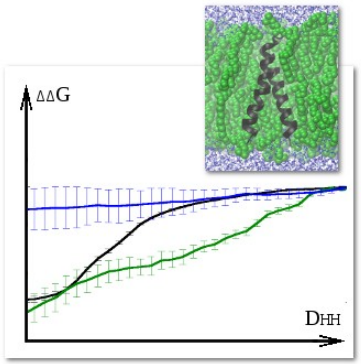
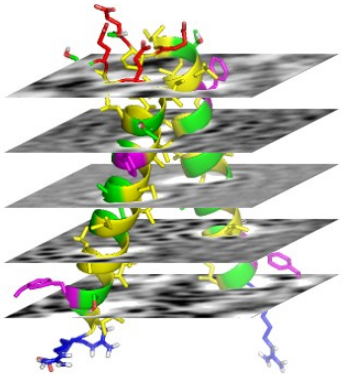
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук

Отдел структурной биологии
Лаборатория моделирования биомолекулярных систем

ВЛИЯНИЕ ТОЧЕЧНЫХ МУТАЦИЙ НА ДИМЕРИЗАЦИЮ ТРАНСМЕМБРАННЫХ ДОМЕНОВ БЕЛКОВ
(НА ПРИМЕРЕ ГЛИКОФОРИНА А)

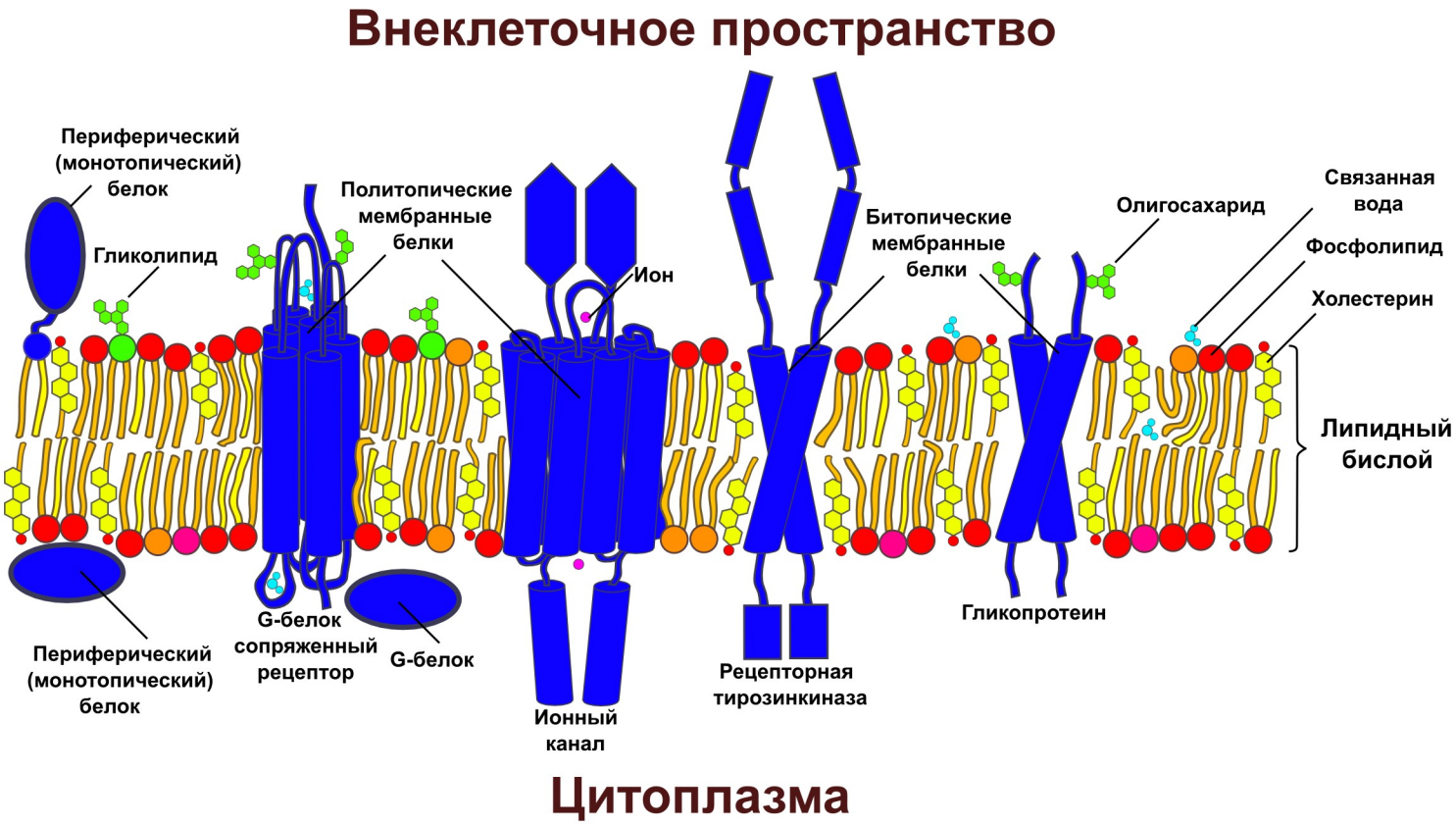




Андрей Кузнецов

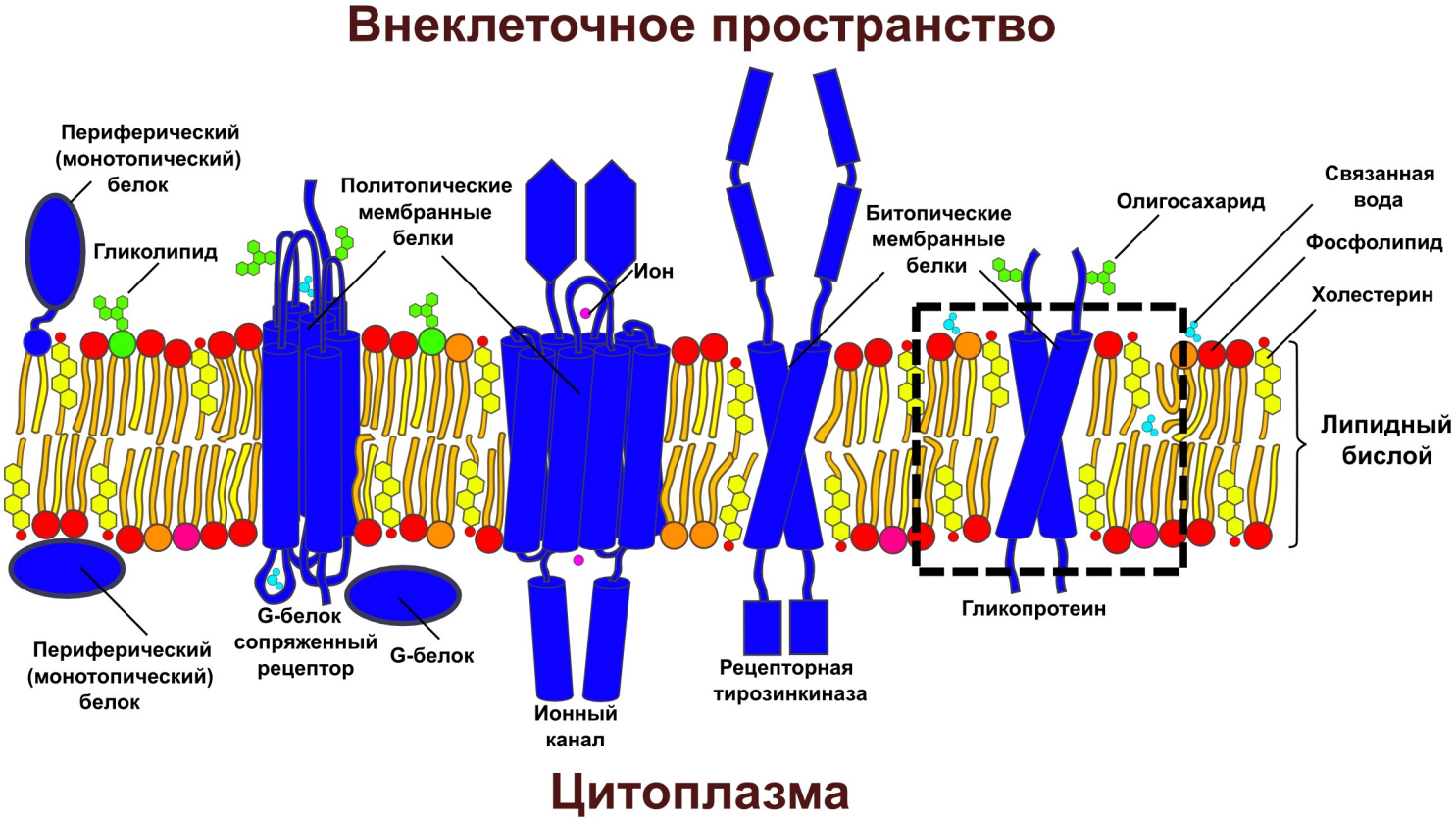
model.nmr.ru andrej.kuznecov@phystech.edu

Из чего состоит мембрана?



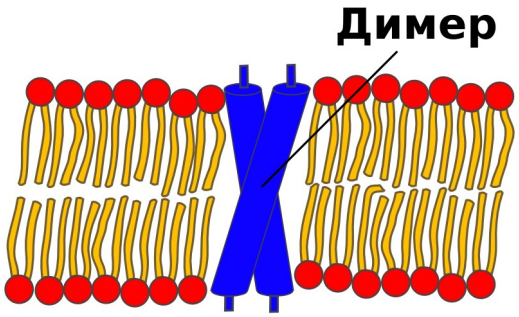
- Липиды и холестерин
- Мембранные белки
- Олигосахариды, связанная вода и ионы...

Из чего состоит мембрана?



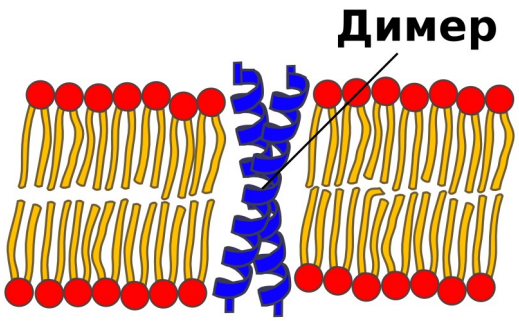
Сегодня речь пойдёт о <u>битопических</u> мембранных белках, а именно о <u>гликофорине А</u> (GpA)

Взаимодействие α-спиралей в мембране

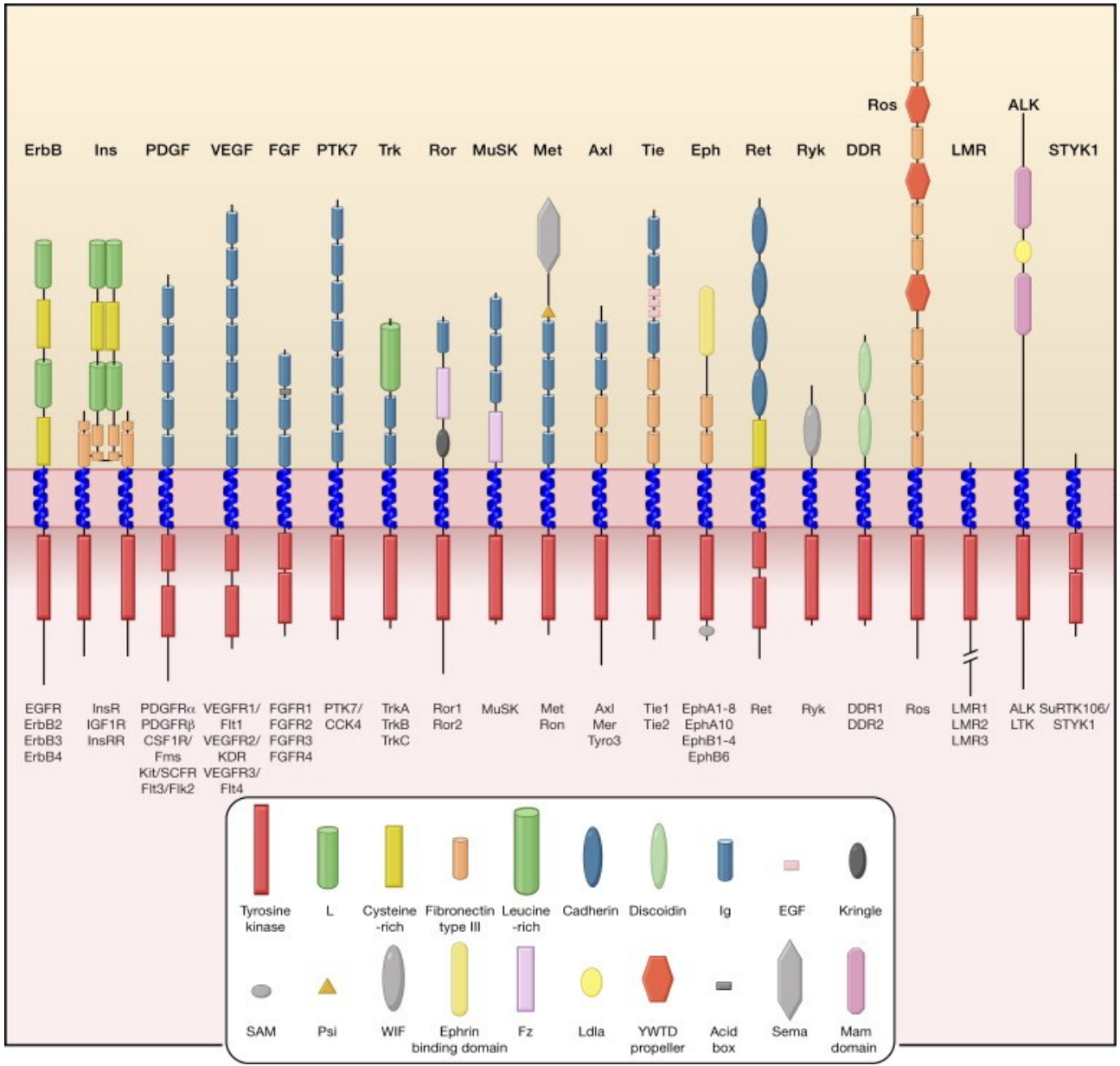


Почему взаимодействие спиралей в мембранах так важно?

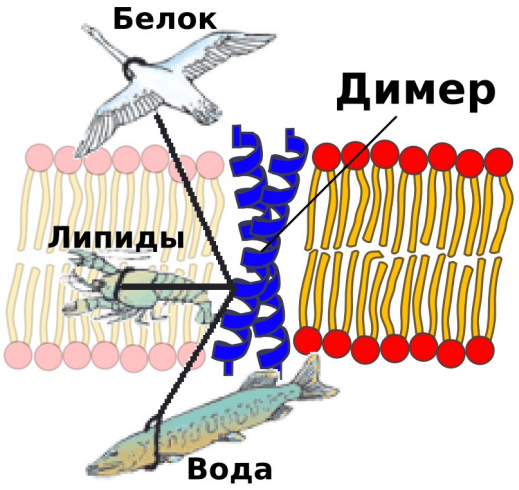
Взаимодействие α-спиралей в мембране



Битопические белки работают в <u>димерном</u> состоянии!



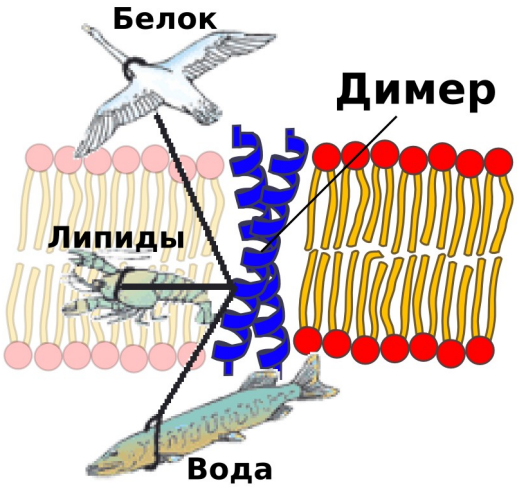
Взаимодействие α-спиралей в мембране



Что мы хотим знать о трансмембранных доменах?

- Какой димер образуется? (структура)
- Насколько стабилен димер? (энергия)
- Почему образуется димер? (механизм димеризации)

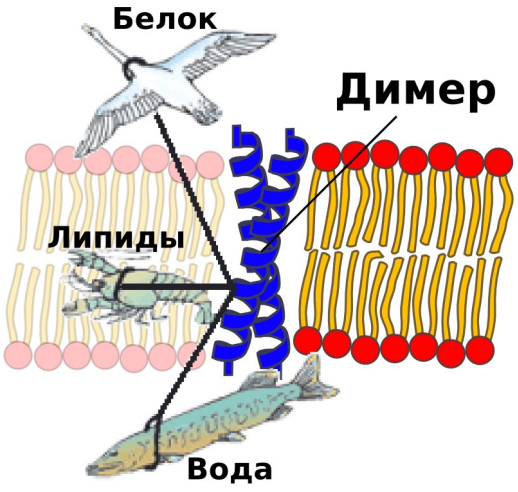
Взаимодействие α-спиралей в мембране



Что мы хотим знать о трансмембранных доменах?

- ~~Какой димер образуется?~~ (структура)
- Насколько стабилен димер? (энергия)
- Почему образуется димер? (механизм димеризации)

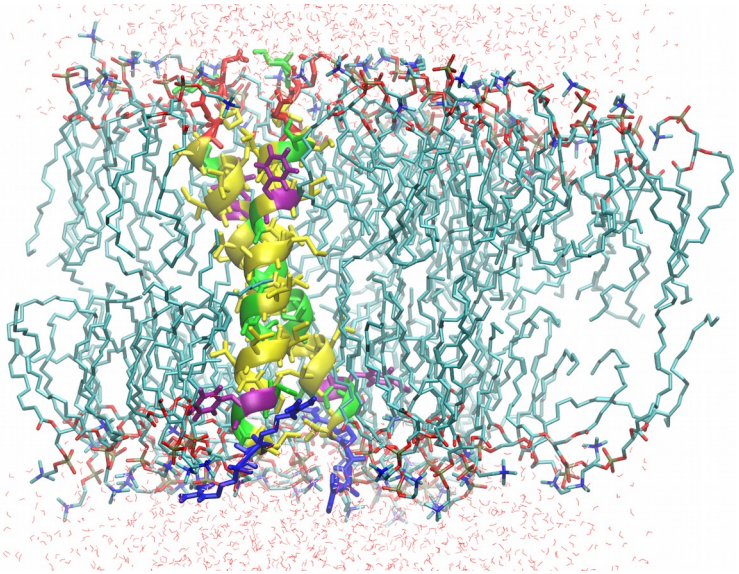
Что уже известно о механизмах димеризации?



Две основных гипотезы:

- Димеризация происходит из-за специфического взаимодействия характерных аминокислотных остатков. Концепция **мотивов димеризации**.
- Взаимодействие α-спиралей в мембране определяется воздействием среды (липидов и воды). Мембрана — **«активная» среда**.

Цели и задачи



Цель:

- Оценка влияния точечных мутаций на димеризацию трансмембранных доменов (TM) гликофорина А (**GpA**) с помощью методов компьютерного моделирования.

Задачи:

- Оценить свободную энергию ассоциации TM-доменов GpA «дикого» типа (WT) и мутантных форм T87V и G83A в липидной мембране
- Выделить энергетические вклады отдельных аминокислотных остатков
- Рассчитать пространственное распределение средней (по времени) плотности липидов вблизи доменов белка

Модельные пептиды

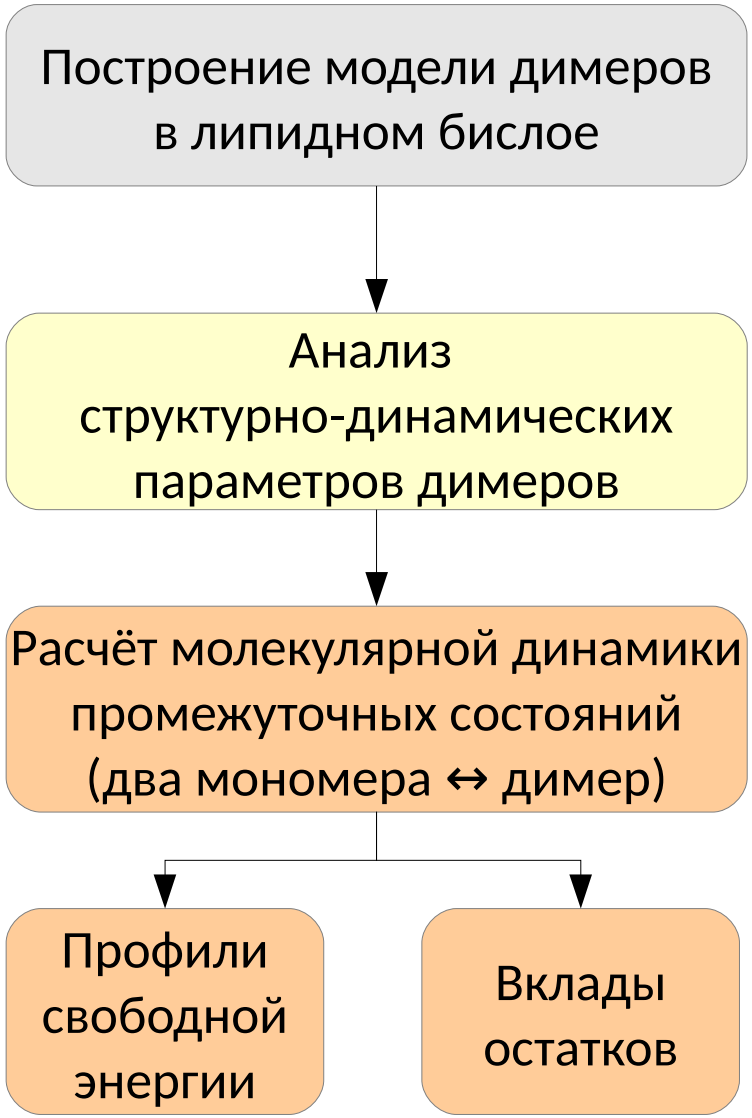
GpA: SEPEITLIIFGVMAGVIGTILLISYGIRR

Точечные мутации

GpA T87V: SEPEITLIIFGVMAGVIGVILLISYGIRR

GpA G83A: SEPEITLIIFGVMAAVIGTILLISYGIRR

Схема вычислительного эксперимента

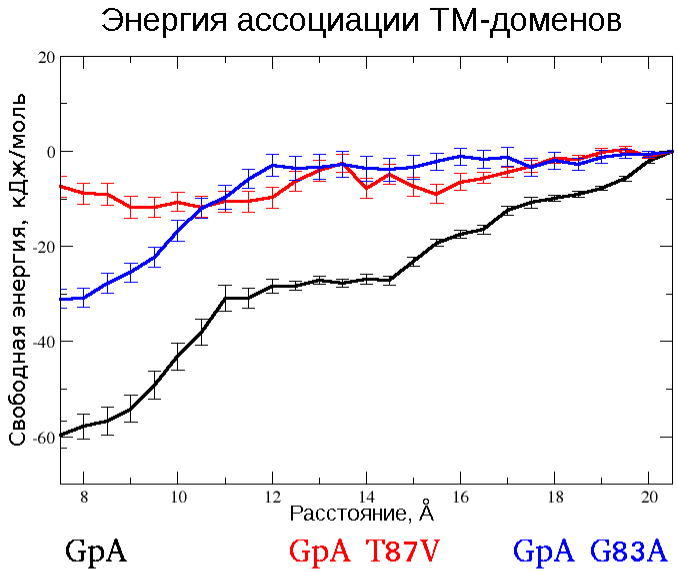


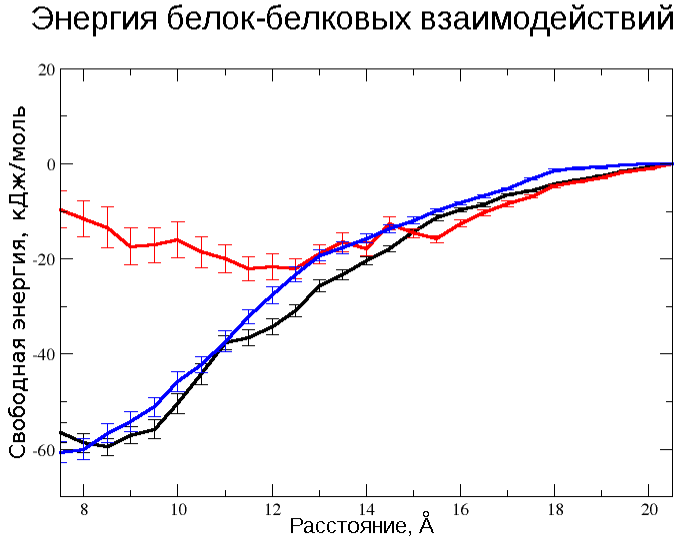
- GpA WT — структура 2kpf из базы PDB
- GpA T87V и G83A — построены по гомологии
- Димеры встраивали в липидный бислой ПОФХ с последующей релаксацией системы

- Среднеквадратичное отклонение структуры от начальной в молекулярной динамике (100 нс)
- Геометрические параметры димера

- «Umbrella sampling» для получения 32 траекторий молекулярной динамики (по 50 нс)
- Интегрирование средней силы, действующей между мономерами
- Расчёт энергетических вкладов взаимодействий белок-белок и белок-среда
- Получение энергетических вкладов аминокислотных остатков

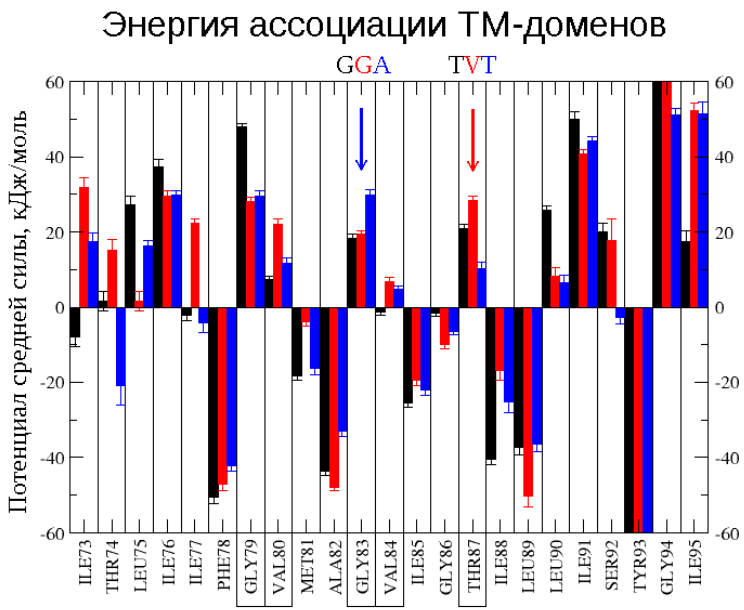
Оценки свободной энергии димеризации

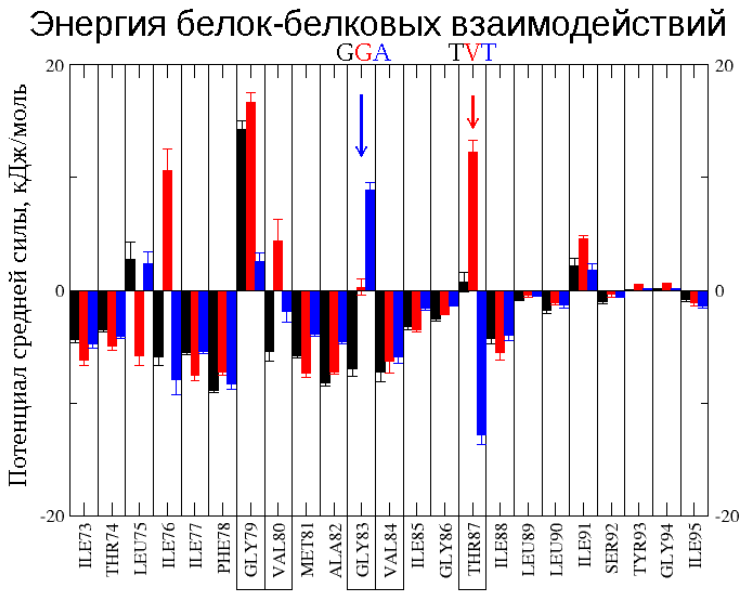




- Димер GpA WT имеет наиболее глубокий минимум на профиле свободной энергии ассоциации (-60 ± 3 кДж/моль)
- GpA G83A формирует более «слабый» димер (-30 ± 5 кДж/моль), однако не отличается от GpA WT по белок-белковым взаимодействиям
- Формирование димера GpA T87V наименее энергетически выгодно (-16 ± 3 кДж/моль)

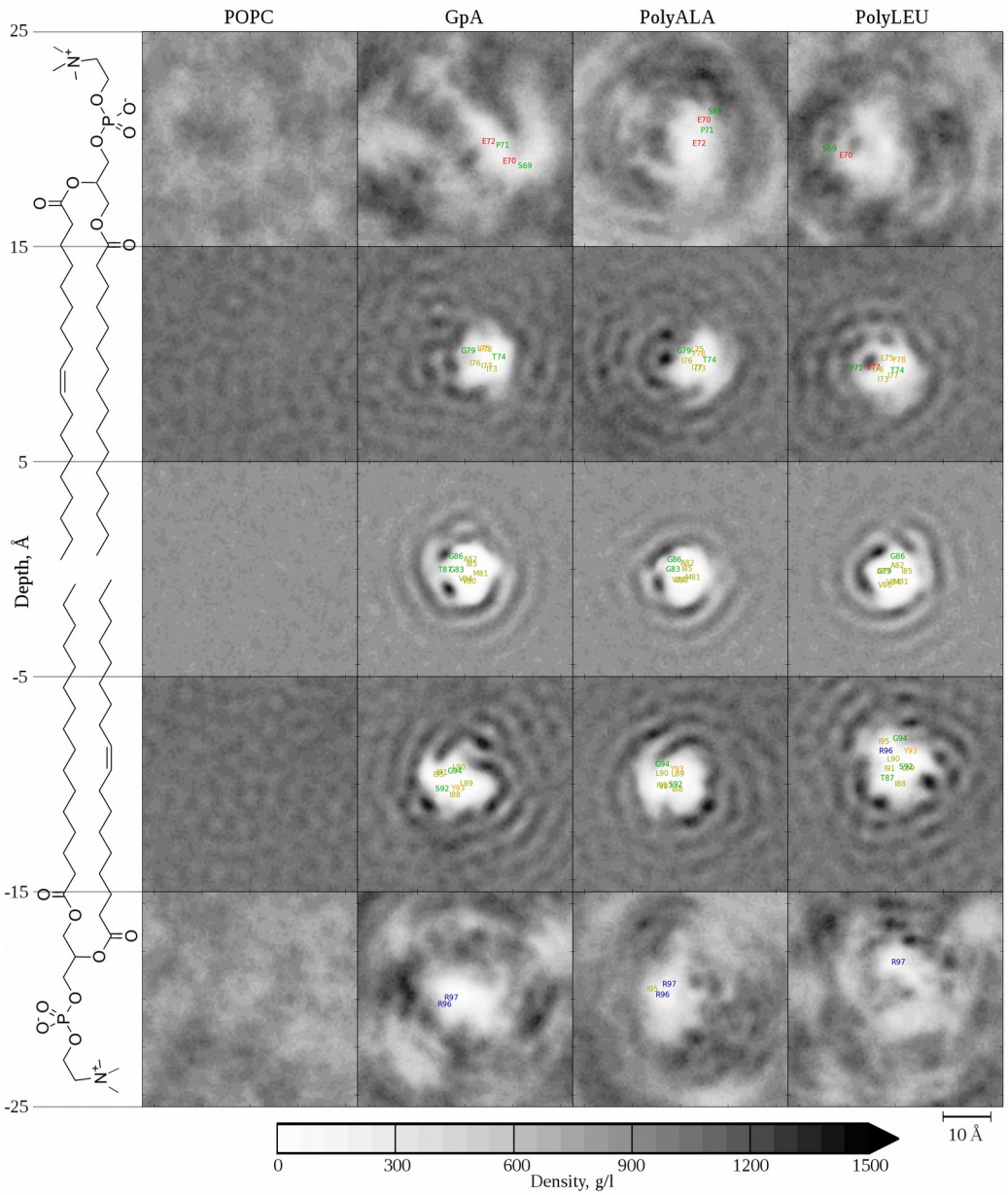
Вклады аминокислотных остатков





- Остатки, лежащие на интерфейсе димеризации, не являются явно энергетически выгодными для GpA.
- Замена G83A приводит к перераспределению энергетических вкладов белок-белок, но нарушает контакты с липидами
- Мутация T87V делает белок-белковые контакты на интерфейсе димеризации более невыгодными

Средняя плотность липидов



- Мономеры GpA формируют в мембране неоднородное распределение параметров липидов
- Наиболее сильные возмущения наблюдаются в области ацильных цепей
- Мутантные формы GpA слабее связывают липиды, по сравнению с белком «дикого» типа

Выводы

- Липидная мембрана играет активную роль в формировании димеров трансмембранных доменов гликофорина А
- Выгодные взаимодействия с липидами компенсируют энергетически невыгодные белок-белковые контакты на интерфейсе димеризации
- Для двух мутаций показан различный механизм нарушения димеризации: T87V нарушает непосредственные белок-белковые контакты, тогда как G83A оказывает опосредованный эффект на взаимодействие с мембраной

Спасибо за внимание!

Публикации по теме доклада:

Kuznetsov A.S., Polyansky A.A., Fleck M., Volynsky P.E., Efremov R.G. The Adaptable Lipid Matrix Promotes Protein-Protein Association In Membranes. (2015) J. Chem. Theory & Comput. v. 11, N 9, 4415–4426.

Кузнецов А.С., Волынский П.Е., Ефремов Р.Г. Роль липидного окружения в процессе димеризации трансмембранных сегментов гликофорина А. (2015). Acta Naturae, Т. 7, № 4, С. 135-140.

Расчёты проведены с использованием ресурсов Межведомственного суперкомпьютерного центра РАН

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект 14-14-00871)

Полезные ссылки:

Картирование гидрофобных свойств и соотнесение свойств поверхностей лиганд-рецептор: **model.nmr.ru/platinum**

Предсказание структуры трансмембранных димеров: **model.nmr.ru/preddimer**