

Fehérjék szerkezete, dinamikája, és drog-kölcsönhatásai *in silico* megközelítésben

Hegedűs Tamás

tamas@hegelab.org

MTA-SE Membránbiológiai Kutatócsoport
SE Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet



BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Egy mintában levő H-ek protonjaihoz
rendelhető saját mágneses momentumok
hogyan orientálódnak a tér irányához képest?
Melyik orientációhoz tartozik nagyobb
valószínűség?

Mai témák

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

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Fehérjék dinamikájának jelentősége

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

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

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Számítógépes modellezés jelentősége

Atomi szintű információt ad történésekről (pl. mozgás, kötődés).

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

Pl. NMR és MD - igen

Mai témák

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

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. Pl. hidrofób aminosavak klasztereződése

Strukturálisan igen flexibilisek.

Nincs kompakt globuláris hajtogatódás, reziduális szerkezet.

Megdőlt a paradigma,
mely szerint 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?	Entropikus lánc: Effektor: Scavengers: Összeszerelődés: Bemutató felület:	K+ csatorna inaktiválása peptid inhibitorok kazein calmodesmon, F-aktin foszforilációs és proteolitikus helyek

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Rendezetlen fehérjék III.

A rendezetlenség jóslása

Tanuló algoritmusok
PDB-ben előforduló
rendezetlen fehérjék szekvenciája alapján

Disopred2

Kölcsönhatási energiák becslése

IUPred.enzim.hu

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

K. Dunker – Indiana University

Tompa Péter – Brüsszel és MTA TTK

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

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>)

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

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

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Szekvencia-illesztés

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

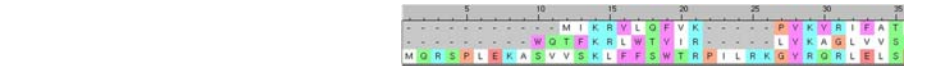
	Ala	Arg	Asn	Asp	Cys	Gln	Glu	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val
Ala	4																			
Arg	-1	5																		
Asn	-2	0	6																	
Asp	-2	-2	1	6																
Cys	0	-3	-3	-3	9															
Gln	-1	1	0	0	-3	5														
Glu	-1	0	0	2	-4	2	5													
Gly	0	-2	0	-1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

Ala Arg Asn Asp Cys Gln Glu Gly His Ile Leu Lys Met Phe Pro Ser Thr Trp Tyr Val

CLUSTAL W (1.83) multiple sequence alignment

Alignement – pl. ClustalW

2HYD	-----MIKKRYLQFV-----PKYRIFATIIVGIGIKFPGIMPLI
3B5X	-----WQTFKRLWTYIR-----LYKAGLVVSTIALVINAAADTYMI
CFTR_HUMAN	MQRSPLEKASVSVKLFSSWTRPILRKGYRQRLESDIYQIPSVDSADNLS
	* : : * : : * : : *



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

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Negyedleges szerkezet

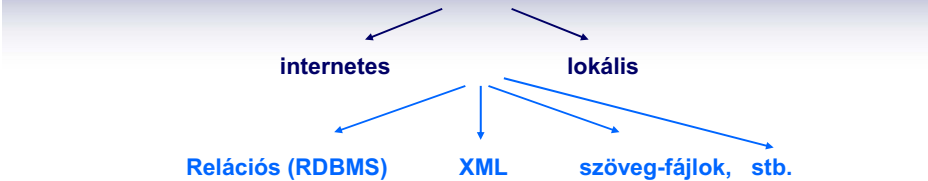
**Fehérje-fehérje dokkolás – rendkívül nehéz feladat
(felületek leírása, dinamika)**

PISA - Protein Interfaces, Surfaces and Assemblies
PIPER
Molecular Dynamics

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

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

Adatbázisok I.



Internetes adatbázisok előnyei:	Hátrányai:
--	-------------------

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> ➤ Mások tartják karban (frissítés és annotálás) ➤ Máshol foglal erőforrásokat ➤ Általában több helyen elérhető (hardware hiba toleráns) | <ul style="list-style-type: none"> ➤ Mások tartják karban ➤ Adott eszköztár ➤ Lassú elérés |
|---|---|

Internetes adatbázisok előnyei:	Hátrányai:
--	-------------------

- | | |
|---|------------------------|
| ➤ Mások tartják karban (frissítés és annotálás) | ➤ Mások tartják karban |
| ➤ Máshol foglal erőforrásokat | ➤ Adott eszköztár |
| ➤ Általában több helyen elérhető | ➤ Lassú elérés |

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Adatbázisok II.

Lokális adatbázisok:

- RDMBS
- fájlok

Előnyei:

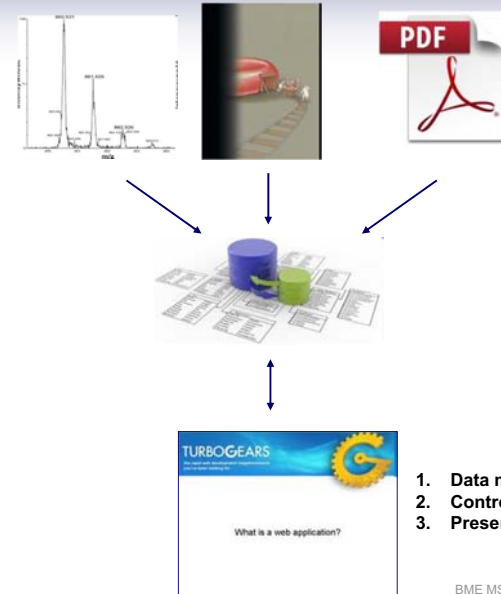
- lokális
- gyors elérés
- adott verzió (kézirat!)
- „akármilyen” szoftverrel használható

Hátrányai:

- lokális
- erőforrás-igény
- hozzáértés-igény

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Meta-adatbázisok



1. Data model
2. Controller (business logic)
3. Presentation (GUI)

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Szekvencia fájl formátumok

FASTA

```
>CFTR_HUMAN | P13569 | Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator...
MQRSPLKASVVS KLFFSWTRPILRKGYRQRLSDIYQIPSVDSADNLSEKLEREWDR
LASKKNPKLINALRRCFWRFMFYGFILYLGVTAKVPLLLGRIIASYDPDNKEERSIA
IYLGIGLCLLFIVRTL LLLHPAIFGLHHIGMQMRIAMFSLIYKKTLLSSRVLDKISIGQL
VSLSSNNLNKFDGLALAHFVWIAPLQVALLMGLIWELLQASAFGLGFLIVLALFQAGL
GRMMKYRDQ RAGKISERLVITSEMIENIQSVKAYCWEAEKMIENLRQTELKLRKAA
... DTRL
```

PIR

```
>P1;CRAB ANAPL
ALPHA CRYSTALLIN B CHAIN (ALPHA(B)-CRYSTALLIN).
MDITIHNP LI RRPLFSW LAP SRIFDQIFGE HLQESSELLPA SPSLSPFLMR
SPIFRMP SWL ETGLSEMRLE KDKFSVNL DV KHFSPPELKV KVLGDMVEIH
GKHEERQDEH GFIAREFNRK YRIPADV DPL TITSSLSLDG VLTVSAPRKQ
SDVPERSIPI TREEKPAIAG AQRK*
```

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

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

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Mai témák

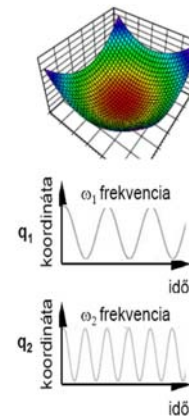
- Bevezetés – a fehérje dinamika és a szimulációk jelentősége
- Fehérjék jellemzése bioinformatikai eszközökkel
- Informatikai eszközök – biológus szempontból
- Fehérjék dinamikájának modellezése
- Fehérjék feltekeredésének szimulációja

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Fehérje dinamika vizsgálata

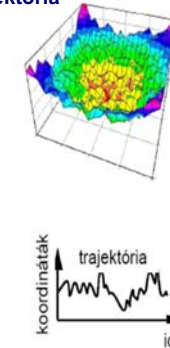
Normál-módus elemzés

- harmonikus potenciál
- analitikus mozgásegyenletek
- normál módusok



Molekuláris dinamika (MD)

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



BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

A „force field” - I.

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

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

TABLE I. Solvation Parameters^a

Atom types ^a	Volume	$\Delta C_i^{\text{ref b}}$	$\Delta C_i^{\text{free c}}$	$\Delta H_i^{\text{ref b}}$	$\Delta C_i^{\text{ref d}}$
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)

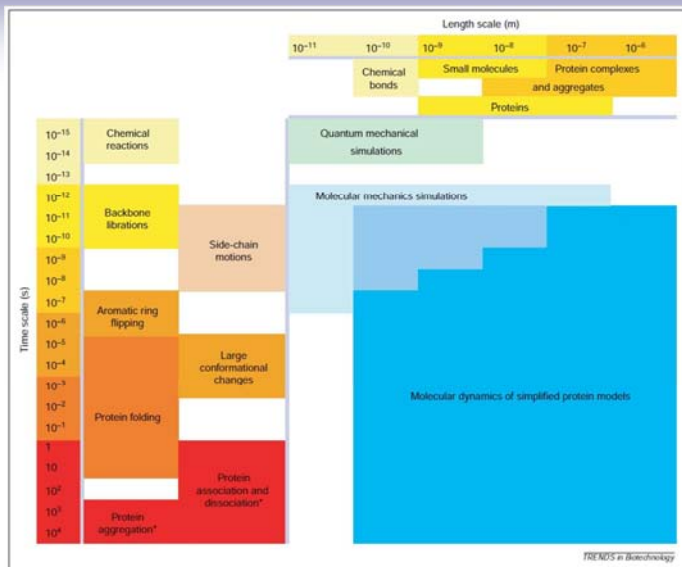
BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Az MD korlátjai

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

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

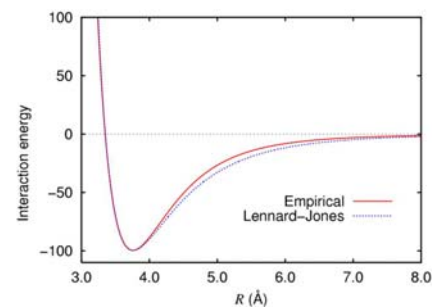
„Események” időskálája



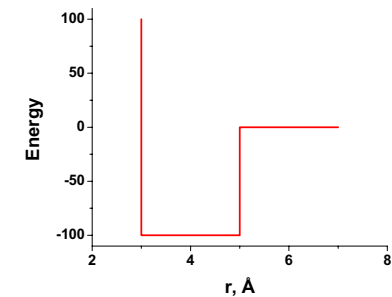
F. Ding and N.V. Dokholyan, TRENDS in Biotechnology, 23:450 (2005)

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Diszkrét Molekuláris Dinamika (DMD)



wikipedia



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

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Egyszerűsített (Coarse Grain) modellek

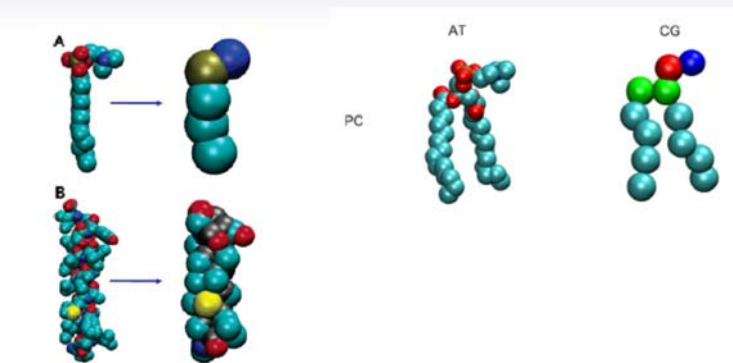


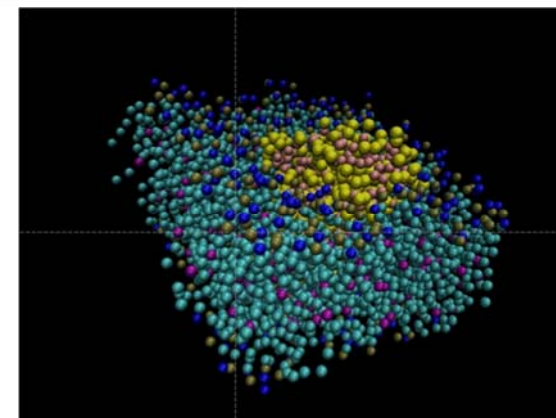
Figure 1. Atomistic (left-hand) and coarse-grained (right-hand) models compared for (A) a DPC molecule and (B) a GpA helix. Colors for atoms:

Bond, Sansom: MARTINI

Fehérjére pl. 2 bead vagy 4+ bead modellek

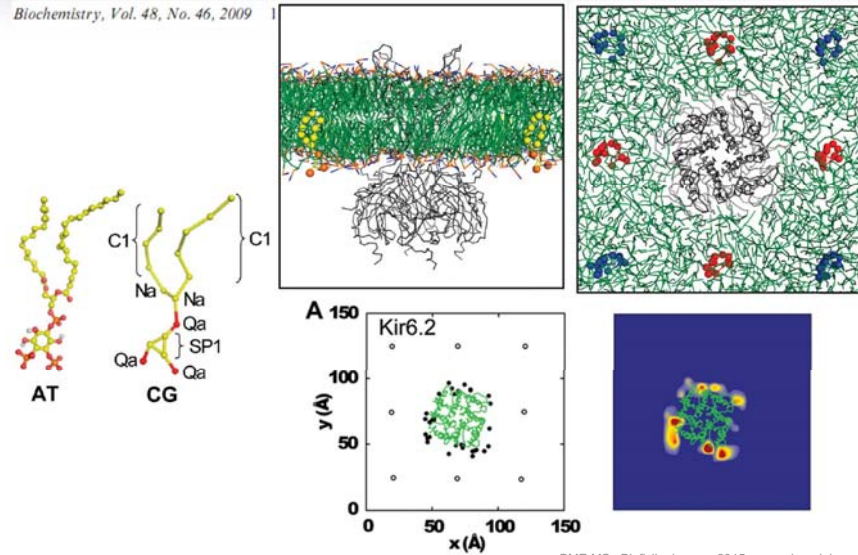
BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Kettősréteg felépülése a fehérje köré



PIP2 kötődése Kir kálium csatornához

Biochemistry, Vol. 48, No. 46, 2009



BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Glikophorin A dimerizációja

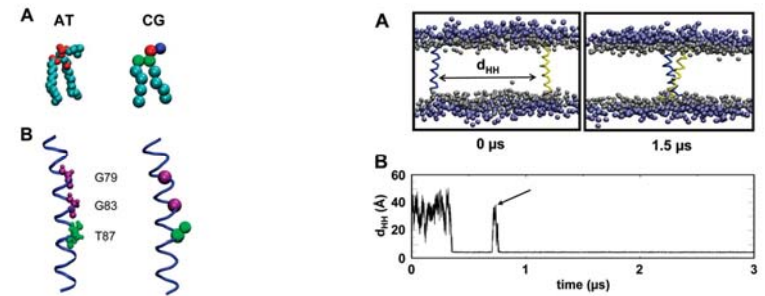
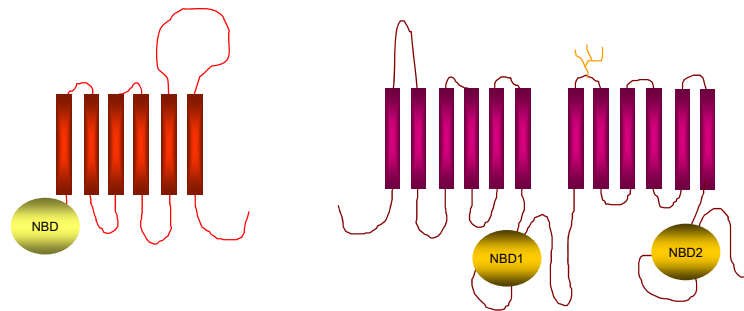


FIGURE 1. Atomistic (AT) and coarse-grained (CG) representations of GpA TM helix dimerization. FIGURE 3. Coarse-grained GpA TM helix dimerization simulation.

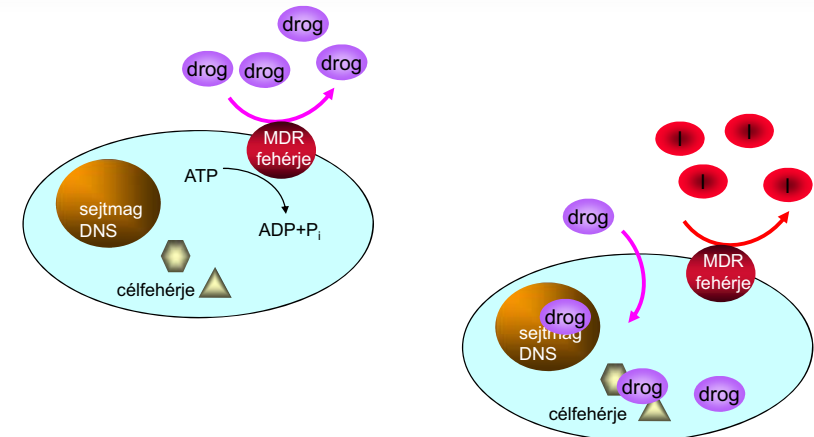
BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

ATP Binding Cassette (ABC) fehérjék



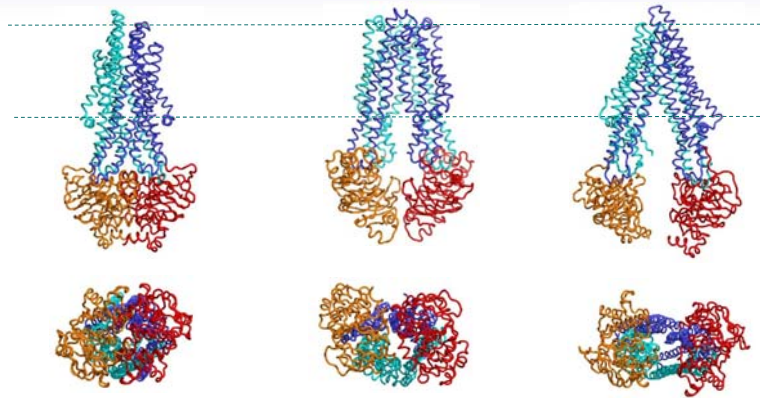
BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

A multidrog-rezisztencia és felfüggesztése



BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

ABC fehérjék konformációi



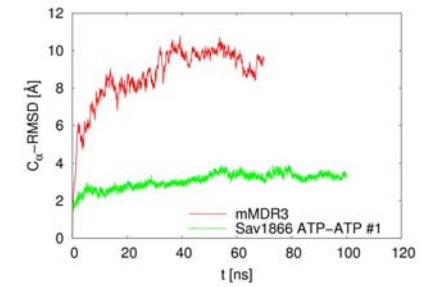
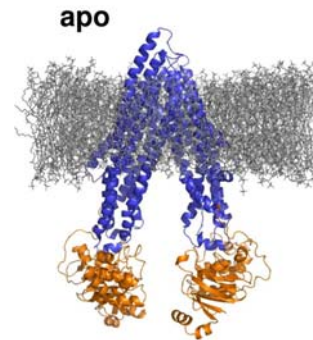
“alul-zárt” holo
(+ATP)

“alul-zárt” apo
(-ATP)

“alul-nyitott” apo
(-ATP)

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

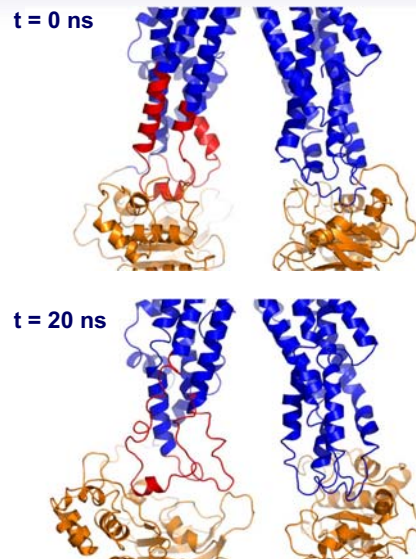
Az alul nyitott apo szerkezet nem stabil



Gyimesi *et al.* BBA 2012

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

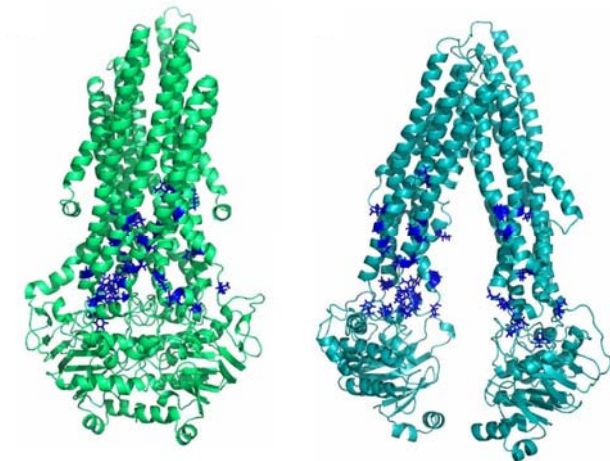
Az alul nyitott apo szerkezet nem stabil



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

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Hidrofób aminosavak kerülnek felszínre

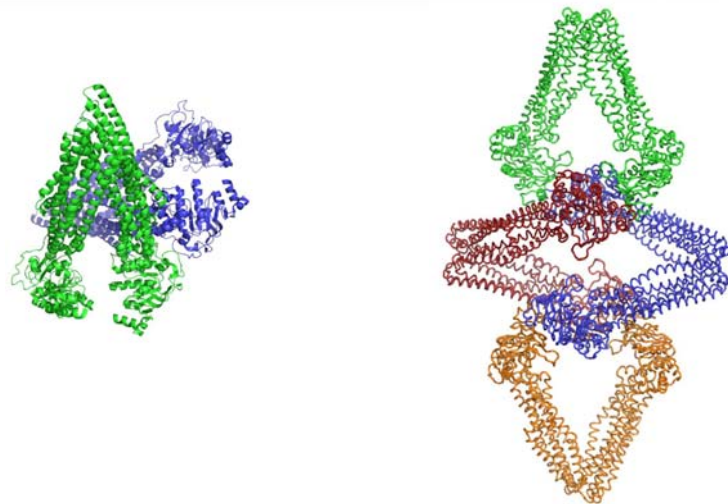


BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Alul nyitott apo szerkezet elemi cellája

mMDR3, PDBID:3G5U

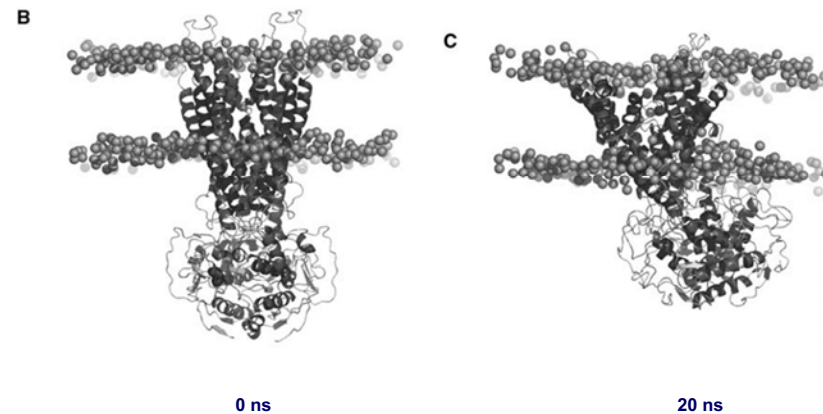
MsbA, PDBID:3B5W



BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Fehérjék konformációinak stabilitása

Eur Biophys J (2008) 37:403–409



BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Összefoglalás

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

BME MSc-Biofizika kurzus, 2015. - www.hegelab.org

Köszönetnyilvánítás

www.hegelab.org

Tordai Hedvig
Sarankó Hajnalka
Harmat Zita
Tóth Attila
Jakab Kristóf
Szöllősi Dániel
Erdei Áron

Sarkadi Balázs
MTA-SE Membránbiológiai Kutatócsoport
Kellermayer Miklós
SE Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet



Támogatások:
KTIA-AIK-12-2012-0025
Bolyai ösztöndíj
OTKA K 111678

