

Компьютерный анализ структурно-функциональной организации макромолекулярных комплексов, образуемых белками, содержащими домены смерти.

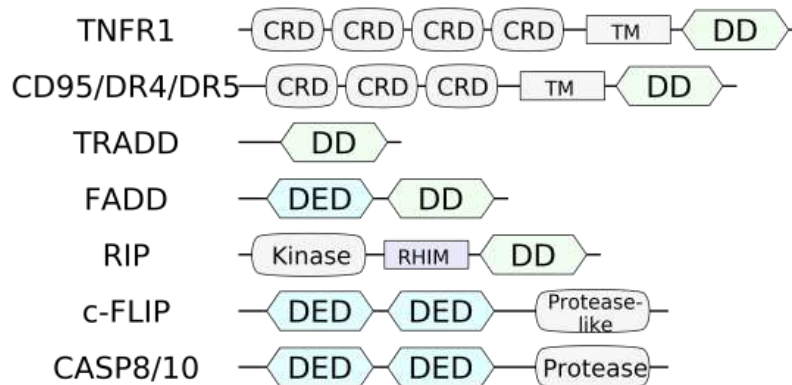
Федеральное государственное бюджетное автономное образовательное учреждение высшего образования “Новосибирский национальный исследовательский государственный университет”, Институт цитологии и генетики СО РАН



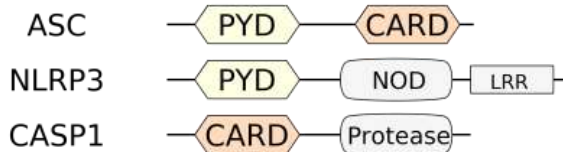
Студентка ФЕН НГУ
Константинова Алина, группа 17410
Научный руководитель: к.б.н., доц. Иванисенко В.А.
Рецензент: д.б.н., Лаврик И.Н.

Суперсемейство доменов смерти

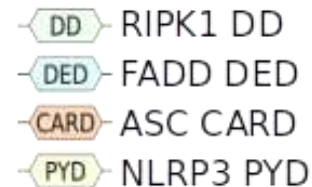
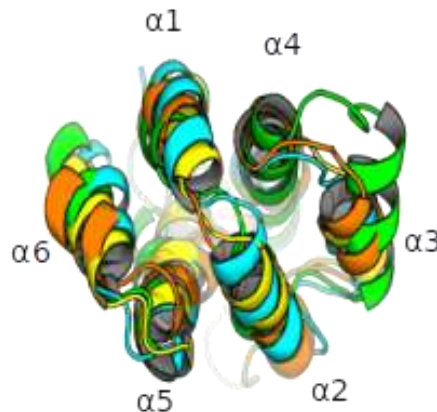
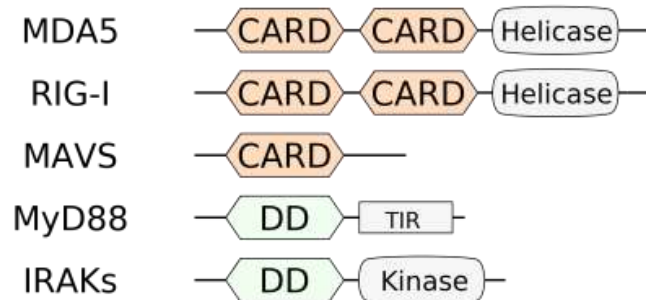
внешняя регуляция клеточной гибели



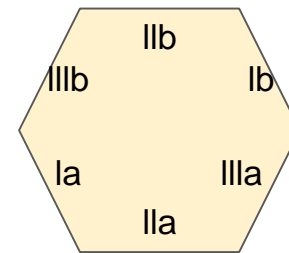
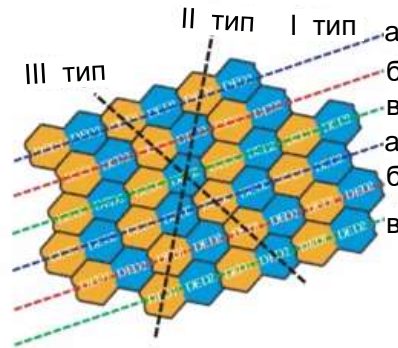
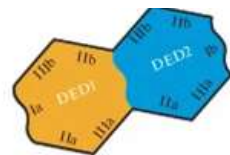
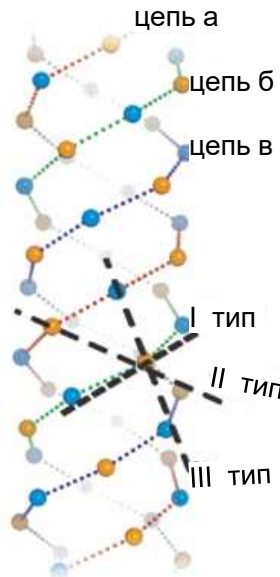
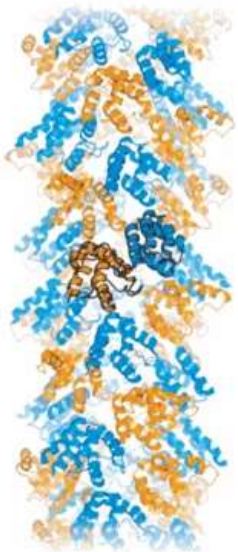
воспаление



врожденный иммунитет



Структура DED филамента



Шесть интерфейсов взаимодействия домена смерти

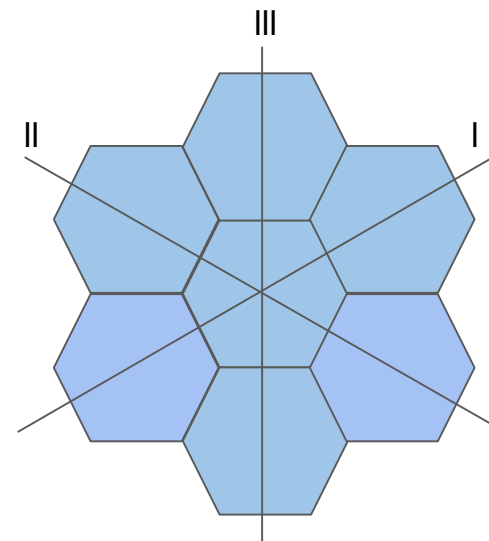
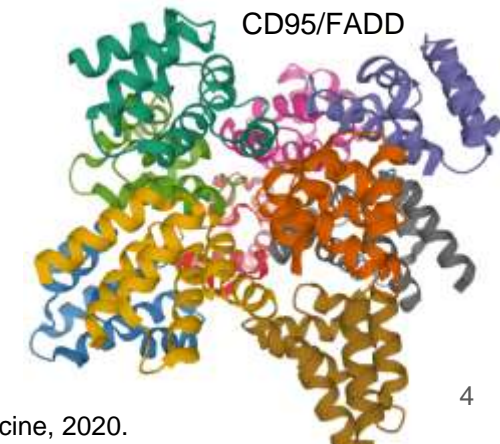
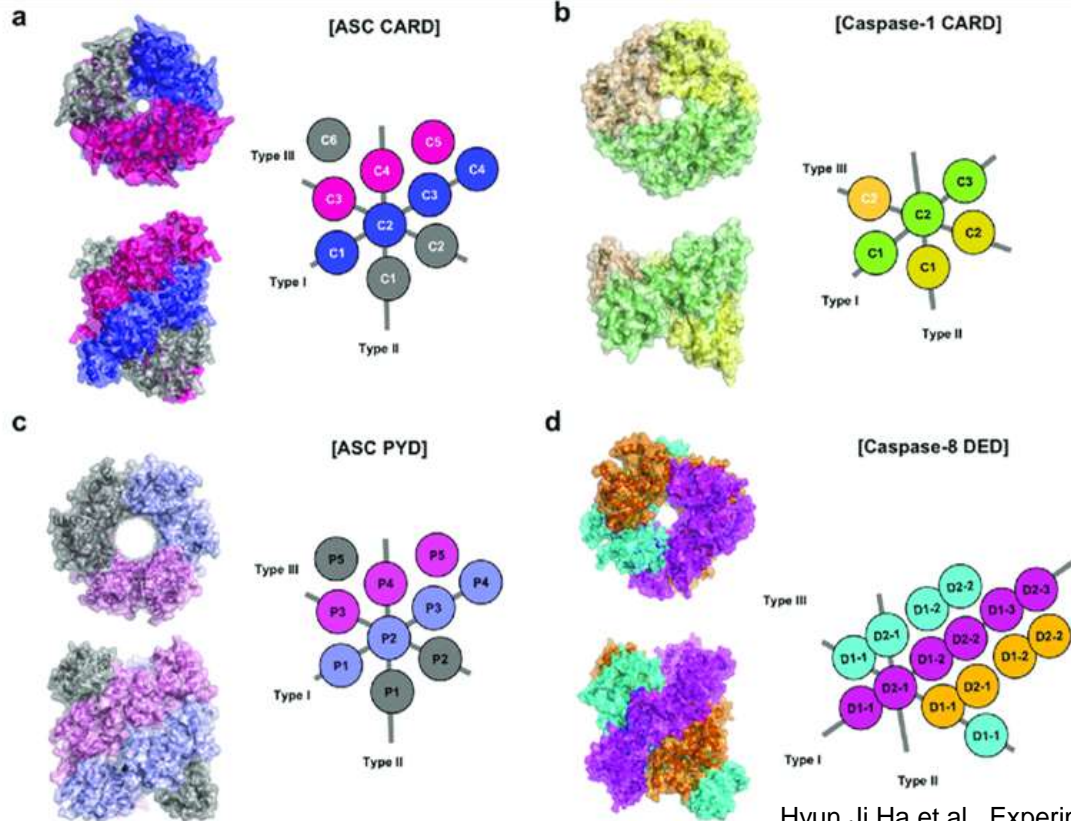


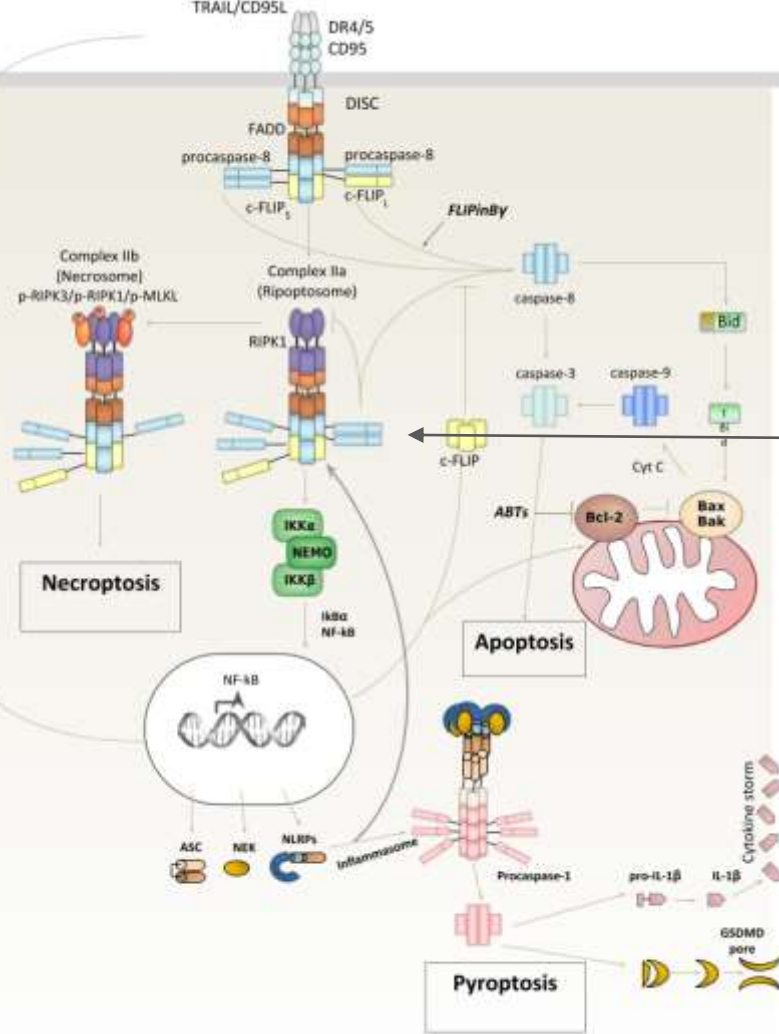
рисунок адаптирован из Ivanisenko et al.,
Mathematical and structural immunology, 2019

Структуры олигомеров, образуемых доменами смерти

MyD88, IRAK4, и IRAK2



Сигнальные пути программируемой клеточной гибели



структура каспазы-8, pdb:1F9E

- Олигомеры создают платформу для активации каспаз
- Структура и состав олигомеров осуществляют регуляцию и запуск определенных сигнальных путей клеточной гибели
- Методы предсказания структуры и состава олигомеров, образуемых доменами смерти, помогли бы лучше понять взаимосвязь данных сигнальных путей

Цели и задачи

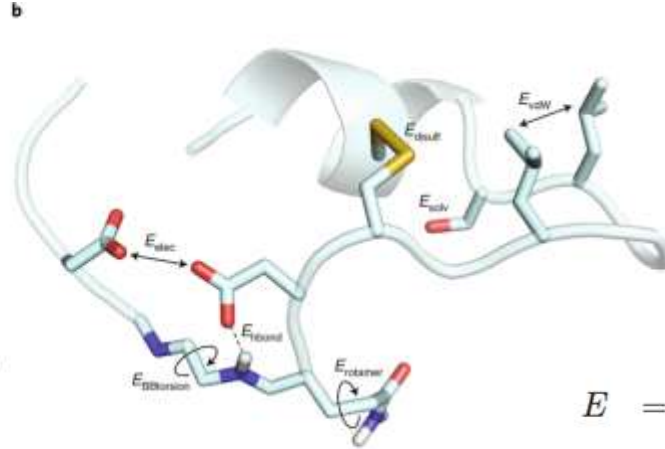
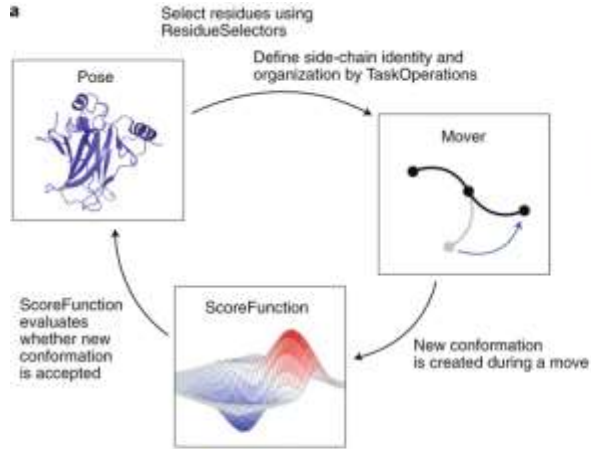
Цель: компьютерное предсказание специфичности взаимодействия доменов смерти, участвующих в регуляции сигнальных путей программируемой клеточной гибели и внутреннего иммунитета, с использованием методов структурного моделирования.

Задачи:

- Анализ физико-химических характеристик интерфейсов взаимодействия доменов смерти в составе олигомеров.
- Разработка протокола предсказания структуры олигомеров, образуемых доменами смерти
- Разработка протокола и оценка специфичности гомо- и гетеротипичных взаимодействий доменов смерти в составе олигомера с использованием пакета Rosetta
- Компьютерный анализ специфичности взаимодействия доменов смерти CD95, FADD и CRADD, участвующих в регуляции программируемой клеточной гибели, с использованием разработанных протоколов.

Материалы и методы

- Инструмент молекулярного моделирования Rosetta.



E_{vdw} - Потенциал Леннарда-Джонса
 E_{hbond} - Энергия водородных связей
 E_{elec} - Энергия взаимодействий заряженных остатков
 E_{disulf} - Энергия дисульфидных связей между цистеинами

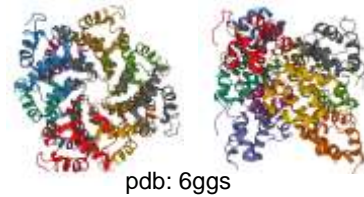
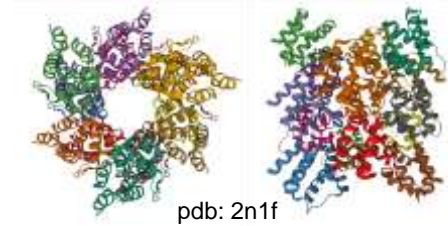
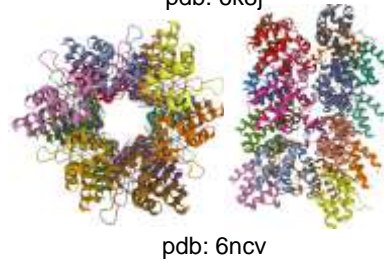
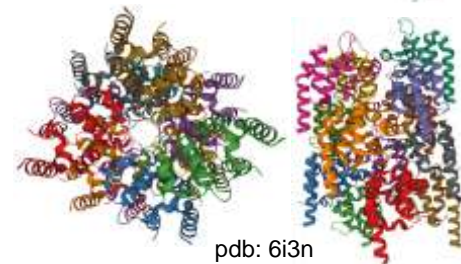
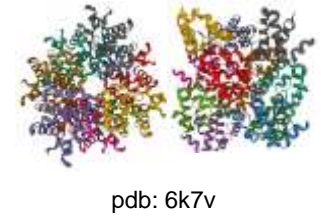
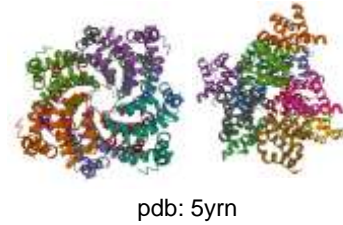
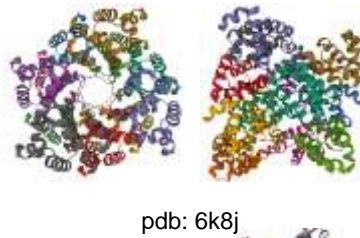
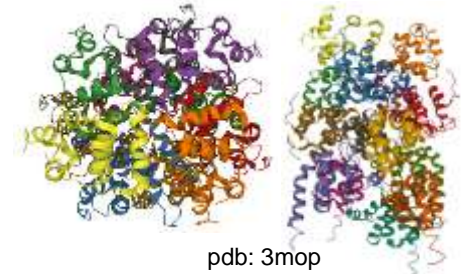
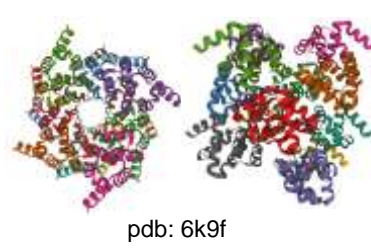
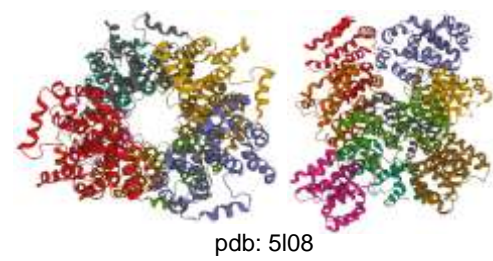
E_{solv} - Энергия сольватации остатков
 $E_{bbtortion}$ - Энергия, зависящая от торсионных углов основной цепи
 $E_{rotamer}$ - Энергия, зависящая от торсионных углов боковых цепей
 E_{ref} - референсная энергия развернутого белка

$$E = E_{vdW} + E_{hbond} + E_{elec} + E_{disulf} + E_{solv} + E_{BBtortion} + E_{rotamer} + E_{ref}$$

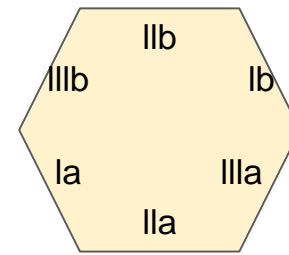
if $E_{new} < E_{orig}$ accept

if $E_{new} \geq E_{orig}$ accept with probability $P = e^{-((E_{new} - E_{orig})/T)}$

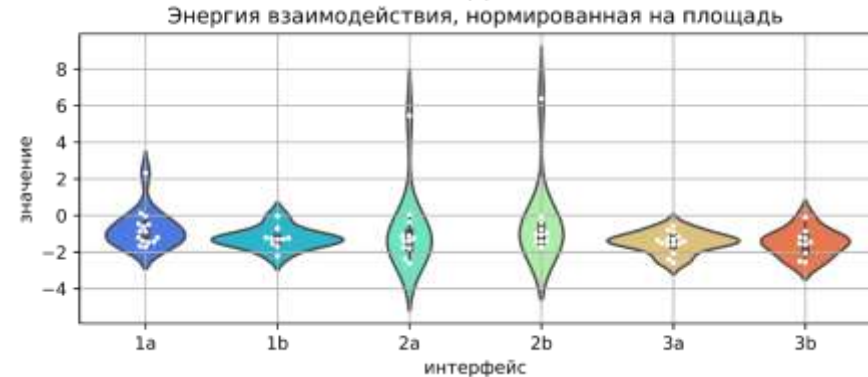
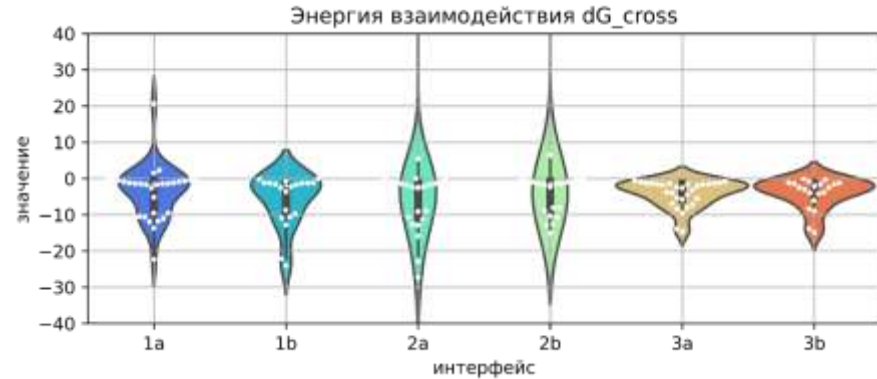
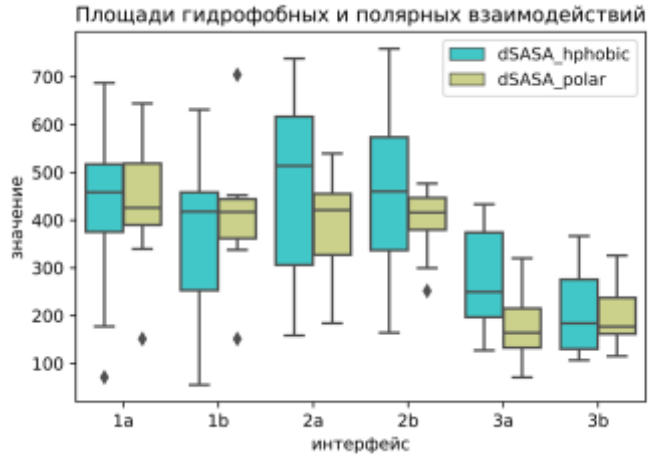
Структуры олигомеров, отобранные для анализа



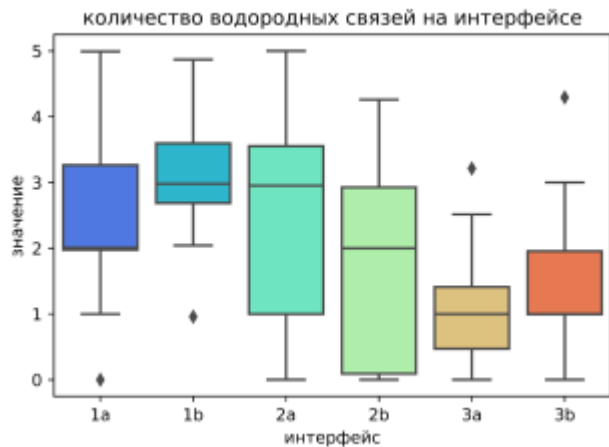
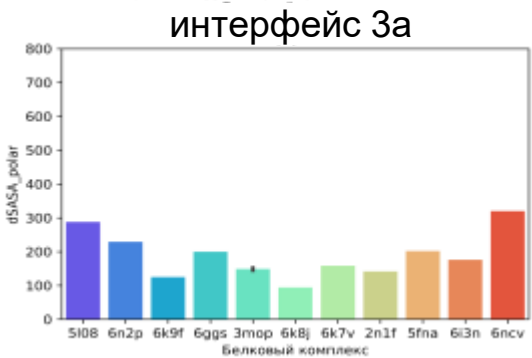
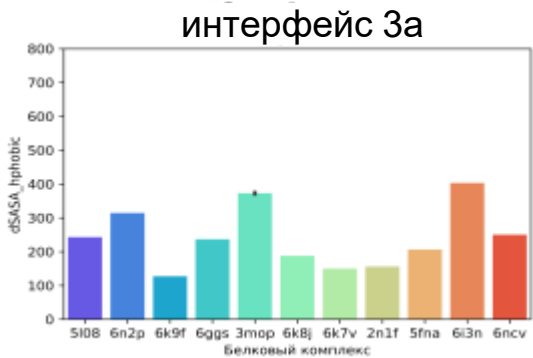
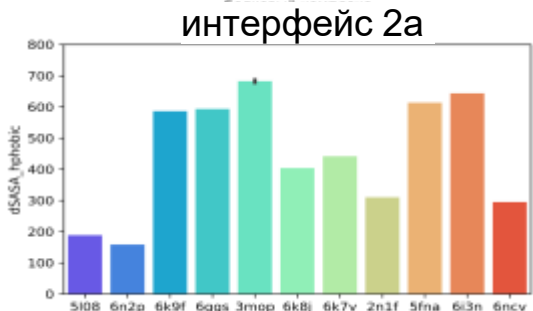
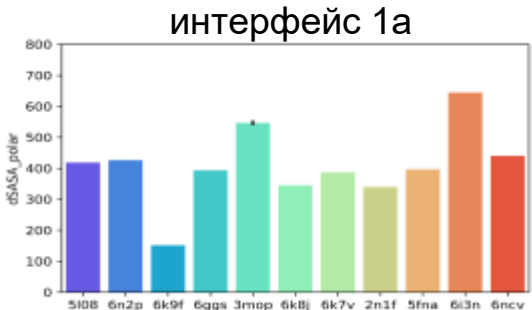
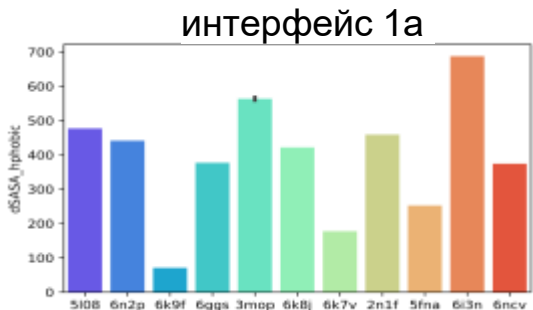
Значения физико-химических характеристик для различных интерфейсов взаимодействия доменов смерти в составе олигомеров



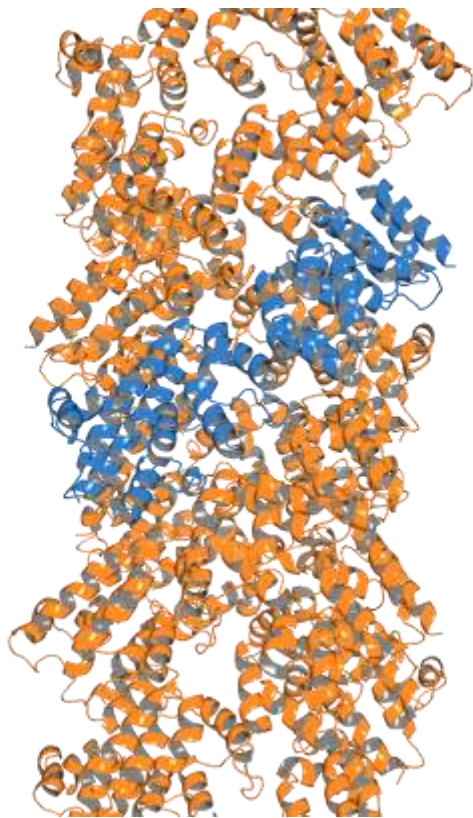
Анализ площади гидрофобных и полярных взаимодействий для разных типов интерфейсов



Сравнение площади гидрофобных и полярных взаимодействий для разных типов интерфейсов

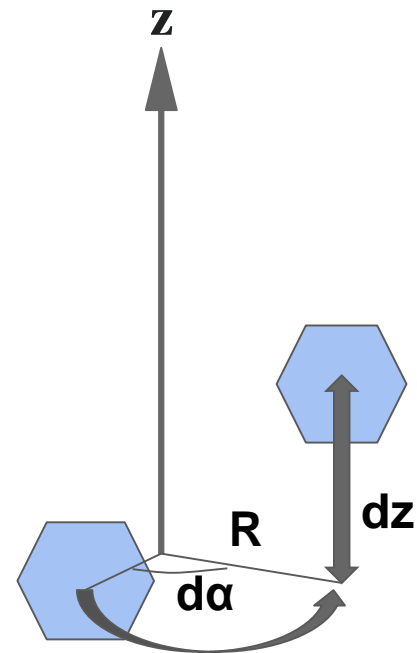


Протокол генерации структуры олигомеров со спиральной симметрией



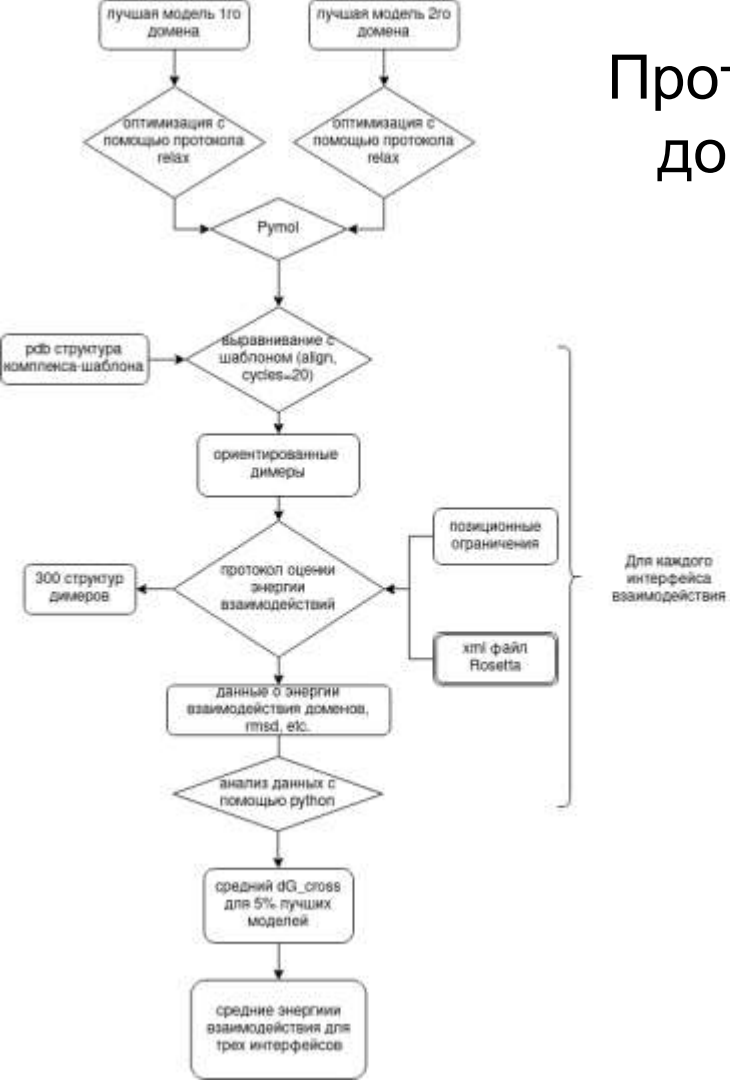
Параметры филамента каспазы 8

типы взаимодействий	dz, Å	dα, градусы
1	15	291
2	27	339
3	27	100



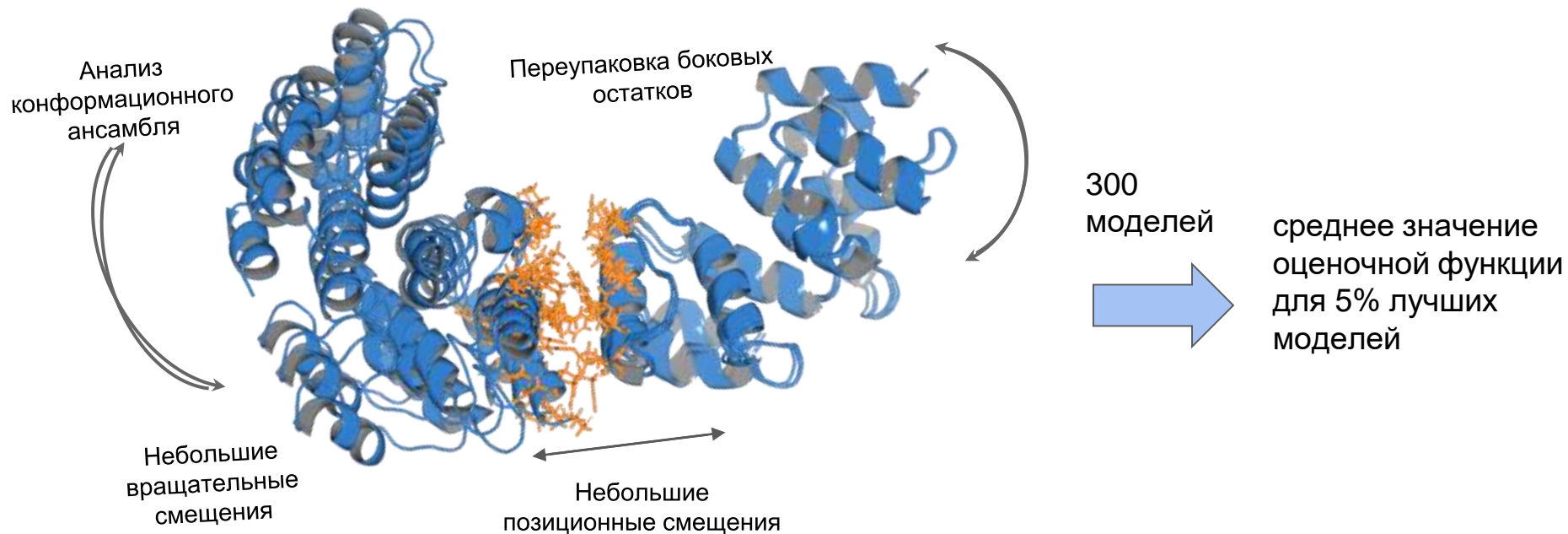
$$(R, \alpha, z_0) \rightarrow (R, \alpha + d\alpha, z_0 + dz)$$

Протокол оценки энергий взаимодействия доменов смерти в составе олигомеров



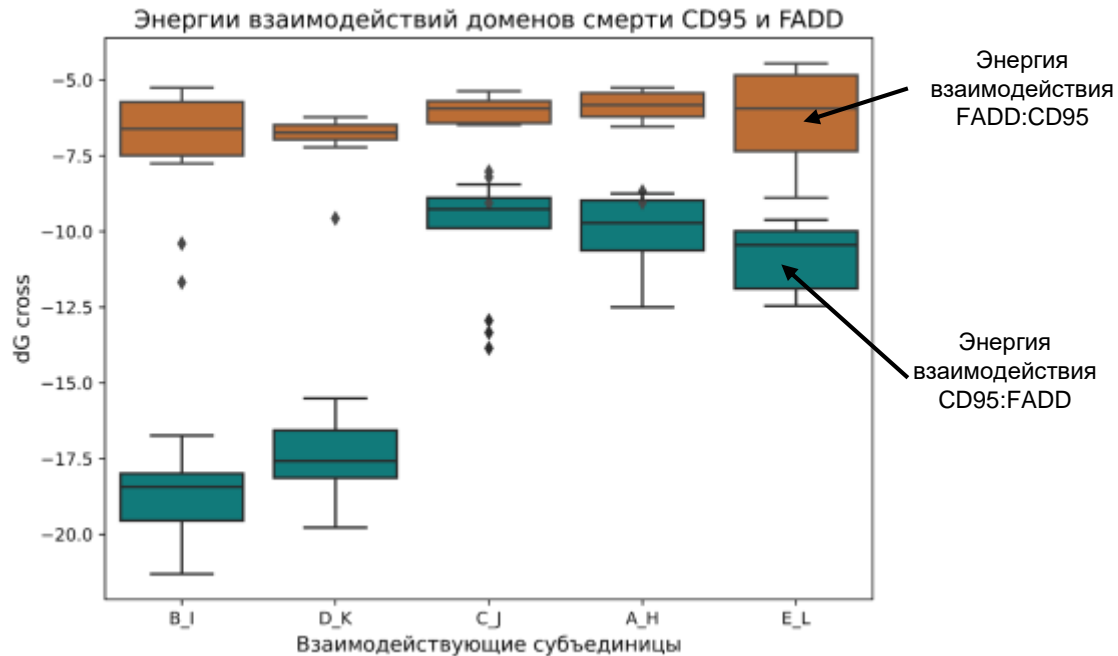
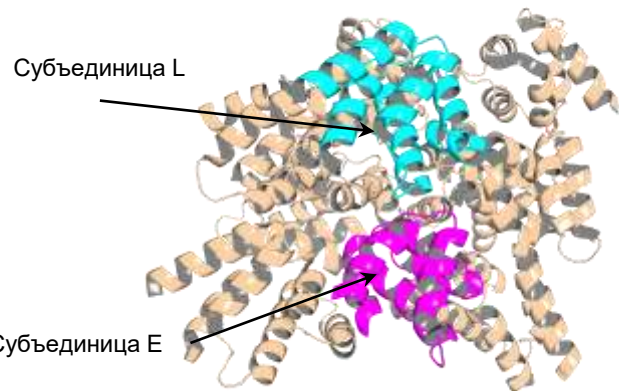
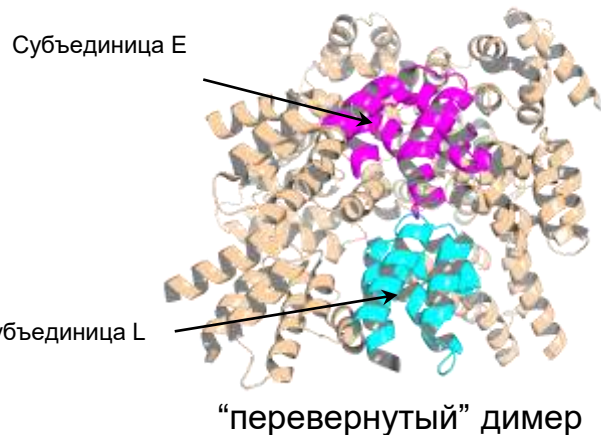
- минимизация структур мономеров с использованием протокола Rosetta FastRelax.
- выравнивание доменов на выбранную структуру-шаблон с использованием программы RyMol, получение ориентированных димерных комплексов
- добавление позиционных ограничений на подвижность атомов в начальной конфигурации структур димеров.
- дальнейшая оптимизация димеров и оценка энергии взаимодействий.

Принцип работы протокола Rosetta оценки энергии взаимодействия белков.



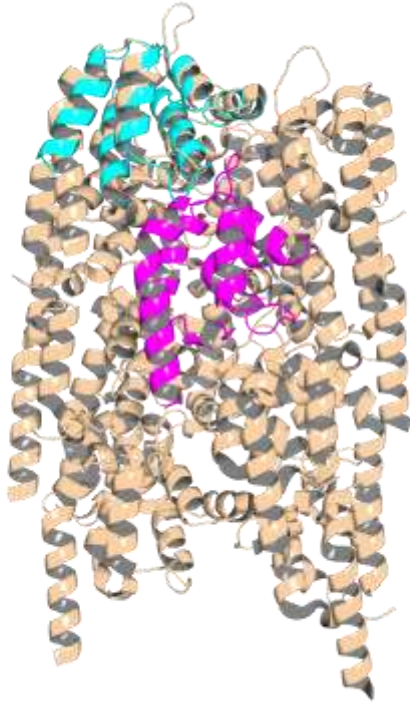
Проверка корректности работы протокола

существующее взаимодействие [PDB ID 3OQ9]:

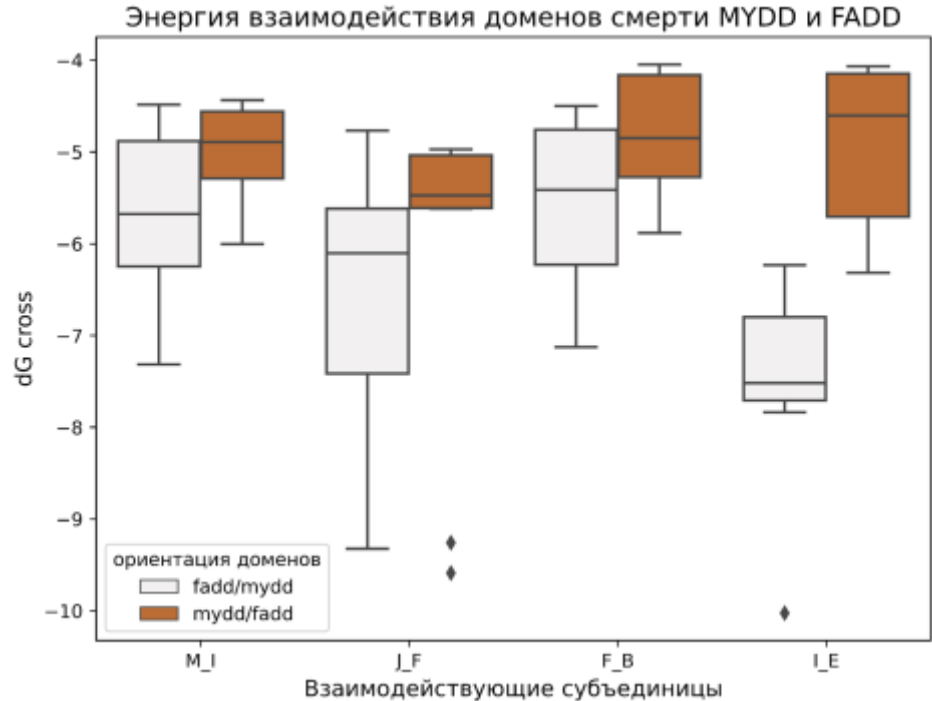


Проверка корректности работы протокола:

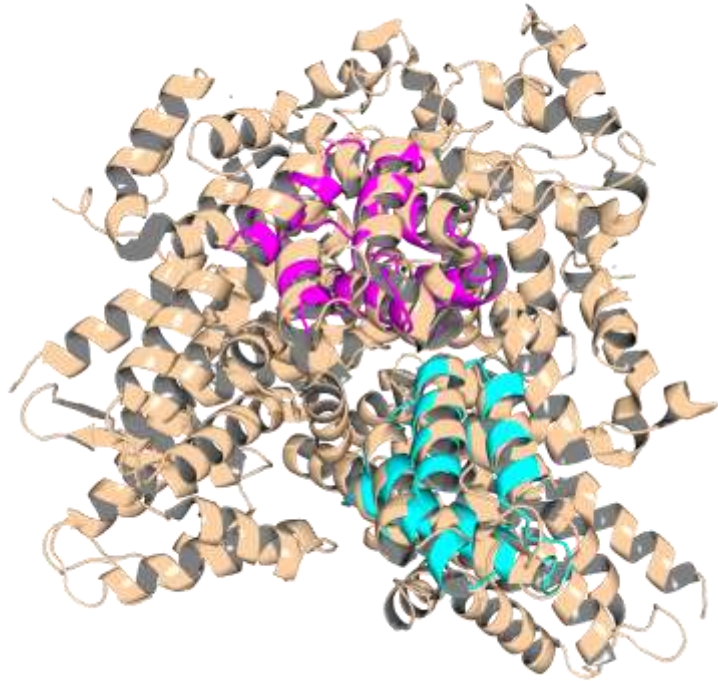
оценка энергии несуществующих взаимодействий доменов смерти FADD и MyDD88



Домены смерти FADD (розовый) и MyDD88 (голубой), олигомер MyDD88 [PDB ID:6I3N]

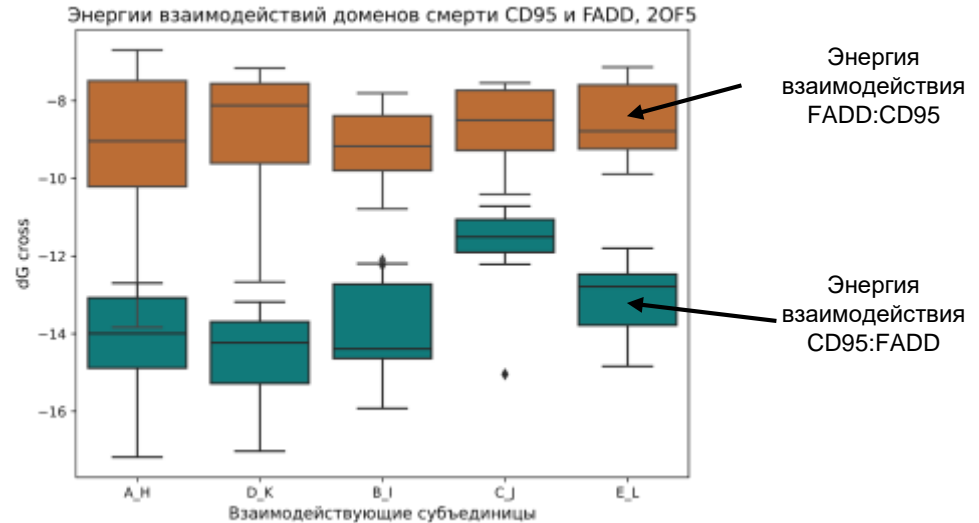


Проверка корректности работы протокола: Предсказание структуры олигомера CD95/FADD с использованием структуры олигомера CRADD [PDB ID 2OF5] в качестве шаблона.

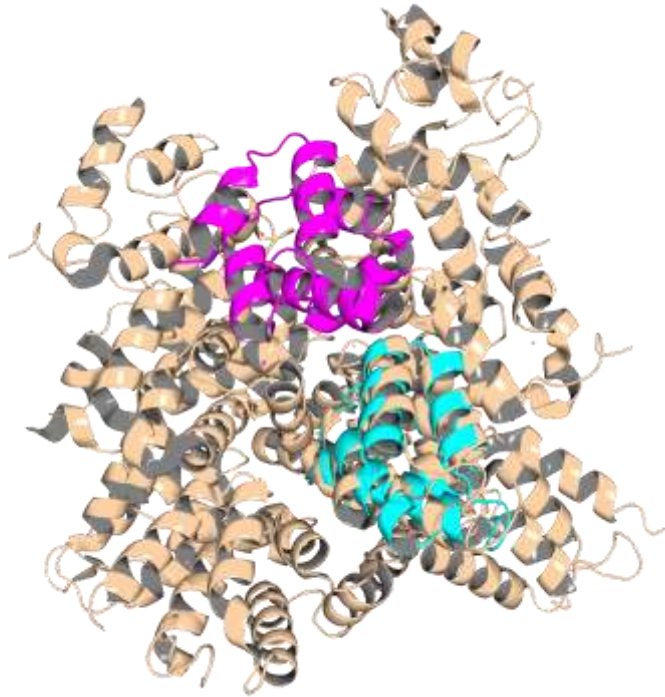


Домены смерти CD95 (розовый) и FADD (голубой),
выровненные на комплекс 2OF5

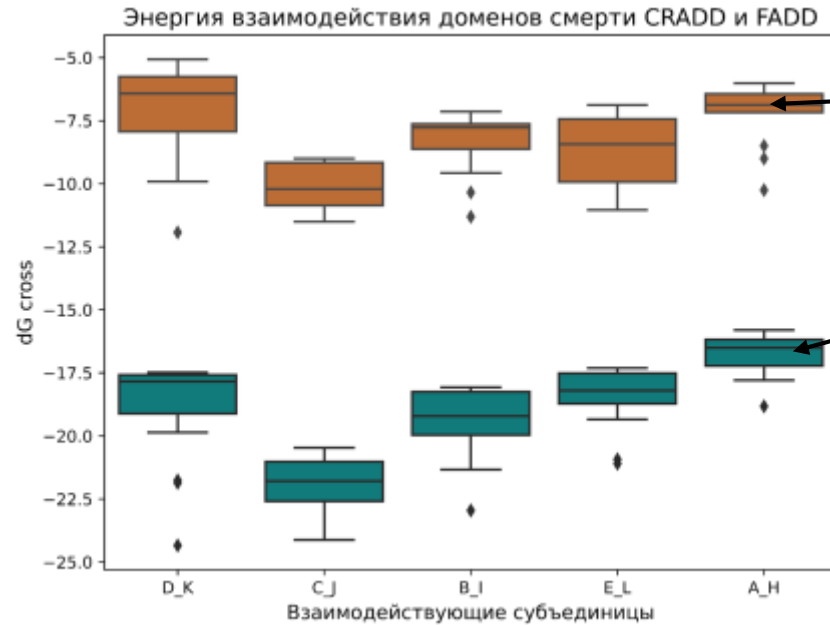
Оценка эффективности взаимодействия CD95/FADD



Оценка энергии взаимодействий FADD:CRADD



Домены смерти CRADD (розовый) и FADD (голубой)



Энергия взаимодействия FADD:CRADD

Энергия взаимодействия CRADD:FADD

Выводы

- Построен протокол генерации структуры филамента со спиральной симметрией
- Проанализированы характеристики интерфейсов взаимодействия олигомеров. Вклад от гидрофобных взаимодействий показал большую вариабельность, чем вклад от полярных взаимодействий, что может играть важную роль в специфичности взаимодействия доменов смерти
- Построен протокол оценки свободной энергии взаимодействия доменов друг с другом в составе олигомера
- Оценка эффективности взаимодействия различных интерфейсов доменов смерти белков CD95, FADD, MyD88 и CRADD показала способность протокола корректно ранжировать эффективность взаимодействий между интерфейсами 2-ого типа.