

Program TRITON

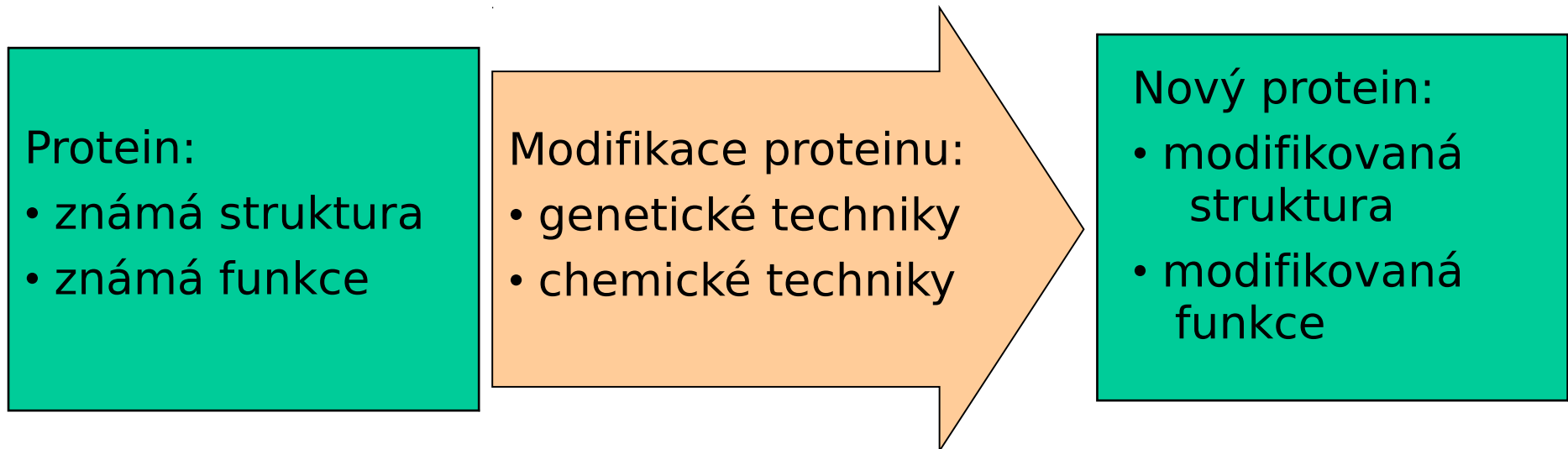
Racionální návrh proteinů

**Modelování mutantních proteinů,
výpočet reakčních cest,
protein-ligand docking**

Racionální návrh proteinů

- Proteiny:
 - enzymy (biologické katalyzátory)
 - proteiny vázající ligandy
 - další proteiny
- Kromě přirozené role v buňkách se proteiny uplatňují i v průmyslových aplikacích (biotechnologie), např. enzymy jako katalyzátory reakcí
- Vlastnosti přirozených proteinů jsou často nevyhovující pro biotechnologické aplikace (malá katalytická účinnost enzymů, neschopnost pracovat s některými substráty)
- Cílem je modifikace proteinu vhodným způsobem tak aby získal požadované vlastnosti

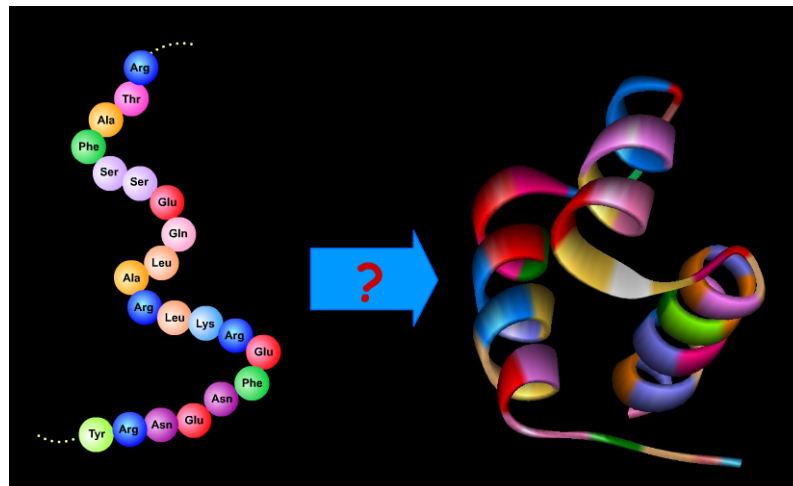
Racionální návrh proteinů



Jak modifikovat strukturu proteinu abychom dosáhli požadované změny jeho funkce?

Racionální návrh proteinů

- Každý protein má specifickou sekvenci aminokyselin (primární struktura)
- Na základě toho dochází k formování motivů sekundární a terciální struktury – získáváme 3D strukturu proteinu
- Modifikací primární struktury dojde též k modifikaci 3D struktury
- Pokud je modifikace malá (substituce jedné nebo dvou aminokyselin) je změna 3D struktury zpravidla jen malá a týká se jen místa, kde se modifikovaná aminokyselina nachází
- Pokud tuto změnu provedeme na aminokyselině nacházející se v aktivním centru enzymu, ovlivníme jeho katalytické vlastnosti



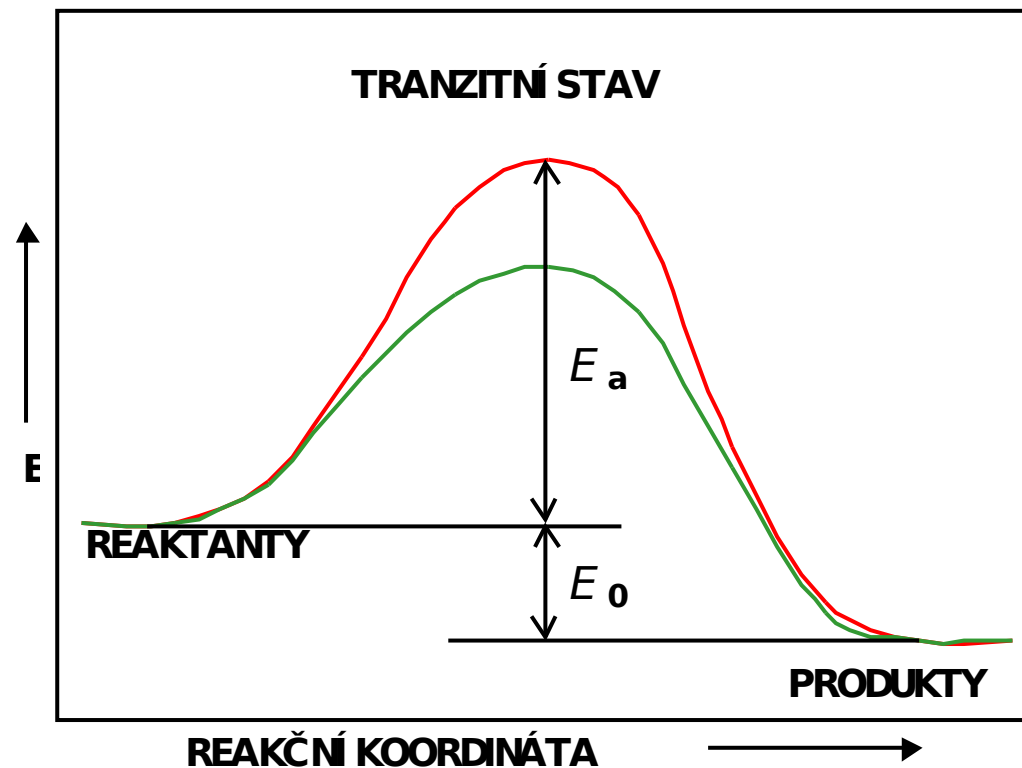
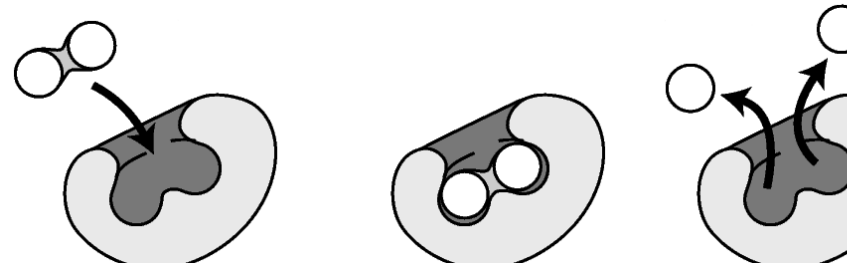
Metoda počítačové místně-cílené mutageneze

- Chceme modifikovat strukturu proteinu tak abychom ovlivnili jeho funkci
- Potřebujeme znát 3D strukturu proteinu
- Prozkoumáme strukturu proteinu a lokalizujeme důležitá místa, např. aktivního centrum enzymu
- Navrhujeme aminokyseliny jejichž záměna by mohla ovlivnit strukturu aktivního centra
- Namodelujeme 3D struktury proteinových mutantů, v nichž jsou vybrané aminokyseliny substituovány za jiné (použijeme metodu homologního modelování)
- Pomocí metod počítačové chemie spočítáme pro jednotlivé mutanty, jakým způsobem byla ovlivněna funkce proteinu (např. jeho enzymatická aktivita)

Enzymová katalýza

Enzymy:

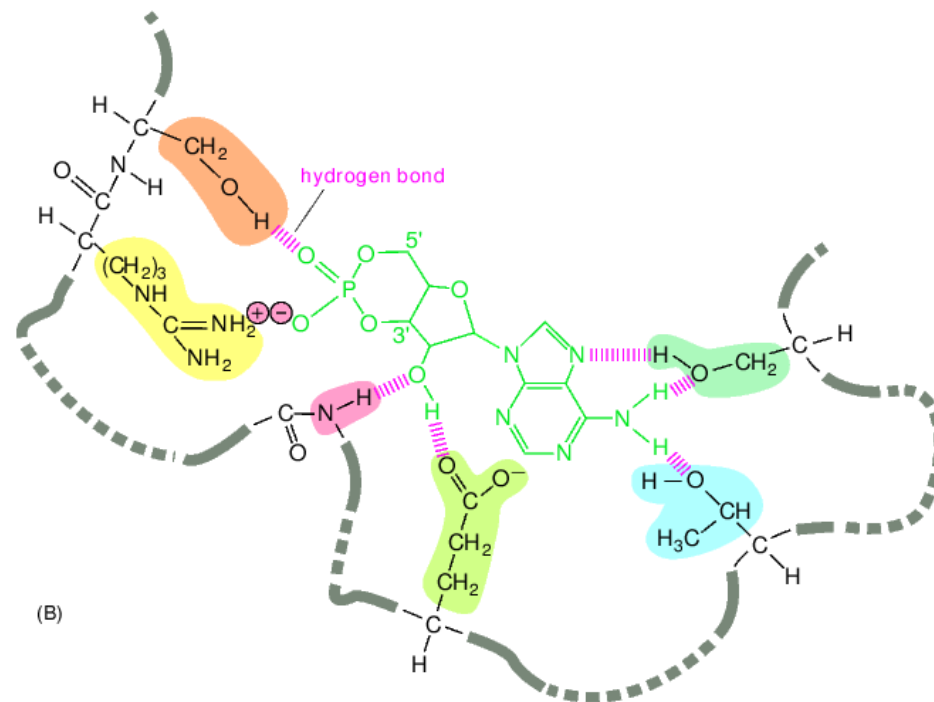
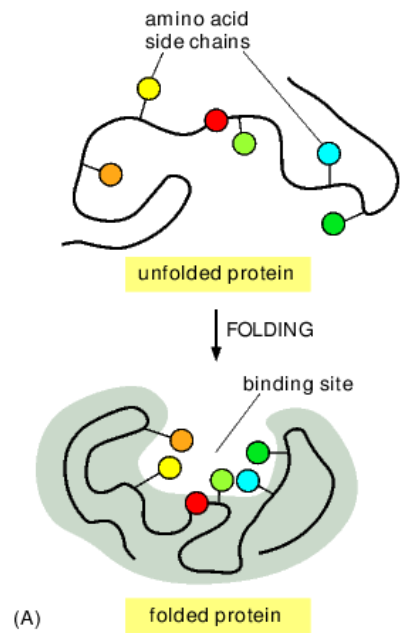
- biologické katalyzátory
- globulární proteiny
- katalýza probíhá v aktivním centru enzymu
- snížení aktivační energie prostřednictvím nevazebných interakcí aktivního centra se substrátem



Aktivní centrum enzymu

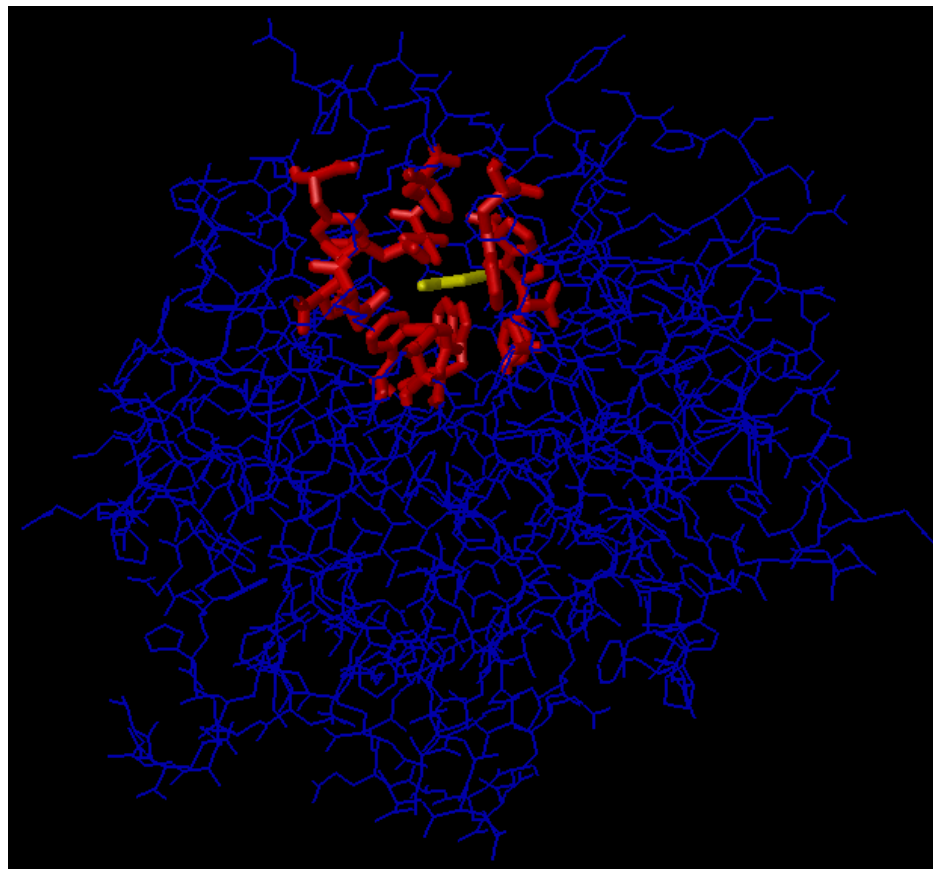
Interakce mezi substrátem a proteinem v aktivním centru:

- vodíkové vazby
- elektrostatické interakce vč. dipolových
- van der Waalsovy interakce
- hydrofobní interakce
- stackingové interakce



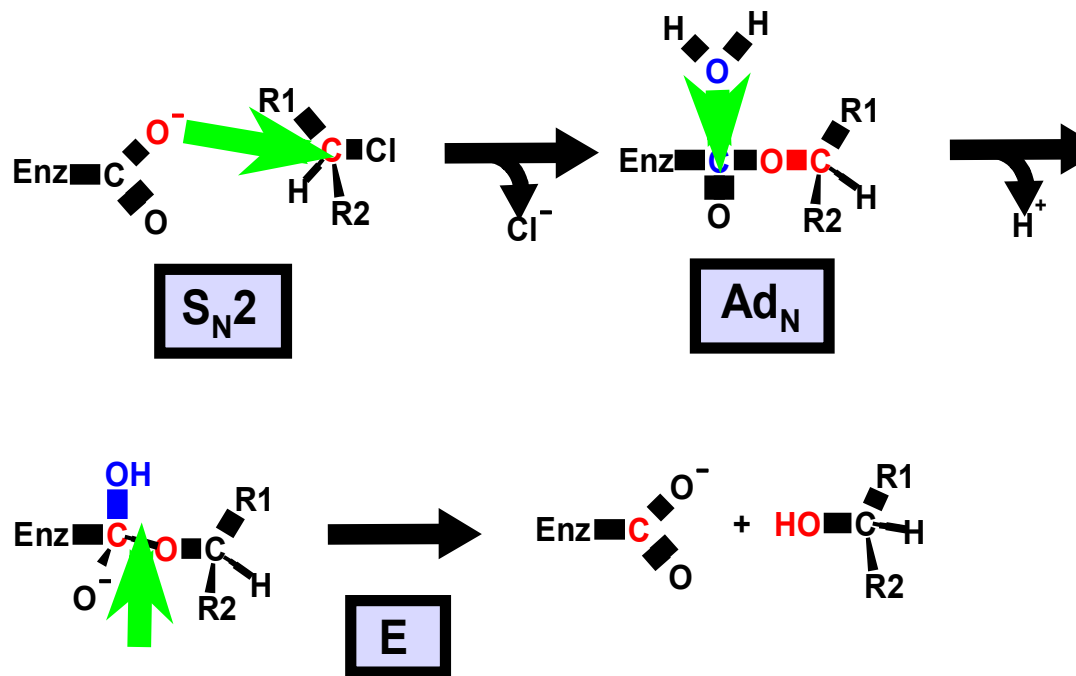
Modelování enzymových reakcí

- Chemické reakce - vznik nebo zánik kovalentních vazeb => nelze použít molekulovou mechaniku => kvantově-chemické metody
- Proteiny - velké molekuly - nelze použít *ab initio* metody => semiempirické kvantově-chemické metody (AM1, PM3)
- Nelze zahrnout celou molekulu do výpočtu => použijeme aminokyseliny aktivního centra (kavita)
- Napodobení situace v reálném proteinu - fixace atomů peptidické páteře

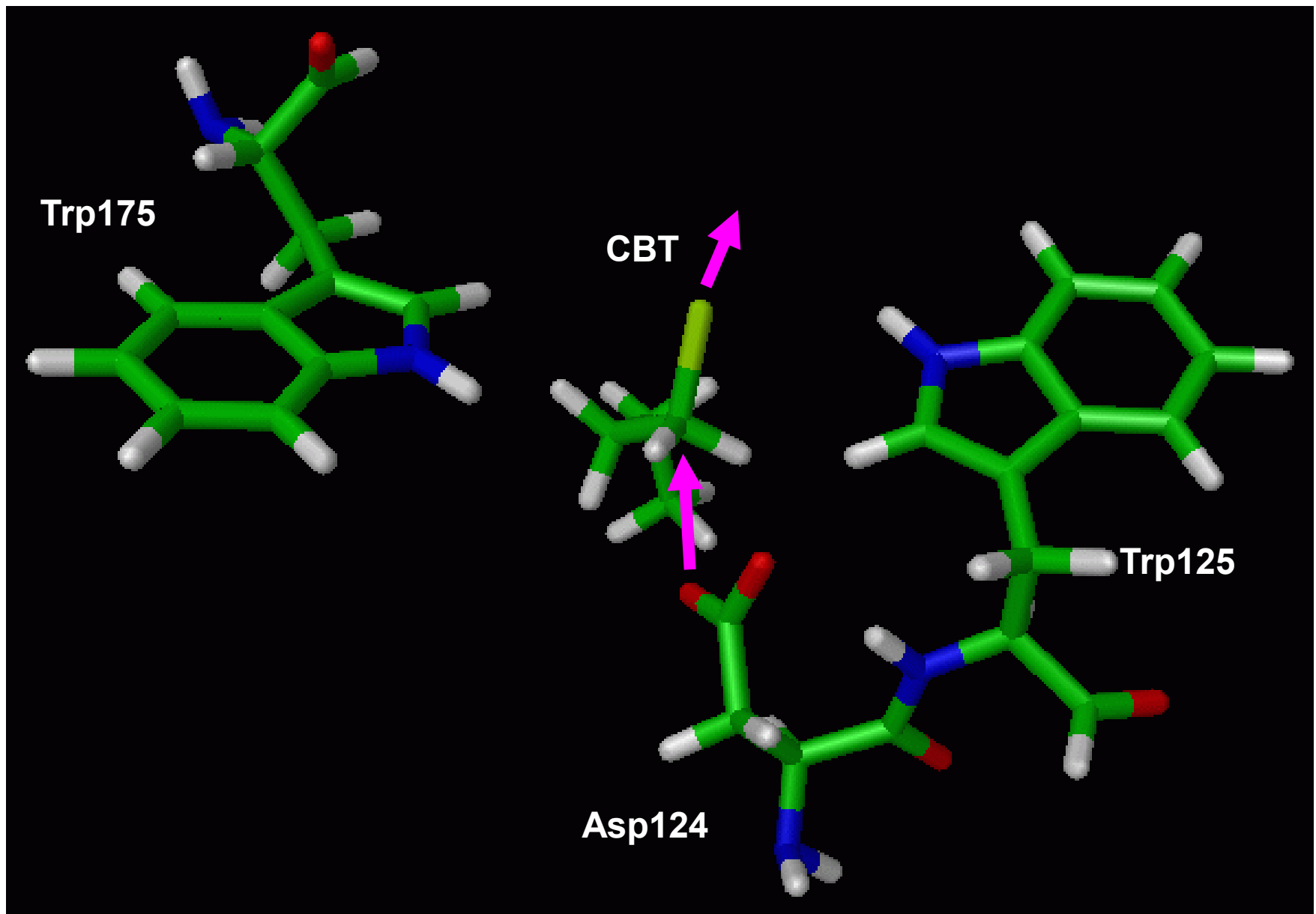


Studium haloalkan dehalogenasy DhIA

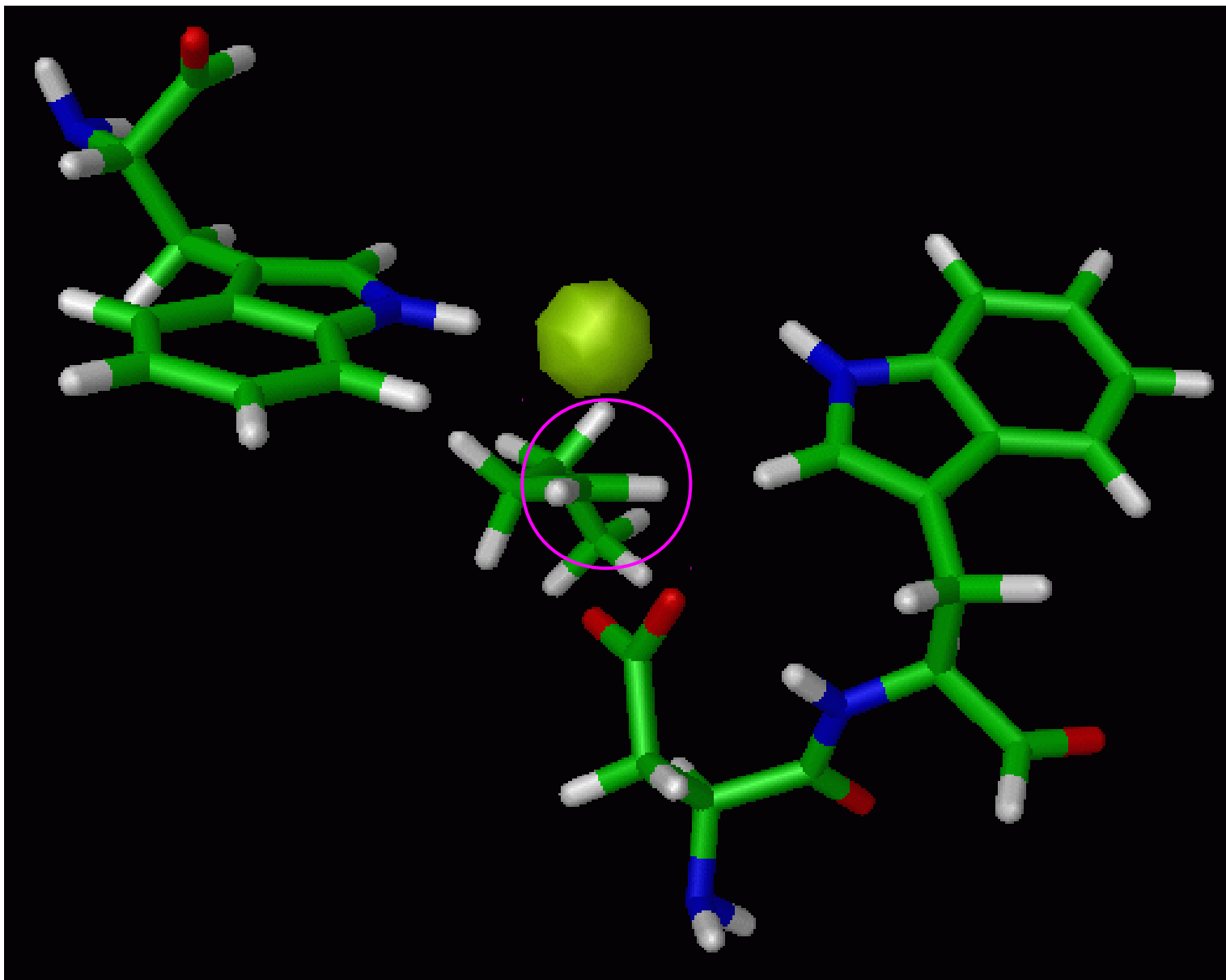
- Haloalkan dehalogenasy - odbourávají chlorované a bromované uhlovodíky
- Tříkrokový mechanismus reakce
- Výpočet reakční cesty SN2 kroku semiempirickými QM metodami



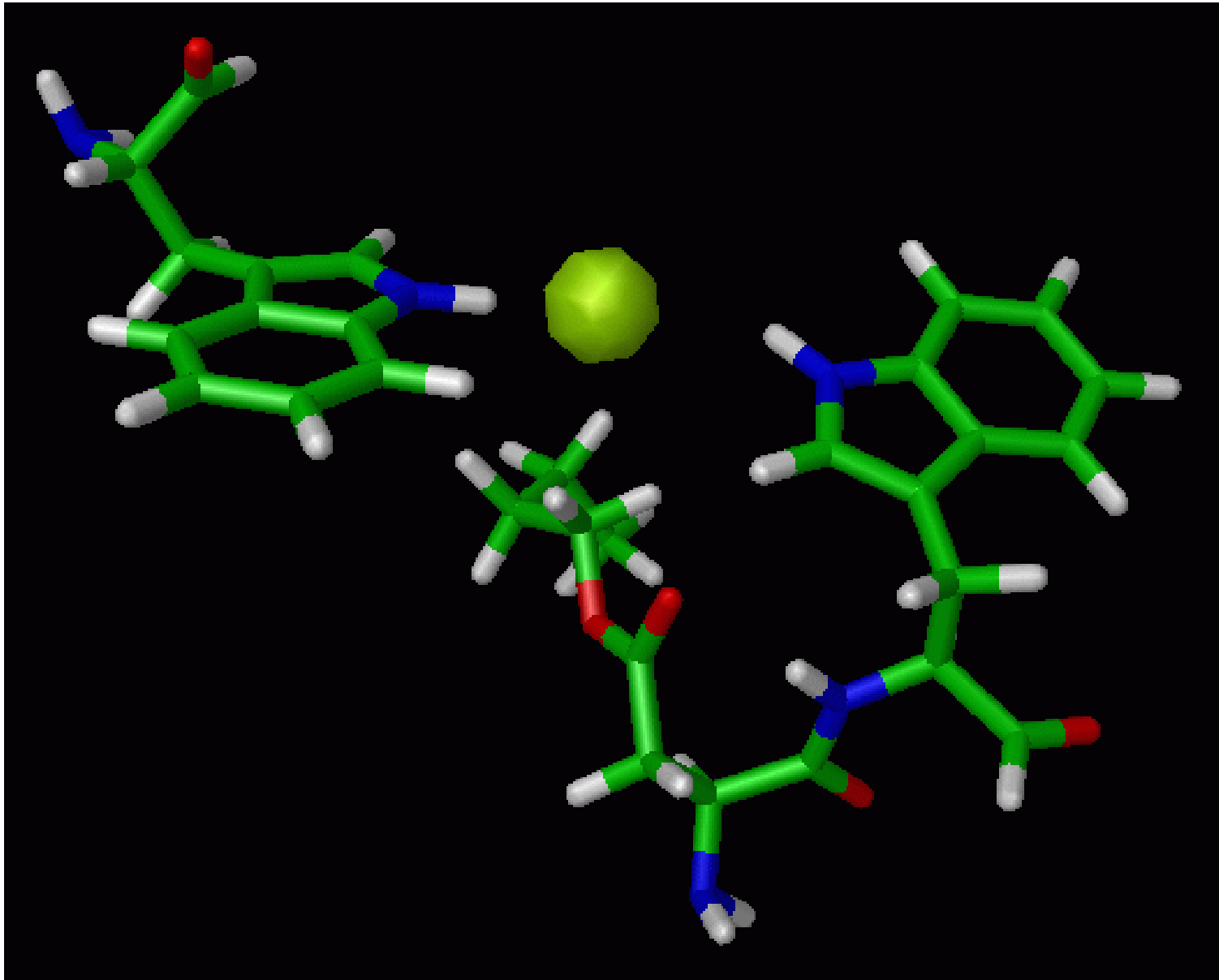
Reaktant



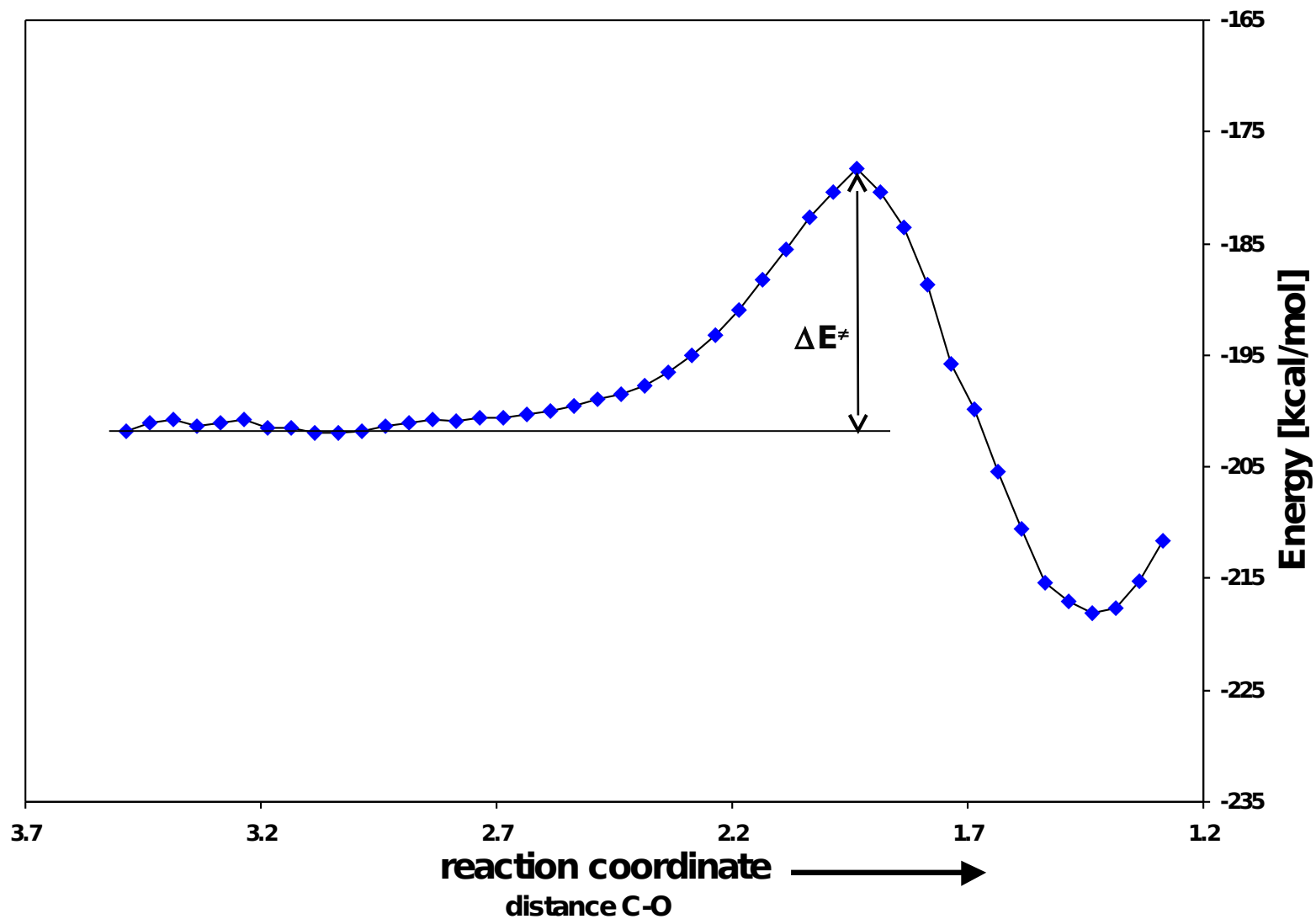
Tranzitní stav

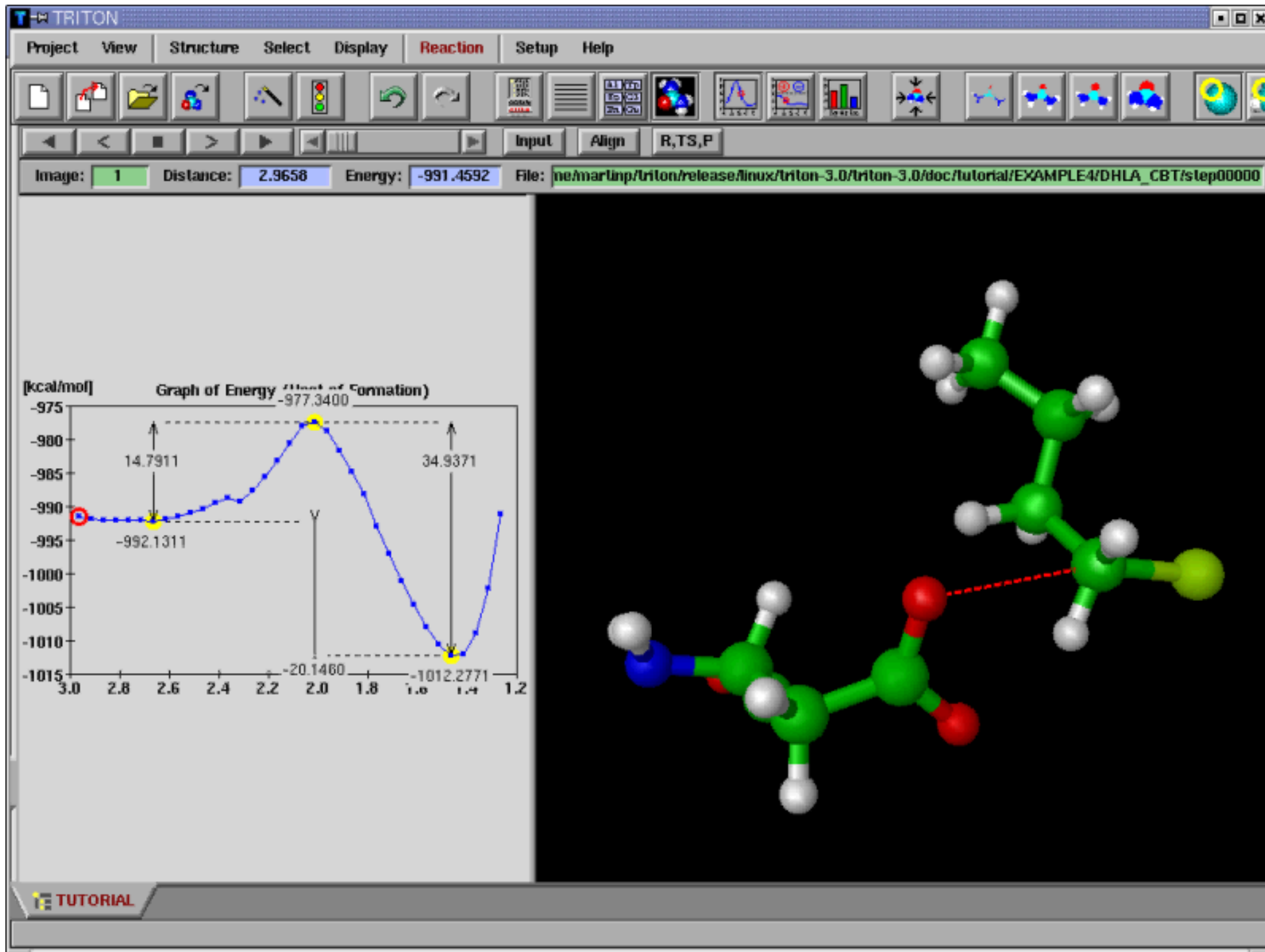


Produkt

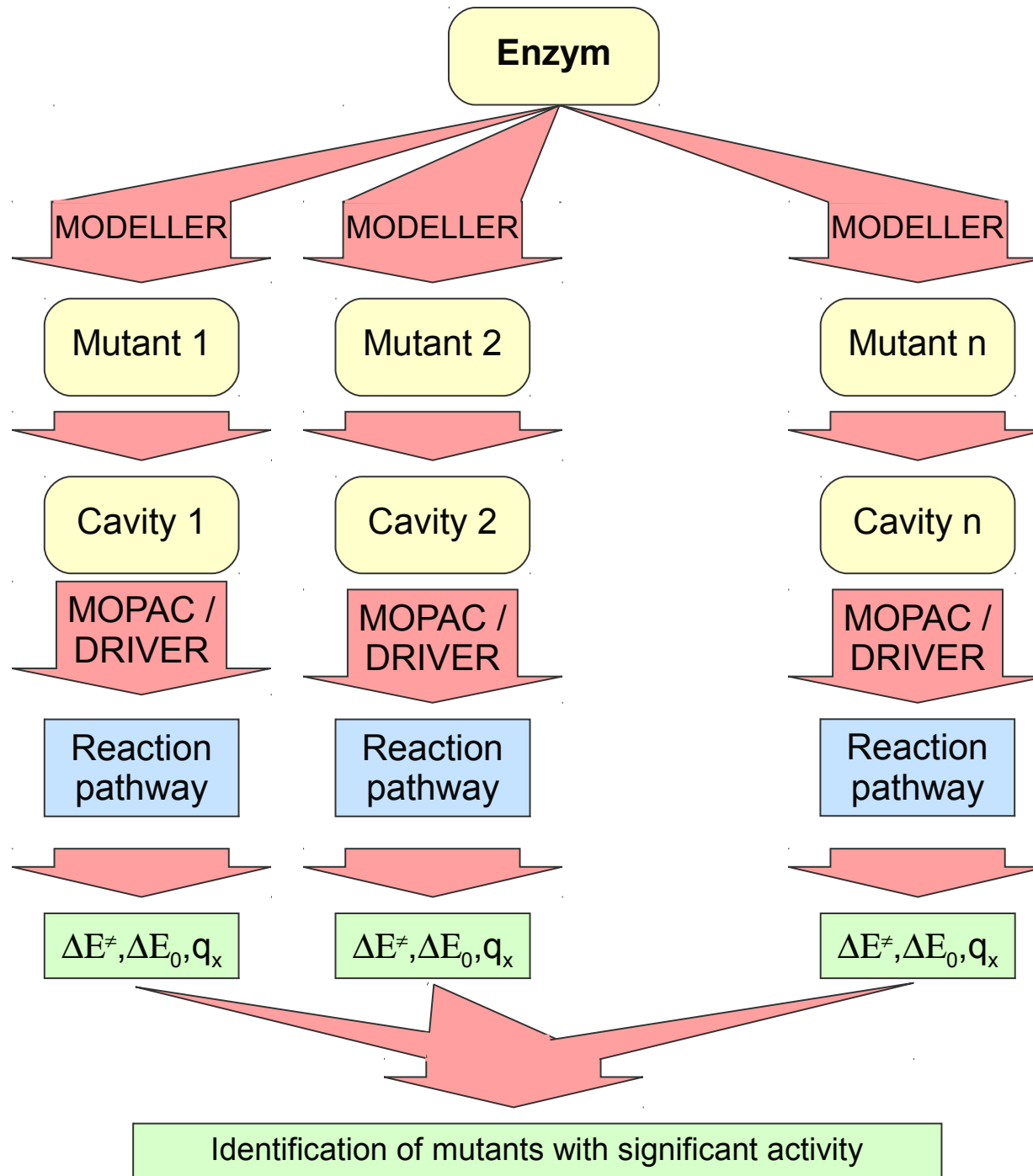


Výpočet reakční cesty

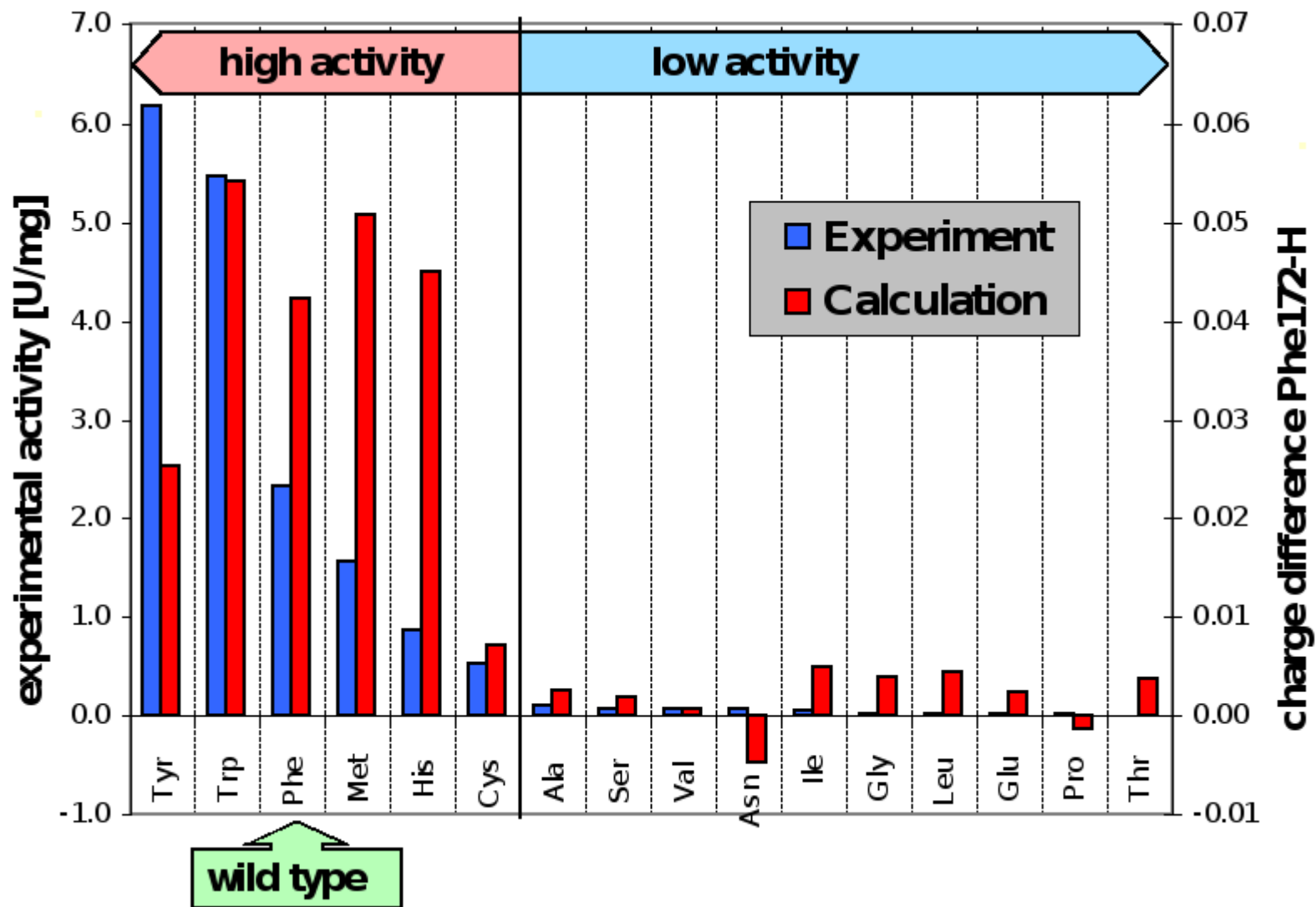




Počítačový návrh enzymů (metoda použitá v programu TRITON)

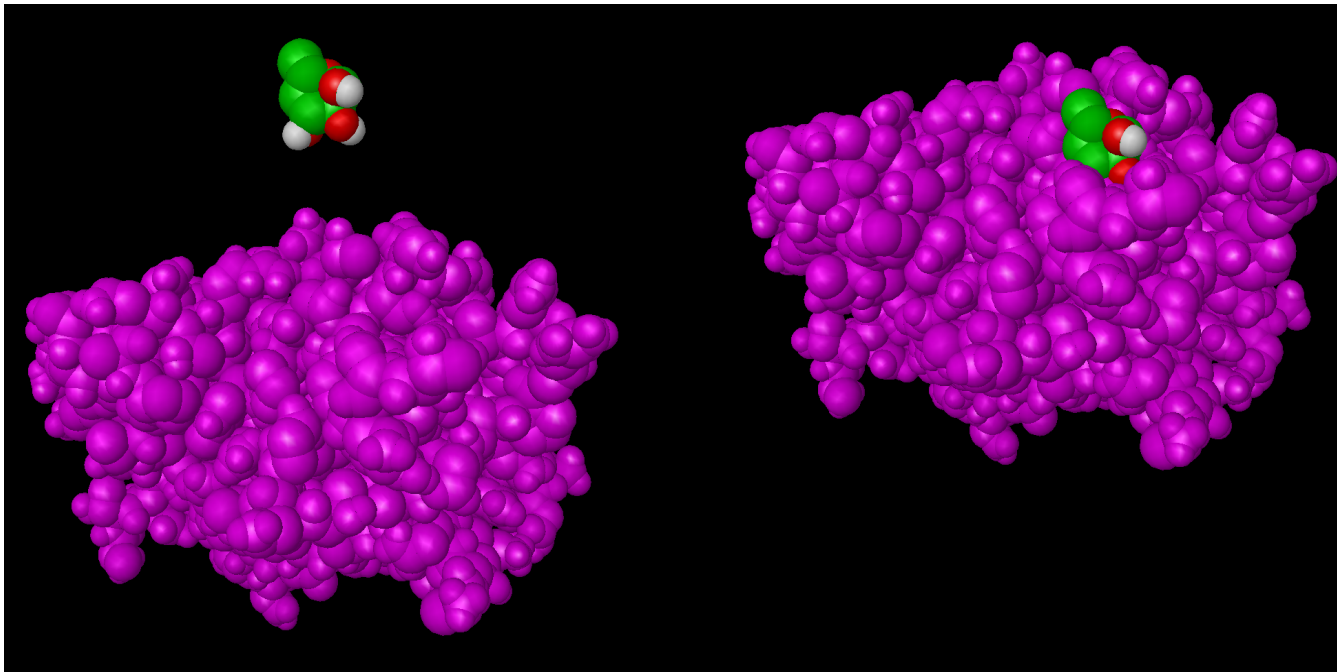


Studie - mutagenese hehalogenasy DhIA mutace Phe172



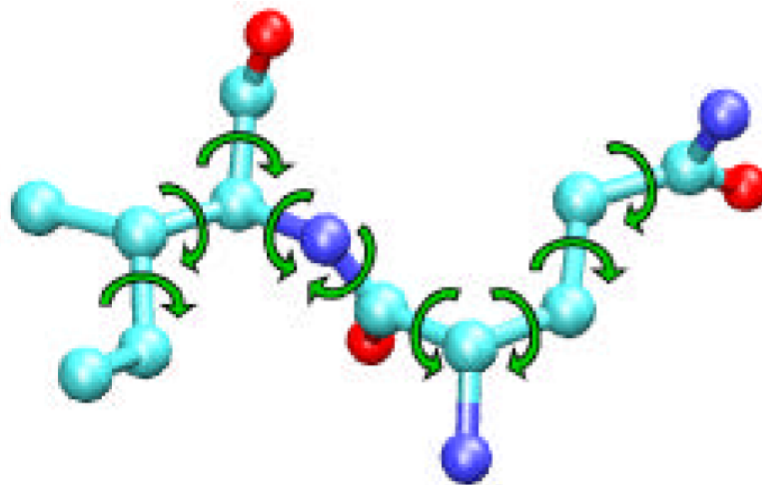
Protein-ligand docking

- Další významnou skupinou jsou proteiny vázající ligandy
- Jedná se o proteiny, které pomocí nevazebných interakcí váží reverzibilně malé molekuly
- Schopnost ligandu vázat se na daný protein lze zjistit pomocí metody **molekulového dokování**

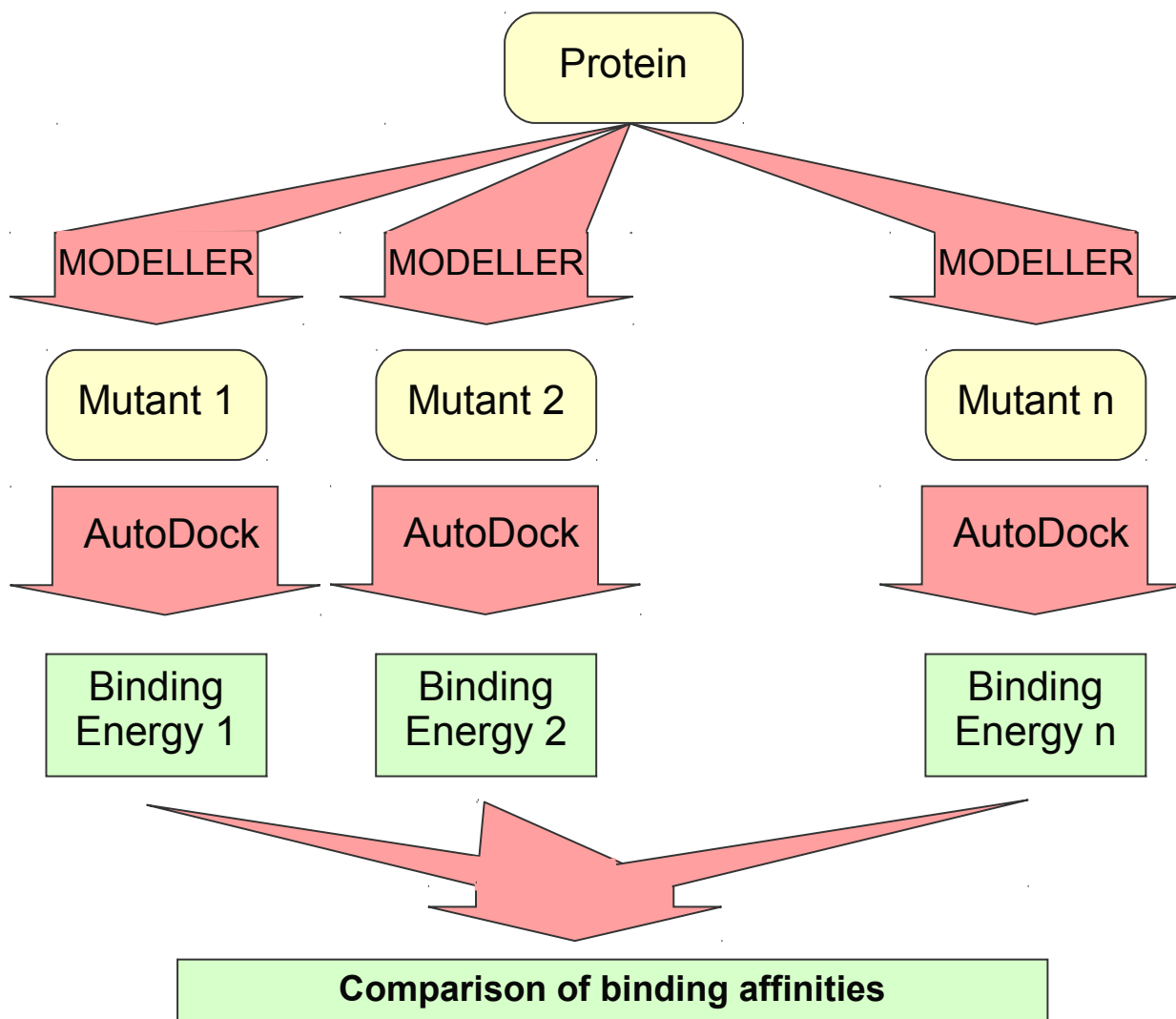


Molekulové dokování

- Molekulové dokování slouží k nalezení konfigurace, ve které se k sobě váží dvě molekuly
- Nejpoužívanější je “protein-ligand docking“ kdy hledáme konfiguraci ve které se ligand váže na protein
- Metoda molekulového dokování automaticky testuje různé pozice, orientace a konformace ligandu vůči proteinu a počítá energie jejich vzájemné interakce; konfigurace s nejmenší energií odpovídá skutečné struktuře komplexu protein-ligand
- AutoDock - program využívající genetické algoritmy pro protein-ligand docking



Počítačový návrh proteinů vázajících ligand (metoda použitá v programu TRITON)



Program TRITON

