

Fehérjék szerkezete és dinamikája 2.

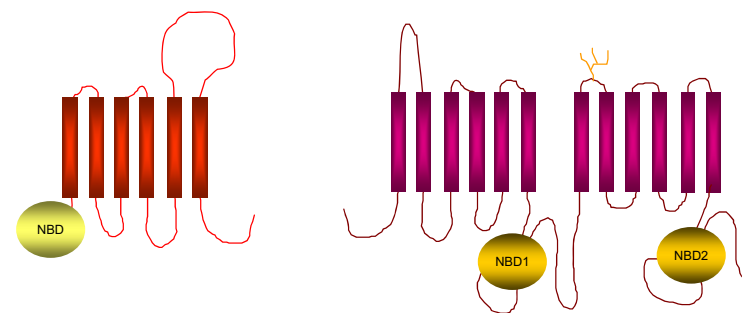
Hegedűs Tamás

tamas@hegelab.org

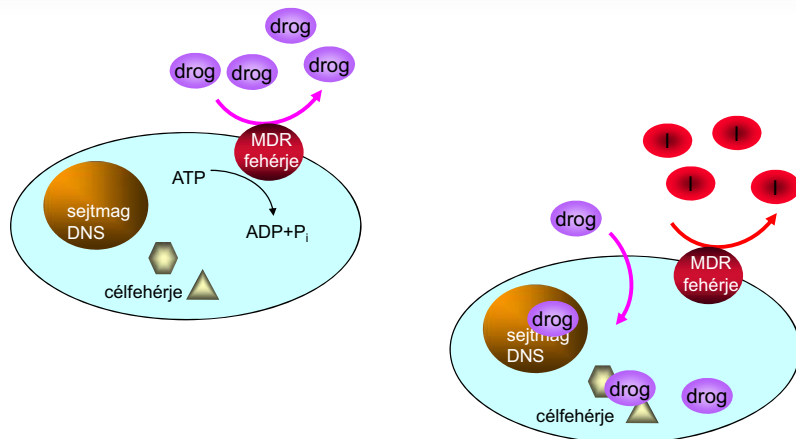
MTA-SE Molekuláris Biofizikai Kutatócsoport
SE Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet



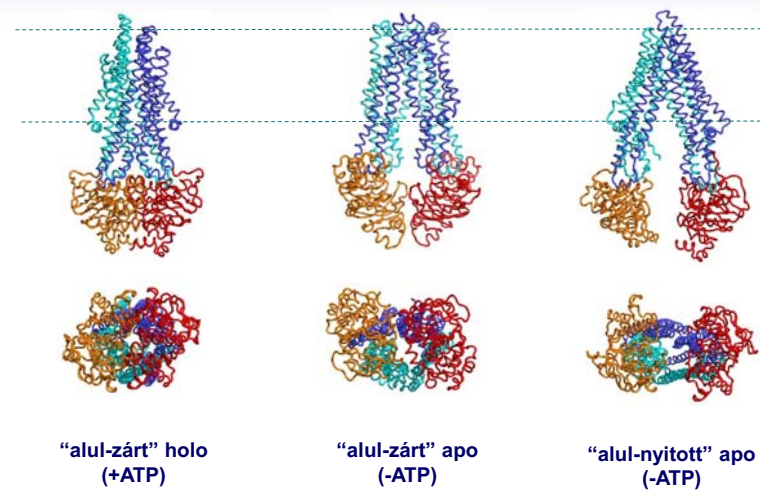
ATP Binding Cassette (ABC) fehérjék



A multidrog-rezisztencia és felfüggesztése



ABC fehérjék konformációi

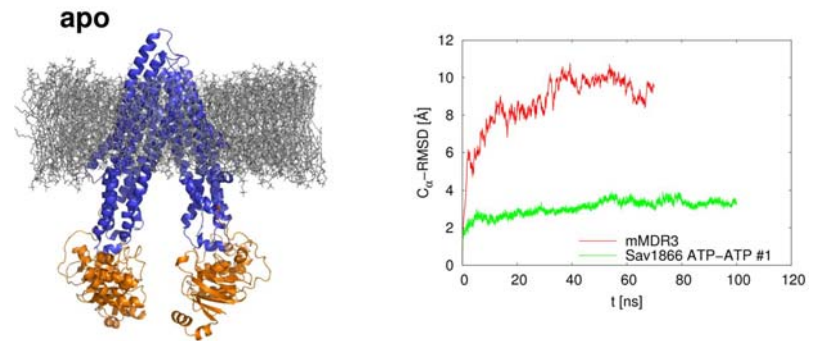


Fehérjék konformációinak stabilitása

Eur Biophys J (2008) 37:403–409

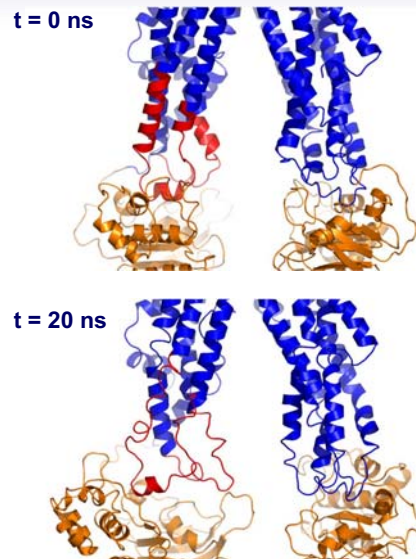


Az alul nyitott apo szerkezet nem stabil



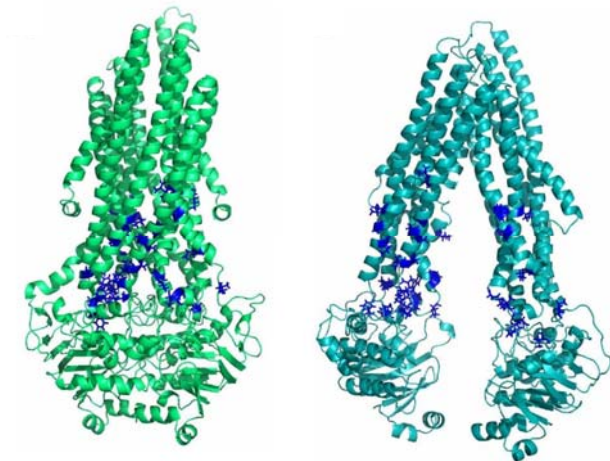
Gyimesi *et al.* BBA 2012

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%

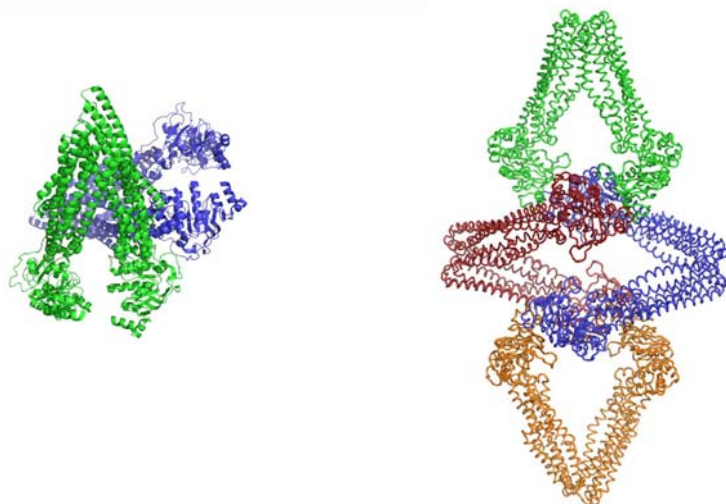
Hidrofób aminosavak kerülnek felszínre



Alul nyitott apo szerkezet elemi cellája

mMDR3, PDBID:3G5U

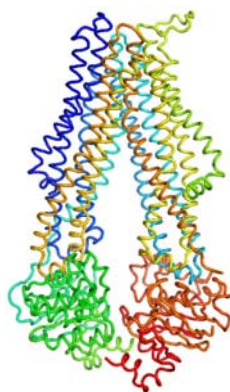
MsbA, PDBID:3B5W



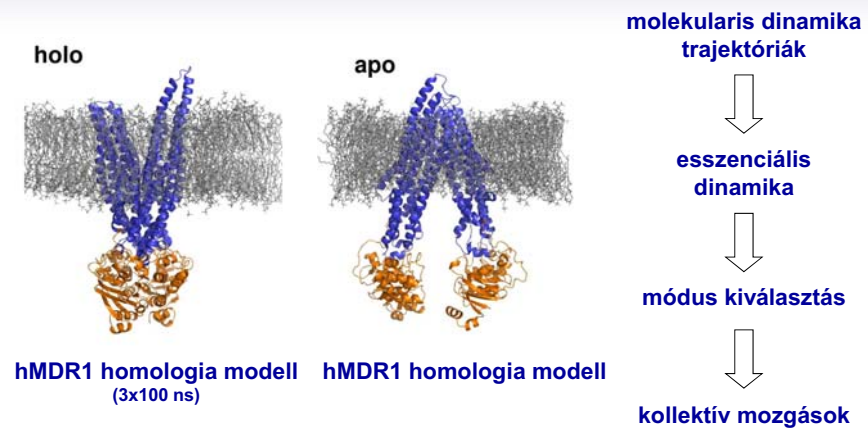
Események modellezése

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

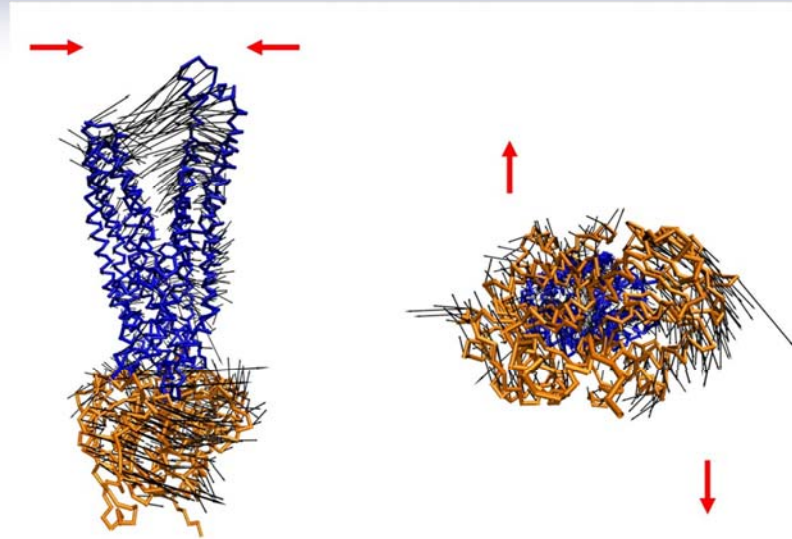
Targeted MD



Zárt-nyitott átmenet jellemzése molekuláris dinamikával



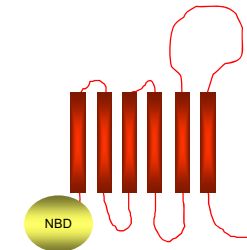
Zárt-nyitott átmenet



Egy komplex példa – ABCG2

- Szerkezet modellezése
- Mutációk hatásának elemzése molekuláris dinamikával
- Kis molekulák dokkolása a fehérjéhez

- Őssejtekben, szöveti barrierekben, rákos sejtekben fejeződik ki
- Multidrog transzporter (xenobiotikumok és endobiotikumok):
 - rákellenes gyógyszerek
 - húgysav
- Leggyakoribb variáns (Q141K) csökkent expresszió és funkció

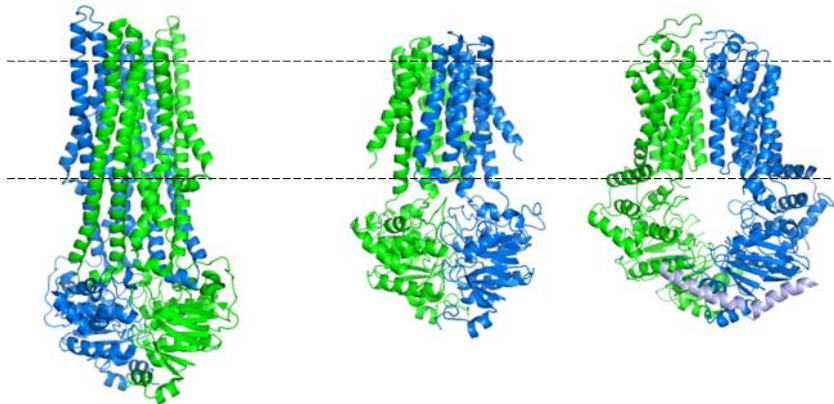


ABCG alcsalád - Type II

Type I +ATP

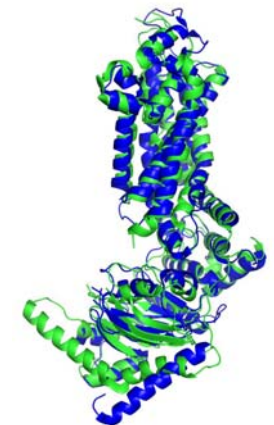
ABCG2 from 2010

ABCG5-ABCG8



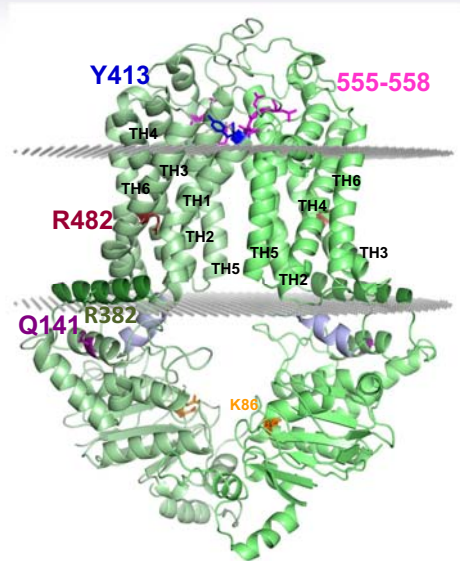
Az ABCG2 homodimer homológia modellezése

- Kb. 25% megegyező és 45% hasonló a.a.
- A szekvenciaillesztés nagy része triviális volt
- 100 modellt építettünk Modeller-vel
- A legjobb modellt (DOPE score) kiválasztottuk és használjuk

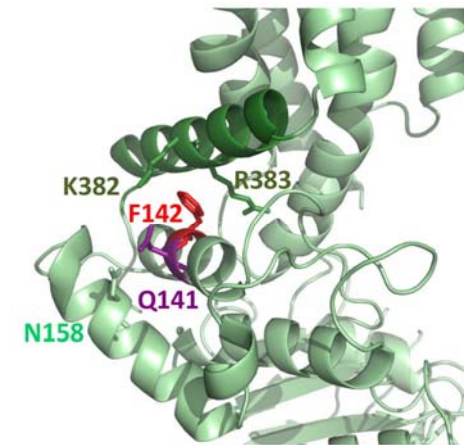


ABCG5-ABCG8
PDBID:5DO7

Az ABCG2 modell



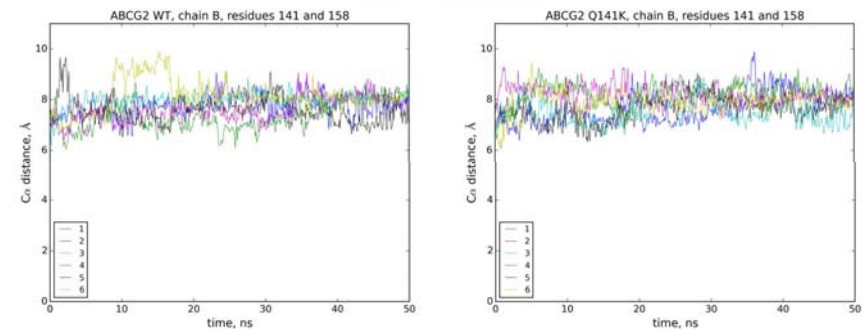
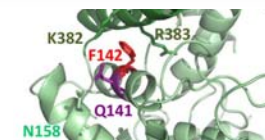
A Q141 helyzete



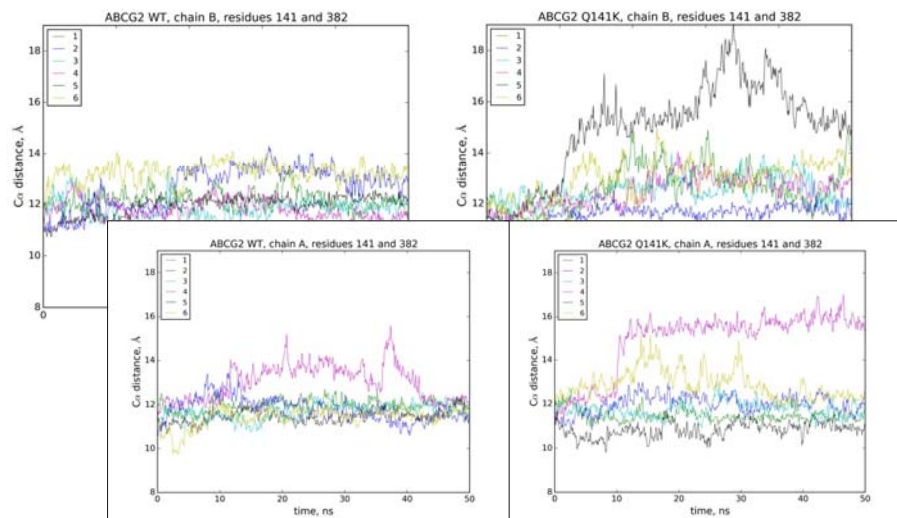
Molekuláris Dinamikai (MD) szimulációk

- Az ABCG2 fehérjét membrán kettősrétegbe helyeztük (POPC)
- Az a.a. oldalláncok, lipidek és vízmolekulák elhelyezkedésének optimalizálása:
 - energia minimalizáció
 - egyensúlyba hozás (6 db párhuzamos)
 - minimális gerinc-mozgás (position constrains)
- **Production run**
 - no constraints
 - 50 ns x 6 = 300 ns;
- **WT és variánsok összehasonlítása**
(pl. Q141K, R482G)

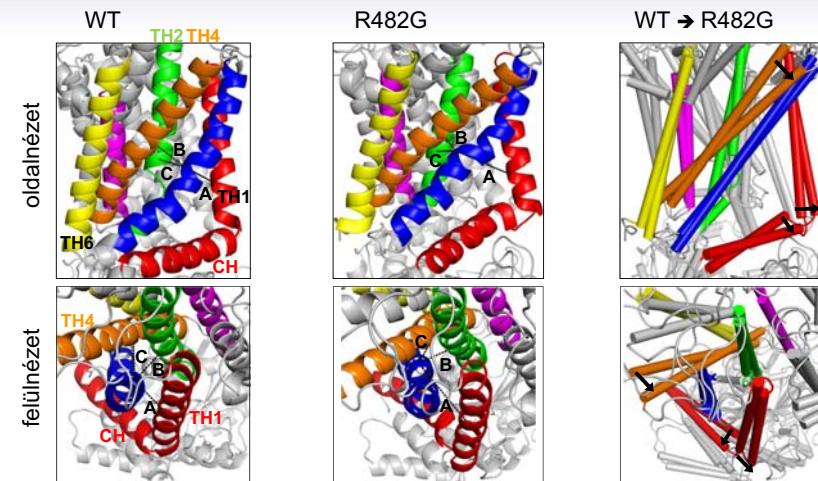
Q141K csere hatása a 141/158 kölcsönhatásra



A Q141K hatása a 141/382 (NBD/TMD) kapcsolatra



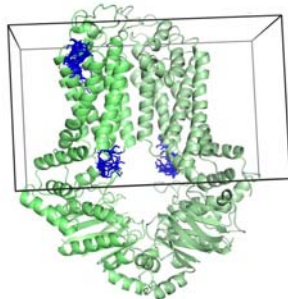
Az R482G által okozott változások



Drogtő helyek vizsgálata *in silico* dokkolással

AutoDock Vina

- Fix fehérje, flexibilis ligand
- Több konformáció (6 db, egyensúlyba hozott)
- Doboz; ligand odapróbálása nagyon sokszor (ebből 20/futás)

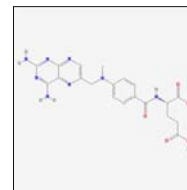


Drogtő helyek vizsgálata *in silico* dokkolással

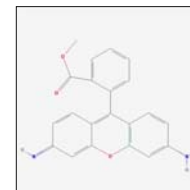
AutoDock Vina

- Fix fehérje, flexibilis ligand
- Több konformáció (6 db, egyensúlyba hozott)
- Doboz; ligand odapróbálása nagyon sokszor (ebből 20/futás)
- Mindent oda lehet dokkolni... ezért szubsztrát + nemszubsztrát

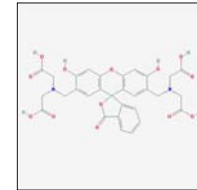
methotrexate



rhodamine123



calcein



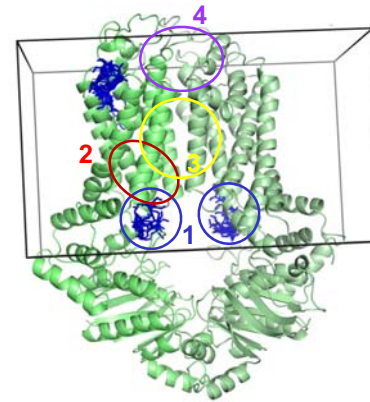
Drogkötő helyek vizsgálata *in silico* dokkolással

AutoDock Vina

- Fix fehérje, flexibilis ligand
- Több konformáció (6 db, egyensúlyba hozott)
- Doboz; ligand odapróbálása nagyon sokszor (ebből 20/futás)
- Mindent oda lehet dokkolni... ezért szubsztrát + nemszubsztrát
- (6 ABCG2 konformáció) * (20 pozitúra) * (3 párhuzamos) *
(25 szubsztrát + 14 nem-szubsztrát) = 14 040 pozitúra
- Pozitúrák klaszterezése

Drogkötő helyek vizsgálata *in silico* dokkolással

verapamil



flavopiridol

