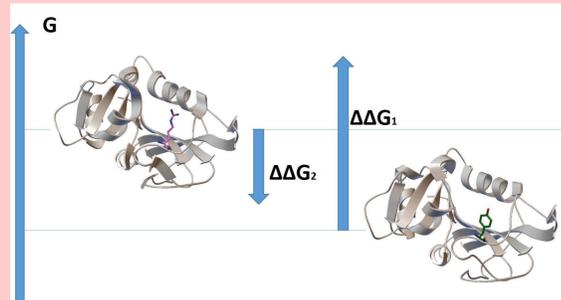




Protein Physics Laboratory

Стабильность белка ΔG - это разность между свободной энергией нативной (N) и развернутой (U) структур белка: $\Delta G = G(N) - G(U)$. Для стабильных белков $\Delta G < 0$. Вследствие мутаций белок дестабилизируется на $\Delta\Delta G$: $\Delta\Delta G = \Delta G_{mut} - \Delta G$. При дестабилизации $\Delta\Delta G > 0$, при стабилизации $\Delta\Delta G < 0$.



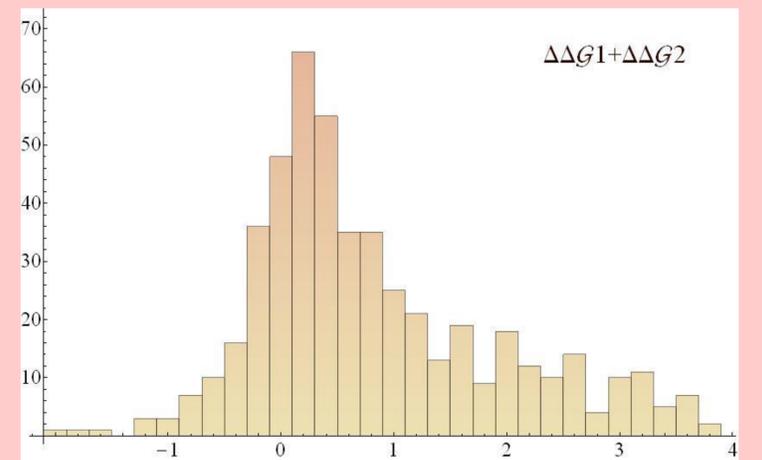
BLAST
PDB vs PDB

Отбор белков с точечной
аминокислотной заменой.

Расчет $\Delta\Delta G_1$ and $\Delta\Delta G_2$ для
пары белков

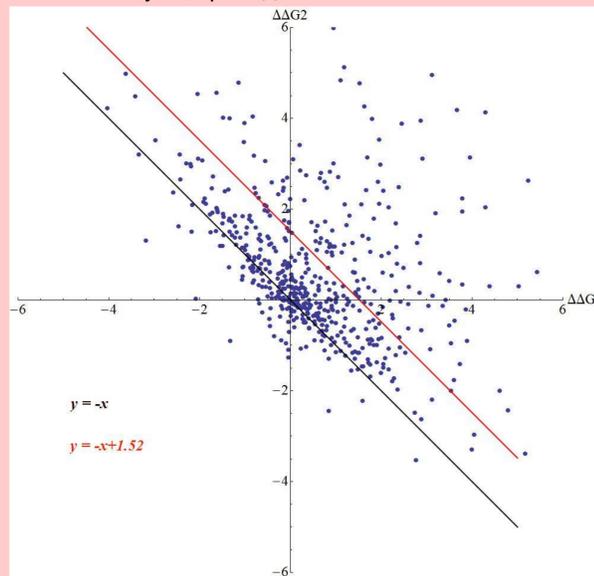


[2] Перед расчетом мутаций необходима энергетическая релаксация белка. Мы выяснили, что для полной релаксации одной итерации недостаточно: лучше сделать десять.



[4] Гистограмма значений систематической ошибки $\Delta\Delta G_1 + \Delta\Delta G_2$

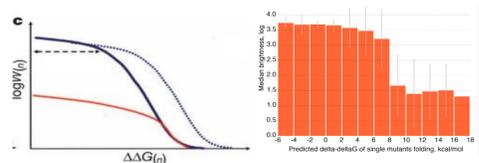
[1] В банке белковых структур PDB мы нашли 532 пары белков, различающихся между собой на один аминокислотный остаток. Дестабилизация при переходе из структуры 1 в структуру 2 равна по модулю и противоположна по знаку дестабилизации при переходе из структуры 2 в структуру 1, вследствие чего сумма дестабилизаций равна нулю: $\Delta\Delta G_1 + \Delta\Delta G_2 = 0$. Однако из-за погрешности компьютерных программ эта сумма может отличаться от нуля, приводя к систематической ошибке.



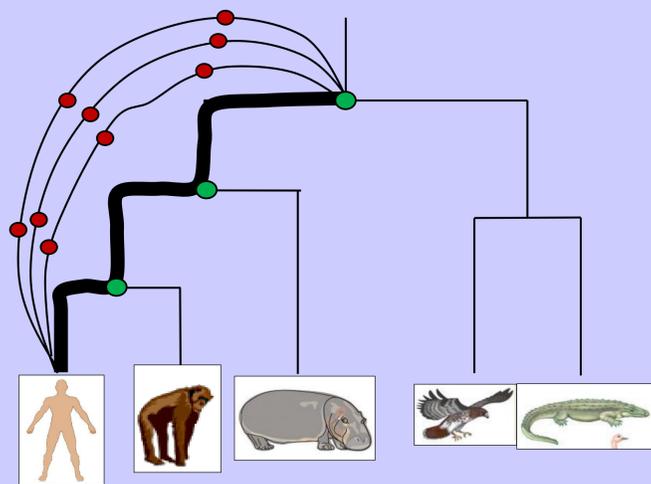
[3] Взаимосвязь между $\Delta\Delta G_1$ и $\Delta\Delta G_2$, вычисленными программой FoldX. Прямая $y = -x$ соответствует случаю, когда $\Delta\Delta G_1 + \Delta\Delta G_2 = 0$ (ожидаемая ситуация при отсутствии систематической ошибки). Как видно из графика, при моделировании двух одиночных мутаций программой FoldX систематическая ошибка равна 1,52 ккал/моль, что должно быть учтено при использовании FoldX.

Введение:

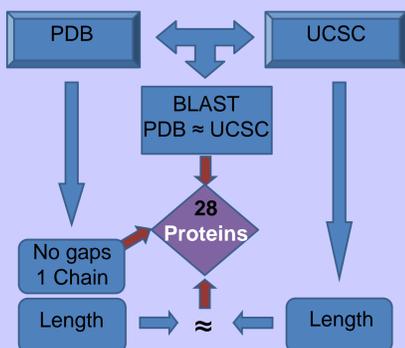
Известно, что для функционирования глобулярные белки должны вернуться в определенную структуру. Экспериментальные и теоретические исследования подтверждают связь стабильности (обозначаемой ΔG) и функции белка:



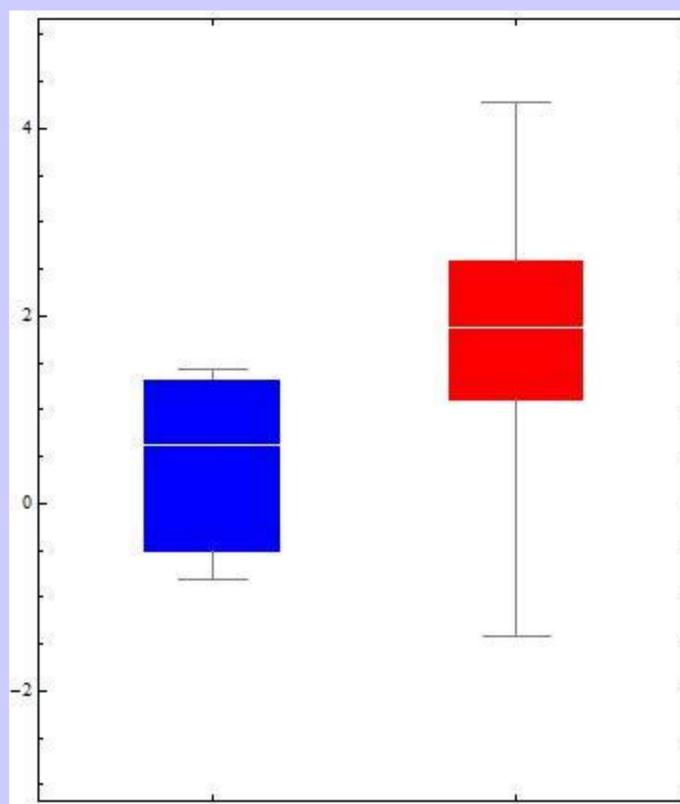
Одной из компьютерных программ оценки дестабилизации белка вследствие мутации является FoldX. В первой части нашей работы мы исследовали, существует ли систематический сдвиг в предсказании дестабилизации программой FoldX. Во второй, основной, части работы мы ответили на вопрос, являются ли наблюдавшиеся в ходе эволюции белки более (менее) стабильными по сравнению с альтернативно возможными вариантами.



[5] Из сравнения белковых последовательностей позвоночных мы восстановили белки предков современных животных и порядок, в котором происходили замены. В ходе работы мы сгенерировали альтернативные искусственные эволюционные траектории, причем порядок замен на этих траекториях не совпадал с тем, что происходило в действительности. Одновременно, для всех белков реальных и искусственных траекторий мы смоделировали пространственные структуры и оценили их стабильность.



[6] Схема отбора белков для эволюционного анализа.



[7] Разница дестабилизации (ось ординат) для различных эволюционных состояний: 1) Наблюдавшиеся в ходе эволюции (синий); 2) Искусственный (красный). Тест Колмогорова-Смирнова для полученных данных показал, что эти дестабилизации различаются статистически достоверно (p -value = 0.004).

Планы.

Выяснить, существует ли зависимость между систематической ошибкой FoldX и погруженностью мутации и её типом. Повторить компьютерный эксперимент, используя альтернативные программы (iMutant, Modeller + FoldX), и сравнить полученные данные с результатом, выданным программой FoldX. Учесть систематическую ошибку FoldX при расчете дестабилизации наблюдавшихся в ходе эволюции и искусственных белковых состояний. Проверить выводы, полученные для эволюционной части работы, на большей выборке (требуется дополнительное время для обработки данных на сервере).

Выводы.

- Мы обнаружили систематическую ошибку компьютерной программы FoldX в расчете энергии дестабилизации, она равна 0,77 ккал/моль, что должно учитываться при использовании FoldX.
- Мы нашли, что наблюдавшиеся в ходе эволюции белки в среднем более стабильны по сравнению с искусственными.