

Fehérjék szerkezete és dinamikája 1.

Hegedűs Tamás

tamas@hegelab.org

MTA-SE Molekuláris Biofizikai Kutatócsoport
SE Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet



Témák

- Bevezetés – szimulációk és a fehérje dinamika jelentősége
- Fehérjék szerkezetének jellemzése
- Fehérjék dinamikájának modellezése
- Fehérjék feltekeredésének szimulációja
- Dinamika szerepe a ligandfelismerésben
- Informatikai eszközök – biológus szempontból
- Gén és egyéb hálózatok

Fehérjék szerkezetének és dinamikájának jelentősége

A betegség molekuláris szintű oka?
A gyógyszer-kötő zseb alakja?

37°C-on, oldatban nem egy szerkezet létezik,
hanem egy konformációs sokaság.

Számítógépes modellezés jelentősége

Atomi szintű információt ad mozgásokról.

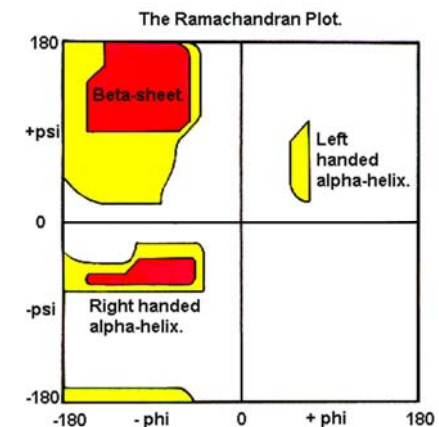
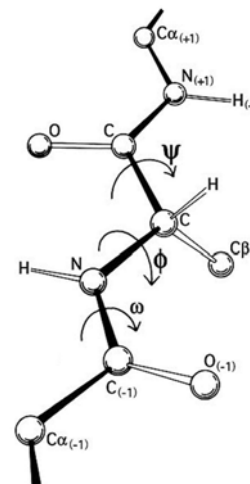
Kísérletes módszerek általában nem
szolgáltatnak közvetlen információt az
atomi szintű történésekről.

PI. NMR és MD - igen

Mai témák

- Bevezetés – szimulációk és a fehérje dinamika jelentősége
- Fehérjék szerkezetének jellemzése
 - Másodlagos szerkezeti mintázatok jóslása
 - Rendezetlen fehérjék
 - A harmadlagos és negyedleges szerkezet

Másodlagos szerkezeti elemek



wikipedia

Másodlagos szerkezeti elemek predikciója

Megoldott szerkezetekből minden aminosavra meghatározott
helix, β-redő, coil formáló hajlamból 60 %

Ezek kombinálása szekvenciák illesztésével 70-80 %

Megvalósítási lehetőségek:

- neurális hálózatok,
- support vector machines,
- rejtett Markov modellek, stb.

Megbízhatósági érték minden pozícióra

GOR4, HNN, Prof, JPred/JNet

Rendezetlen fehérjék I.

Intrinsically Disordered Proteins

Becslések alapján a fehérjéknek akár 25 %-a rendezetlen lehet.

Komplexitással nő a rendezetlen fehérjék aránya

Az emberi fehérjék felében van min. 30 a.a. hosszú rendezetlen szakasz

Nem teljesen random.

Sztruktúráisan igen flexibilisek.

Nincs kompakt globuláris hajtogatódás, reziduális szerkezet.

Megdönt a paradigma,
mely szerint csak jól definiált 3D szerkezethez kapcsolható fehérje funkció.

Rendezetlen fehérjék II.

Miért jó?	Specifikus és adaptálódó Rendezetlen/redezett reverzibilis átmenete Nagy kötőfelület Gyors kötés	
Mire jó?	Entrópikus lánc: Effektor: Scavangers: Összeszerelődés: Bemutató felület:	K+ csatorna inaktiválása peptid inhibitorok kazein calmodesmon, F-aktin foszforilációs és proteolitikus helyek

Rendezetlen fehérjék III.

DisProt adatbázis: <http://www.disprot.org>

K. Dunker – Indiana University

Tompa Péter, Kalmár Lajos, Dosztányi Zsuzsa – MTA Enzimológiai Intézet

A rendezetlenség jóslása

Tanuló algoritmusok
PDB-ben előforduló
rendezetlen fehérjék szekvenciája alapján
(nincs bennük sok hidrofób a.a.)

Disopred2

Kölcsönhatási energiák becslése

IUPred.enzim.hu

IUPred

Fizikai alapok!

Ha van szerkezet:

$$E_{\text{calculated}} = \sum_{i,j} M_{ij} C_{ij}$$

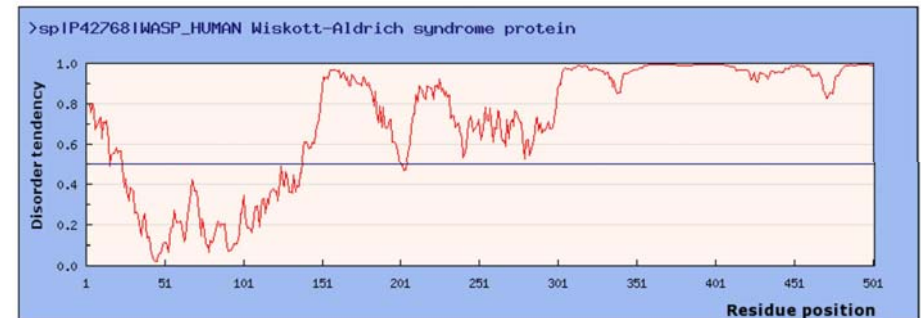
Ha csak szekvencia van:

$$E_{\text{estimated}} = L \sum_{i,j} P_{ij} f_i f_j$$

Egy aminosav rendezetlensége:

$$E_j^k = \sum_{i=1}^{20} P_{ij} f_i^k (w_0)$$

IUPred kimenete



Harmadlagos szerkezet jóslása

Ab initio folding

- **CASP** (Critical Assessment of Techniques for Protein Structure Prediction)
- **kényszerfeltételek kísérletekből**

Homológia modellezés

- feltételezi: konzervált szekvencia == konzervált struktúra
- > 30% hasonlóság
- a szekvencia-illesztés jósága a legmeghatározóbb

Homológia modellezés I.

- **Templát keresés**
- **Szekvencia illesztés**
- **Modellezés**
- **Energia-minimalizálás**

BLOSUM (BLOCKs of Amino Acid SUBstitution Matrix) matrix
is a substitution matrix

BLOSUM (BLOCKS of Amino Acid Substitution) Matrix
is a substitution matrix

	Ala	Arg	Asn	Asp	Asp	Cys	Gln	Glu	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val
Ala	4																				
Arg	-1	5																			
Asn	0	2	6																		
Asp	-2	-2	1	4																	
Cys	0	-3	-3	-5	9																
Gln	-1	1	0	0	-3	5															
Glu	-1	0	0	2	-4	2	5														
Gly	0	-2	0	-1	-3	-2	-2	4													
His	-2	0	1	-1	-3	0	-1	-2	8												
Ile	-1	-3	-3	-3	-1	-3	-3	-4	-3	4											
Leu	-1	-2	-3	-4	-1	-2	-3	-4	-3	2	4										
Lys	-1	2	0	-1	-3	1	1	-2	-1	-3	-2	5									
Met	-1	-1	-2	-3	-1	0	-2	-3	-3	1	2	-1	4								
Phe	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-1	0	-3	0	6									
Pro	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	4							
Ser	-1	-1	1	0	-1	0	-1	-1	-1	-2	-2	0	-1	-2	4						
Thr	0	-1	1	1	-1	1	-2	-2	-2	-1	-1	-1	-2	-1	1	5					
Trp	-3	-3	-4	-4	-2	-3	-2	-2	-3	-2	-3	-1	-1	-4	-3	-2	11				
Tyr	-2	-2	-2	-3	-2	-1	-2	-3	-2	1	-1	1	-1	-3	-3	-2	-2	7			
Val	-2	-3	-3	-1	-2	-3	-3	-2	-3	-2	-1	-1	-2	-2	-2	-2	-1	7			

Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)

CLUSTAL W (1.83) multiple sequence alignment

Alignement – pl. ClustalW

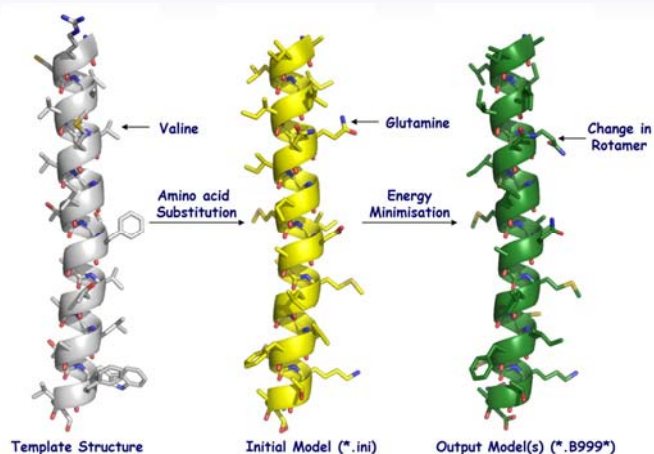
```

2HYD      -----MIKRYLQFVK----PYKYRIFATIIVGIIKFGIPMLII
3B5X      -----WQTFKRLWTYIR----LYKAGLVSTIALVINAADTYMI
CFTR_HUMAN MQRSPLEKASVSKLFFSWTPILRKGYRQRLSDIYQIPSVDSADNLS
              *           *           *           *           *

```



Homológia modellezés II.



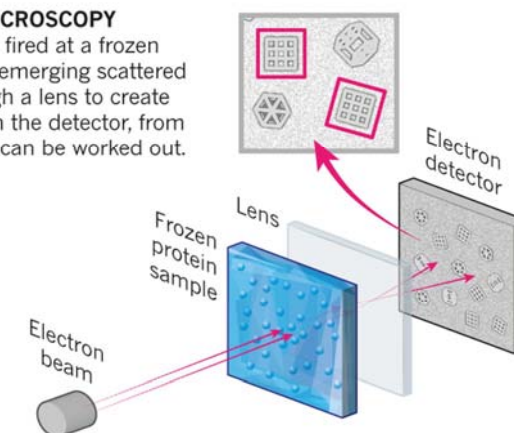
forrás: SBCB, Oxford, UK

Szerkezet meghatározás – „single particle”

Cryo-electron microscopy

CRYO-ELECTRON MICROSCOPY

A beam of electron is fired at a frozen protein solution. The emerging scattered electrons pass through a lens to create a magnified image on the detector, from which their structure can be worked out.

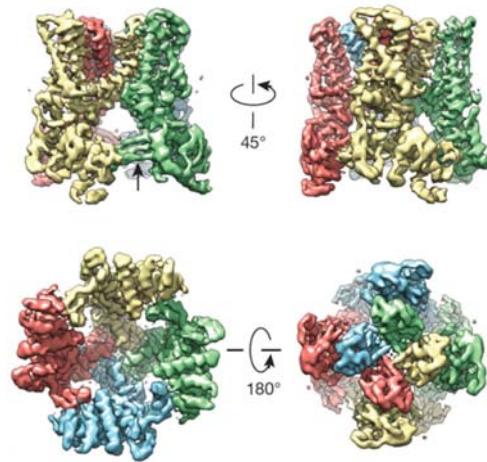


© nature

Ewen Callaway, Nature | News Feature
The revolution will not be crystallized: a new method sweeps through structural biology. 09 September 2015

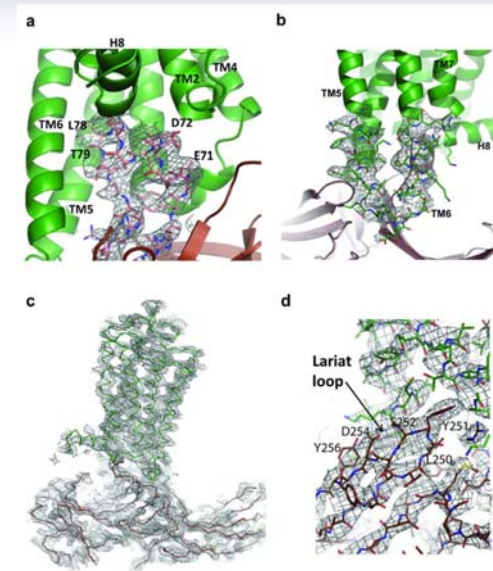
Szerkezet meghatározás – „single particle”

The TRPV1 channel detects the burn of chilli peppers, and this 3.4-Å structure is considered super-hot in the structural-biology world.



Szerkezet meghatározás – „single particle”

Free Electron Laser (FEL)



Nature. 2015 Jul 30;523(7562):561-7.

Crystal structure of rhodopsin bound to arrestin by femtosecond X-ray laser.

Negyedleges szerkezet

Fehérje-fehérje dokkolás – rendkívül nehéz feladat
(felületek leírása, dinamika)

PISA - Protein Interfaces, Surfaces and Assemblies
Molecular Dynamics

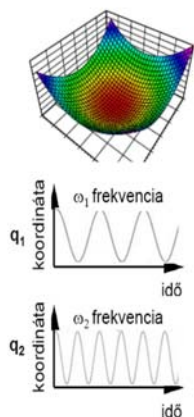
Mai témák

- Bevezetés – a fehérje dinamika és a szimulációk jelentősége
- Fehérjék szerkezetének jellemzése
 - Másodlagos szerkezeti mintázatok jóslása
 - Rendezetlen fehérjék
 - A harmadlagos és negyedleges szerkezet
- Fehérjék dinamikájának modellezése
- Fehérjék feltekeredésének szimulációja

Fehérje dinamika vizsgálata

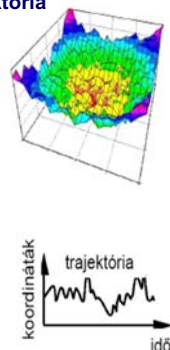
Normál-módus elemzés

- harmonikus potenciál
- analitikus mozgásegyenletek
- normál módusok



Molekuláris dinamika (MD)

- valós potenciálfelület
- mozgásegyenletek idő-lépésenkénti numerikus megoldása
- trajektória



A „force field” - I.

$$E_{\text{prot}} = W_{\text{rot}} E_{\text{rot}} + W_{\text{atr}} E_{\text{atr}} + W_{\text{rep}} E_{\text{rep}} + W_{\text{solv}} E_{\text{solv}} + W_{\text{pair}} E_{\text{pair}} + W_{\text{mbenv}} E_{\text{mbenv}} + W_{\text{hbond}} E_{\text{hbond}} - E_{\text{ref}}$$

$$E_{\text{solv}} = - \sum_i^{\text{natom}} \sum_{j>i}^{\text{natom}} \left\{ \frac{2\Delta G_i^{\text{free}}}{4\pi\sqrt{\pi}\lambda_j r_{ij}^2} \exp(-d_{ij}^2) V_j + \frac{2\Delta G_j^{\text{free}}}{4\pi\sqrt{\pi}\lambda_i r_{ij}^2} \exp(-d_{ji}^2) V_i \right\} \quad \text{Lazaridis (2003)}$$

TABLE I. Solvation Parameters^a

Atom types ^a	Volume	$\Delta G_i^{\text{ref},b}$	$\Delta G_i^{\text{free},c}$	$\Delta f_i^{\text{ref},b}$	$\Delta C_{\text{P}}^{\text{ref},d}$
C	14.7	0.000	0.00	0.000	0.00
CR	8.3	-0.890	-1.40	2.220	6.90
CH1E	23.7	-0.187	-0.25	0.876	0.00
CH2E	22.4	0.372	0.52	-0.610	18.60
CH3E	30.0	1.089	1.50	-1.779	35.60
CR1E	18.4	0.057	0.08	-0.973	6.90
NH1	4.4	-5.950	-8.90	-9.059	-8.80
NR	4.4	-3.820	-4.00	-4.654	-8.80
NH2	11.2	-5.450	-7.80	-9.028	-7.00
NH3	11.2	-20.000	-20.00	-25.000	-18.00
NC2	11.2	-10.000	-10.00	-12.000	-7.00
N	0.0	-1.000	-1.55	-1.250	8.80
OH1	10.8	-5.920	-6.70	-9.264	-11.20
O	10.8	-5.330	-5.85	-5.787	-8.80
OC	10.8	-10.000	-10.00	-12.000	-9.40
S	14.7	-3.240	-4.10	-4.475	-39.90
SH1E	21.4	-2.050	-2.70	-4.475	-39.90

Lazaridis (1999)

A „force field” - II.

Baker (2007)

$$E_{\text{prot}} = W_{\text{rot}} E_{\text{rot}} + W_{\text{atr}} E_{\text{atr}} + W_{\text{rep}} E_{\text{rep}} + W_{\text{solv}} E_{\text{solv}} + W_{\text{pair}} E_{\text{pair}} + W_{\text{mbenv}} E_{\text{mbenv}} + W_{\text{hbond}} E_{\text{hbond}} - E_{\text{ref}}$$

$$E_{\text{mbenv}} = \sum_i^{\text{natom}} \Delta G_i^{\text{ref}}(z') \quad \Delta G_i^{\text{ref}}(z') = (1 - f(z')) * (\Delta G_i^{\text{ref},\text{chex}} - \Delta G_i^{\text{ref},\text{water}})$$

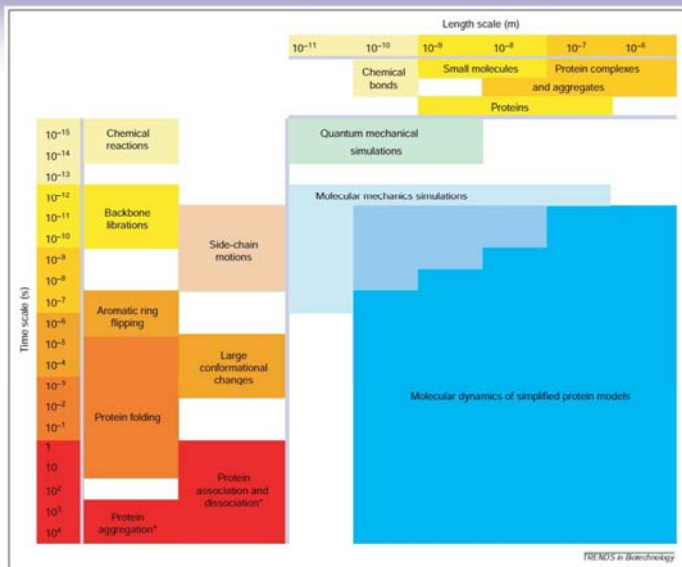
TABLE II. Atomic Contribution to the Solvation Free Energy in Water and Cyclohexane

	Water	Chex		Water	Chex
CR	-0.890	-1.350	NH3	-20.000	-1.145
CH1E	-0.187	-0.645	NC2	-10.000	-0.200
CH2E	0.372	-0.720	N	-1.000	-1.145
CH3E	1.089	-0.665	OH1	-5.920	-0.960
CR1E	0.057	-0.410	O	-5.330	-1.270
NH1	-5.950	-1.145	OC	-10.000	-0.900
NR	-3.820	-1.630	S	-3.240	-1.780
NH2	-5.450	-1.145	SH1E	-2.050	-1.855

Az MD korlátjai

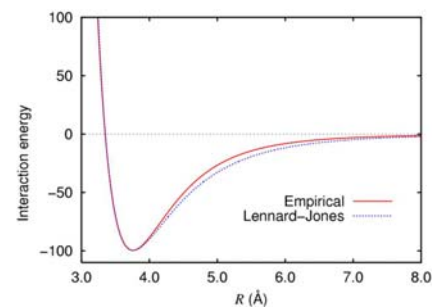
- idő (CPU, valós)
- potenciál kiszámolása a szűk keresztmetszet
- numerikus integrálás hibája
- fs-os integrációs lépések
- oldószer (explicit/implicit)
- „boundary condition”

„Események” időskálája

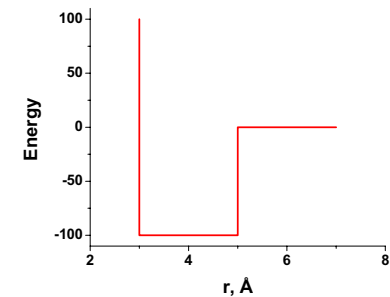


F. Ding and N.V. Dokholyan, TRENDS in Biotechnology, **23**:450 (2005)

Diszkrét Molekuláris Dinamika (DMD)



wikipedia



Ding, F., Dokholyan, N. V. PLoS Comput Biol 2:e85

Egyszerűsített (Coarse Grain) modellek

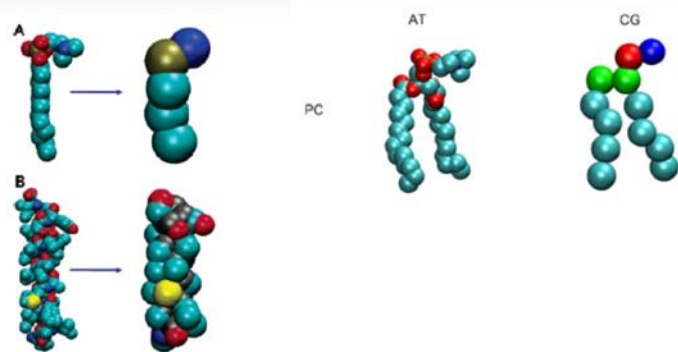
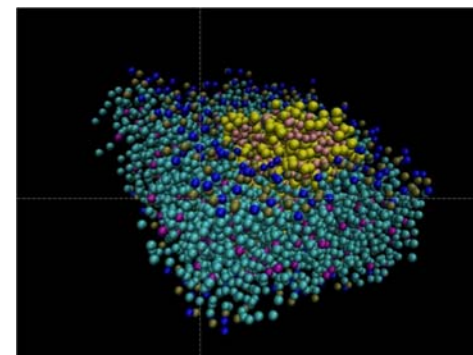


Figure 1. Atomistic (left-hand) and coarse-grained (right-hand) models compared for (A) a DPC molecule and (B) a GpA helix. Colors for atoms:

Fehérjére pl. 2 bead vagy 4+ bead modellek
MARTINI CG force field

Kettősréteg felépülése a fehérje köré



PIP2 kötődése Kir kálium csatornához

Biochemistry, Vol. 48, No. 46, 2009

