. Balog, T. Becker, M. Oetli, R. Lechner, R. Daniel, J. L. Finney, J. C. Smith: *Direct determination of the vibrational density of states change on ligand binding to a protein*, Phys.Rev.Lett. 93(2):028103-1 (2004)
5. E. Balog, A. L. Hugels, G. J. Martyna: *Constant pressure path integral molecular dynamics studies of quantum effects in the liquid state properties of n-alkanes*, J. Chem. Phys. 112:870-880 (2000)