

Fehérjék szerkezetének predikciója, szerkezeti adatok felhasználása adatbázisok segítségével, a számítógépes molekuladinamikai modellezés alapjai

Hegedűs Tamás

tamas@hegelab.org

MTA-SE Molekuláris Biofizikai Kutatócsoport
SE Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet



Mai témák

- **Bevezetés – szimulációk és a fehérje dinamika jelentősége**
- **Fehérjék jellemzése bioinformatikai eszközökkel**
- **Informatikai eszközök – biológus szempontból**
- **Fehérjék dinamikájának modellezése**
- **Fehérjék feltekeredésének szimulációja**

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.

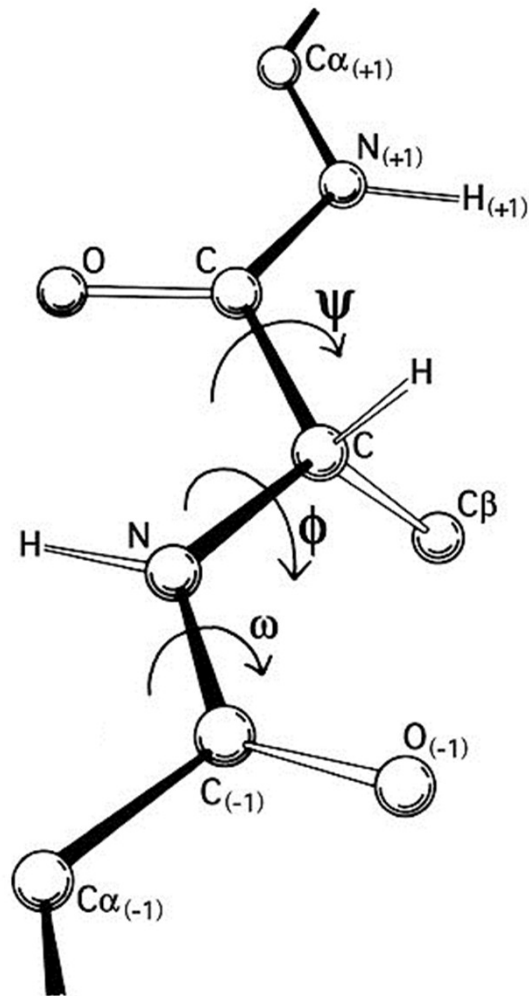
**Kísérletes módszerek általában nem
szolgáltatnak közvetlen információt az
atomi szintű történésekről.**

Pl. NMR és MD - igen

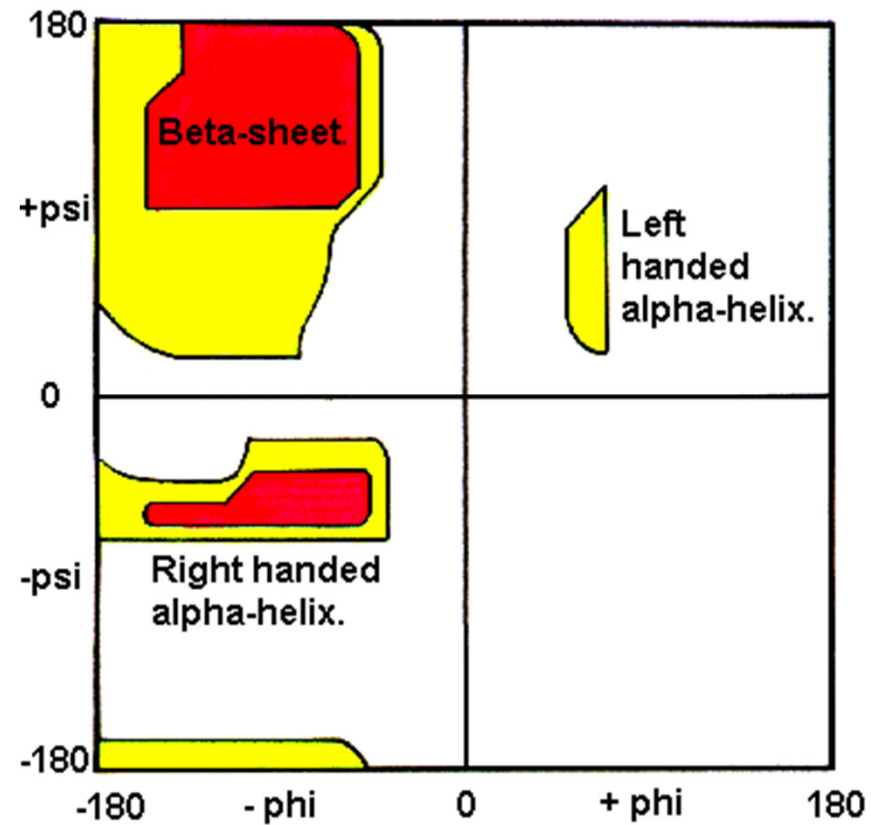
Mai témák

- **Bevezetés – szimulációk és a fehérje dinamika jelentősége**
- **Fehérjék jellemzése bioinformatikai eszközökkel**
 - Másodlagos szerkezeti mintázatok jóslása
 - Rendezetlen fehérjék
 - Funkcionális régiók azonosítása
 - A harmadlagos és negyedleges szerkezet
- **Informatikai eszközök – biológus szempontból**
- **Fehérjék dinamikájának modellezése**
- **Fehérjék feltekeredésének szimulációja**

Másodlagos szerkezeti elemek



The Ramachandran Plot.



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.

Strukturálisan igen flexibilisek.

Nincs kompakt globuláris hajtogatódás, reziduális szerkezet.

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

Rendezetlen fehérjék II.

Miért jó?

Specifikus és adaptálódó
Rendezetlen/rendezett 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>
kb. 650 fehérje

K. Dunker – Indiana University

Tompa Péter, 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:

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

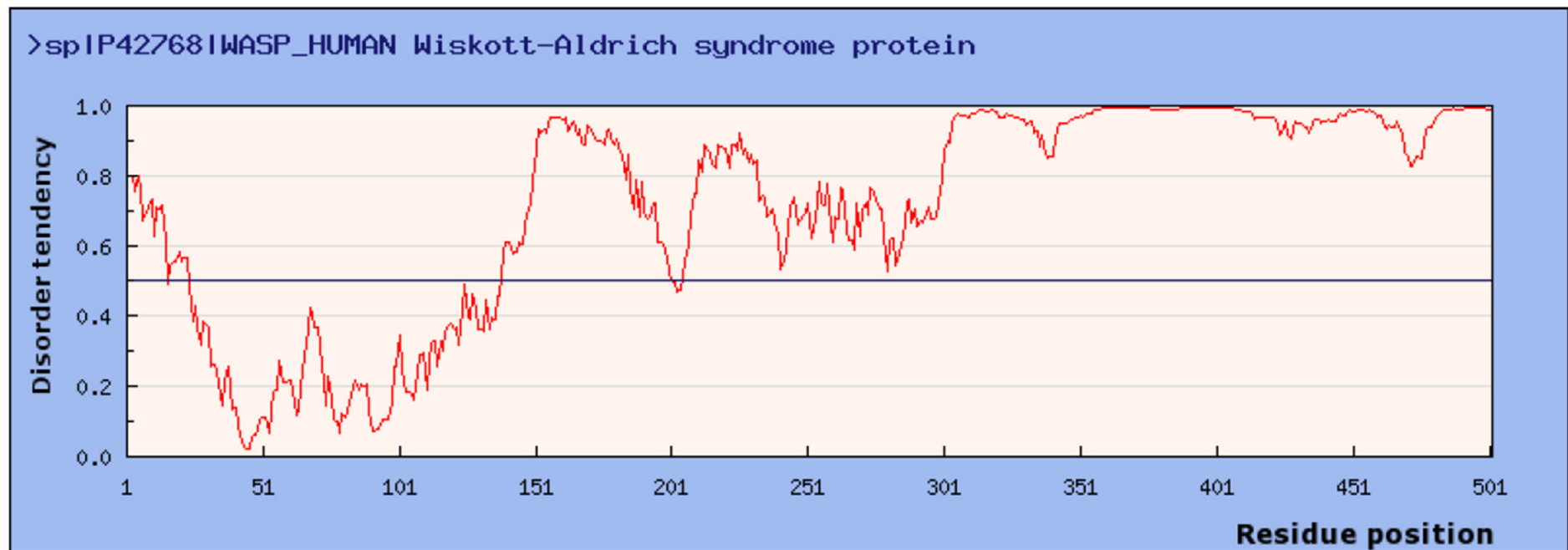
Ha csak szekvencia van:

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

Egy aminosav rendezetlensége:

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

IUPred kimenete



Mai témák

- **Bevezetés – szimulációk és a fehérje dinamika jelentősége**
- **Fehérjék jellemzése bioinformatikai eszközökkel**
 - Másodlagos szerkezeti mintázatok jóslása
 - Rendezetlen fehérjék
 - Funkcionális régiók azonosítása**
 - A harmadlagos és negyedleges szerkezet
- **Informatikai eszközök – biológus szempontból**
- **Fehérjék dinamikájának modellezése**
- **Fehérjék feltekeredésének szimulációja**

Funkcionális régiók azonosítása

Mintázat keresés (pattern search)

P-x-[STA]-x-[LIV]-[IVT]-x-[GS]-G-Y-S-[QL]-G

P.[STA].[LIV][IVT].[GS]GYS[QL]G (regular expression pattern)

Konszenzus matrix, profile (Isd. ProSite dokumentációt)

MA /M: SY='D'; M=-10,26,-29,38,34,-34,-14,-2,-33,7,-24,-23,8,-6,8,-4,0,-9,-27,-33,-19,21;

MA /M: SY='I'; M=-8,-31,-23,-35,-28,7,-32,-27,27,-24,15,13,-27,-26,-24,-23,-20,-9,25,-4,2,-27;

MA /M: SY='R'; M=-11,-12,-26,-12,-1,-13,-23,-1,-8,1,-7,-3,-8,-11,-2,8,-9,-6,-8,-22,-3,-4;

MA /M: SY='E'; M=-11,17,-27,23,29,-24,-15,-3,-27,1,-22,-20,9,-1,6,-6,3,-4,-25,-32,-17,17;

MA /M: SY='D'; M=-7,10,-23,11,2,-25,0,-6,-26,-4,-23,-18,7,-6,-5,-8,7,7,-20,-31,-17,-2;

Már mások megtették, adatbázisokba gyűjtötték ☺

Enzimek osztályozása (EC)

Domének azonosítása (pl. Pfam: <http://pfam.sanger.ac.uk>)

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
- összeillesztés jósága a meghatározó

Szekvencia-illesztés

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

BLOSUM (BLOcks of Amino Acid SUBstitution) is a substitution matrix

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

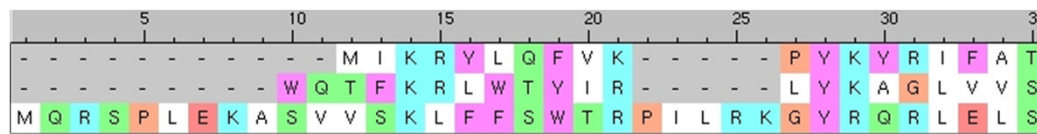
CLUSTAL W (1.83) multiple sequence alignment

Alignment – pl. ClustalW

```

2HYD      -----MIKRYLQFVK-----PYKYRIFATIIVGIKFGIPMLIP
3B5X      -----WQTFKRLWTYIR-----LYKAGLVVSTIALVINAAADTYMI
CFTR_HUMAN MQRSPLEKASVVS KLFFSWTRPILRKGYRQRLELSDIYQIPSVDSADNLS
              *      :      :      *      :      :      :      *      :      :

```



Basic Local Alignment **Search** Tool, or **BLAST**

Negyedleges szerkezet

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

**PISA - Protein Interfaces, Surfaces and Assemblies
Molecular Dynamics**

Two-state model of protein folding

$$G_{\text{protein}} = H_{\text{protein}} - TS_{\text{protein}}$$

$$\begin{aligned} -RT \ln K &= \Delta G_{\text{protein}} = \\ &= \Delta H_{\text{protein}} + \Delta H_{\text{solvent}} + \Delta H_{\text{protein-solvent}} - T\Delta S_{\text{protein}} - T\Delta S_{\text{solvent}} \end{aligned}$$

Fehérje-fehérje kölcsönhatások

- Hidrofóbitás
- Elérhető felület (500-1500Å²)
- Alak komplementaritás
- Aminosav preferenciák (4-8 atomi kontaktus)
- Evolúciósan konzerváltabb szakasz

$$\Delta_r G^\circ = \Delta_r H^\circ - T\Delta_r S^\circ$$

Fehérje-fehérje kölcsönhatás modelljei

- Lock-and-key
- Induced fit
- Conformational selection

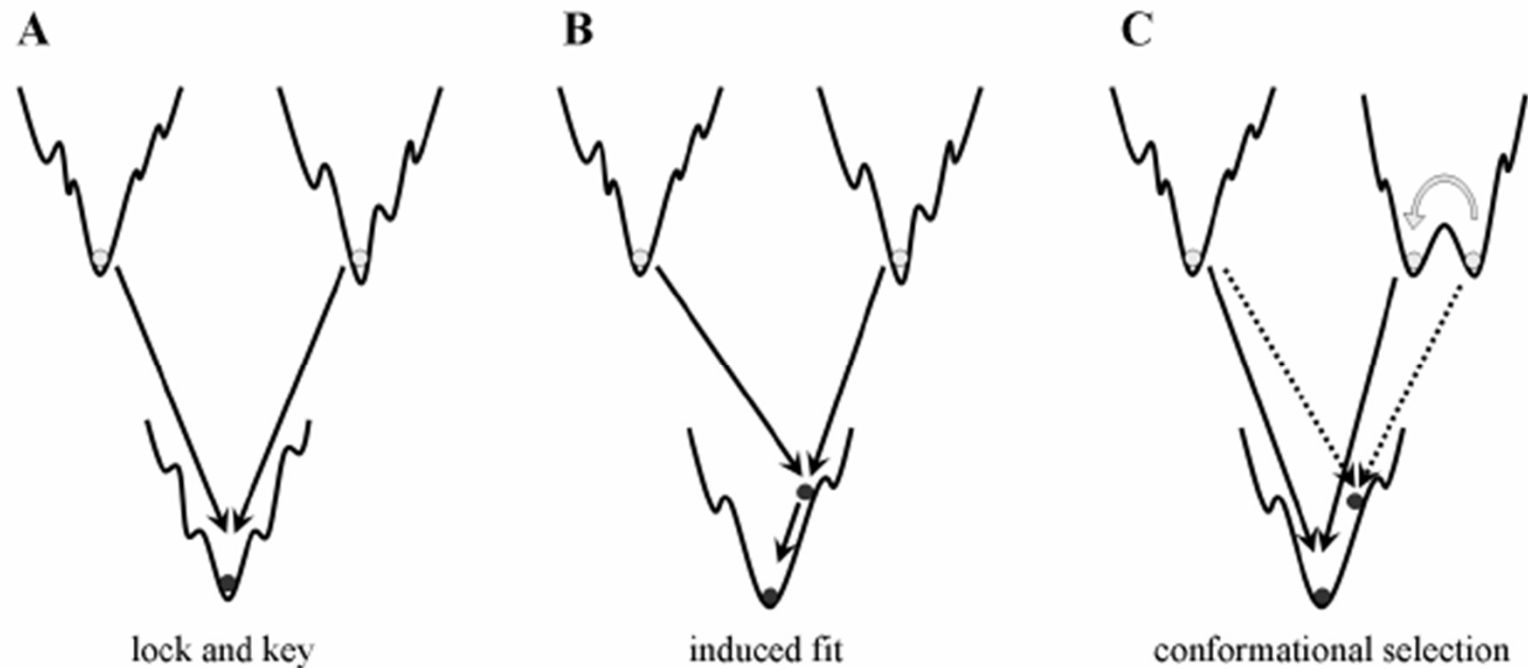


Figure 2: modes of molecular recognition in folded protein complexes

Rendezetlen fehérjék kölcsönhatásai

- **3000 Å²**
- **Smaller regions: <100 a.a., 30 a.a.**
- **70% are continuous segments**
- **hydrophobic-hydrophobic contacts**
- **higher conservation**

Rendezetlen kötőrégiók jóslása

Rendezetlen régióban

$$S_k = \frac{1}{N} \sum_{k \neq j=b_{lower}}^{b_{upper}} S_j \quad b_{lower} = \max(k-w_I; 1) \text{ and } b_{upper} = \min(k+w_I; l)$$

Nem tudnak elegendő kedvező kölcsönhatásokat kialakítani foldinghoz

$$E_i^{\text{int},k} = \sum_{j=1}^{20} P_{ij} f_j^k(w_2)$$

Kötőpartner jelenlétében viszont igen

$$E_i^{\text{glob}} = \sum_{j=1}^{20} P_{ij} \bar{f}_{\text{glob},j} \quad E_i^{\text{gain},k} = E_i^{\text{int},k} - E_i^{\text{glob}}$$

$$I_k = p_1 S_k + p_2 E_i^{\text{int},k} + p_3 E_i^{\text{gain},k}$$

Az ANCHOR tréningje

anchor.enzim.hu

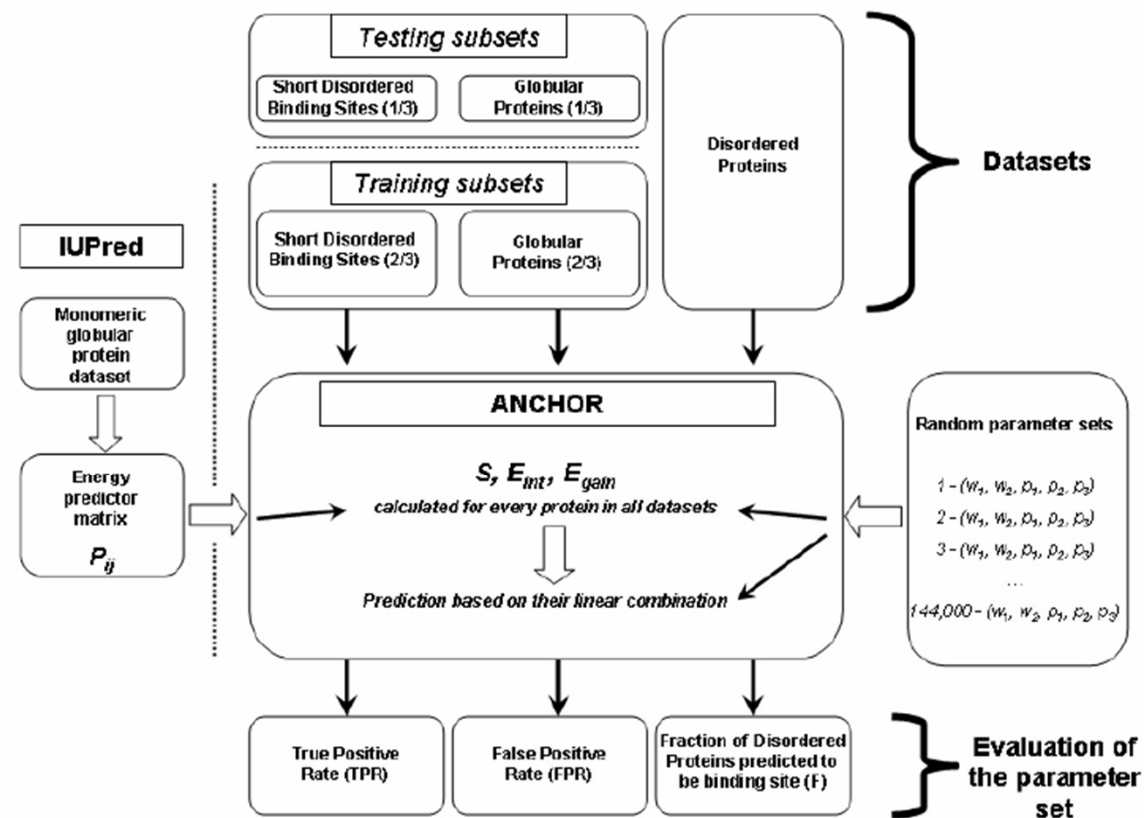
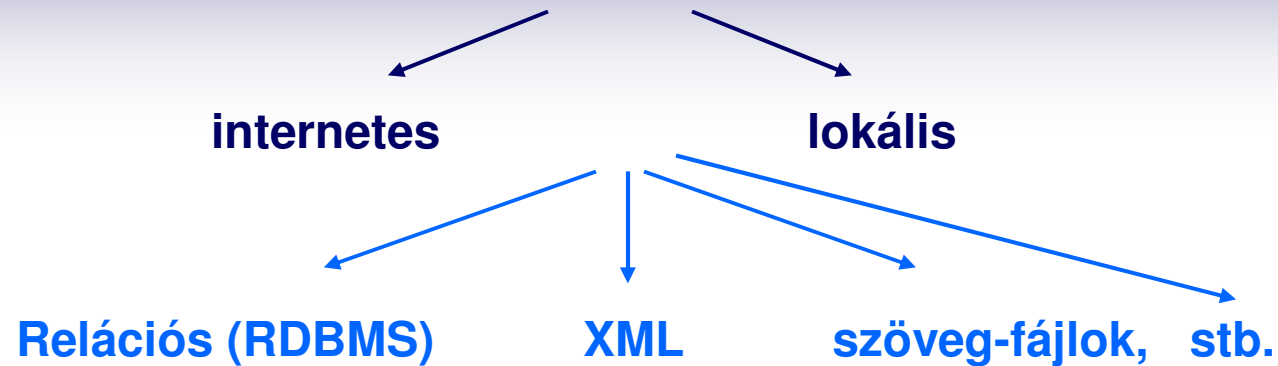


Figure 5: Outline of the training of ANCHOR

Mai témák

- Bevezetés – a fehérje dinamika és a szimulációk jelentősége
- Fehérjék jellemzése bioinformatikai eszközökkel
- Informatikai eszközök – biológus szempontból
 - adatbázisok
 - programok
 - programozási nyelvek
- Fehérjék dinamikájának modellezése
- Fehérjék feltekeredésének szimulációja

Adatbázisok I.



Internetes adatbázisok előnyei:

- Mások tartják karban (frissítés és annotálás)
- Máshol foglal erőforrásokat
- Általában több helyen elérhető (hardware hiba toleráns)

Hátrányai:

- Mások tartják karban
- Adott eszköztár
- Lassú elérés

Adatbázisok II.

Lokális adatbázisok:

- RDMBS
- fájlok

Előnyei:

- lokális
- gyors elérés
- adott verzió (kézirat!)
- „akármilyen” szoftverrel használható

Hátrányai:

- lokális
- erőforrás-igény
- hozzáértés-igény

Adatbázisok III.

The image shows the EMBL-EBI Search homepage. At the top, there's a navigation bar with links like Databases, Tools, EBI Groups, Training, Industry, About Us, Help, Site Index, and a RSS feed icon. Below this is a search bar with a dropdown menu set to 'All Databases', a text input field, and buttons for 'Go', 'Reset', and 'Give us feedback'. A secondary navigation bar includes 'Quick Search', 'Library Page', 'Query Form', 'Tools', 'Results', 'Projects', 'Views', 'Databanks', and a 'HELP' button.

The main content area is divided into several sections:

- Search Options:** Includes instructions for selecting databanks and entering search terms. It features buttons for 'Standard Query' and 'Extended Query', and a 'Browse E' button.
- Available Databanks:** A list of databases with expand/collapse controls and a 'Show databanks tooltips' checkbox. The visible list includes:
 - Literature, Bibliography and Reference Databases
 - Gene Dictionaries and Ontologies
 - Nucleotide sequence databases
 - Other databases
 - User owned databases
 - Application result databases
 - EMBOSS result databases
 - EMBLCDSD Grouped By
- Tips:** A section with links for bookmarking and linking to SRS.
- BookMarkLets:** A section with links for 'About BookMarkLets', 'Protein Seq', 'DNA/RNA Seq', and 'Structures'.

A large blue rectangular overlay is positioned in the center of the page, containing the text 'NCBI, NIH PubMed' in yellow. To the right of this overlay, the text 'f90' and 'Matches' are visible. At the bottom of the page, there is a footer with links for 'Terms of Use', 'Feedback & Support', and copyright information for SRS Release 7.1.3.2, dated 1997-2003.

<http://srs.ebi.ac.uk>

Szekvencia fájl formátumok

FASTA

```
>CFTR_HUMAN | P13569 | Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator...
MQRSPLEKASVSKLFFSWTRPILRKGYRQRLELSDIYQIPSVDSADNLSEKLEREWDRE
LASKKNPKLINALRRCCFFWRFMFYGIFLYLGEVTKAVQPLLLGRIIASYDPDNKEERSIA
IYLGIGLCLLFIVRTLTLHPAIFGLHHIGMQMRIAMFSLIYKKTLKLSSRVLDKISIGQL
VSLLSNNLNKFDDEGLALAHFVWIAPLQVALLMGLIWELLQASAFGLGLFLIVLALFQAGL
GRMMMKYRDQRAGKISERLVITSEMIENIQSVKAYCWEEAMEKMIENLRQTELKLTRKAA
... DTRL
```

PIR

```
>P1;CRAB_ANAPL
ALPHA CRYSTALLIN B CHAIN (ALPHA(B)-CRYSTALLIN) .
  MDITIHNPLI RRPLFSWLAP SRIFDQIFGE HLQESSELLPA SPSLSPFLMR
  SPIFRMPSWL ETGLSEMRLE KDKFSVNLDV KHFSPEELKV KVLGDMVEIH
  GKHEERQDEH GFIAREFNRK YRIPADVDP L TITSSLSLDG VLTVSAPRKQ
  SDVPERSIPI TREEKPAIAG AQRK*
```

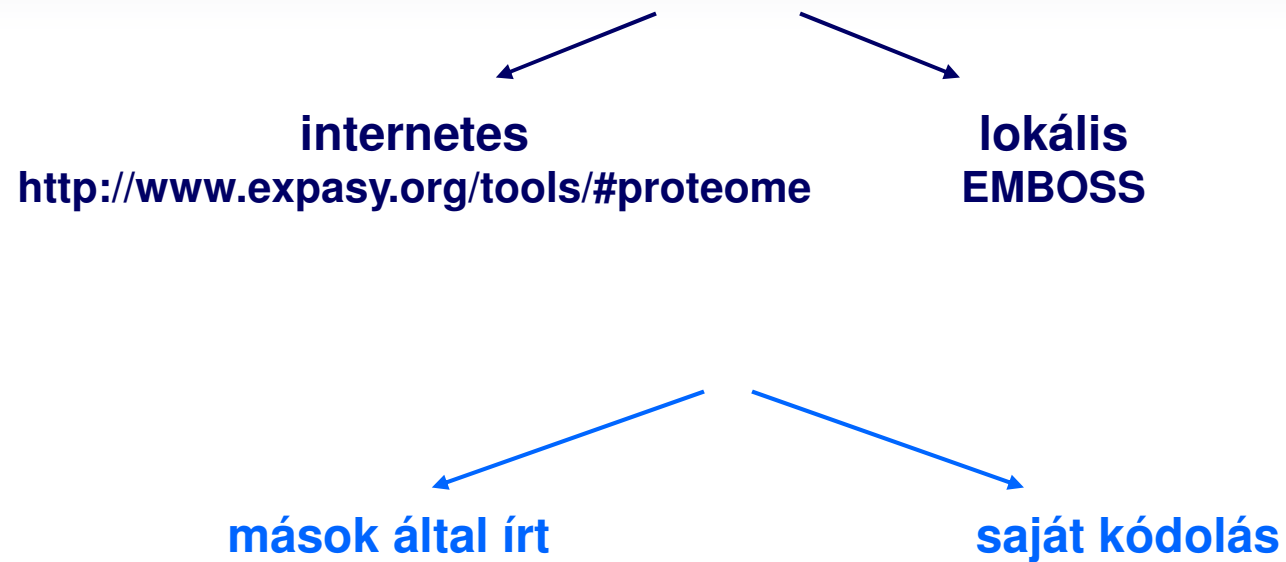

Szerkezeti, pdb fájl formátum

```

HEADER      MEMBRANE PROTEIN                      26-OCT-07   3B60
TITLE      CRYSTAL STRUCTURE OF MSBA FROM SALMONELLA TYPHIMURIUM WITH
...
ATOM       1  N   TRP  A  10      104.628 -32.601  66.108  1.00205.48      N
ATOM       2  CA  TRP  A  10      104.119 -32.609  64.706  1.00205.48      C
ATOM       3  C   TRP  A  10      103.171 -31.436  64.470  1.00205.48      C
ATOM       4  O   TRP  A  10      102.922 -30.633  65.393  1.00205.48      O
ATOM       5  CB  TRP  A  10      103.367 -33.919  64.430  1.00205.48      C
ATOM       6  CG  TRP  A  10      102.940 -34.096  62.995  1.00205.48      C
ATOM       7  CD1 TRP  A  10      103.750 -34.347  61.925  1.00205.48      C
ATOM       8  CD2 TRP  A  10      101.605 -34.018  62.477  1.00205.48      C
ATOM       9  NE1 TRP  A  10      103.004 -34.430  60.774  1.00205.48      N
ATOM      10  CE2 TRP  A  10      101.684 -34.229  61.083  1.00205.48      C
ATOM      11  CE3 TRP  A  10      100.349 -33.784  63.055  1.00205.48      C
ATOM      12  CZ2 TRP  A  10      100.555 -34.220  60.256  1.00205.48      C
ATOM      13  CZ3 TRP  A  10          99.224 -33.775  62.232  1.00205.48      C
ATOM      14  CH2 TRP  A  10          99.338 -33.990  60.847  1.00205.48      C
ATOM      15  N   GLN  A  11      102.764 -31.247  63.200  1.00205.36      N
ATOM      16  CA  GLN  A  11      101.723 -30.228  63.006  1.00205.36      C
ATOM      17  C   GLN  A  11      102.262 -28.816  63.134  1.00205.36      C

```

Programok



Saját programok – programozási nyelvek

C/C++:	lassú fejlesztés ha sebesség kell; mégis ritkán tanácsolt
Script nyelv:	igen gyors fejlesztés bizonyos feladatokhoz igen lassú
Java:	lassú fejlesztés; általában a szükségelt csomag beta ☹

GUI

- Könyvtárak
- Olvashatóság, dokumentálhatóság
- Objektum orientáltság
- Több fejlesztő: subversion vagy hasonló megoldások
- Egyéni száj-íz

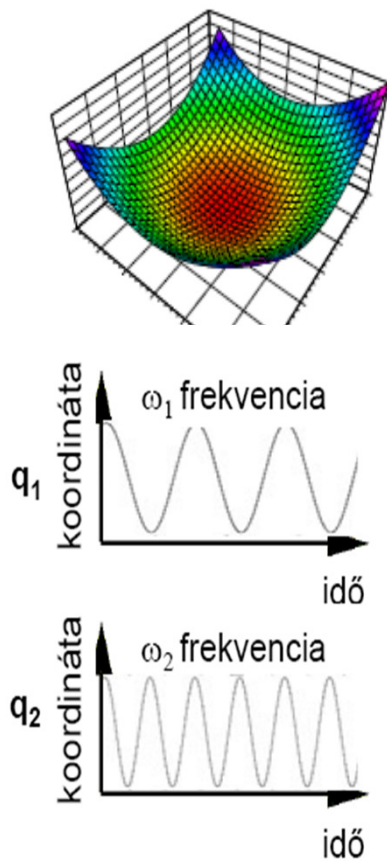
Mai témák

- **Bevezetés – a fehérje dinamika és a szimulációk jelentősége**
- **Fehérjék jellemzése bioinformatikai eszközökkel**
 - Másodlagos szerkezeti mintázatok jóslása
 - Rendezetlen fehérjék
 - Funkcionális régiók azonosítása
 - A harmadlagos és negyedleges szerkezet
- **Informatikai eszközök – biológus szempontból**
 - Adatbázisok
 - programok
 - programozási nyelvek
 - operációs rendszerek
- **Fehérjék dinamikájának modellezése**
- **Fehérjék feltekeredésének szimulációja**

Fehérje dinamika vizsgálata

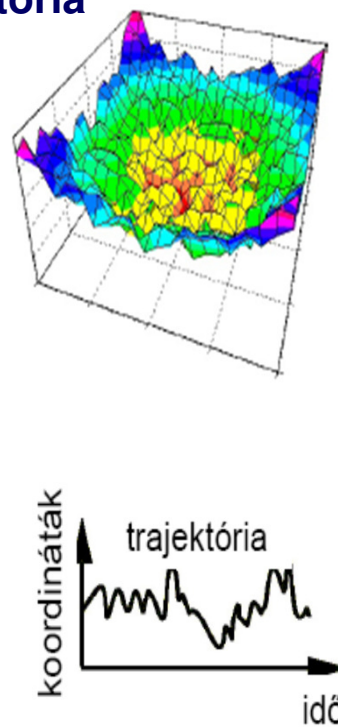
Normál-módus elemzés

- harmonikus potenciál
- analitikus mozgásegyenletek
- normál módusok



Molekuláris dinamika (MD)

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



A „force field“ - I.

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

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

TABLE I. Solvation Parameters[†]

Atom types ^a	Volume	$\Delta G_1^{\text{ref b}}$	$\Delta G_1^{\text{free c}}$	$\Delta H_1^{\text{ref b}}$	$\Delta C p_1^{\text{ref d}}$
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)

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

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

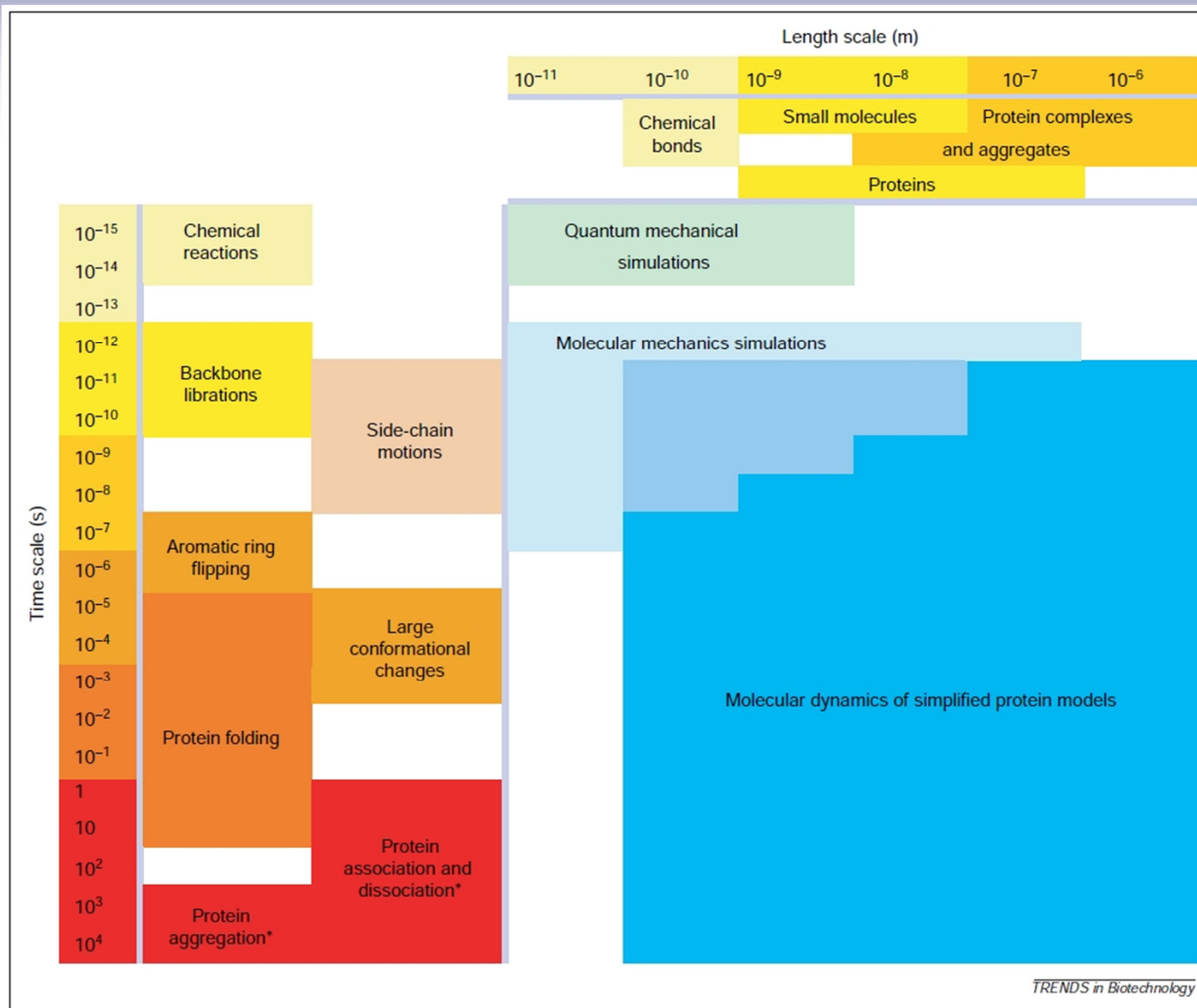
TABLE II. Atomic Contribution to the Solvation Free Energy in Water and Cyclohexane

	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

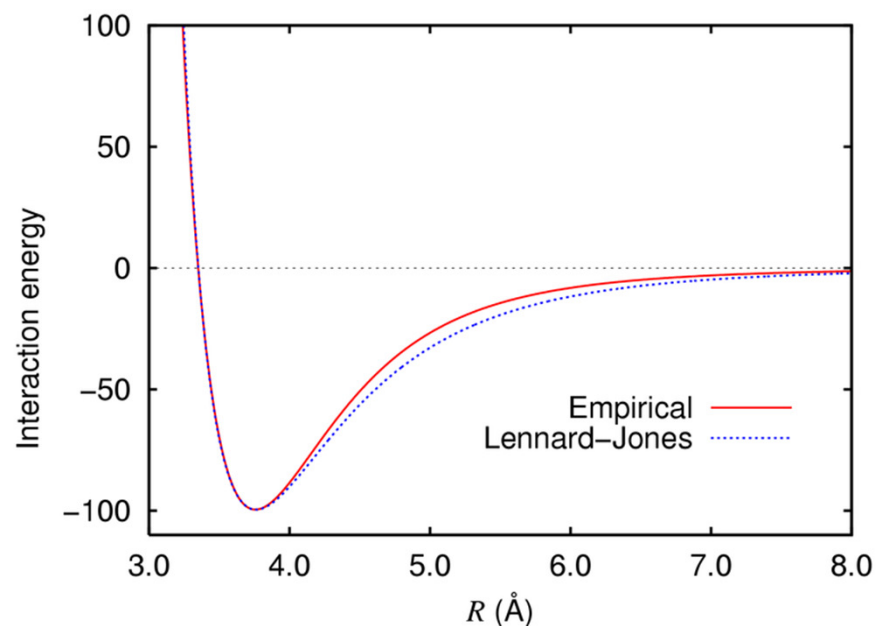
- idő (CPU, valós)
- potenciál kiszámolása a szűk keresztmetszet
- numerikus integrálás hibája
- fs-os integrációs lépések
- oldószer (explicit/implicit)
- „boundary condition”

„Események” időskálája

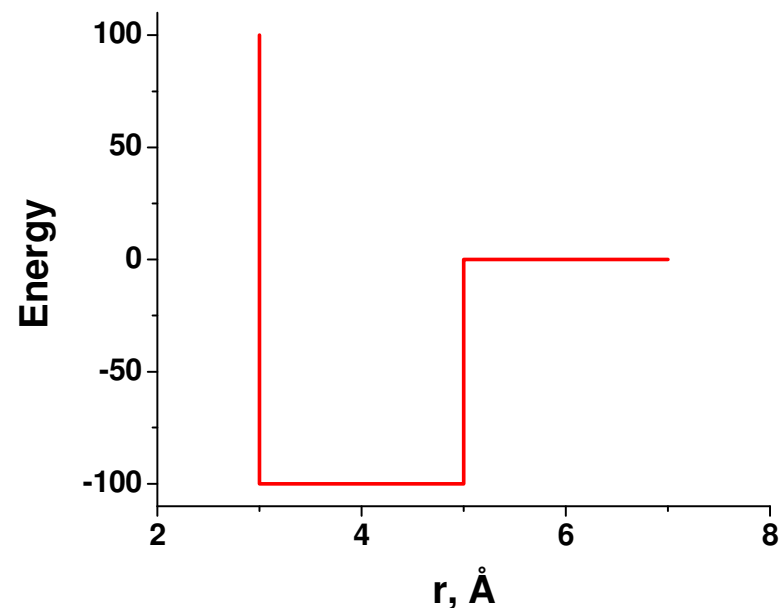


F. Ding and N.V. Dokholyan, TRENDS in Biotechnology, **23**:450 (2005)

Diszkrét Molekuláris Dinamika (DMD)



wikipedia



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

Egyszerűsített (Coarse Grain) modellek

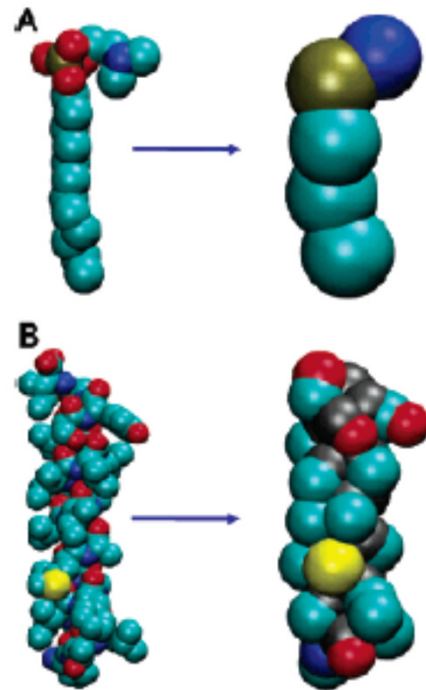
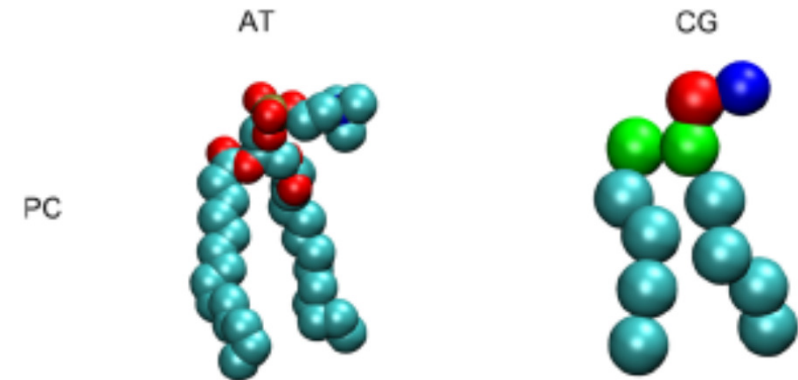


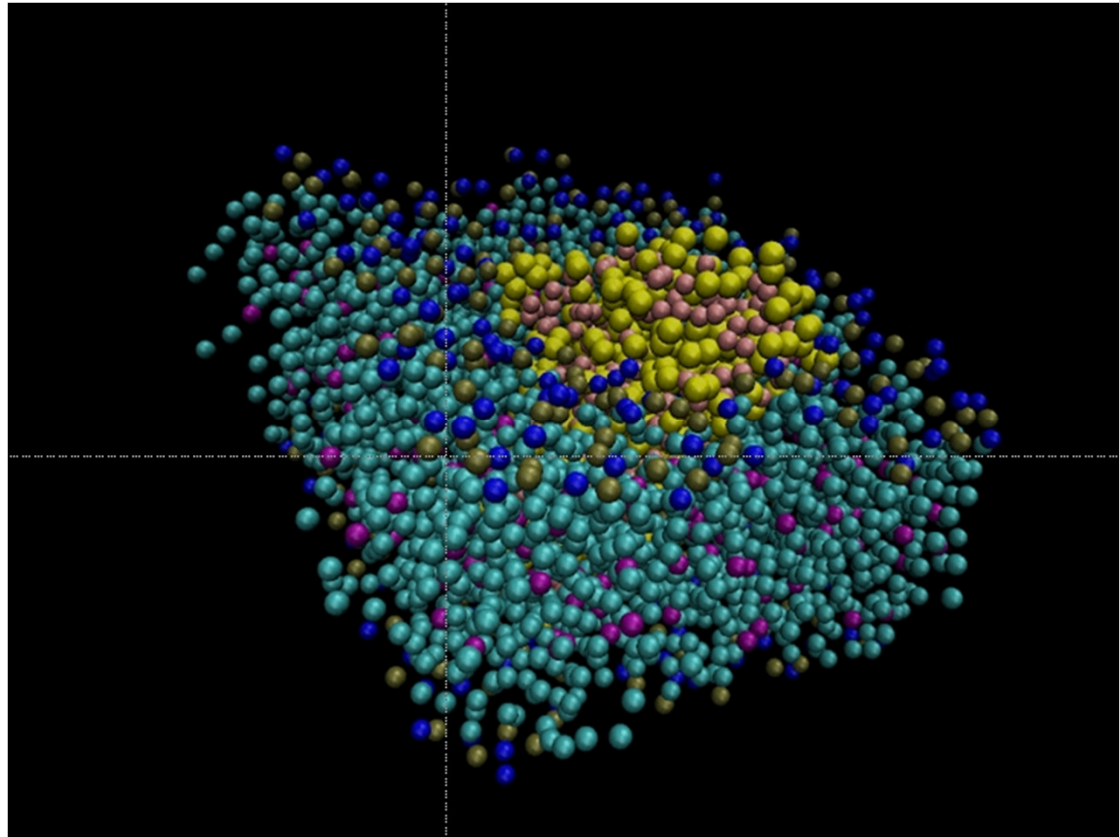
Figure 1. Atomistic (left-hand) and coarse-grained (right-hand) models compared for (A) a DPC molecule and (B) a GpA helix. Colors for atoms:



Bond, Sansom: **MARTINI**

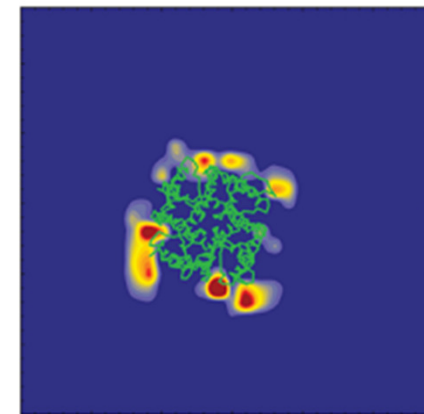
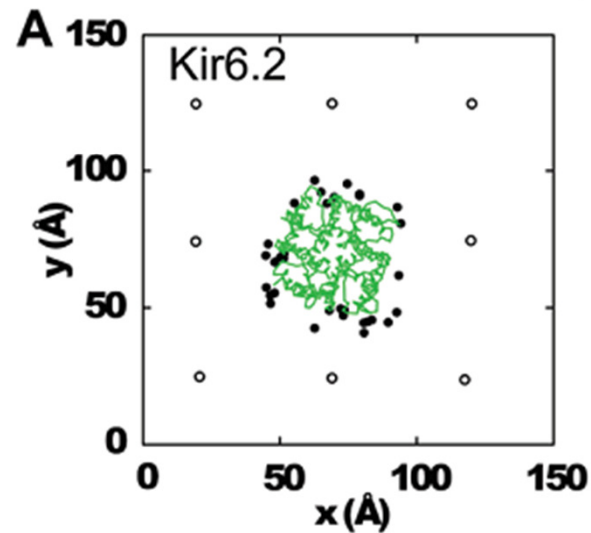
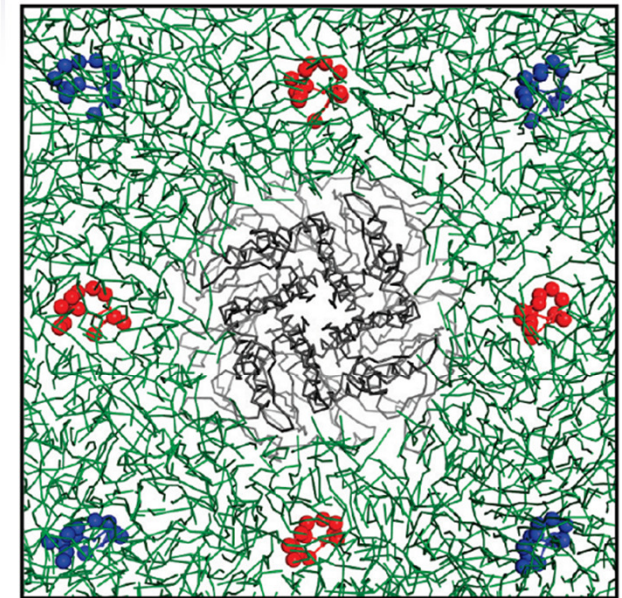
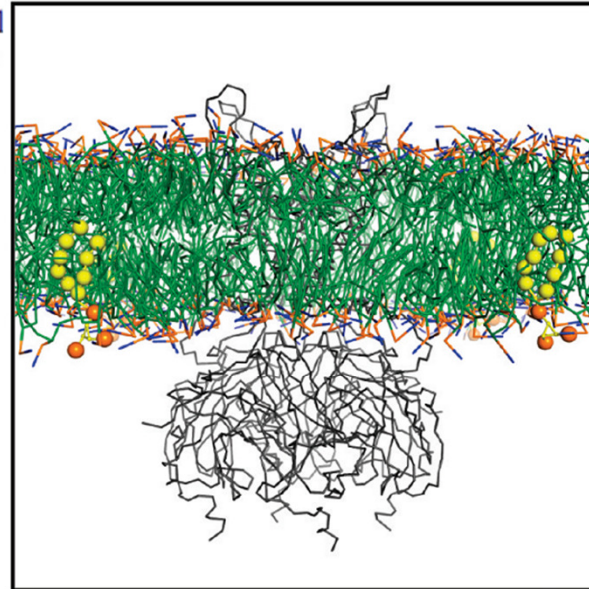
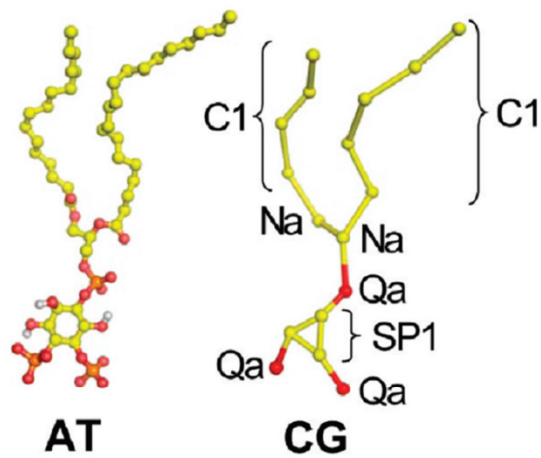
Fehérjére pl. 2 bead vagy 4+ bead modellek

Kettősréteg felépülése a fehérje köré



PIP2 kötődése Kir kálium csatornához

Biochemistry, Vol. 48, No. 46, 2009 1



Glikophorin A dimerizációja

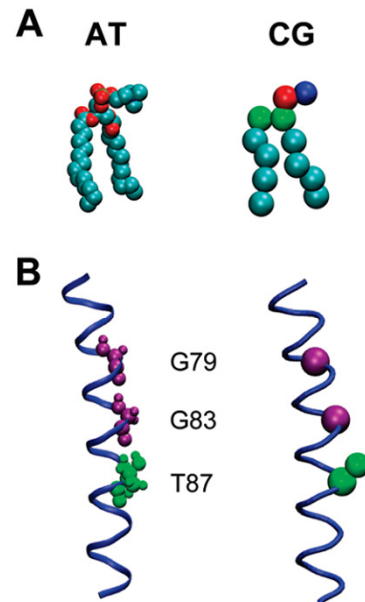


FIGURE 1. Atomistic (AT) and coarse-grained (CG) representations

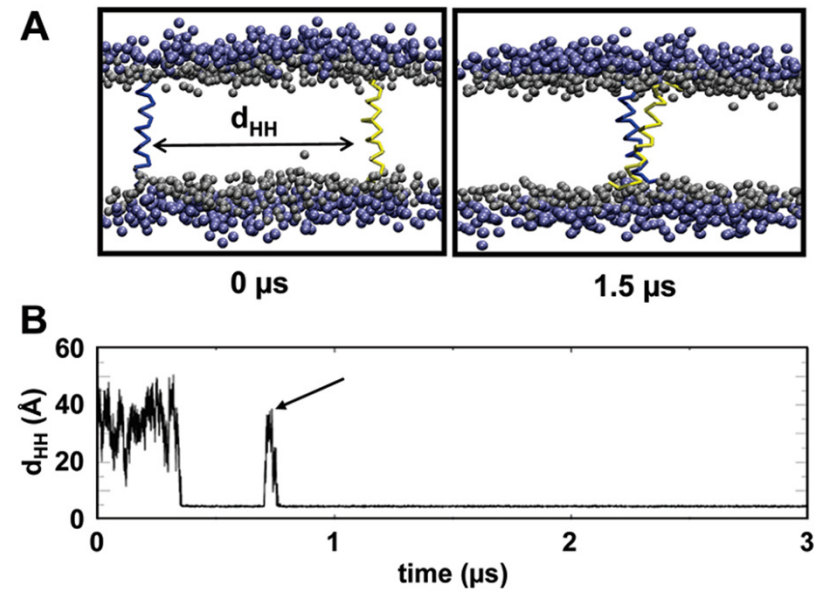
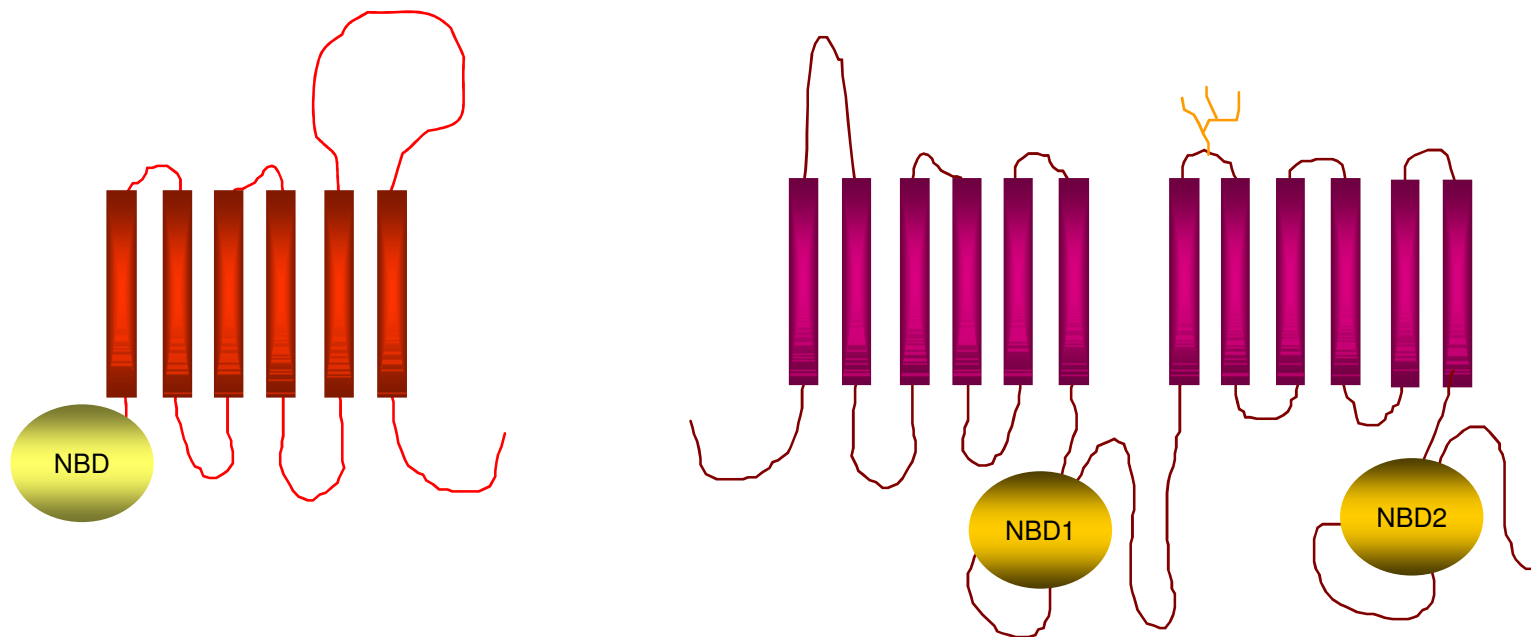
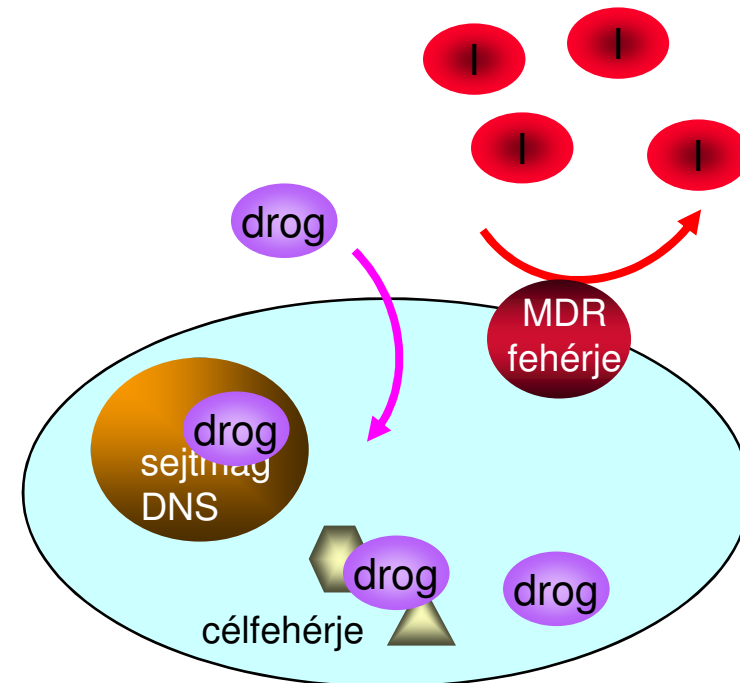
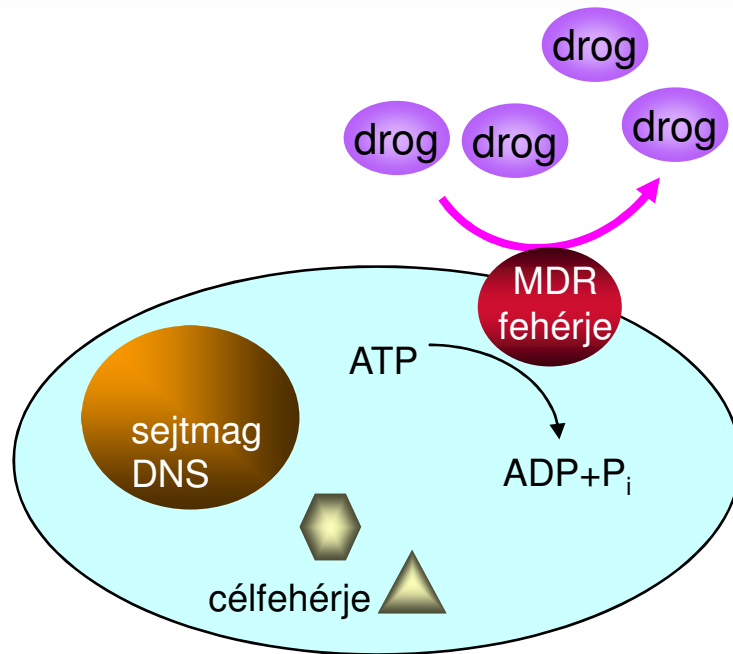


FIGURE 3. Coarse-grained GpA TM helix dimerization simulation.

ATP Binding Cassette (ABC) fehérjék



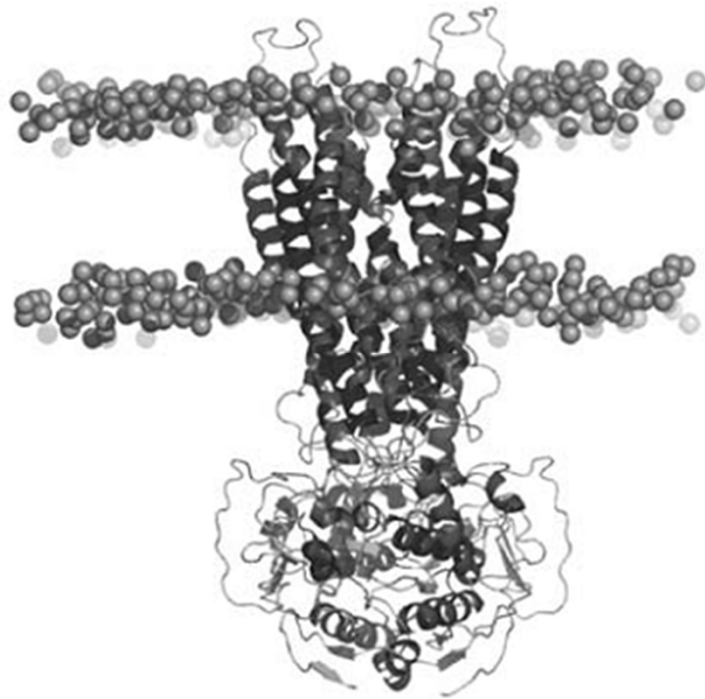
A multidrog-rezisztencia és felfüggesztése



Fehérjék konformációinak stabilitása

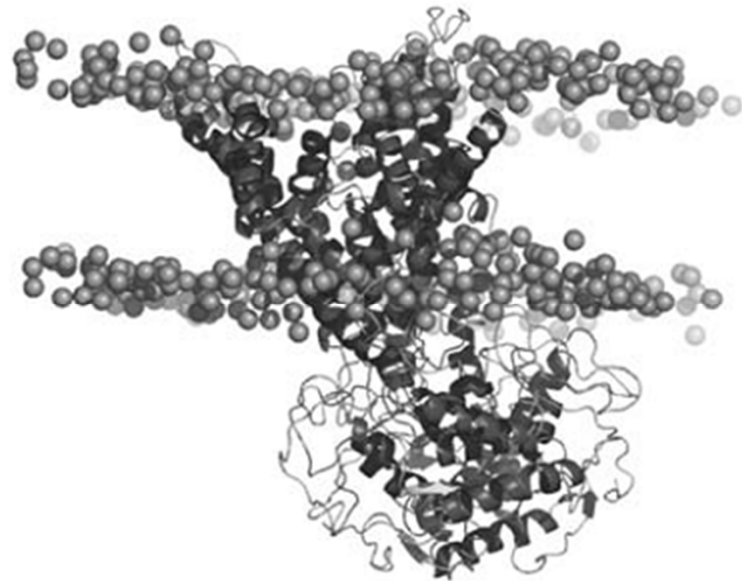
Eur Biophys J (2008) 37:403–409

B



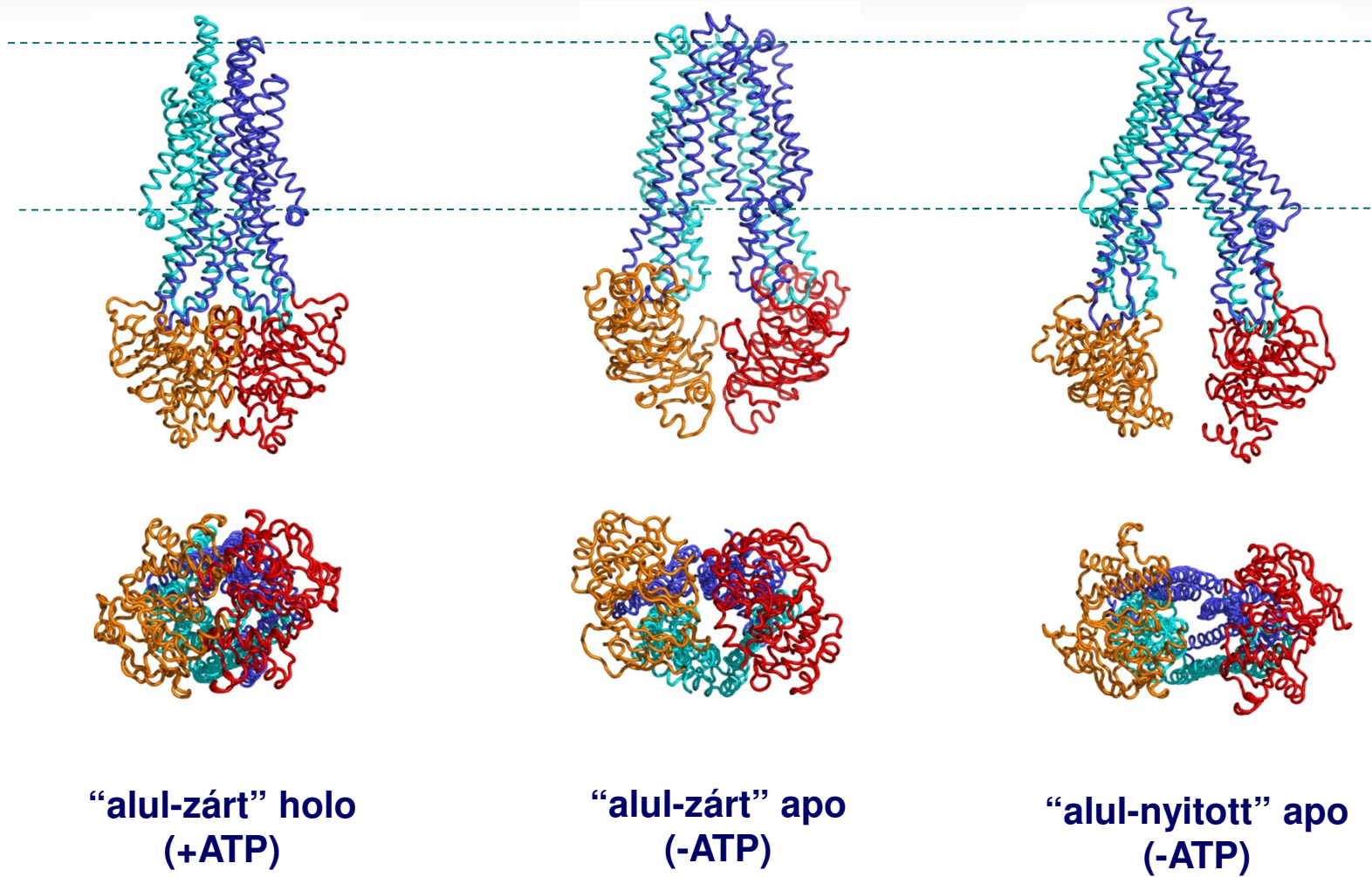
0 ns

C

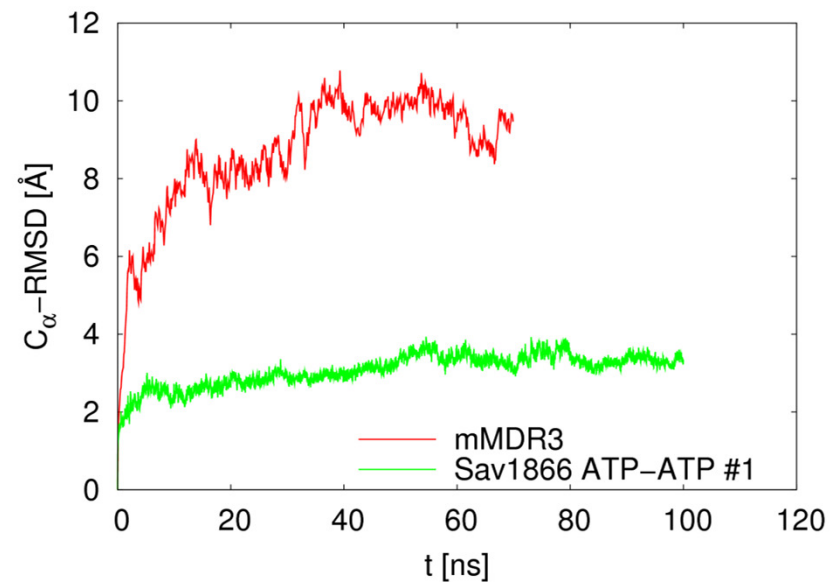
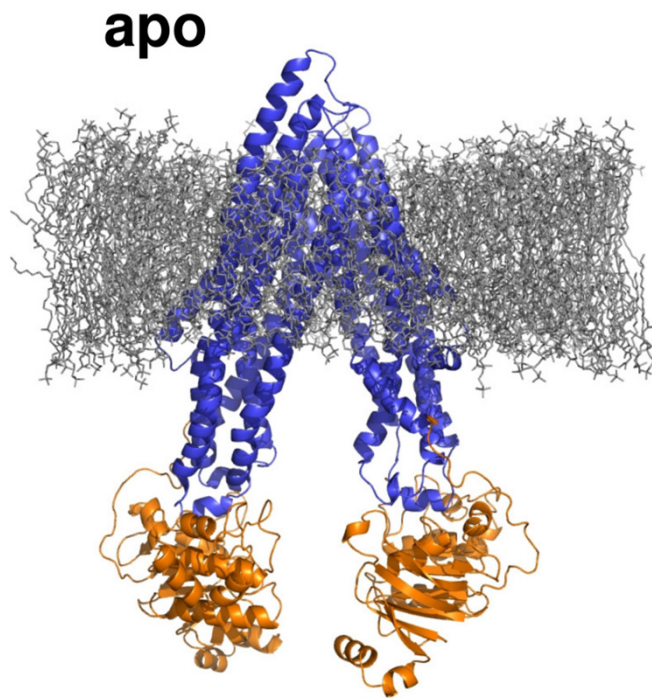


20 ns

ABC fehérjék konformációi

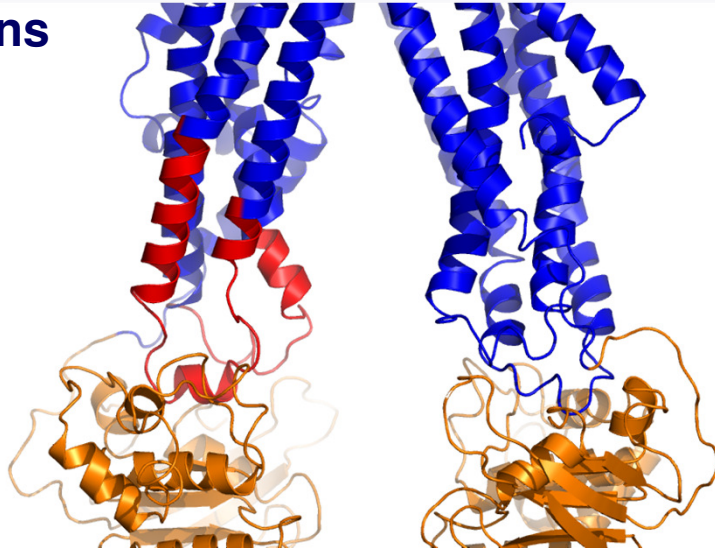


Az alul nyitott apo szerkezet nem stabil

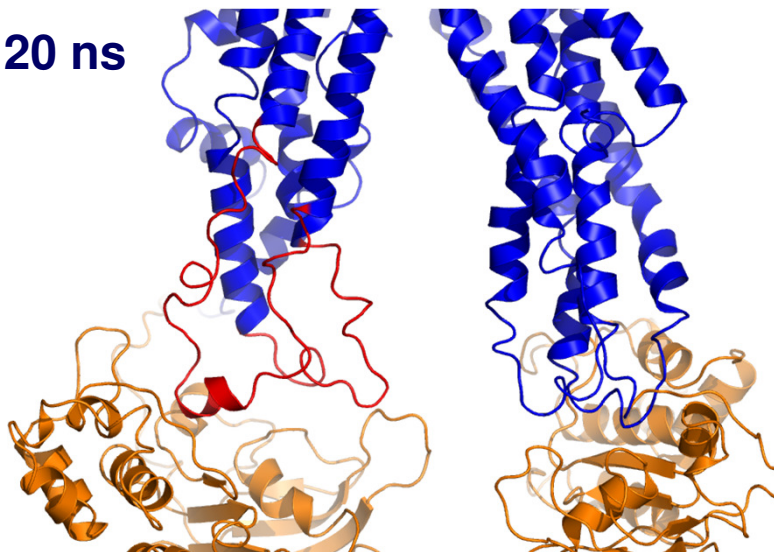


Az alul nyitott apo szerkezet nem stabil

t = 0 ns

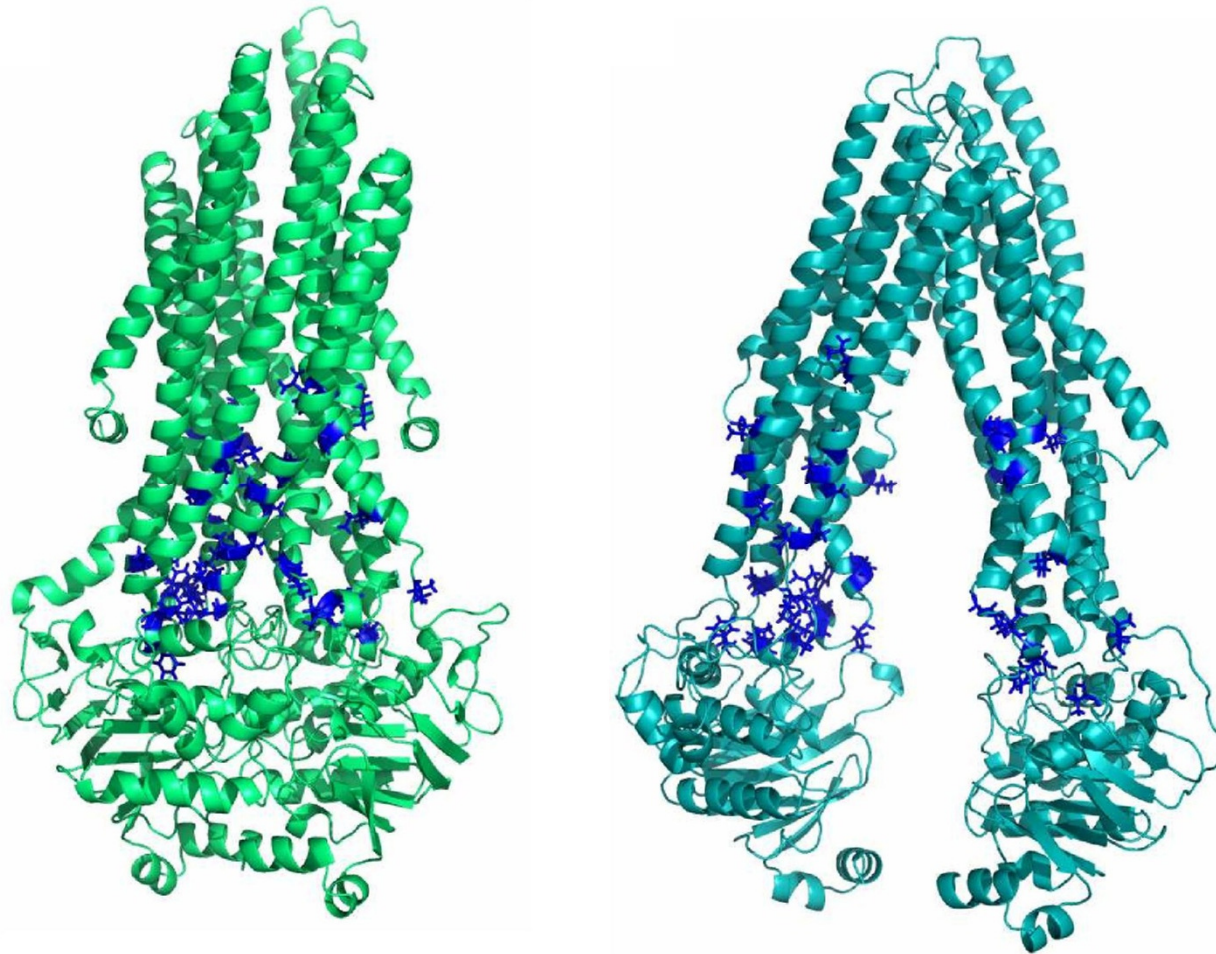


t = 20 ns



rendszer	megtartott hélixtartalom
Sav1866 ATP/ATP #1	90.04%
hMDR1 holo	91.84%
hMDR1 apo	64.30%
mMDR3	63.13%

Hidrofób aminosavak kerülnek felszínre

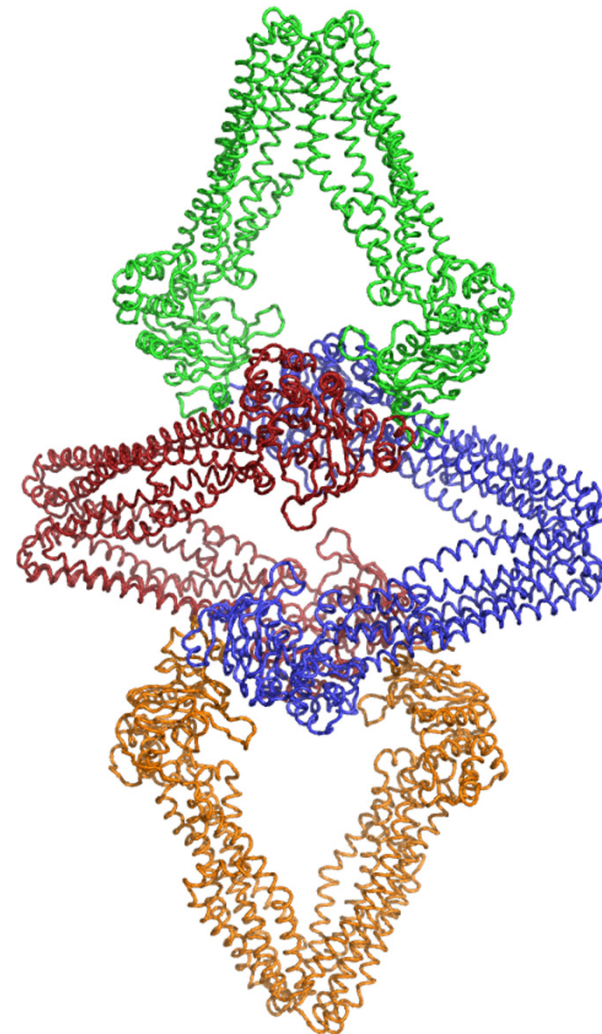


Alul nyitott apo szerkezet elemi cellája

mMDR3, PDBID:3G5U



MsbA, PDBID:3B5W

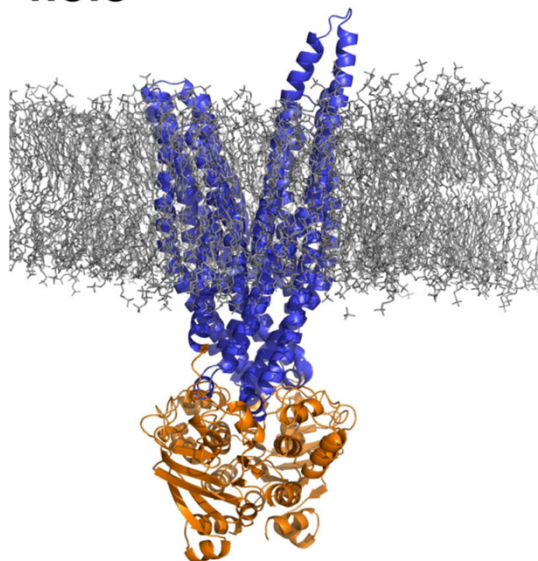


Események modellezése

- **Hogyan befolyásolja az ATP hidrolízise a fehérje dinamikáját?**
Pl. steered MD
- **Hogyan történik meg az átmenet az „alul-zárt” konformációból az „alul-nyitott” konformációba?**
Pl. targeted MD

Zárt-nyitott átmenet jellemzése molekuláris dinamikával

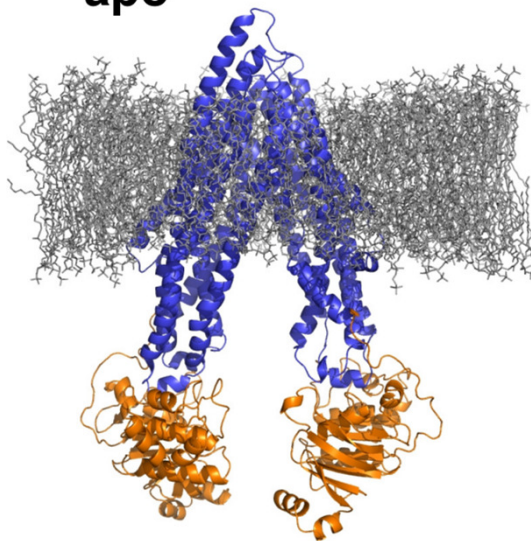
holo



hMDR1 homologia modell
(3x100 ns)

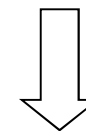
M. Wiese modellje

apo

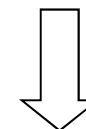


hMDR1 homologia modell
(100 ns)

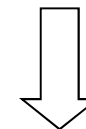
**molekularis dinamika
trajektóriák**



**Esszenciális
dinamika**

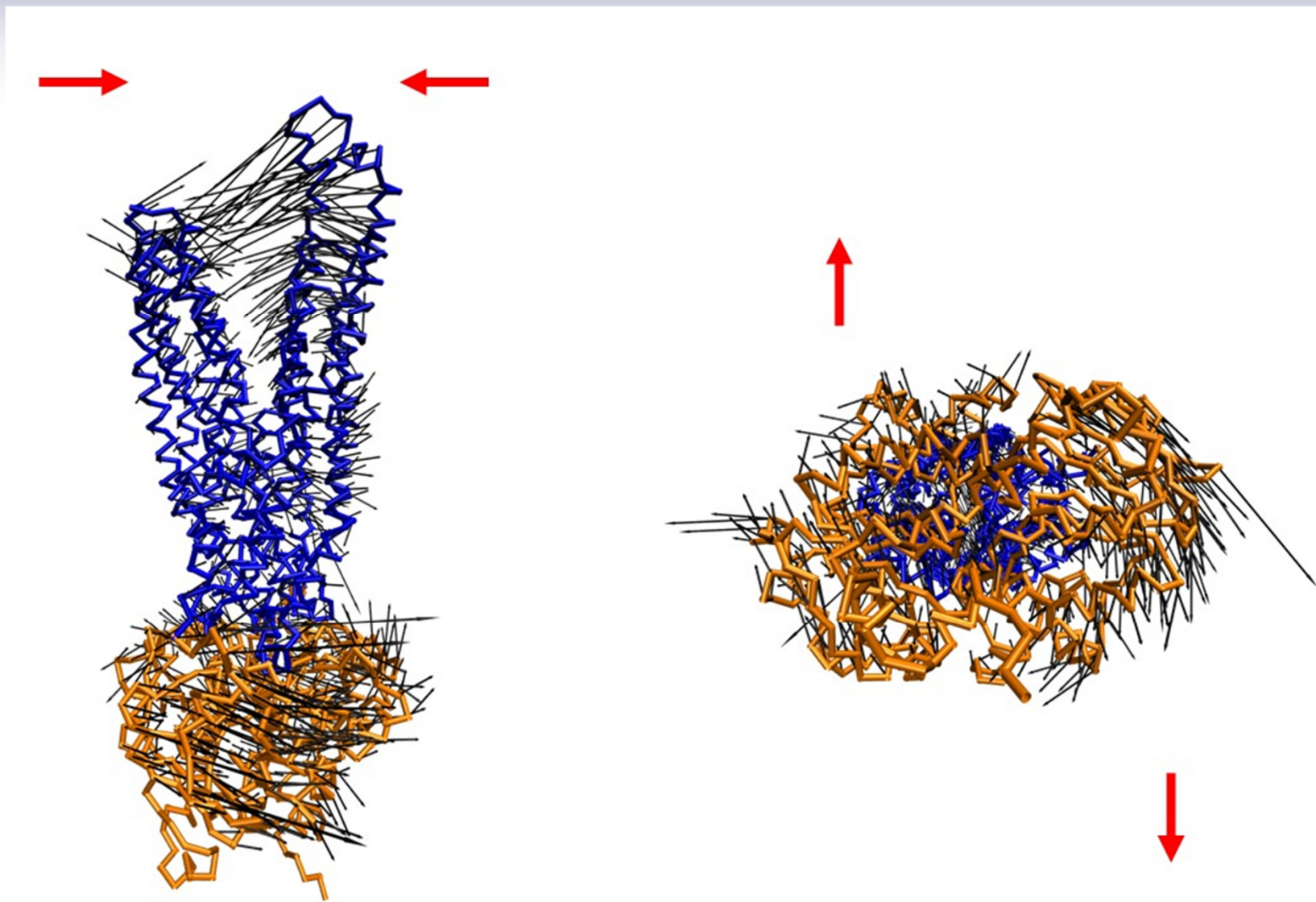


módus kiválasztás



kollektív mozgások

Zárt-nyitott átmenet

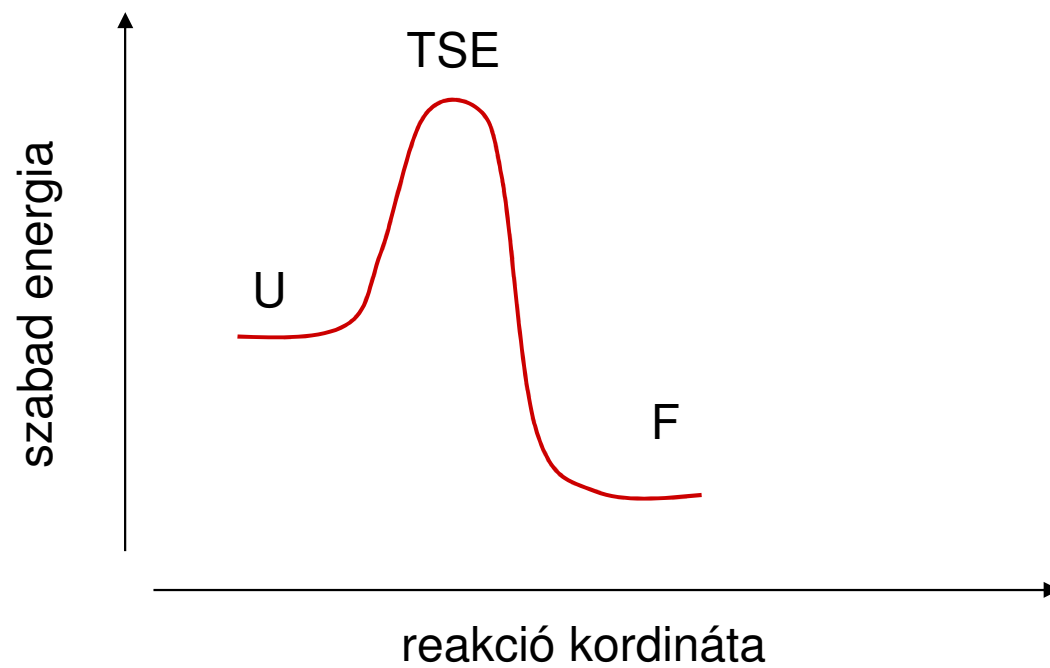


Mai témák

- **Bevezetés – a fehérje dinamika és a szimulációk jelentősége**
- **Fehérjék jellemzése bioinformatikai eszközökkel**
- **Informatikai eszközök – biológus szempontból**
- **Fehérjék dinamikájának modellezése**
- **Fehérjék feltekeredésének szimulációja**

Fehérje feltekeredés

Levinthal paradoxon



nukleáció

Fehérje stabilitás I.

Konformációs stabilitást elősegítik:

- Hidrofób kölcsönhatások
- Intramolekuláris H-híd kötések
- Intramolekuláris ionos kölcsönhatások
- Intramolekuláris van der Waals kölcsönhatások
- Intramolekuláris diszulfid hidak

Destabilizáló tényezők:

- H-híd az oldószerrel
- Van der Waals kölcsönhatás az oldószerrel
- Az ionos csoportok solvatációja
- entrópia

Fehérje stabilitás II.

A fehérje stabilitás nem ér el maximális értéket.

Erre utalnak:

**termofil baktériumok fehérjéi;
igen stabil, tervezett fehérjék.**

Ennek okai lehetnek:

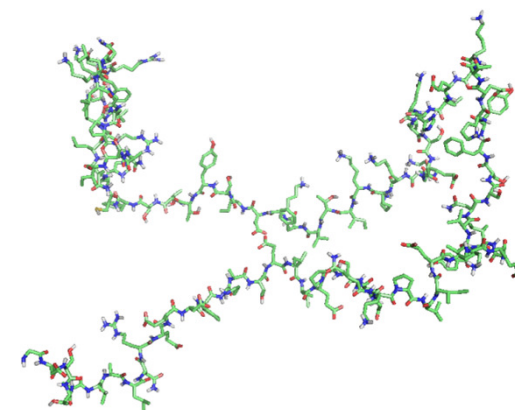
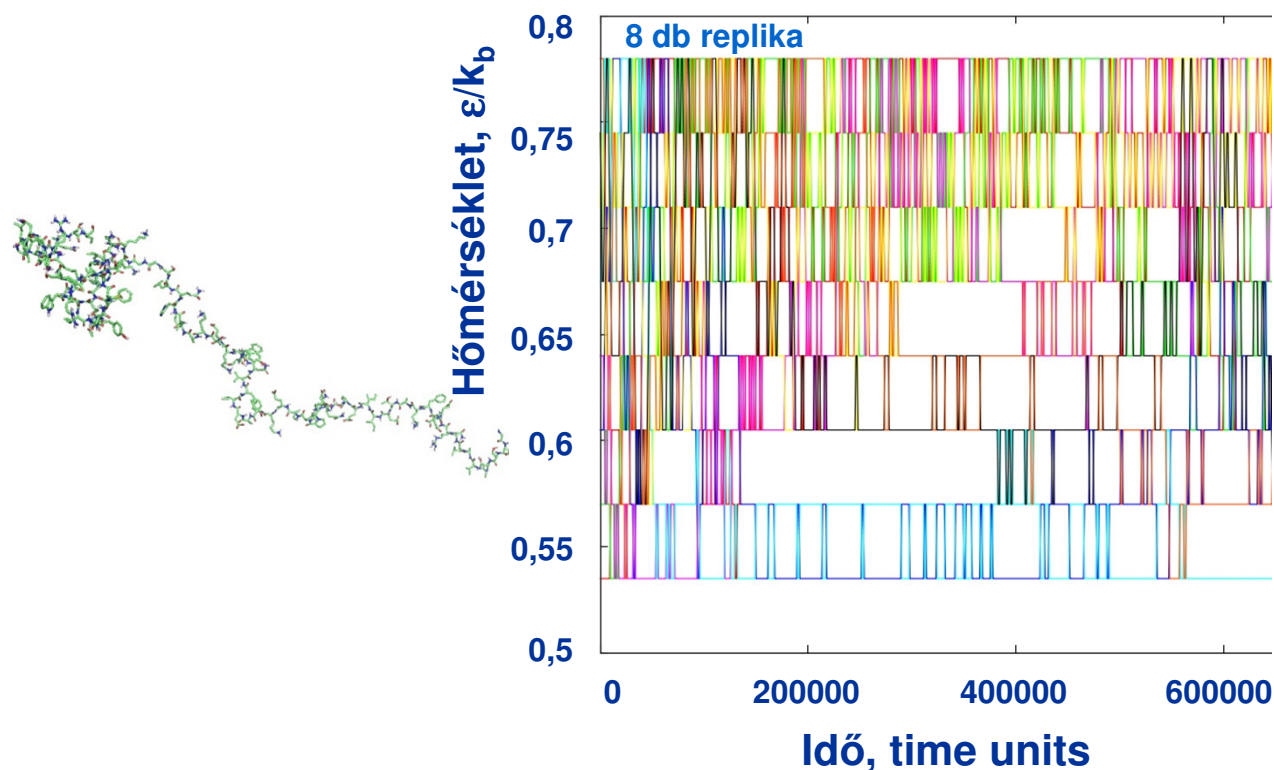
**az evolúció nem igényel stabilabb fehérjét mint a funkció önmaga;
a fehérjéknek le is kell bomlaniuk;
a funkcióhoz flexibilitás szükséges.**

**Folding szimulációk során mi az abszolút energiaminimumot
(maximum stabilitást) keressük.**

Fehérje feltekeredés szimulációja – I.

All atom force-field:

Potenciál függvény számolása erőforrásigényes
Reprezentatív konformációs mintavételezés problémás
Umbrella sampling, replica exchange.



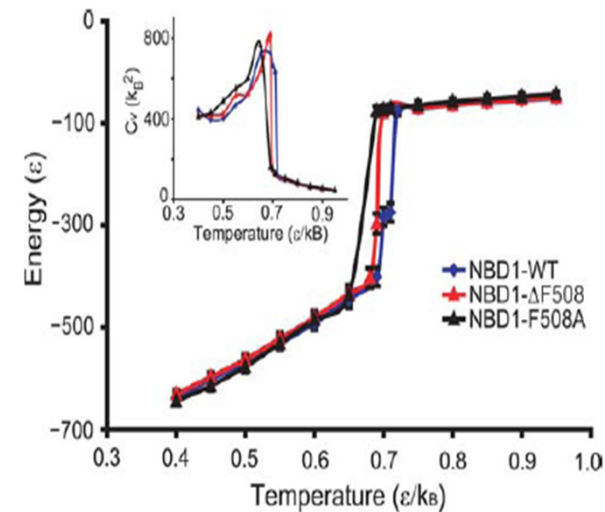
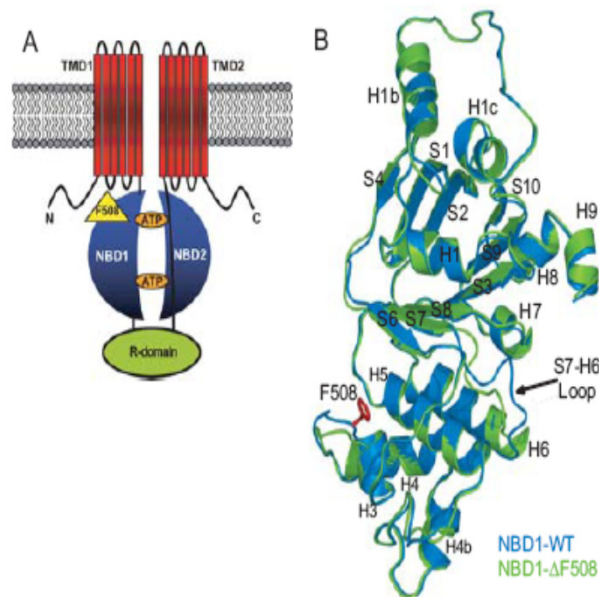
Fehérje feltekeredés szimulációja – II.

Coarse grained, Gō-model:

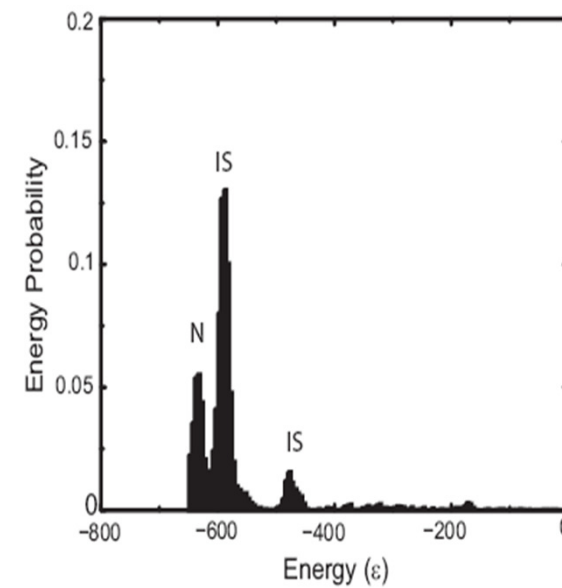
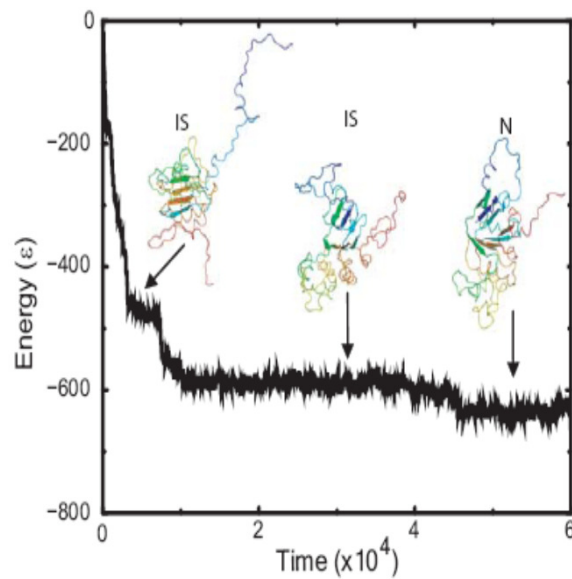
- Egyszerű, szerkezetből származtatott, nem átvihető potenciál függvény
- Egyszerűsített fehérje reprezentáció

CFTR NBD1 : 4+ bead model

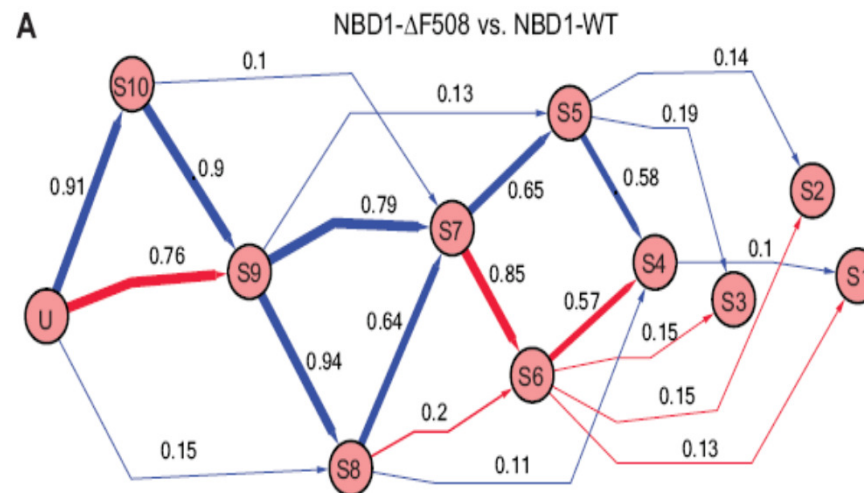
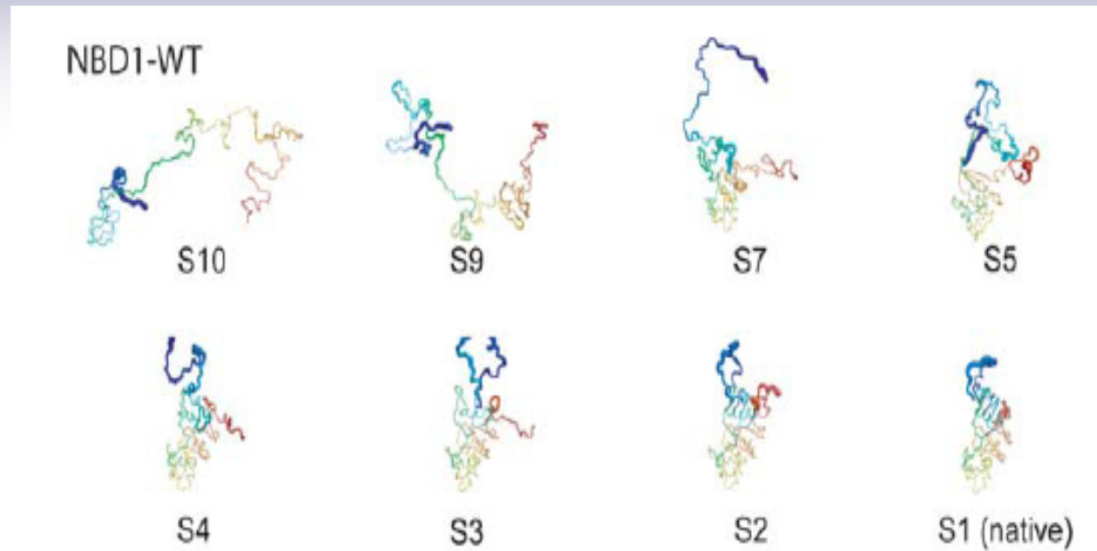
Serohijos *et al.* 2008 PLoS Computational Biology, 4:e10000008



Köztes állapotok azonosítása

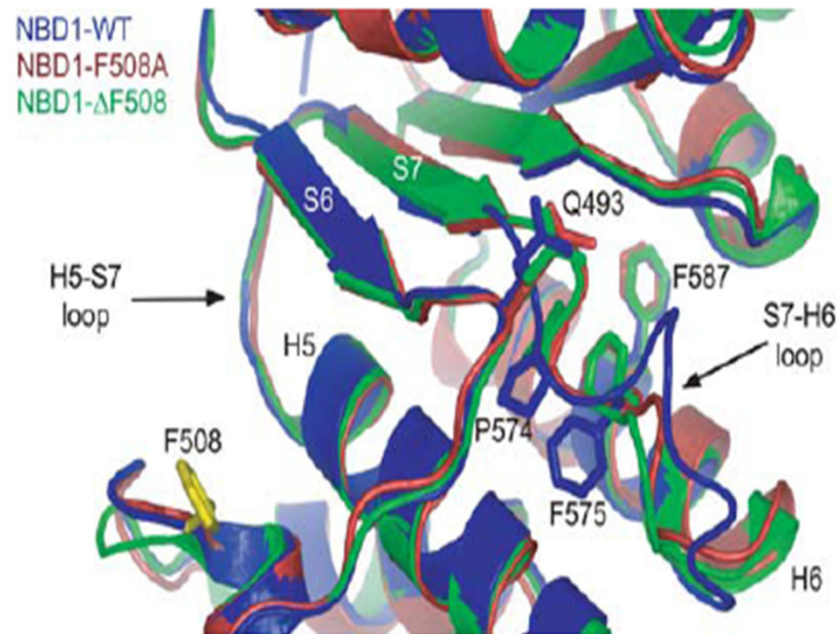


Köztes állapotok közötti átmenetek jellemzése



Különbségek a vad típusú és mutáns domén feltekeredésében

Gyógyszer célpont azonsítása



Összefoglalás

- **Bevezetés – a fehérje dinamika és a szimulációk jelentősége**
- **Fehérjék jellemzése bioinformatikai eszközökkel**
- **Informatikai eszközök – biológus szempontból**
- **Fehérjék dinamikájának modellezése**
- **Fehérjék feltekeredésének szimulációja**

Köszönetnyilvánítás

www.hegelab.org

Tordai Hedvig
Sarankó Hajnalka

Tóth Attila
Jakab Kristóf
Szöllősi Dániel

Erdei Áron
Erdős Gábor
Harmat Zita

Sarkadi Balázs

MTA-SE Membránbiológiai Kutatócsoport

Kellermayer Miklós

SE Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet