Лекция 11. Моделирование структуры белков

Курс: Молекулярное моделирование в применении к биомолекулам

Головин А.В. [1]

[1] МГУ им М.В. Ломоносова, Факультет Биоинженерии и Биоинформатики

Москва, 2013

Содержание

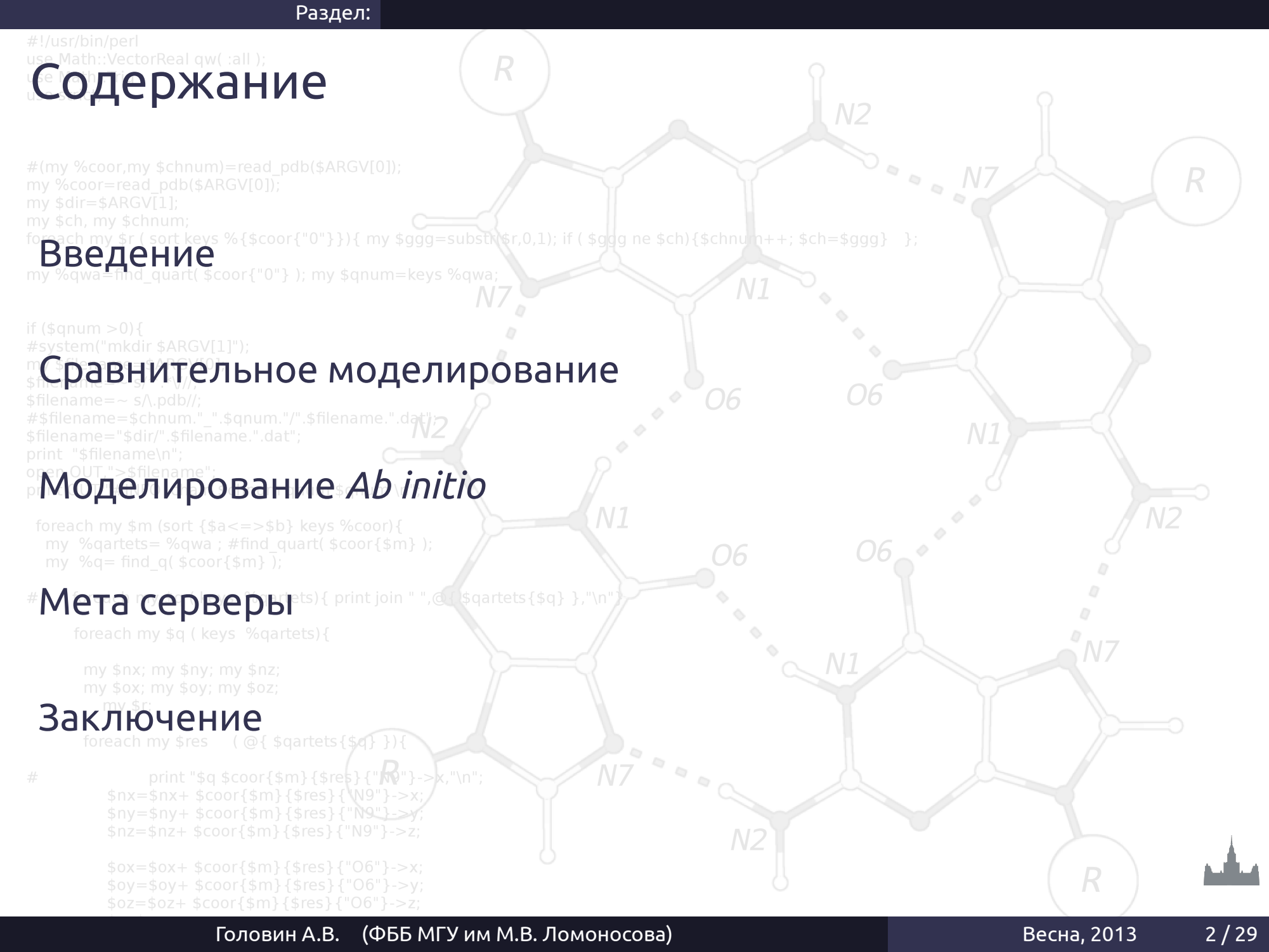
Введение

Сравнительное моделирование

Моделирование *Ab initio*

Мета серверы

Заключение



Основные проблемы:

- Монте-Карло: 100 а.к. 3N степеней свободы, получаем 10^{48} конформаций.
- **Парадокс Левинталя:** ”Промежуток времени, за который полипептид приходит к своему скрученному состоянию, на много порядков меньше, чем если бы полипептид просто перебирал все возможные конфигурации”.
- Для решения разумно использовать накопленные знания для моделирования.

Последовательность-структура

Причины парадокса Левинталя:

- Теоретические модели, не соответствуют тому, что природа старается оптимизировать;
- В ходе эволюции были отобраны только те белки, которые легко сворачиваются;
- белки могут сворачиваться разными путями, не обязательно следуя глобально оптимальному пути.
- Считается, что структура определяется последовательностью, но иногда нужны другие факторы.
- Структура более консервативна чем последовательность

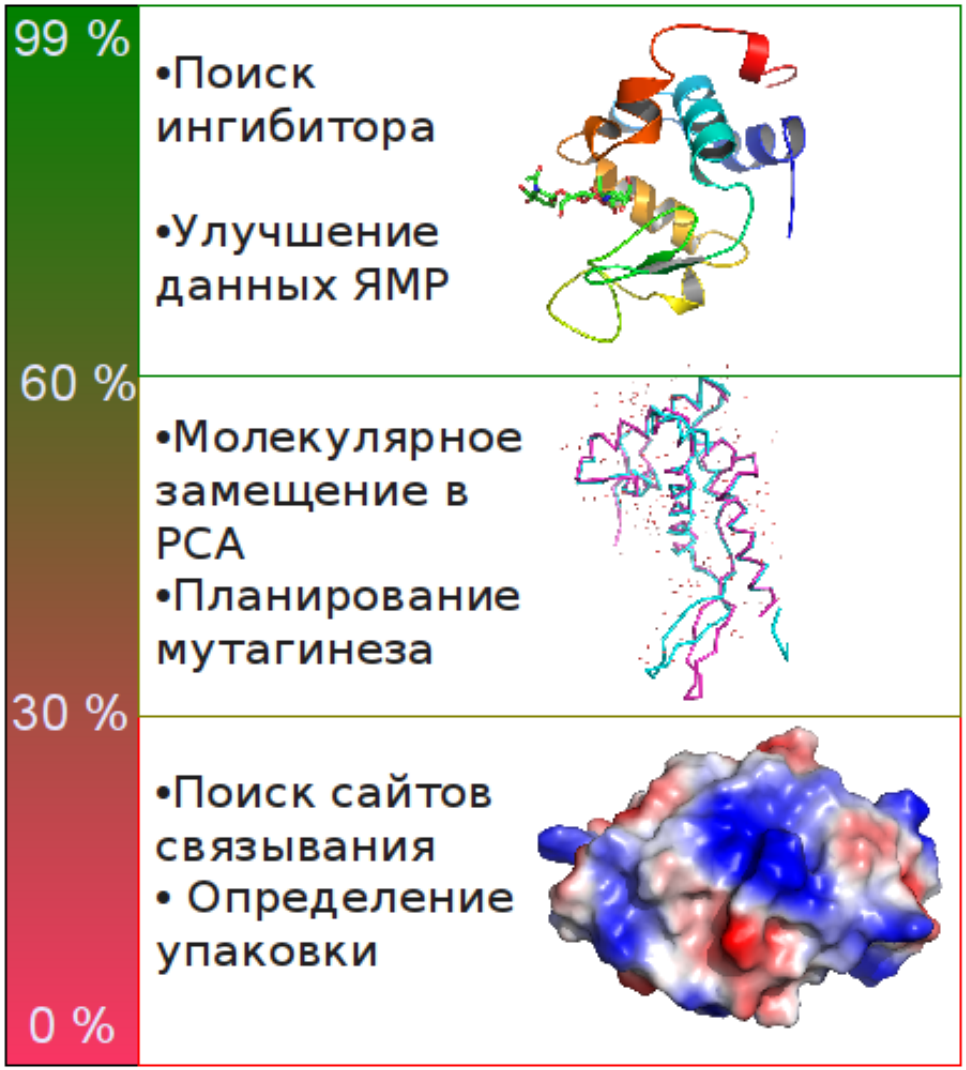
Сравнительное моделирование

- Зачем искать конформации если можно представить, что при подобии последовательностей подобны и структуры.
- Надо оценить насколько вероятно, что отличие в последовательности может привести изменению способа укладки цепи.
- Надо отфильтровать ошибки полученные при определении структуры.

Известные структуры и последовательности

- Сейчас известно порядка 10^5 структур. Примерно 10% это уникальные белки.
- Только 30% из первого пункта имеют разрешение лучше 3.0 ангстрем.
- Примерно 25% известных последовательностей можно использовать для сравнительного моделирования.
- Для 50% последовательностей можно предсказать способ укладки.

Степень идентичности и сравнительное моделирование



Sali,A. & Kuriyan,J. Trends Biochem. Sci. 22, M20–M24 (1999)

Как это реализовать?

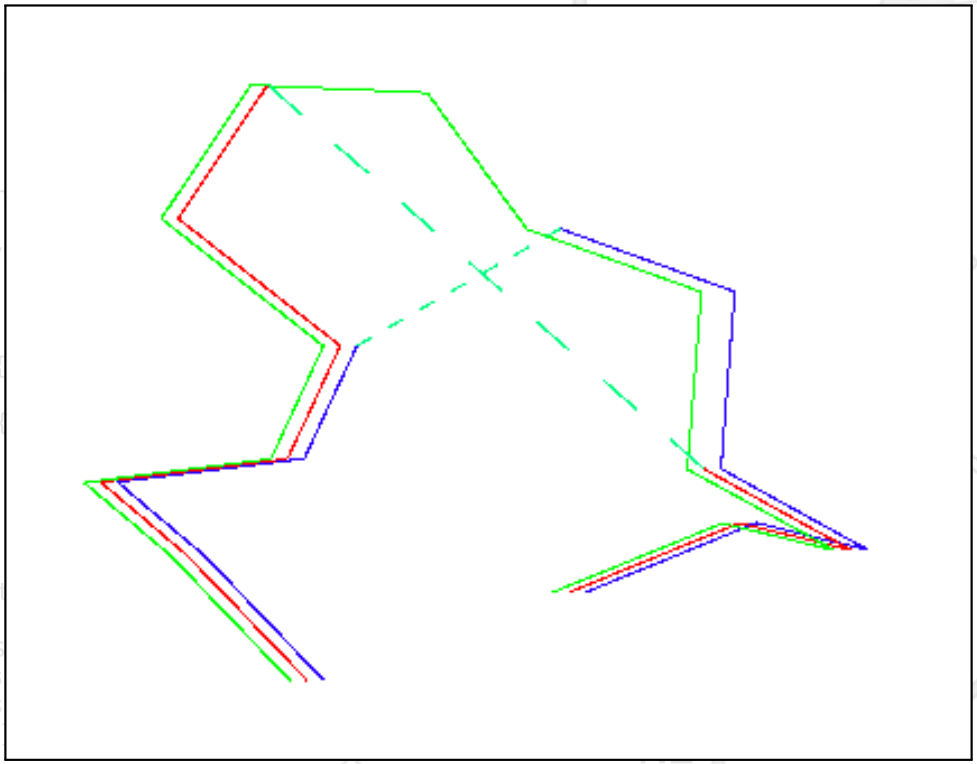
- Надо найти белок заготовку с известной структурой.
- Построить первичное выравнивание.
- Улучшить выравнивание.
- Построить ход основной цепи.
- Моделирование петель
- Достроить/моделировать положение боковых радикалов
- Проверка модели

Поиск белка заготовки

- Поиск по PDB с помощью:
  - Blast
  - Psi-Blast
  - Методов распознавания упаковки
- Используя биологическую информацию.
- Функциональное аннотирование в базах данных.
- Используя информацию об активных сайтах, или мотивы.

Улучшение выравнивания

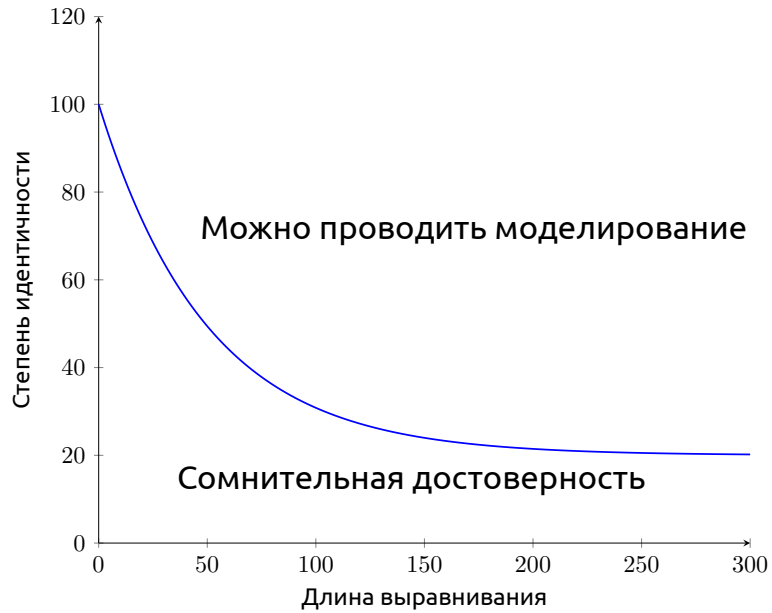
```
 1   2   3   4   5   6   7   8   9   10  11  12  13  14
PHE ASP ILE CYS ARG LEU PRO GLY SER ALA GLU ALA VAL CYS
PHE ASN VAL CYS ARG THR PRO --- --- --- GLU ALA ILE CYS
PHE ASN VAL CYS ARG --- --- --- THR PRO GLU ALA ILE CYS
```

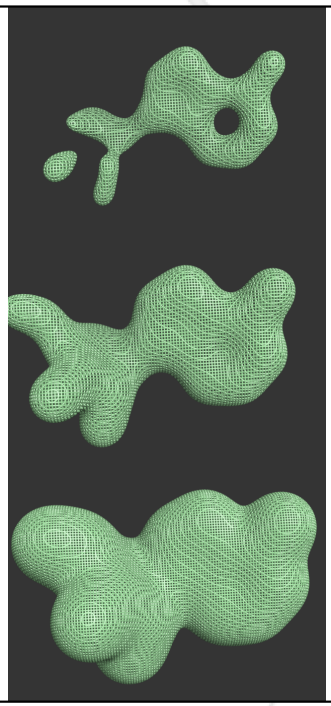


Из книги ”Professional Gambling” от Gert Vriend

Качество белка заготовки

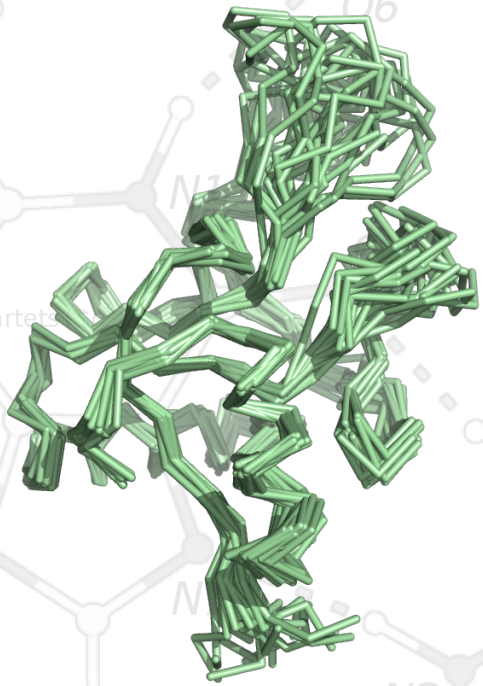
- Выбор качественного белка заготовки очень важен.
- Лучший вариант не обязательно обладает лучшей степенью идентичности.
  - Белок 1: ID 93%, 3.5 ангстрема разрешение. Хуже.
  - Белок 2: ID 90%, 1.5 ангстрема разрешение. Лучше!



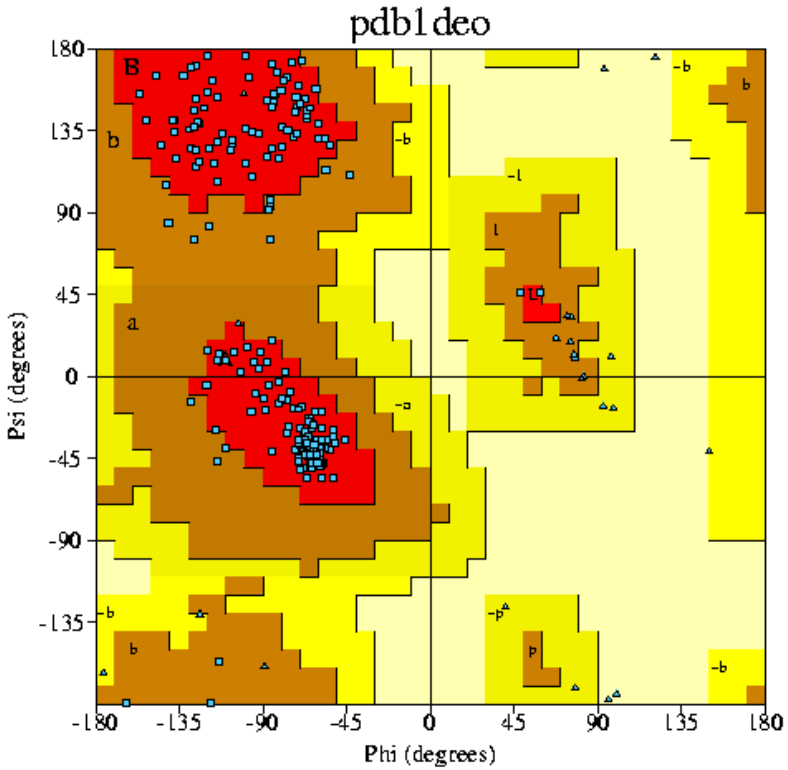


Если структура белка заготовки получена ЯМР

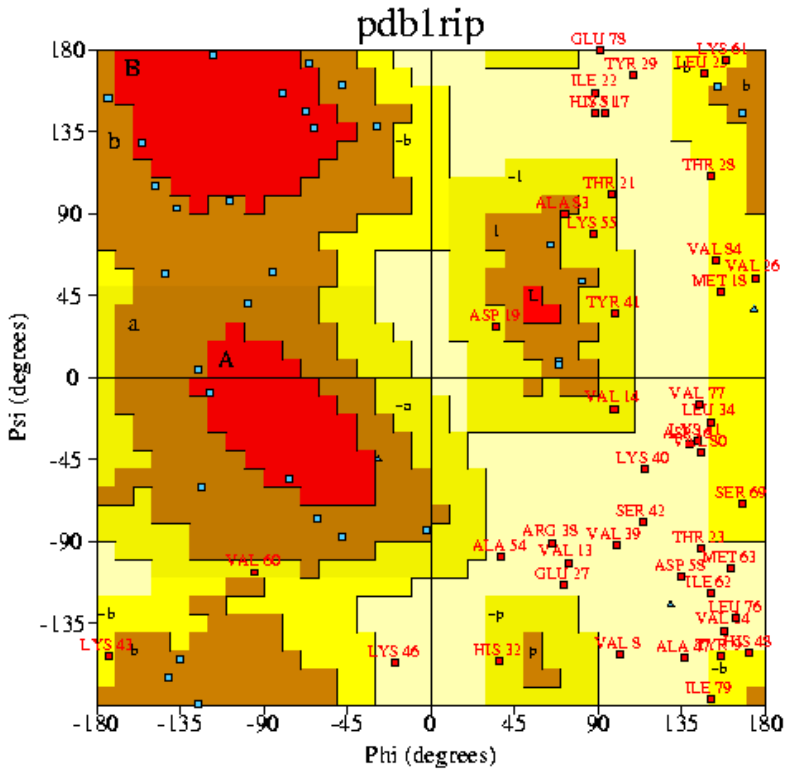
- Определимся какие области определены лучше.
- Соотнесём с выравниванием.
- Если низкая гомология выпадает на “подвижные” области, то структура подходит.



Качество заготовки, Рамачандран



РСА, хорошая структура.



ЯМР, сомнительные данные.

Построение остова

- Генерируем координаты остова моделируемого белка для остатков из выравненных областей.
- Не обязательно использовать координаты, могут подойти дистанционные ограничения и любые другие подходящие ограничения.
- Большинство исследователей предпочитают Modeller. Modeller использует дистанционные ограничения.

Моделирование петель

- Эмпирическое моделирование:
  - Поиск подходящего фрагмента по PDB
  - Использовать базы данных (LIP, etc..)
- Молекулярная механика.
- Монте-Карло.
- Rosseta:
  - Поиск фрагментов близких по последовательности и предполагаемой вторичной структуре.
  - Комбинирование результатов поиска с помощью Монте-Карло.

Комбинации выше перечисленных.

Моделирование боковых радикалов

- Если идентичность последовательностей высока то можно ожидать высокую консервативность третичных контактов.
- Если анализ показывает, что важные контакты консервативны то:

Лучше оставить конформацию боковых радикалов из заготовки чем моделировать.

Моделирование боковых радикалов

- Конформация боковых радикалов зависит от конформации основной цепи.
- Существуют базы данных ротамеров.
- Некоторые исследователи считают, что SCWRL метод самый удачный.

Это эмпирический метод на основе теории графов.
http://dunbrack.fccc.edu/SCWRL3.php

Точность моделирования боковых радикалов

- Высокая точность моделирования достигается для боковых радикалов внутри глобулы.
- Причина: в экспериментах остатки на поверхности более подвижны.
- Вычислительное проще упаковать гидрофобные остатки, чем учесть полярные контакты и водородные связи с водой или с участием воды.

Улучшение модели

- Методы минимизации энергии.
- Моделирование молекулярной динамики (оптимизация гидрофобики)
- Моделирование Монте-Карло.
- Любой известный подход для оптимизации структуры.

Ошибки

- Обычно ошибки не исправляются на последующих этапах моделирования.
  - Хорошее выравнивание не исправит плохой выбор белка заготовки.
  - Хорошее моделирование петель не исправит плохое выравнивание.
- При обнаружении ошибки необходимо повторять некоторые этапы.

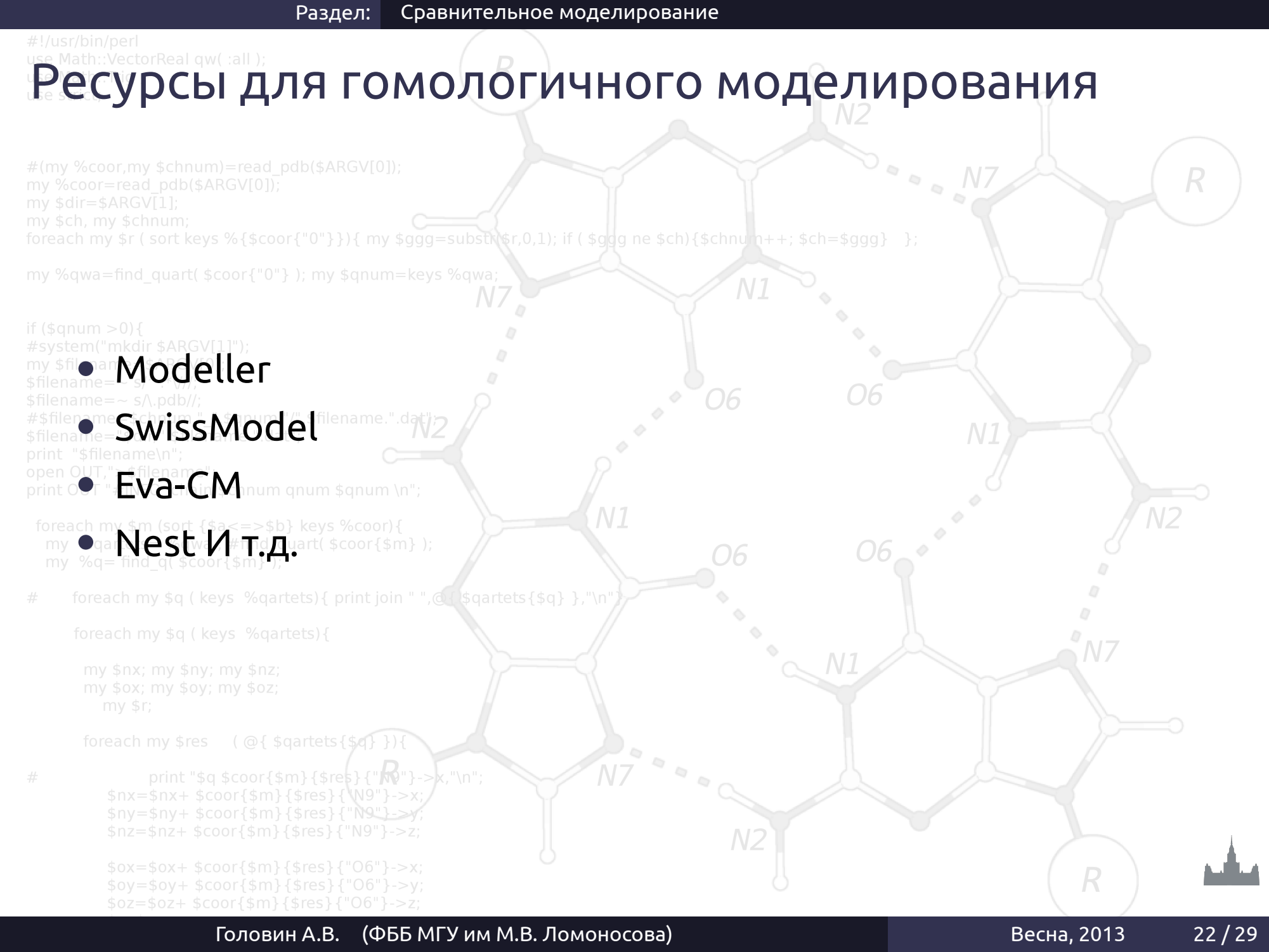
Проверка

- Большинство программ для моделирования по гомологии выдают правильные значения для связей и валентных углов.
- Карта Рамачандрана в большинстве случаев для модели выглядит также, как для белка заготовки
- Проверка на ориентацию или положение заряженных остатков может быть полезна.
- Использование любых экспериментальных данных:
  - Остатки активного центра.
  - Места модификаций.
  - Места контактов.

ProQ сервер оптимизирован на поиск правильной модели а не нативной структуры.

Ресурсы для гомологичного моделирования

- Modeller
- SwissModel
- Eva-CM
- Nest И т.д.

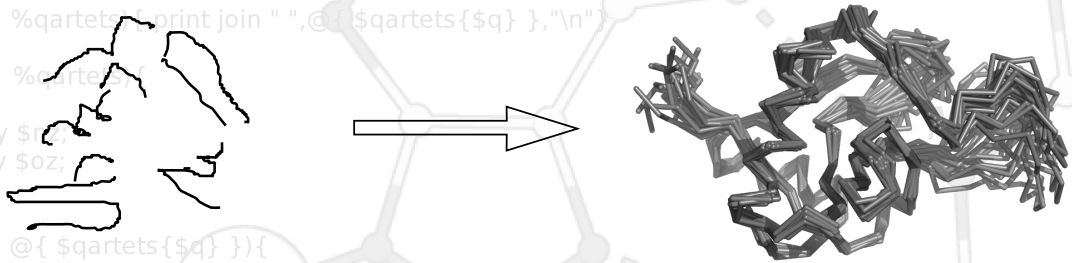


Предсказание структуры белка *Ab initio*

- Теоретически можно использовать молекулярную динамику.
- Моделирование отжига, как в МД так и в Монте-Карло.
- На основе фрагментов, Rosseta

Ab initio, Rosseta

- Метод использует информацию о предсказании вторичной структуры
- Сравниваем фрагменты от 3 до 9 остатков с библиотекой известных структур. Строим эти фрагменты.
- Соединяем эти фрагменты и используем Монте-Карло для оптимизации третичной структуры.



Ab initio, Rosseta

- Для определения хорошей конформации использую специальные потенциалы, которые делают модель похожей на нативную
- Что можно использовать:
  - Потенциалы для третичных контактов
  - Гидрофобные потенциалы
  - Потенциал для уменьшения радиуса вращения молекулы
  - Водородные связи и т.д.

Можно добавить знание об дисульфидных мостиках, местах связывания катионов металлов и т.д.

Threading — протягивание нити

- Сравниваем последовательность со всеми известными способами укладки.
- Используем потенциалы для определения тенденций в известных способах укладки.
  - Каждую аминокислоту из модели помещаем в позиции белков разных укладок
  - Определяем как хорошо эта аминокислота подходит белку заготовке на основе парных взаимодействий
  - Но основе суммарного результата определяем белок заготовку.

Threading — недостаки

- Взаимодействия в белке не всегда описываются парными контактами.
- Потенциалы часто основываются на профилях последовательностей.

Есть гибридные методы Rosseta/Threading: I-Tasser

Мета серверы

- Сравнение разных методов.
- Большинство методов предсказывают правильную укладку в первых 10-20 результатах.
- Удаление структур с высоким значением параметров модели, но с единственной укладкой.
- Суперпозиция результатов, взвешивание.
- Часто выдают только позиции атомов остова.

Заключение

- Суть современного моделирования белков - эмпирическая
- Чем больше известной информации используется при моделировании тем точнее модель.
- Каждый метод имеет недостатки.
- Критический анализ модели позволяет выявить ошибки и улучшить модель.