

Fehérjék szerkezete és dinamikája

Hegedűs Tamás

tamas@hegelab.org

MTA-SE Molekuláris Biofizikai Kutatócsoport
SE Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet



Nevezzen meg két okot, ami indokolja,
hogyan az MRI módszert elsősorban a
proton jelére alapozva dolgozták ki!

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. EPR, Xlinks: nem, de NMR: igen)

Mai témák

- Fehérjék szerkezetének *in silico* jellemzése
- Fehérjék dinamikájának modellezése
- Fehérjék feltekeredésének szimulációja
- Egy összetett modellezés az ABCG2 fehérjén bemutatva

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](#)

BME MSc-Biofizika kurzus, 2016. - www.hegelab.org

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.

BME MSc-Biofizika kurzus, 2016. - www.hegelab.org

Rendezetlen fehérjék II.

Miért jó? Specifikus és adaptálódó
Rendezetlen/redezett reverzibilis átmenete
Nagy kötőfelület
Gyors kötés

Mire jó?	Entrópiikus lánc: Effektor: Scavangers: Összeszerelődés: Bemutató felület:	K ⁺ csatorna inaktiválása peptid inhibitorok kazein calmodesmon, F-aktin foszforilációs és proteolitikus helyek
----------	--	--

BME MSc-Biofizika kurzus, 2016. - www.hegelab.org

Rendezetlen fehérjék III.

A rendezetlenség jóslása

```
graph TD; A[A rendezetlenség jóslása] --> B[Tanuló algoritmusok  
PDB-ben előforduló  
rendezetlen fehérjék szekvenciája alapján  
Disopred2]; A --> C[Kölcsönhatási energiák becslése  
IUPred.enzim.hu];
```

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, 2016. - www.hegylab.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, 2016. - www.hegelab.org

Homológia modellezés I.

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

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 -2 5
Glu	-1 0 0 2 -4 2 5
Gly	0 -2 0 -1 -3 -2 -2 6
His	-2 0 1 -1 -2 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 -2 -3 -3 -1 0 -3 0 6
Pro	-1 -2 -2 -1 -3 -1 -1 -2 -2 -3 -1 -2 -4 7
Ser	1 1 1 0 -1 0 0 0 0 -1 -2 -2 0 -1 -2 -1 4
Thr	0 -1 0 -1 -1 -1 -1 -2 -2 -3 -1 -1 -1 -2 -1 1 5
Trp	-3 -3 -4 -4 -2 -2 -2 -2 -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 7
Val	0 -3 -3 -3 -1 -2 -2 -3 -2 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

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

CLUSTAL W (1.83) multiple sequence alignment

Alignment – pl. ClustaW

```

2HDY          -----MIRKYLQPVK-----PKYKRFATIVIGIKFGIPMLIP
3BX5          -----WQTFERLMTYIR-----LYKAGLVSTIALVINAAADTYMI
CFPR_HUMAN    MQRSPLEKASVSKLWTFRPIRKGYRQLRSLDIYQIPSVDSADNLS
               *   : :   * : : : * : :   :

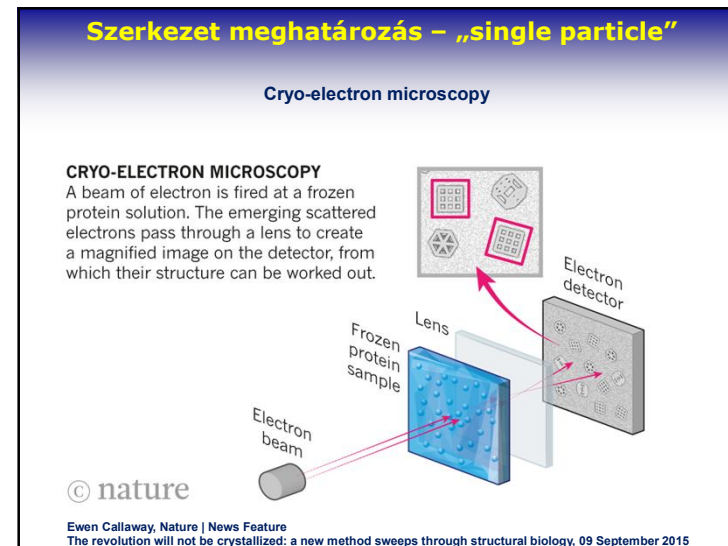
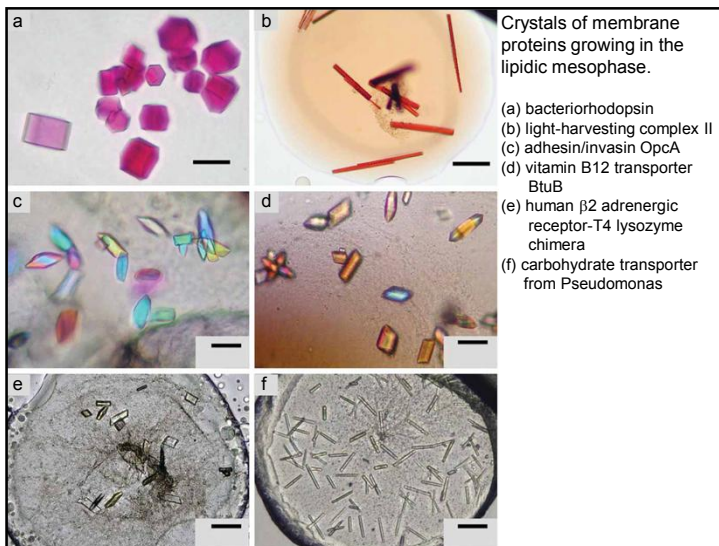
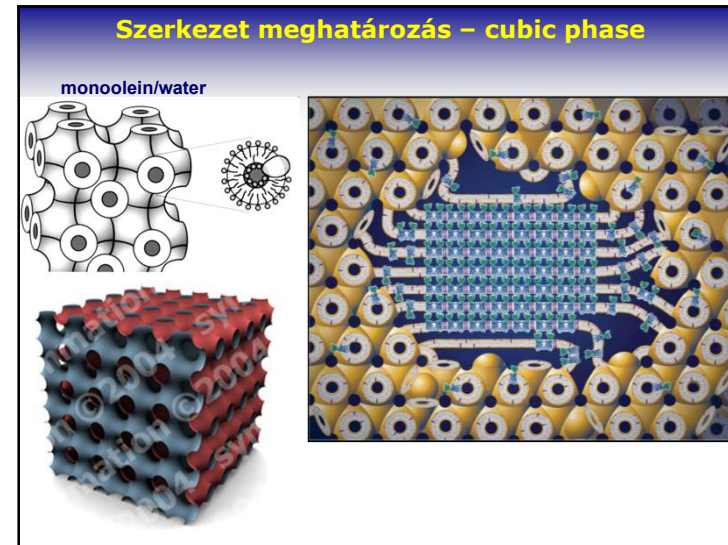
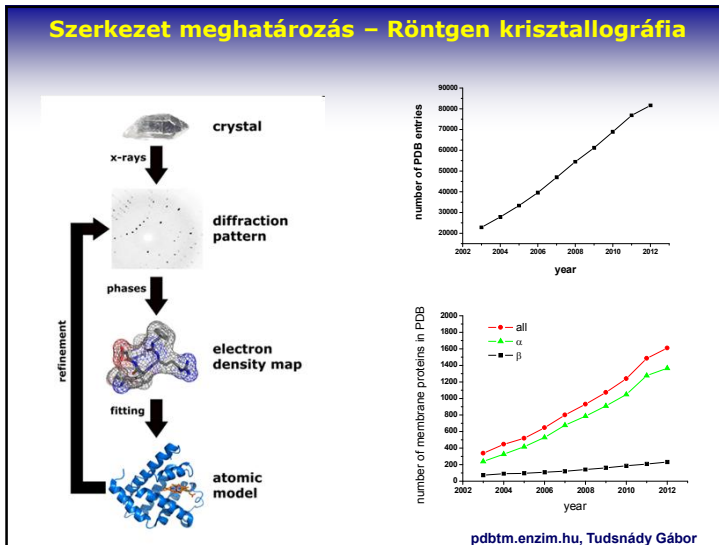
```

Homológia modellezés II.

The diagram illustrates the homology modeling process in three stages:

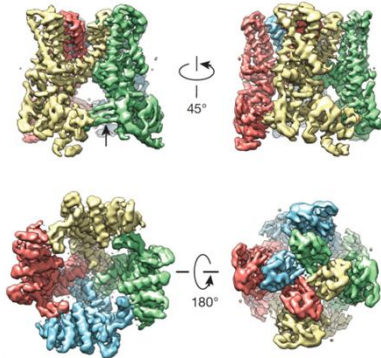
- Template Structure:** A ribbon diagram of a protein structure, primarily grey, with a specific residue highlighted in blue and labeled "Valine".
- Initial Model (*.ini):** A yellow ribbon diagram representing the initial model. An arrow labeled "Amino acid Substitution" points from the template to this model. A residue is highlighted in blue and labeled "Glutamine".
- Output Model(s) (*.B999*):** A green ribbon diagram representing the final output model(s). An arrow labeled "Energy Minimisation" points from the initial model to this stage. A residue is highlighted in blue and labeled "Change in Rotamer".

forrás: SBCB, Oxford, UK



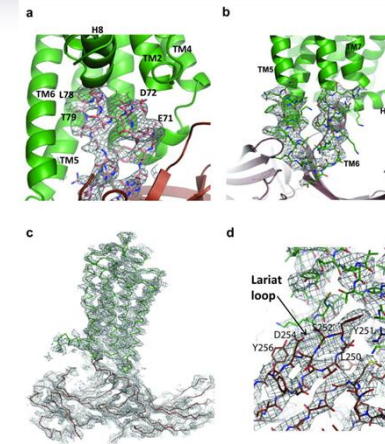
Szerkezet meghatározás – „single particle”

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.

Membránfehérjék nanodisc-ben

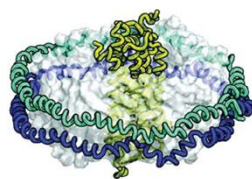
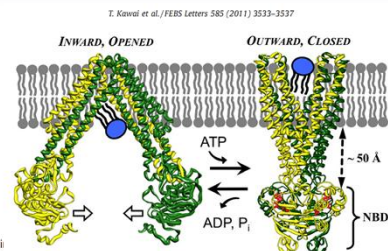


Figure 1 Model of nanodiscs with incorporated rhodopsin. Blue: membrane scaffold protein; gray: phospholipid bilayer; green: rhodopsin. The model was adapted from Nath et al. (2007a).



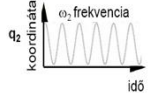
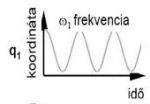
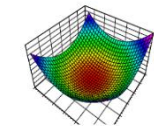
Mai témák

- Fehérjék szerkezetének *in silico* jellemzése
- Fehérjék dinamikájának modellezése
- Fehérjék feltekeredésének szimulációja
- Egy összetett modellezés az ABCG2 fehérjén bemutatva

Fehérjék dinamikájának vizsgálata

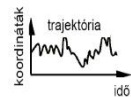
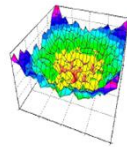
Normál-módus elemzés

- harmonikus potenciál
- analitikus mozgásegyenletek
- normál módusok



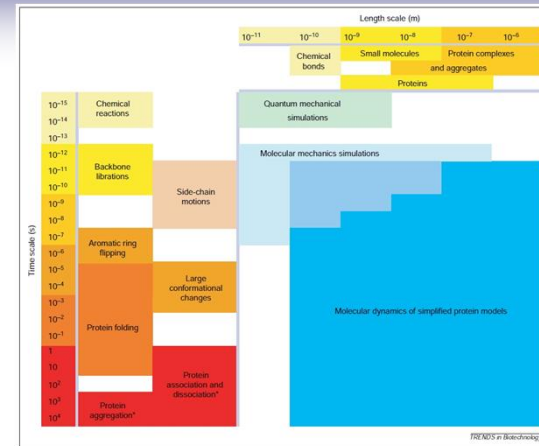
Molekuláris dinamika (MD)

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



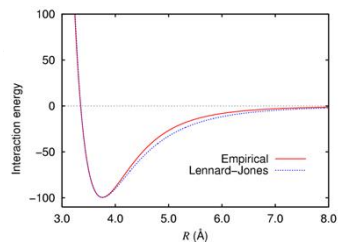
- idő (CPU, valós)
- potenciál kiszámolása a szűk keresztmetszet
- fs-os integrációs lépések
- numerikus integrálás hibája
- oldószér (explicit/implicit)
- „boundary condition”

„Események” időskálája

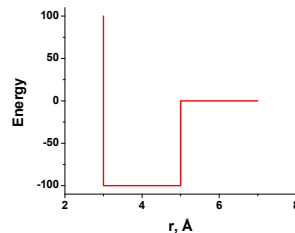


F. Ding and N.V. Dokholyan, TRENDS in Biotechnology, 23:450 (2005)

Diszkrét Molekuláris Dinamika (DMD)



wikipedia



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

Egyszerűsített (Coarse Grain) modellek

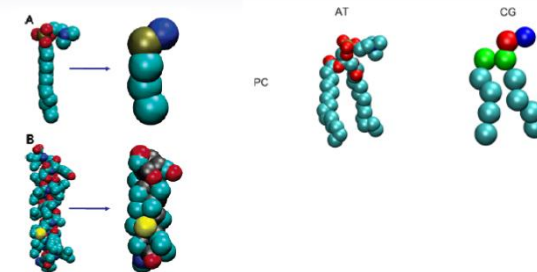
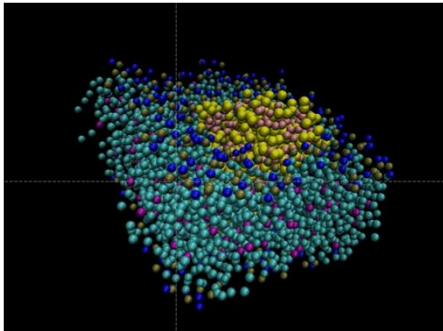


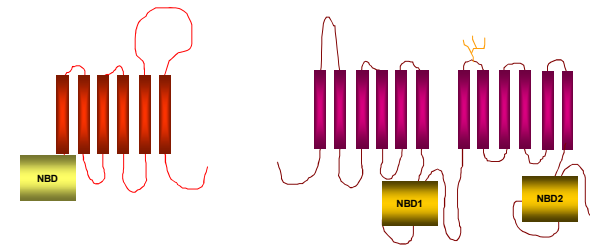
Figure 1. Atomistic (left-hand) and coarse-grained (right-hand) models compared for (A) a DPC molecule and (B) a GpA helix. Colors for atoms:

Sansom, Oxford University
Marrink, Groningen, MARTINI force field

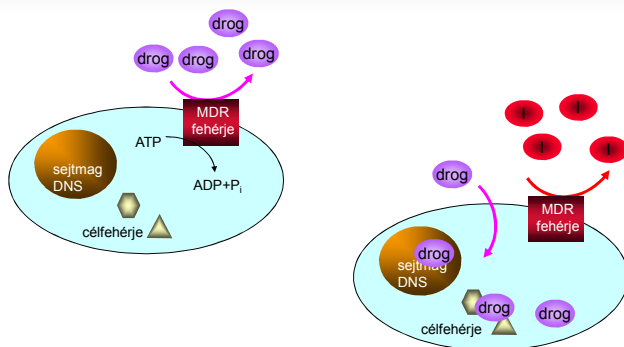
Kettősréteg felépülése a fehérje köré



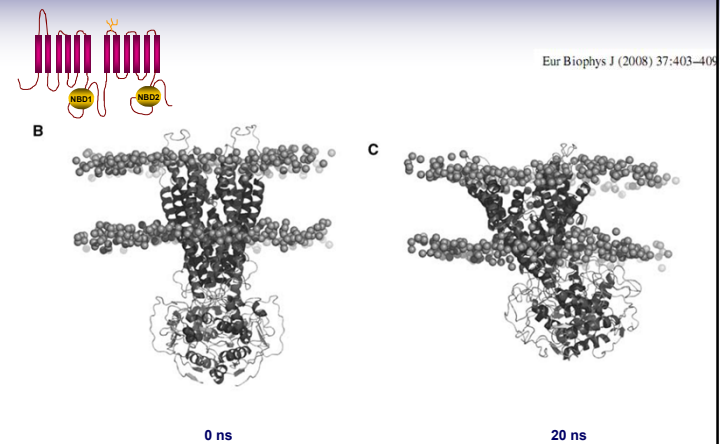
ATP Binding Cassette (ABC) fehérjék



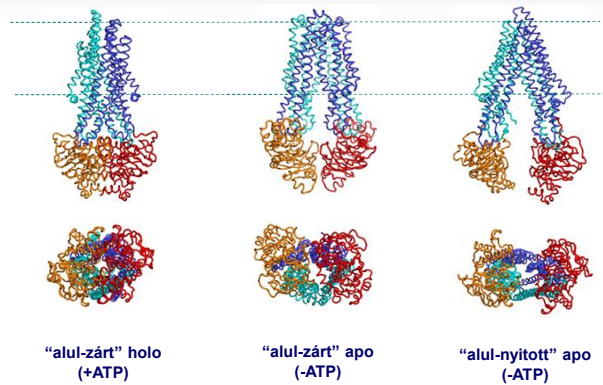
A multidrog-rezisztencia és felfüggesztése



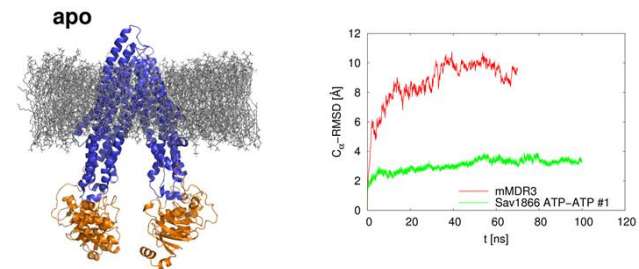
Fehérjék konformációinak stabilitása



ABC fehérjék konformációi

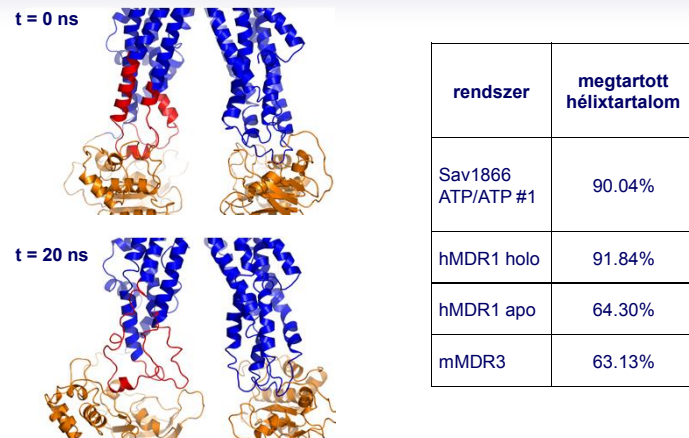


Az alul nyitott apo szerkezet nem stabil

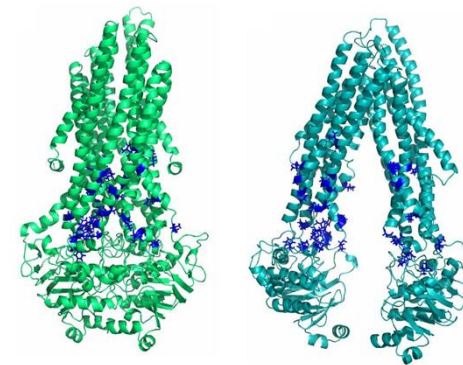


Gyimesi et al. BBA 2012

Az alul nyitott apo szerkezet nem stabil



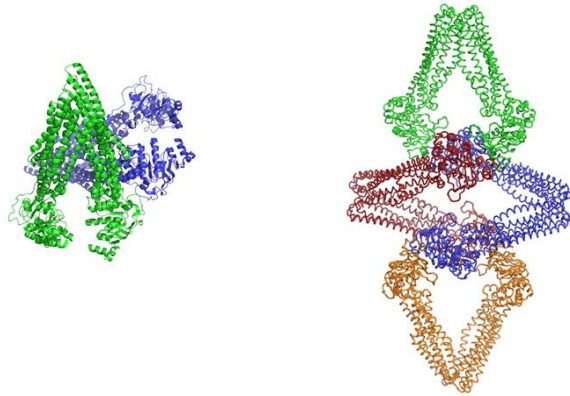
Hidrofób aminosavak kerülnek felszínre



Alul nyitott apo szerkezet elemi cellája

mMDR3, PDBID:3G5U

MsbA, PDBID:3B5W



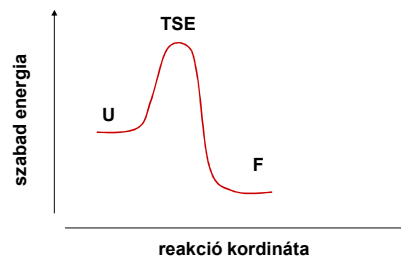
Mai témák

- Fehérjék szerkezetének *in silico* jellemzése
- Fehérjék dinamikájának modellezése
- Fehérjék feltekeredésének szimulációja
- Egy összetett modellezés az ABCG2 fehérjén bemutatva

Fehérje feltekeredés

Levinthal paradoxon

nukleáció



BME MSc-Biofizika kurzus, 2016. - www.hegelab.org

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

BME MSc-Biofizika kurzus, 2016. - www.hegelab.org

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.

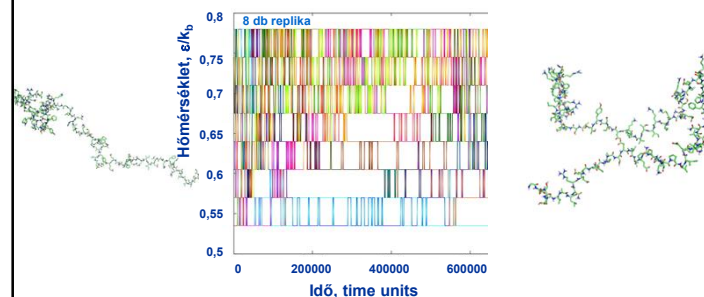
Folding szimulációk során mi az abszolút energiaminimumot
(maximum stabilitást) keressük.

BME MSc-Biofizika kurzus, 2016. - www.hegelab.org

Fehérje feltekeredés szimulációja II.

All atom force-field:

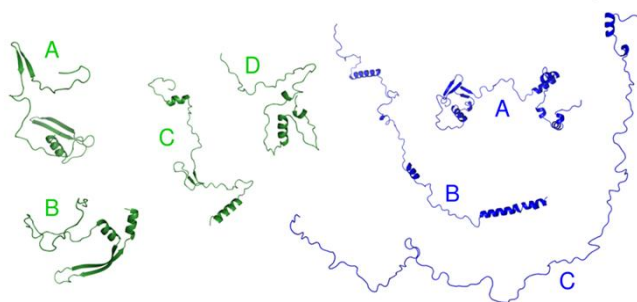
Potenciál függvény számolása erőforrásigényes
Reprezentatív konformációs mintavételezés problémás
Umbrella sampling, [replica exchange](#).



BME MSc-Biofizika kurzus, 2016. - www.hegelab.org

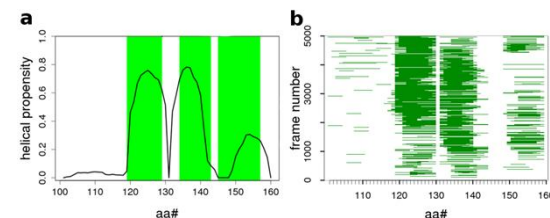
Rendezetlen fehérjék rendezettsége

PreSMo: Prestructured Motif



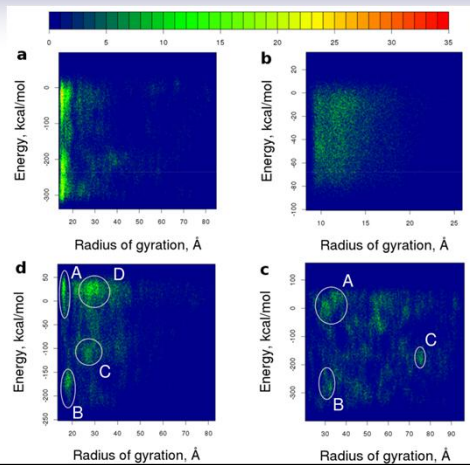
BME MSc-Biofizika kurzus, 2016. - www.hegelab.org

PreSMo jóslás I.



BME MSc-Biofizika kurzus, 2016. - www.hegelab.org

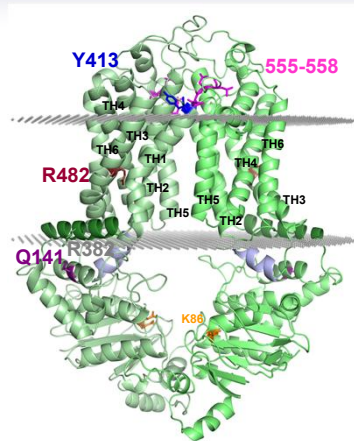
Potenciál felület DoS (Density of States)



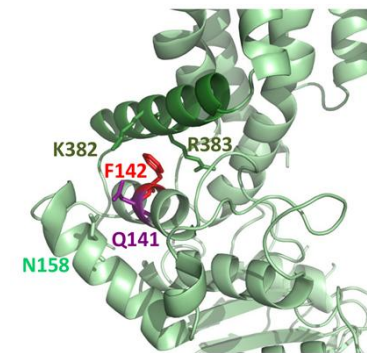
Mai témák

- Fehérjék szerkezetének *in silico* jellemzése
- Fehérjék dinamikájának modellezése
- Fehérjék feltekeredésének szimulációja
- Egy összetett modellezés az ABCG2 fehérjén bemutatva

Az ABCG2 modell



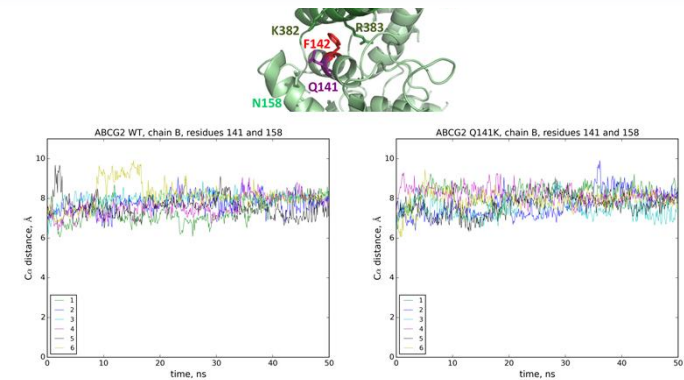
A Q141 helyzete



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

