

RAČUNALNE METODE PRILAGOĐENE ISTRAŽIVANJU BIOKEMIJSKIH/BIOLOŠKIH SUSTAVA

Kolegij:

Strukturalna računalna biofizika





The Nobel Prize in Chemistry 2013

Martin Karplus, Michael Levitt, Arieh Warshel

The Nobel Prize in Chemistry 2013



© Nobel Media AB

Martin Karplus



Photo: Keilana via
Wikimedia Commons

Michael Levitt



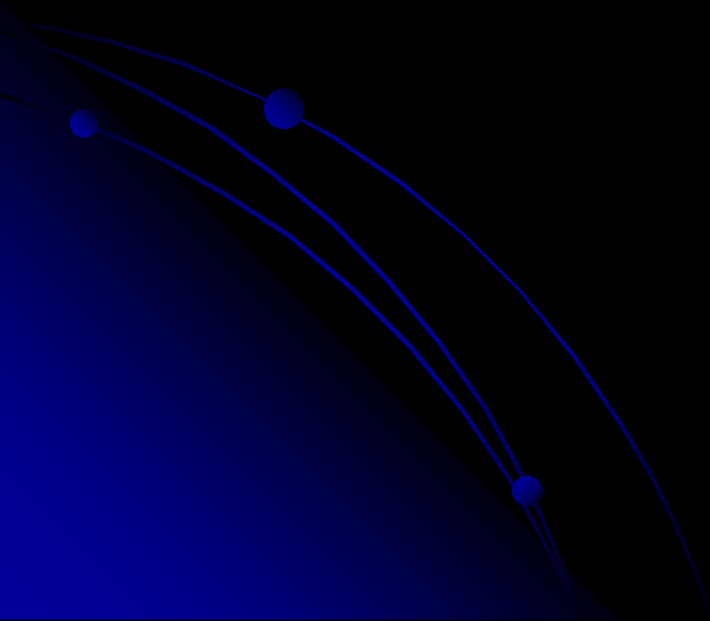
Photo: Wikimedia
Commons

Arieh Warshel

The Nobel Prize in Chemistry 2013 was awarded jointly to Martin Karplus, Michael Levitt and Arieh Warshel *"for the development of multiscale models for complex chemical systems"*.

„Today the computer is just as important a tool for chemists as the test tube. Simulations are so realistic that they predict the outcome of traditional experiments.“

1. ZAŠTO NAM TREBAJU RAČUNALNE (SIMULACIJSKE) METODE?



RAČUNALNE METODE (*molekulsko modeliranje*) OMOGUĆAVAJU BOLJU INTERPRETACIJU EKSPERIMENTALNIH PODATAKA ŠTO PRIDONOSI RAZUMIJEVANJU MOLEKULARNOG MEHANIZMA BIOLOŠKIH PROCESA, TE POMAŽU PRI PLANIRANJU NOVIH EKSPERIMENATA.

ULOGA RAČUNALNIH METODA:

- ❑ pomoć pri interpretaciji eksperimentalnih rezultata
(makroskopska – mikroskopska svojstva sustava)
- ❑ pomoć pri planiranju novih eksperimenata
- ❑ omogućavaju izučavanje promjene strukture u određenim uvjetima
(istraživanje dinamike sustava)
- ❑ u nekim slučajevima omogućavaju predviđanje 3D strukture makromolekule
- ❑ pridonose razumijevanju mehanizma bioloških procesa na atomarnoj razini

RAČUNALNE METODE (*molekulsko modeliranje*) OMOGUĆAVAJU BOLJU INTERPRETACIJU EKSPERIMENTALNIH PODATAKA ŠTO PRIDONOSI RAZUMIJEVANJU MOLEKULARNOG MEHANIZMA BIOLOŠKIH PROCESA, TE POMAŽU PRI PLANIRANJU NOVIH EKSPERIMENATA.

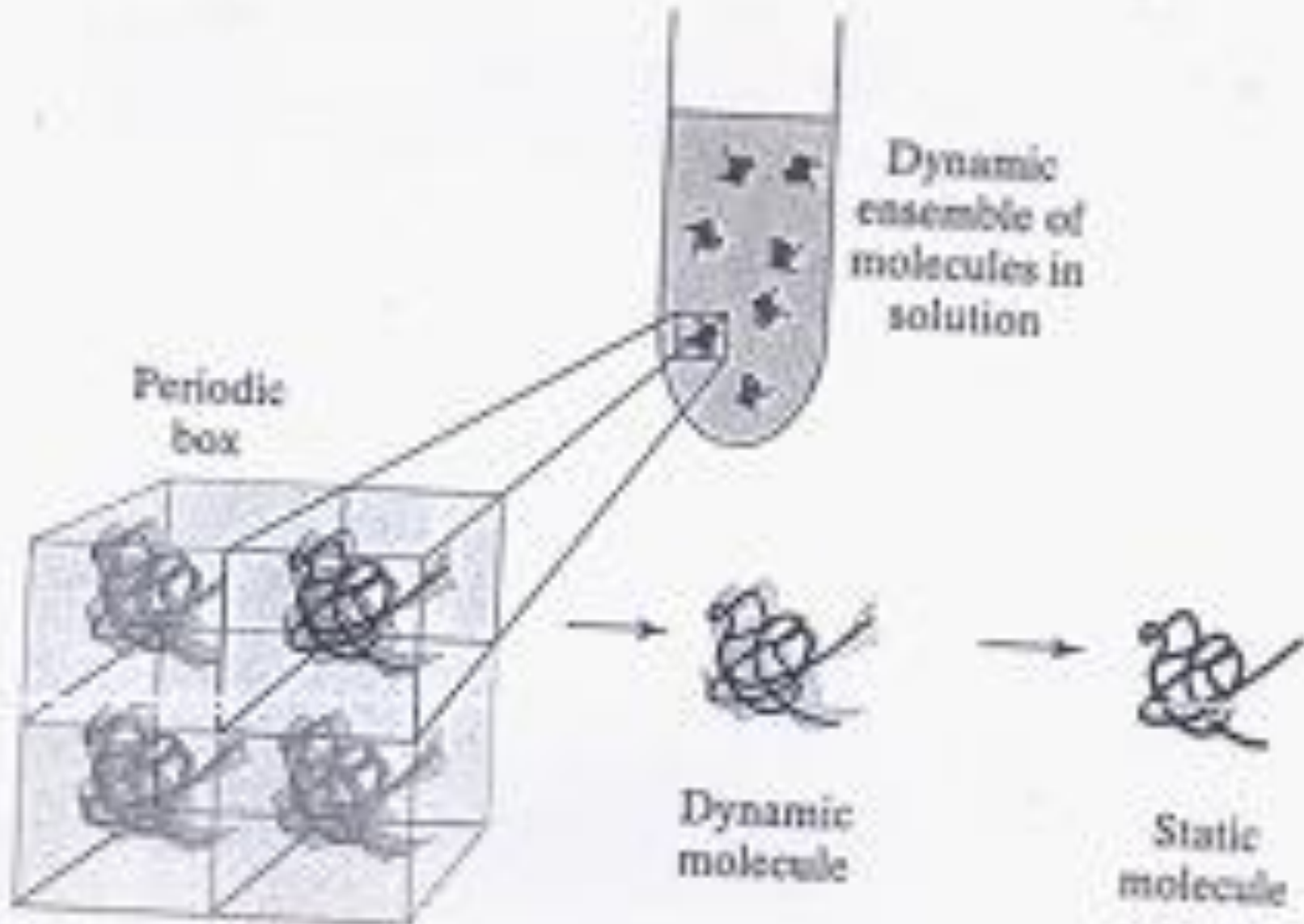
- računalne metode su neraskidivo vezane uz eksperimentalne podatke
- **EKSPERIMENTALNA POTVRDA RAČUNALNIH REZULTATA JE NEOPHODNA**
- računalne metode **MORAJU** ići ruku pod ruku s eksperimentom, **ali vrijedi i obrnuto !**
- **EKSPERIMENT ČESTO TREBA RAČUNALNE METODE !**

1. ZAŠTO NAM TREBAJU RAČUNALNE (SIMULACIJSKE) METODE?

RAČUNALNE METODE (*molekulsko modeliranje*) OMOGUĆAVAJU **BOLJU**
INTERPRETACIJU **EKSPERIMENTALNIH** **PODATAKA** ŠTO PRIDONOSI
RAZUMIJEVANJU **MOLEKULARNOG** **MEHANIZMA** **BIOLOŠKIH** **PROCESA**, TE
POMAŽU **PRI** **PLANIRANJU** **NOVIH** **EKSPERIMENATA**.



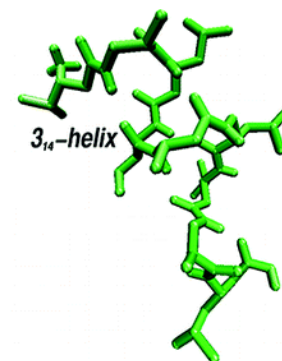
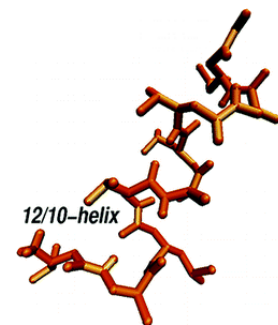
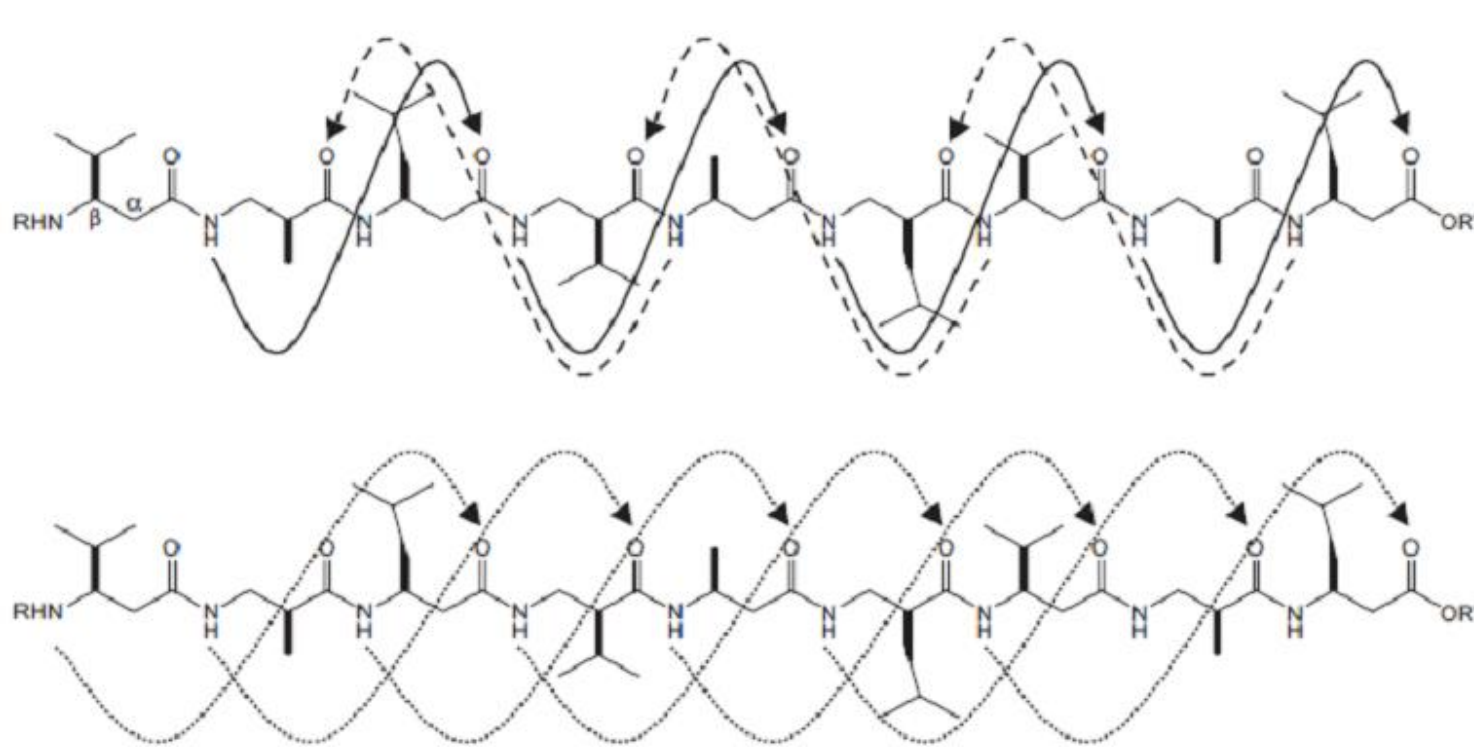
MAKROSKOPSKA – MIKROSKOPSKA SVOJSTVA SUSTAVA



STRUKTURA NONAPEPTIDA:

- snimljeni NMR spektri za nonapeptid u otopini
- nije bilo moguće naći strukturu u kojoj bi se slagale i **vrijednosti za konstante sprege (3J)** i **vrijednosti za NOE** !
- ako se zanemare NOE vrijednosti, dobije se konformacija 12/10-zavojnice

D. Trzesniak, A. Glättli, B. Jaun, W. F. van Gunsteren, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 14320–14329.



- MD simulacija je pokazala da se u otopini molekule peptida nalaze i u **konformaciji 12/10-zavojnice** (što objašnjava 3J), i u **konformaciji 3₁₄-zavojnice** (što objašnjava NOE vrijednosti)

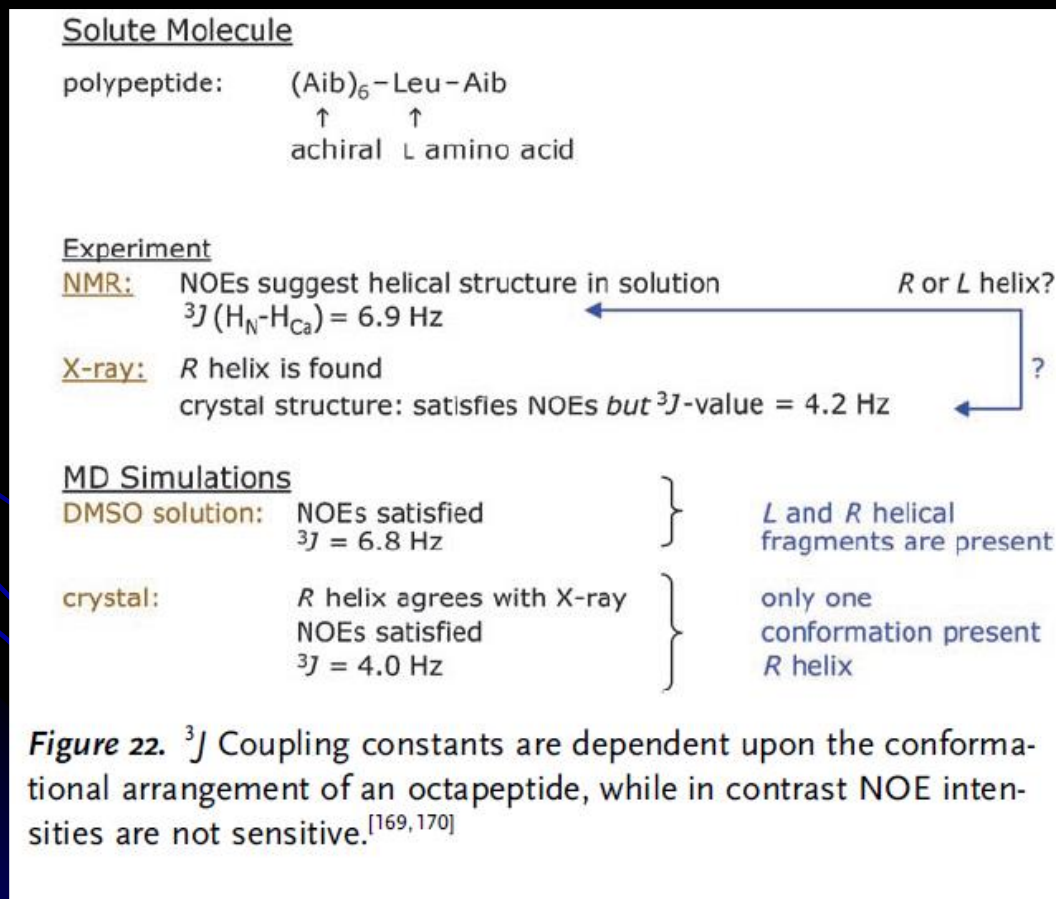
<http://www.youtube.com/watch?v=jqlphwXIsYk>

<http://www.youtube.com/watch?v=IYiLCrSozaw>

A decorative graphic in the bottom-left corner consisting of three curved blue lines of varying thickness, each ending in a solid blue circle. The lines curve from the left edge towards the bottom-right, with the circles positioned at the end of each line.

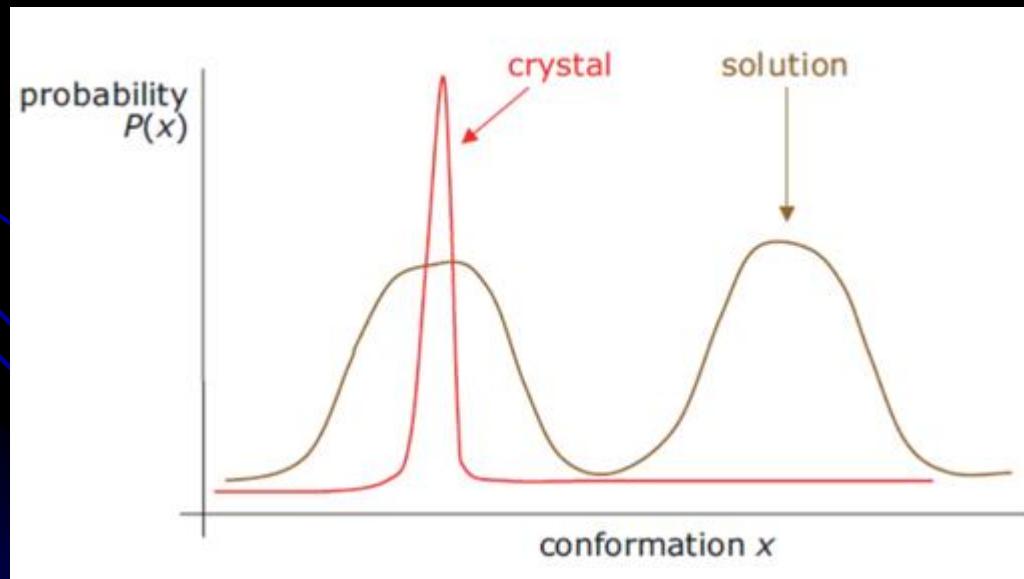
STRUKTURA OKTAPEPTIDA U DMSO – simulacije vs NMR i kristalografija

- očekuje se da oligopeptid može zauzeti i R i L konformaciju zavojnice jer prevladava udio akiralne amino kiseline
- NMR je potvrdio to očekivanje, ali kristalografija je unijela nedoumice



STRUKTURA OKTAPEPTIDA U DMSO

- provedene su **simulacije u otopini** i **simulacije u kristalu**, za obje vrste simulacija računati su NOE signali
- rezultati simulacija pokazali su da su u otopini moguće i zastupljene obje zavojnice (R i L), a u kristalu samo jedna (R)
- izračunati NOE signali slagali su se s eksperimentalnim



STRUKTURA HEKSAPEPTIDA U METANOLU (CD)

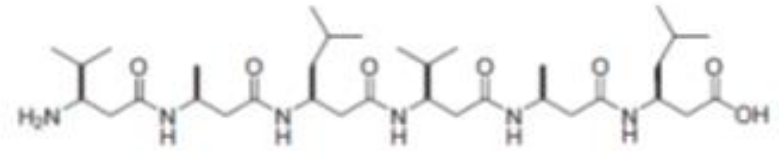
- dva heksapeptida
- očekuje se da imaju različite konformacije u otopini
- također, NMR spektri im se značajno razlikuju!

- ali **CD spektri su im vrlo slični** i ukazuju da su oba u konformaciji 3_{14} zavojnice - ?!

- napravljena je MD simulacija od 100 ns
- na temelju simulacija su izračunati CD spektri, napravljena je klaster analiza kojom je izračunat udio svake konformacije tijekom simulacije



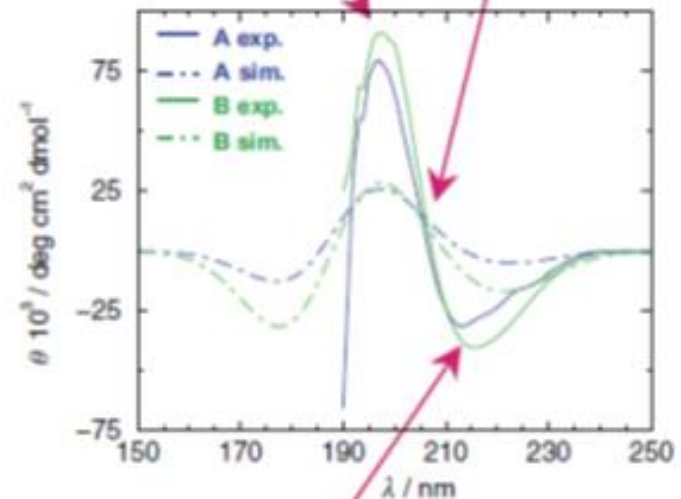
Peptide A: DM-BHP



Peptide B: BHP

positive Cotton effect at ~200 nm

zero crossing between 205 and 210 nm

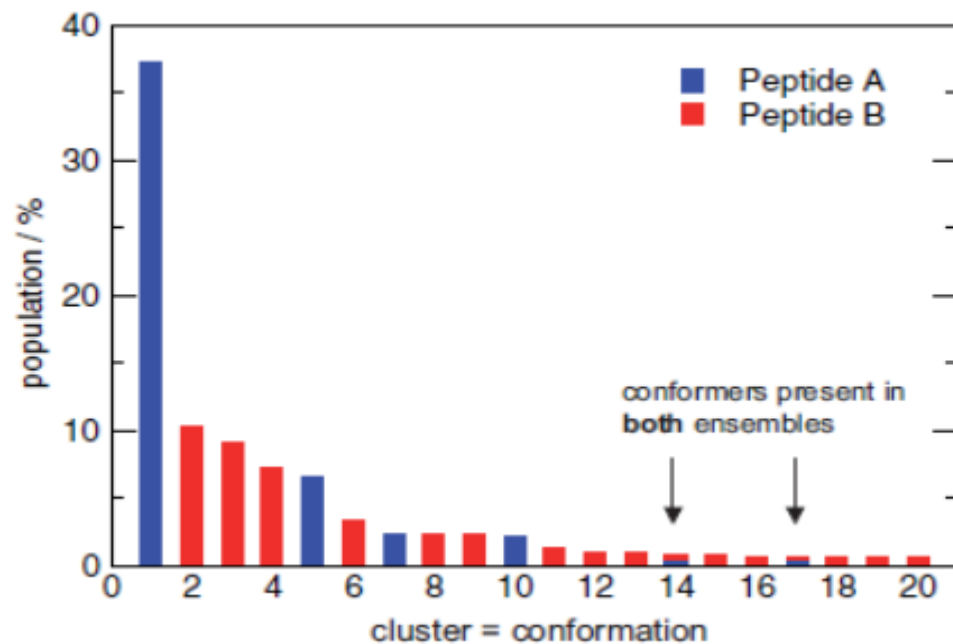
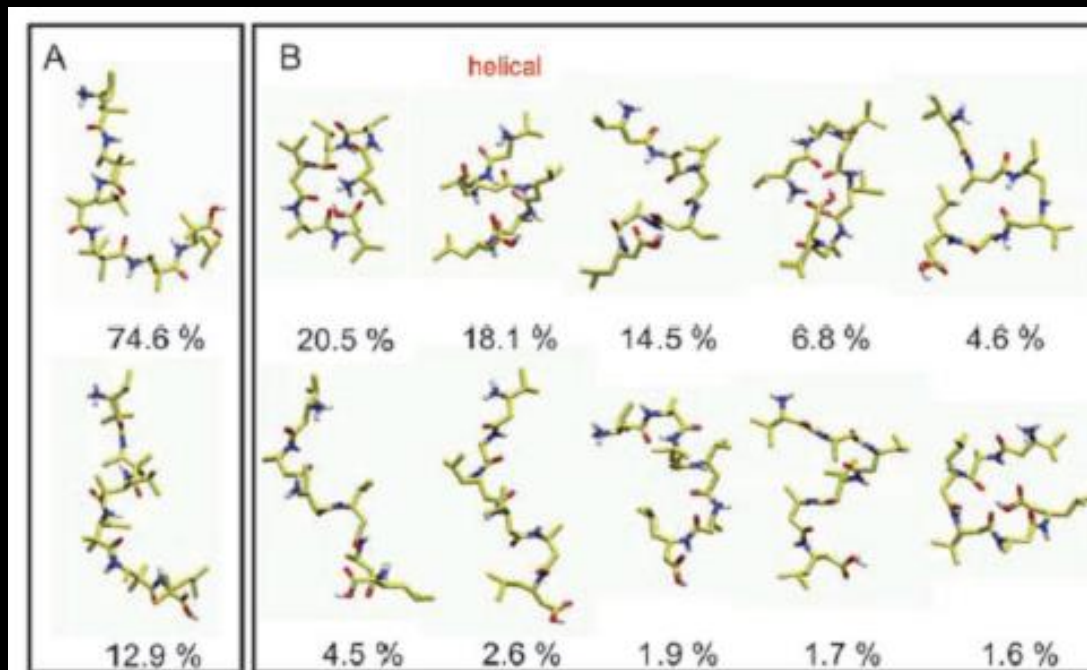


negative Cotton effect between 215 and 220 nm

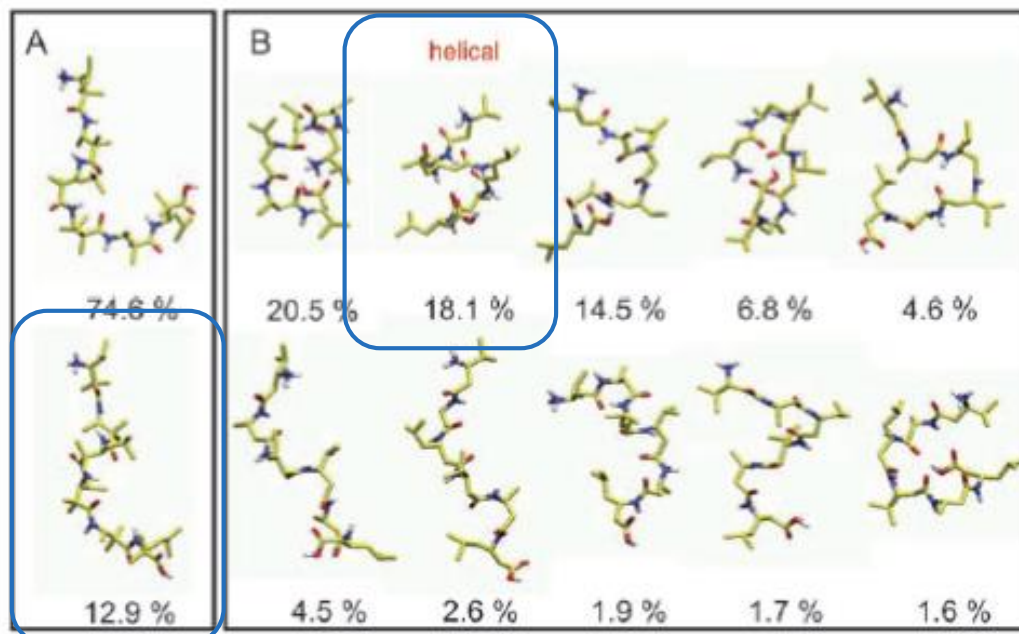
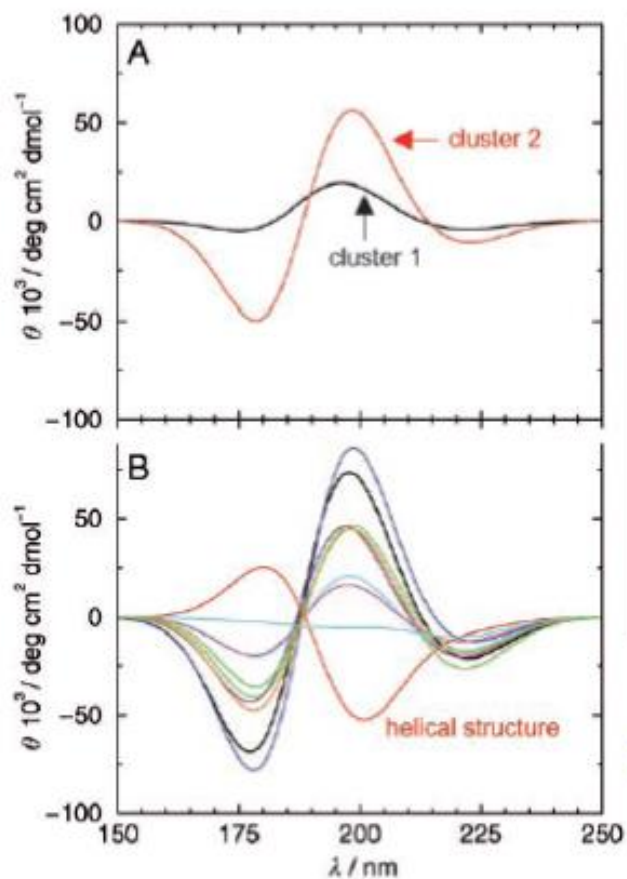
STRUKTURA HEKSAPEPTIDA U METANOLU (CD)

-detaljnija analiza MD simulacija (cluster analiza) pokazala je da su njihove konformacije u otopini gotovo uopće ne poklapaju i značajno se razlikuju

- zbog USREDNJEVANJA eksperimentalno se opaža vrlo sličan CD spektar!



STRUKTURA HEKSAPEPTIDA U METANOLU (CD)



Non-helical conformers exhibit the CD pattern assigned to the 3_{14} helix, the "helical" conformer doesn't.

analiza MD simulacija pokazala je da :

a) kod peptida A druga najzastupljenija konformacija (12,9 %) dominira CD spektrom te stvara dojam da je struktura helikoidalna

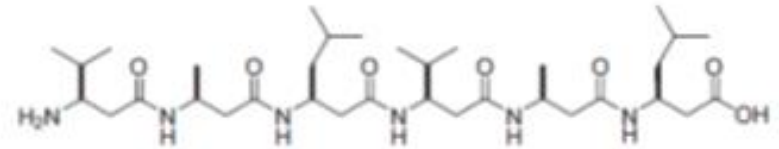
b) kod peptida B postoji puno veća fleksibilnost, **jedina helikoidalna struktura je 18,1 % zastupljena** i njen CD spektar bi bio značajno drugačiji od izmjerelog

STRUKTURA HEKSAPEPTIDA U METANOLU (CD)

- zbog **USREDNJAVANJA** eksperimentalno se opaža vrlo sličan CD spektar!



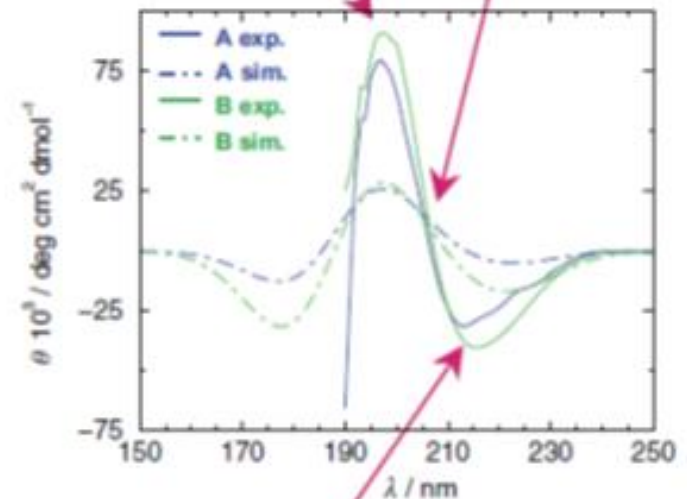
Peptide A: DM-BHP



Peptide B: BHP

positive Cotton effect at ~200 nm

zero crossing between 205 and 210 nm



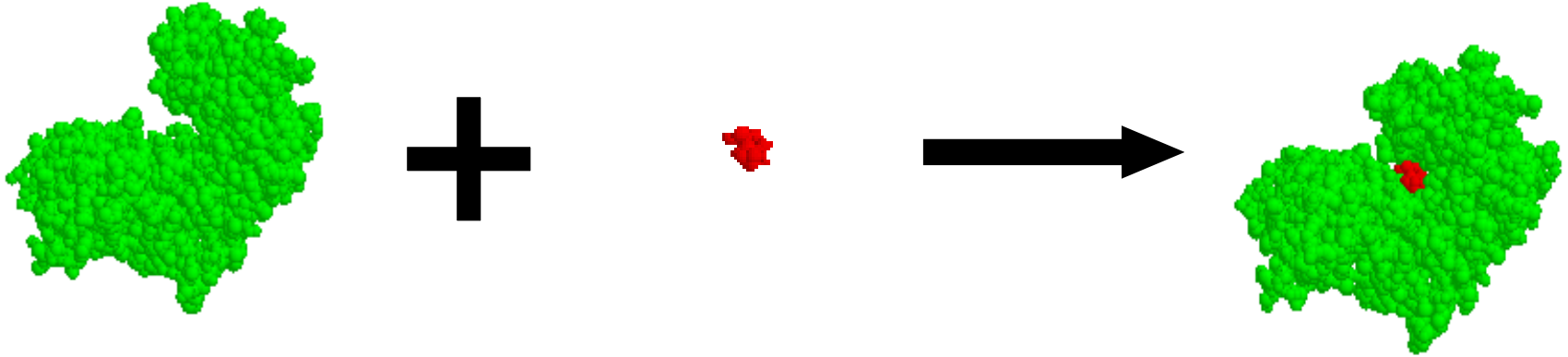
negative Cotton effect between 215 and 220 nm

1. ZAŠTO NAM TREBAJU RAČUNALNE (SIMULACIJSKE) METODE?

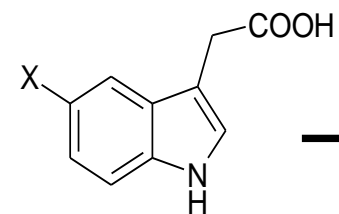
RAČUNALNE METODE (*molekulsko modeliranje*) OMOGUĆAVAJU **BOLJU**
INTERPRETACIJU **EKSPERIMENTALNIH** **PODATAKA** ŠTO PRIDONOSI
RAZUMIJEVANJU **MOLEKULARNOG** **MEHANIZMA** **BIOLOŠKIH** **PROCESA**, TE
POMAŽU PRI **PLANIRANJU** **NOVIH** **EKSPERIMENATA**.



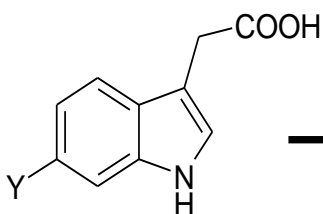
RAČUNALNE METODE OMOGUĆUJU BOLJE PLANIRANJE EKSPERIMENATA (štede vrijeme i novac potreban za eksperimente)



EKSPERIMENTALNI PRISTUP

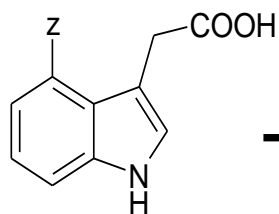


NOVA MOLEKULA 1



NOVA MOLEKULA 2

•
•
•



NOVA MOLEKULA 100



sinteza



sinteza



sinteza



izolacija,
identifikacija



izolacija,
identifikacija



izolacija,
identifikacija



biološki
testovi



biološki
testovi



biološki
testovi

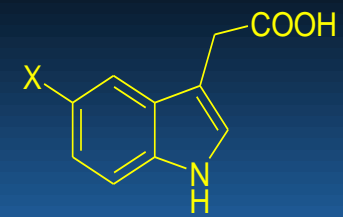


NEAKTIVAN
→ SPOJ !

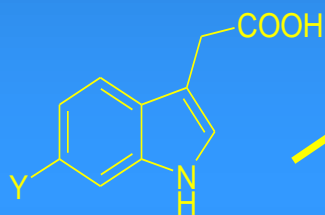
NEAKTIVAN
→ SPOJ !

AKTIVAN !

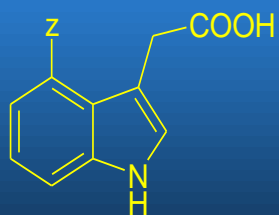
RAČUNALNE METODE + EKSPERIMENT



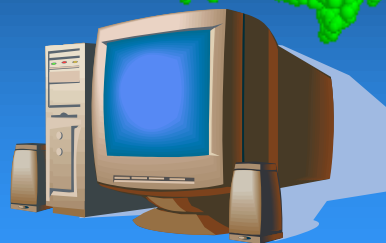
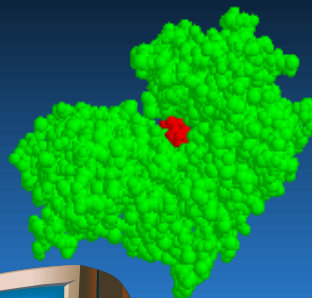
**NOVA
MOLEKULA 1**



**NOVA
MOLEKULA 2**



**NOVA
MOLEKULA 100**



**NOVE MOLEKULE:
17, 32, 58, 81, 100**



sinteza



**izolacija,
identifikacija**



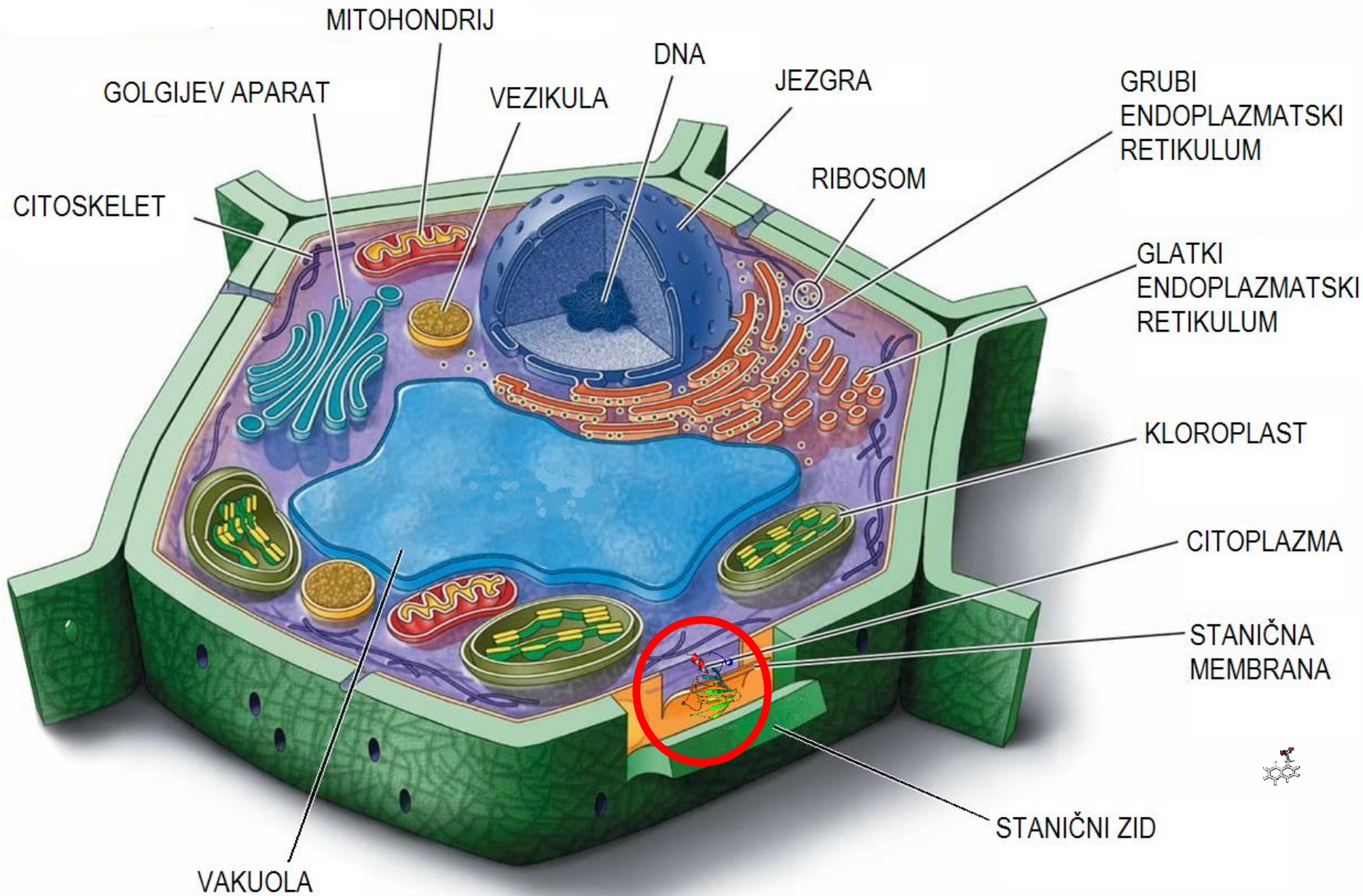
**biološki
testovi**

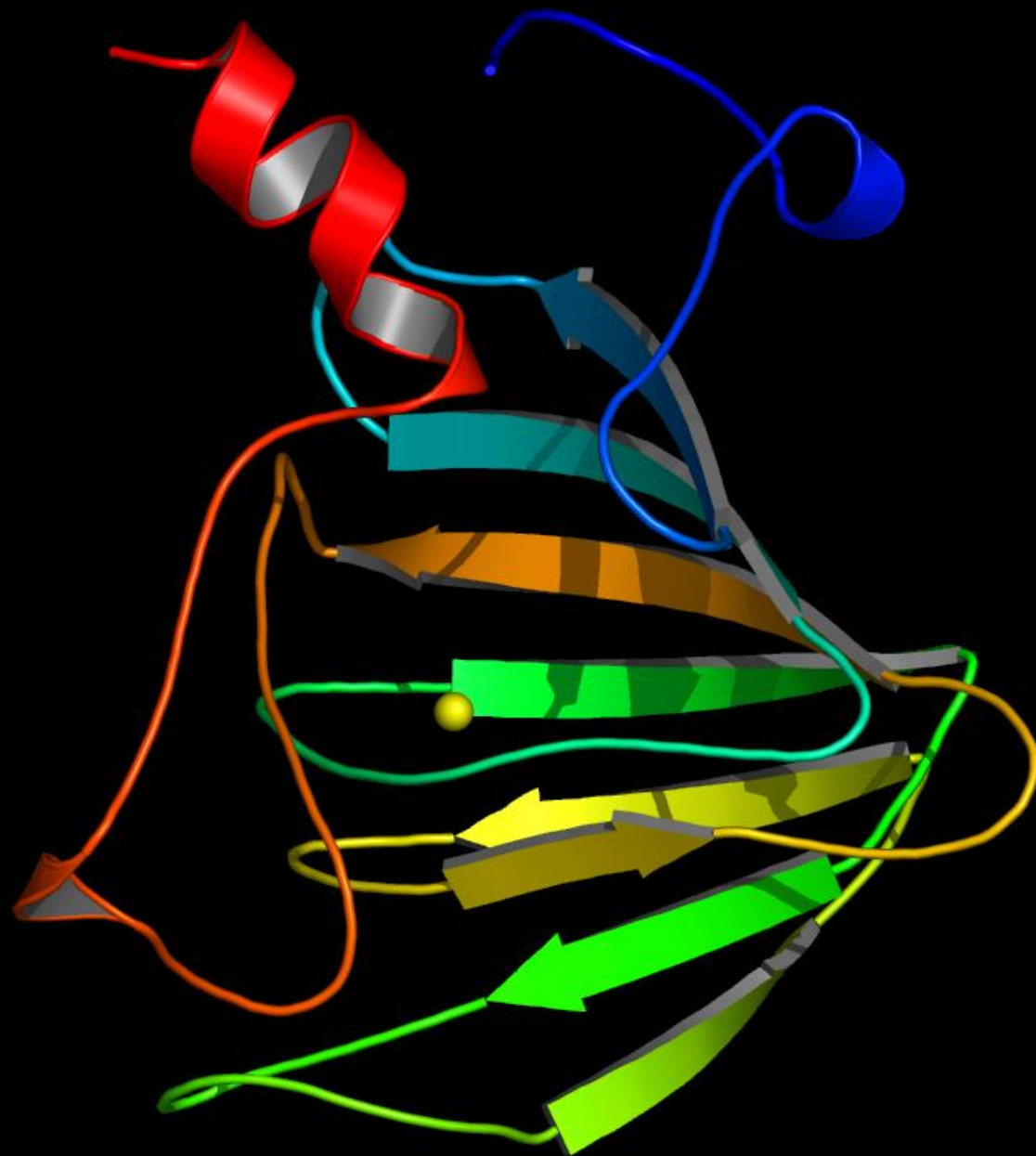


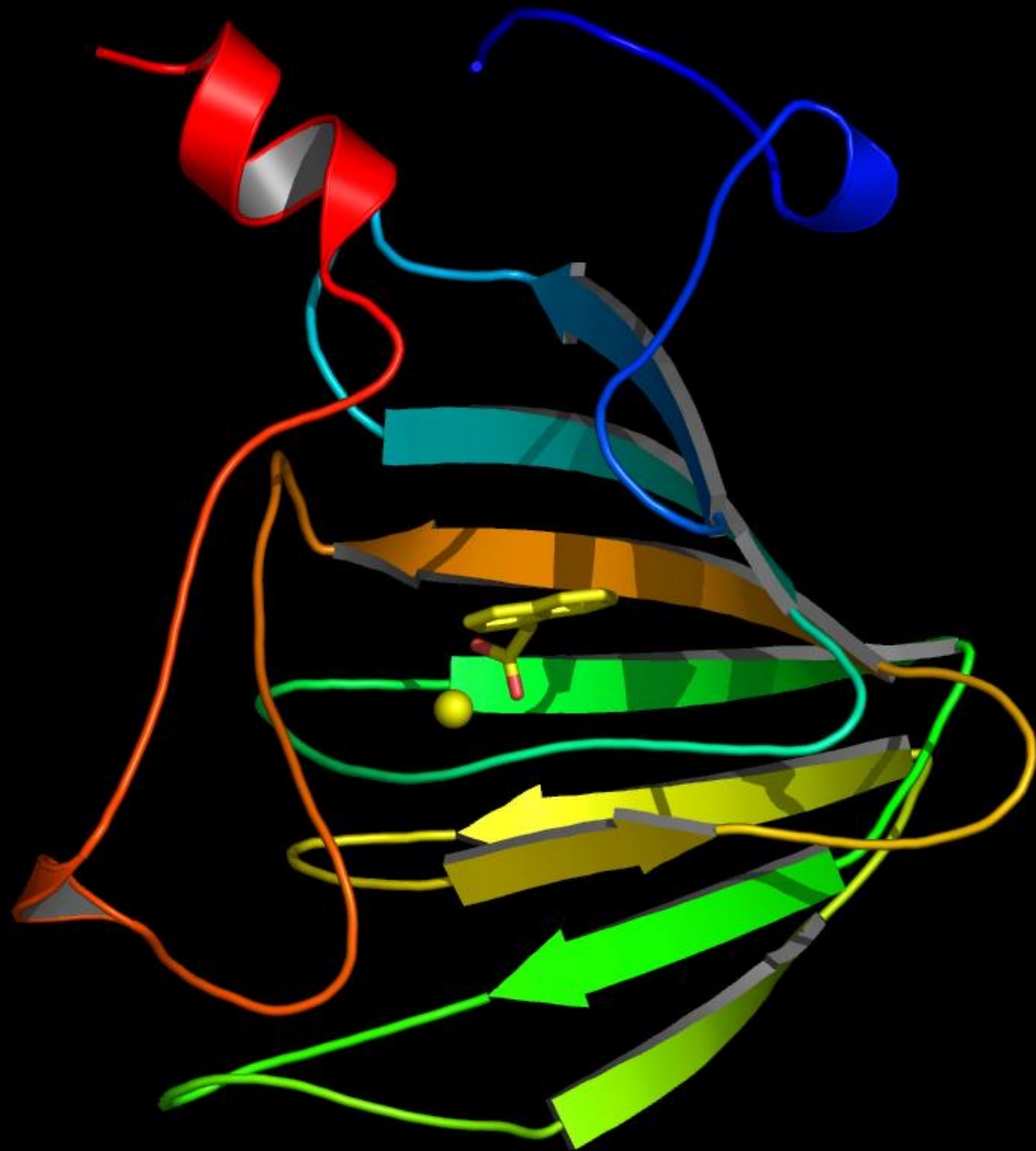
1. ZAŠTO NAM TREBAJU RAČUNALNE (SIMULACIJSKE) METODE U MOLEKULARNOJ BIOFIZICI?

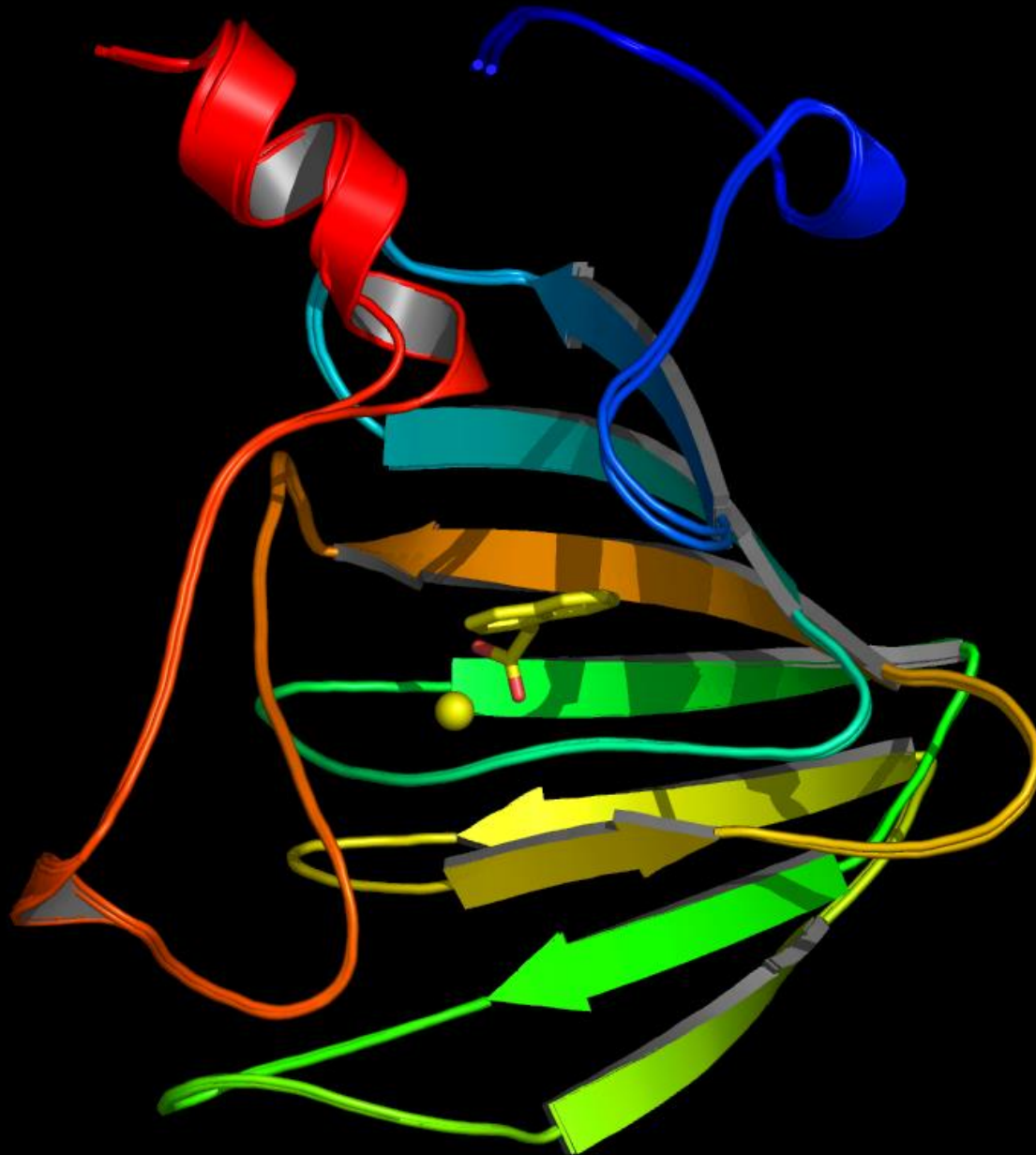
RAČUNALNE METODE (*molekulsko modeliranje*) OMOGUĆAVAJU **BOLJU INTERPRETACIJU EKSPERIMENTALNIH PODATAKA** ŠTO PRIDONOSI **RAZUMIJEVANJU MOLEKULARNOG MEHANIZMA BIOLOŠKIH PROCESA**, TE POMAŽU PRI **PLANIRANJU NOVIH EKSPERIMENATA**.



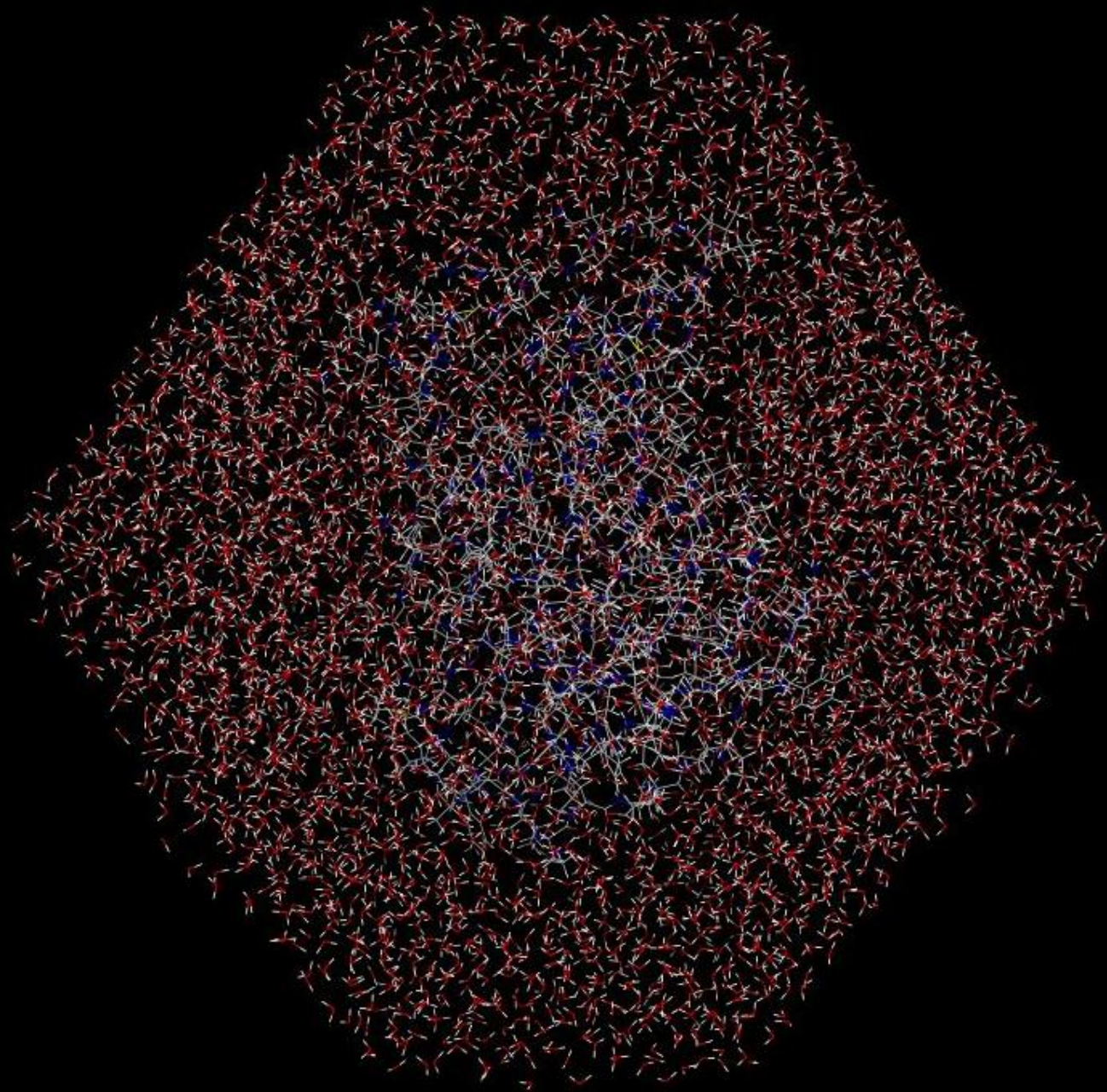


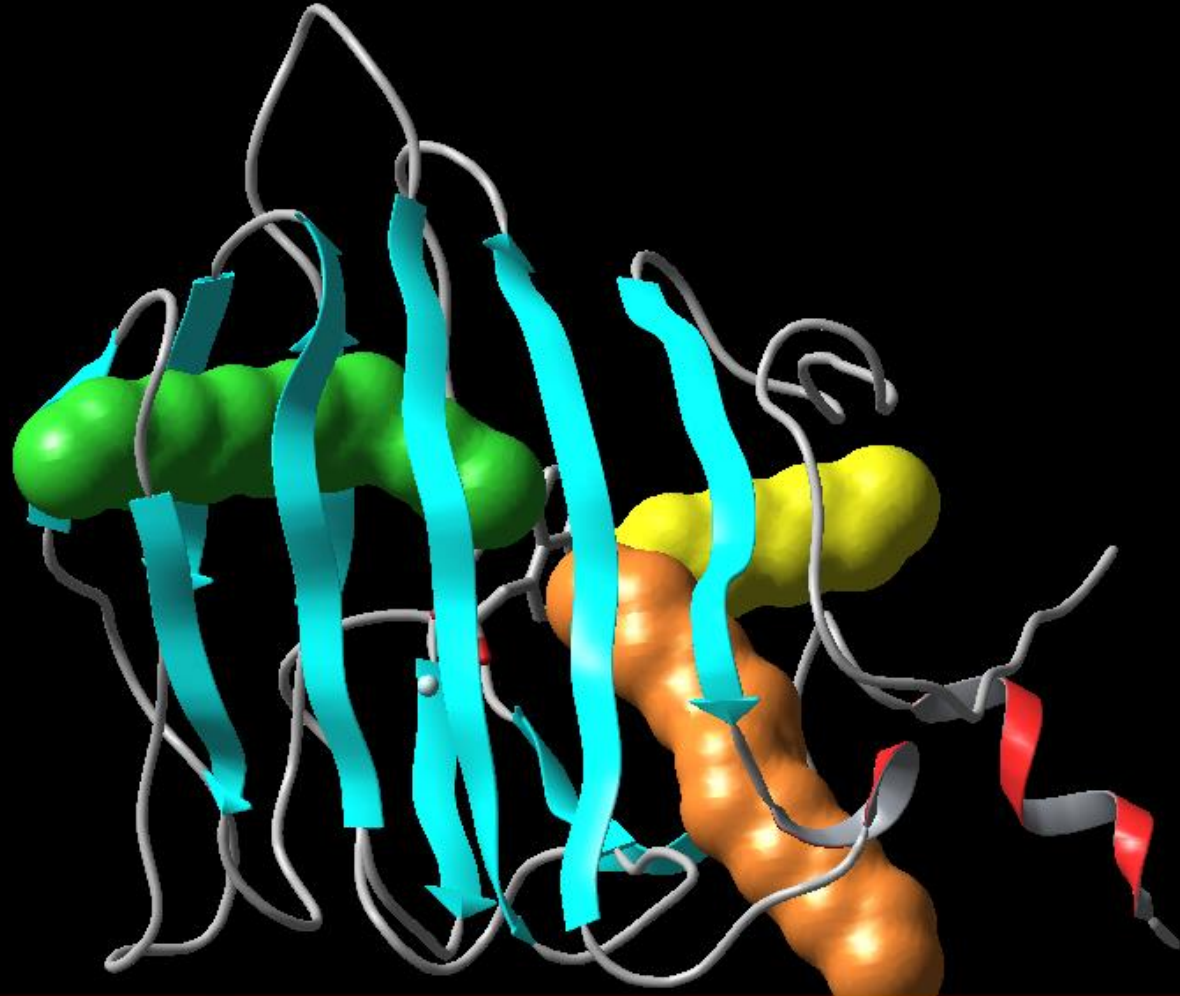




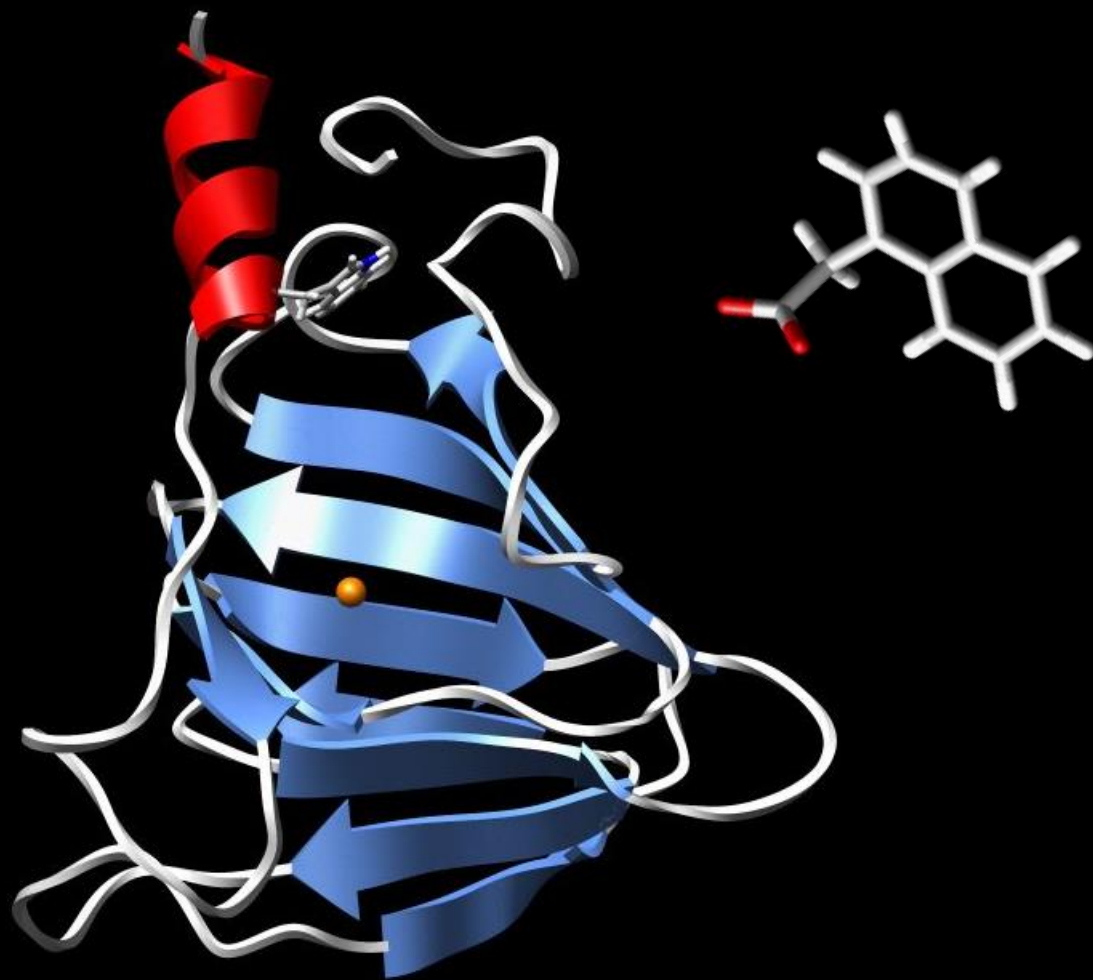


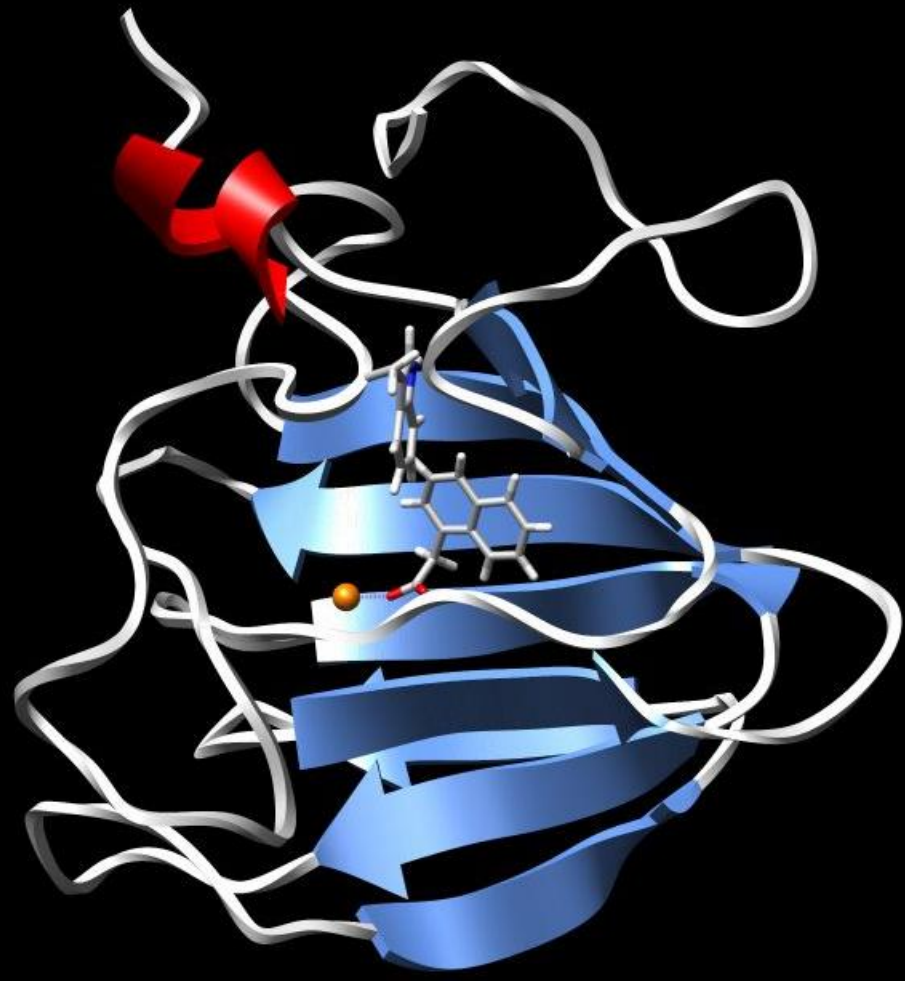
RMSD između proteinskog skeleta ekvivalentnih podjedinica je između 0,18 i 0,23 Å

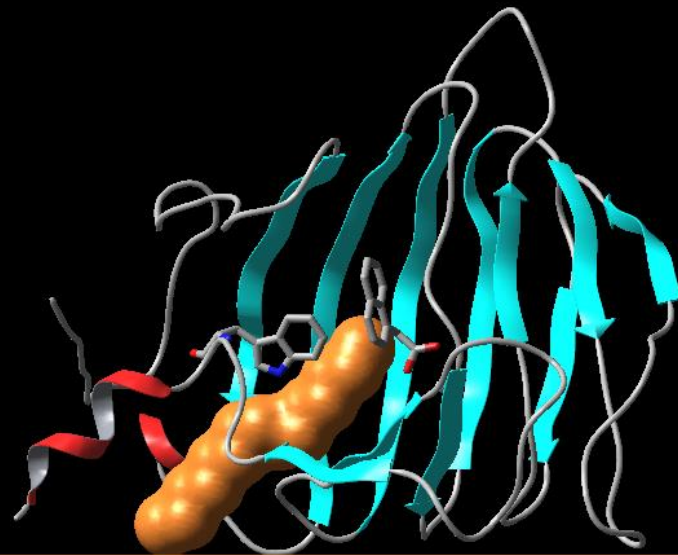




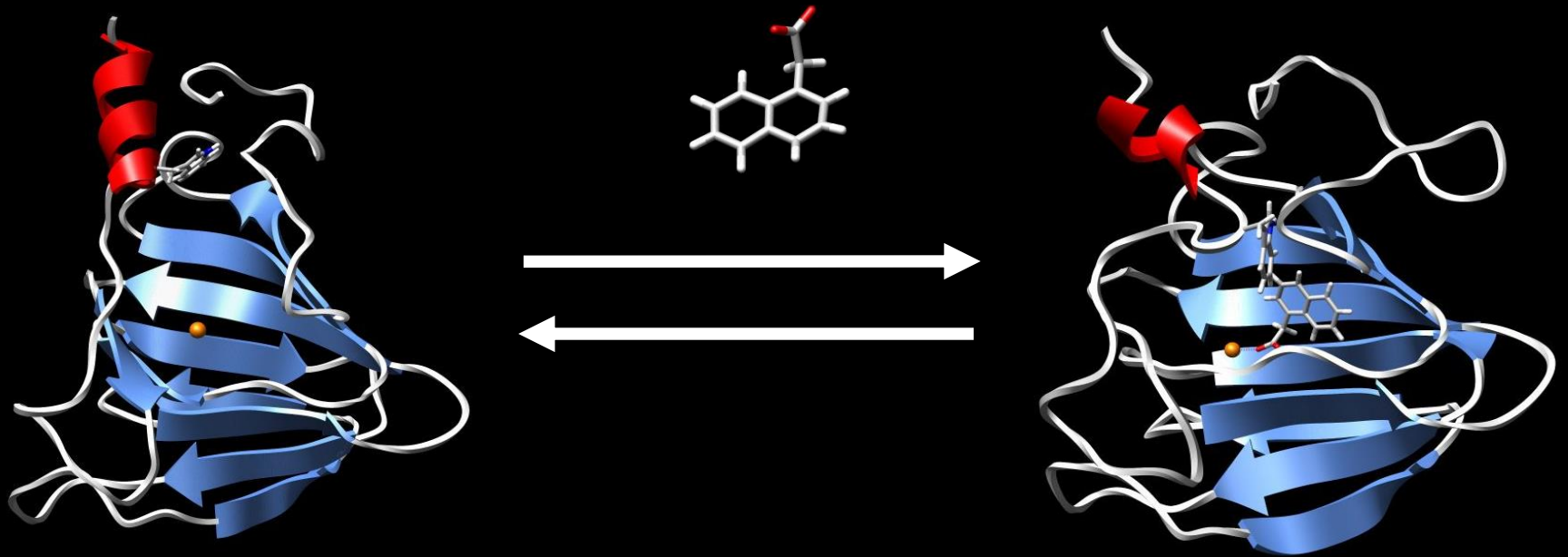
MEMBRANA

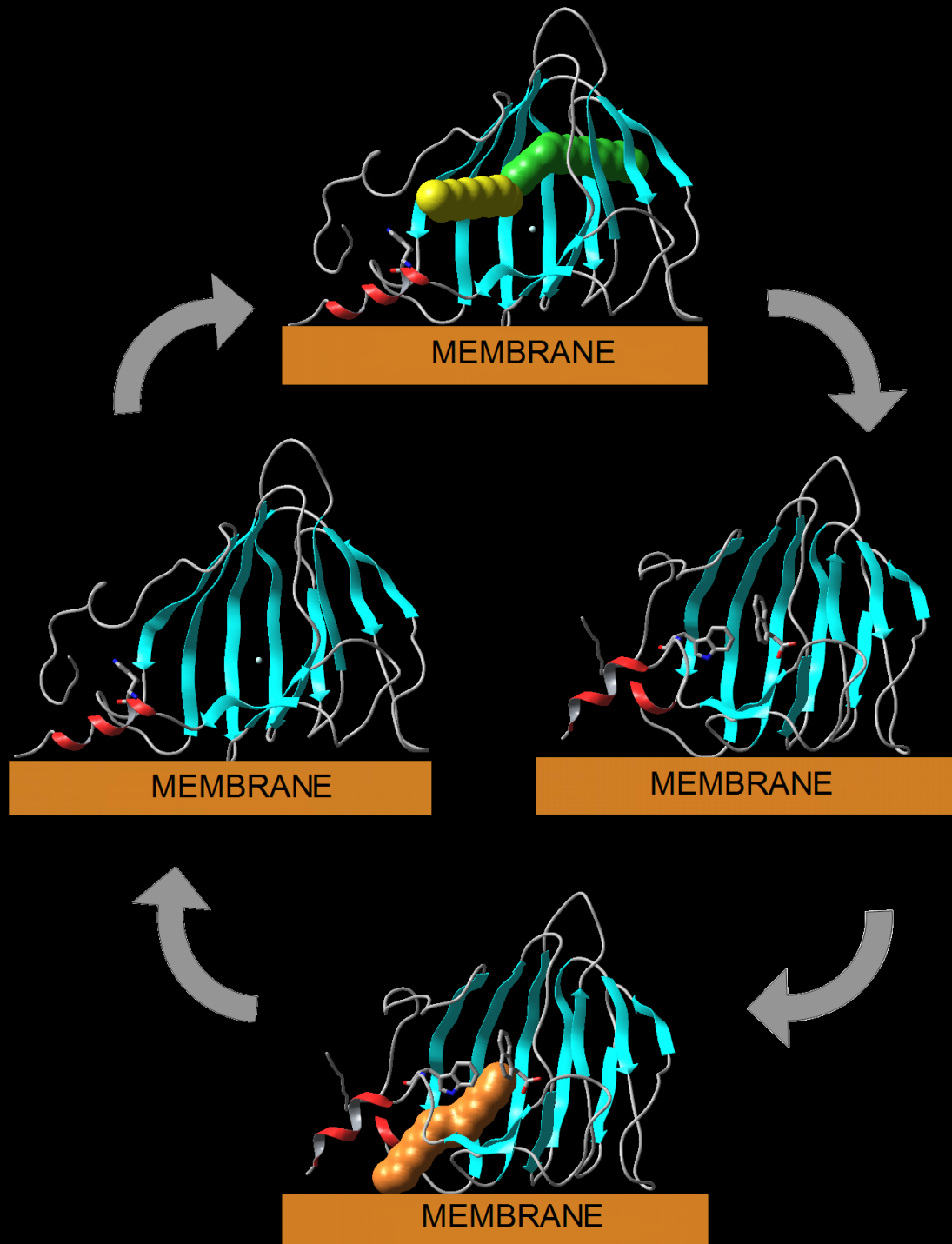


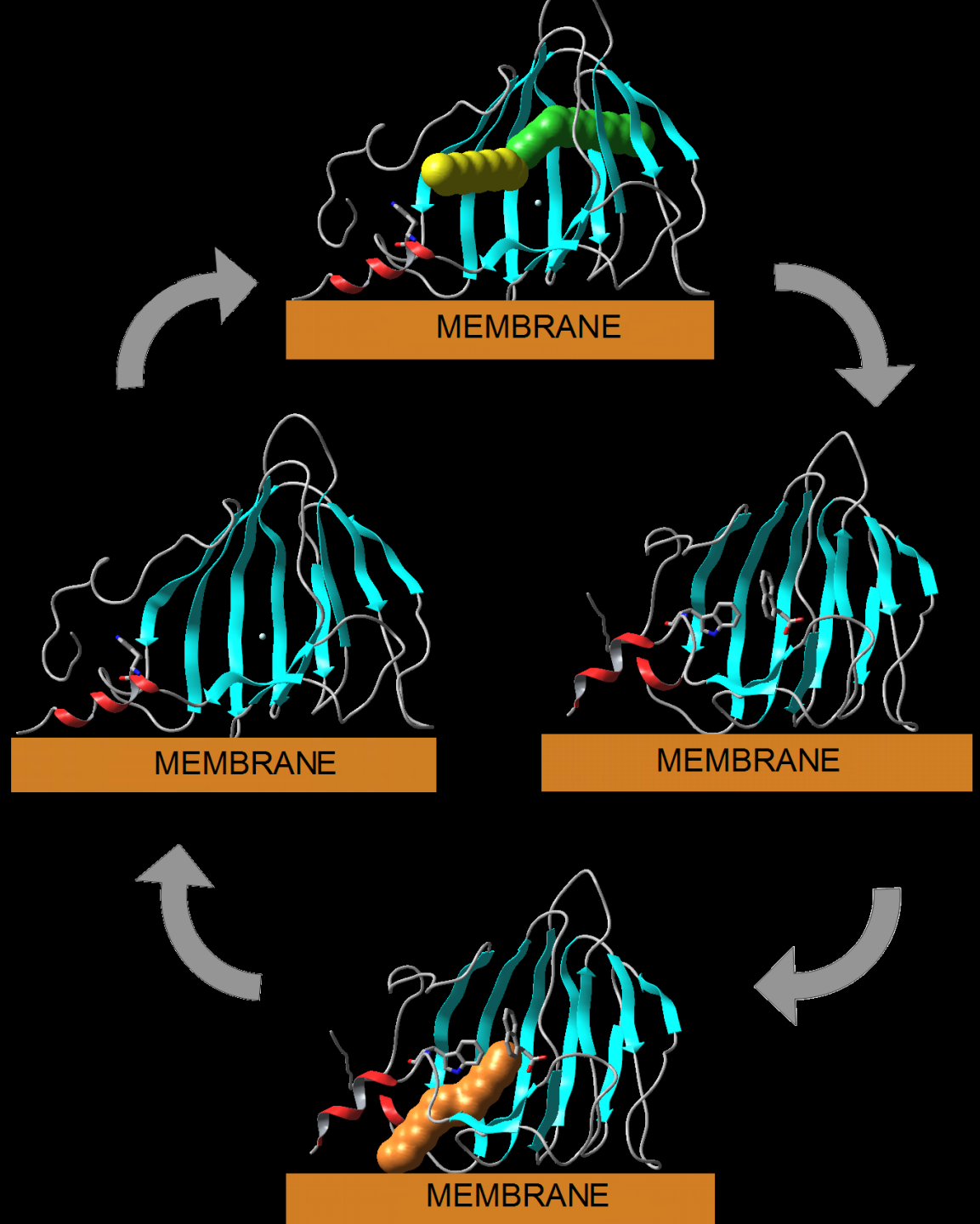
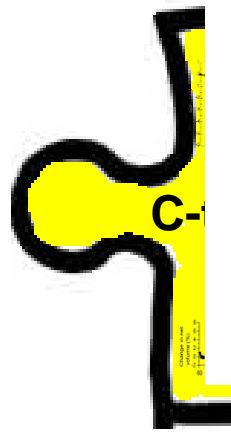
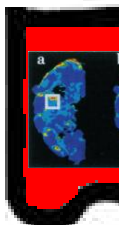




MEMBRANA








ure

1. ZAŠTO NAM TREBAJU RAČUNALNE (SIMULACIJSKE) METODE U MOLEKULARNOJ BIOFIZICI?

RAČUNALNE METODE (*molekulsko modeliranje*) **OMOGUĆAVAJU BOLJU INTERPRETACIJU EKSPERIMENTALNIH PODATAKA ŠTO PRIDONOSI RAZUMIJEVANJU MOLEKULARNOG MEHANIZMA BIOLOŠKIH PROCESA, TE POMAŽU PRI PLANIRANJU NOVIH EKSPERIMENATA.**



NEKI OD FUNDAMENTALNIH BIOFIZIČKIH (BIOKEMIJSKIH/BIOLOŠKIH) PROCESA KOJI SU ODREĐENI NEKOVALENTNIM INTERAKCIJAMA I POGODNI ZA PROUČAVANJE RAČUNALNIM (EMPIRIJSKIM) METODAMA

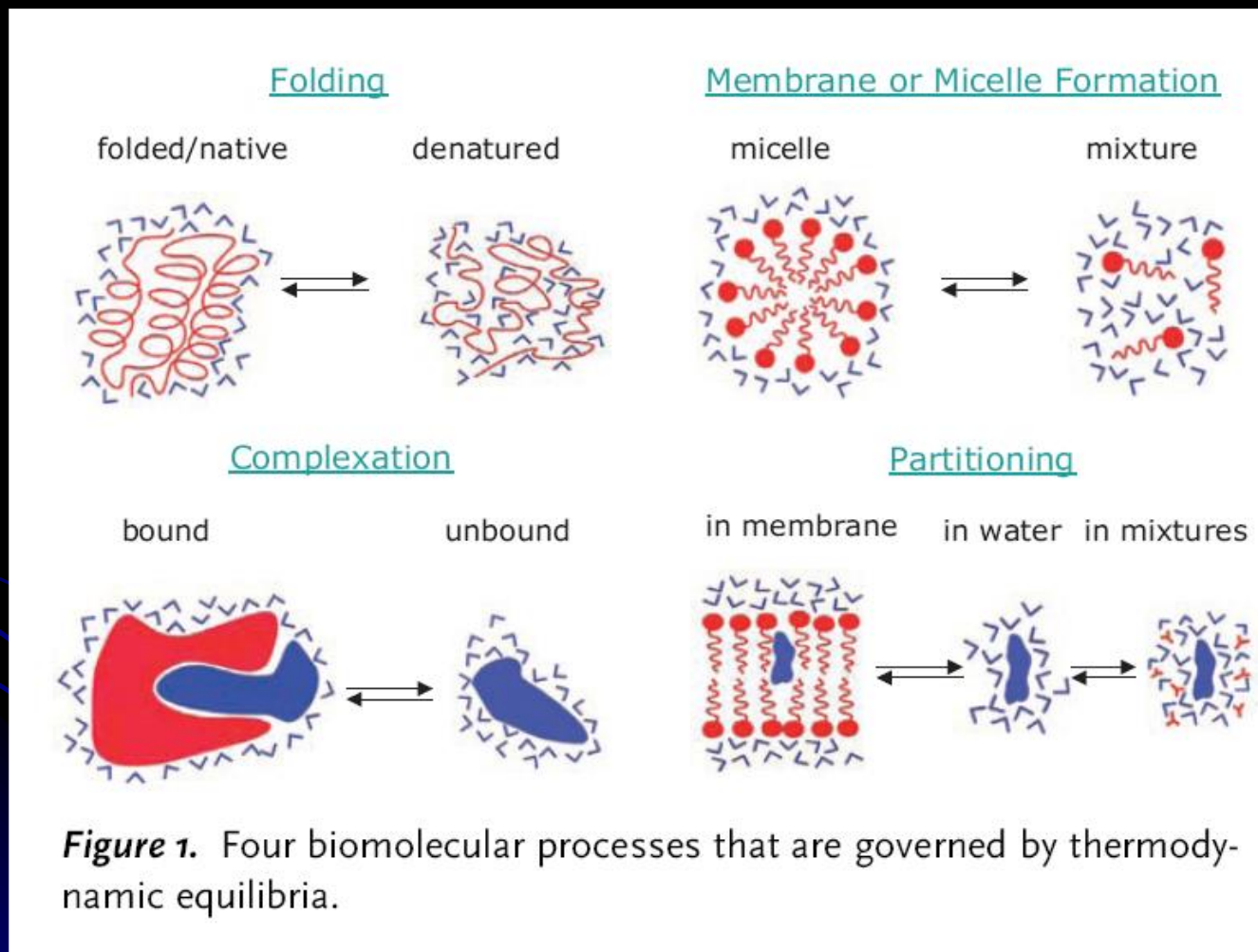


Figure 1. Four biomolecular processes that are governed by thermodynamic equilibria.

- termodinamička ravnoteža
- nekovalentne interakcije

Četiri osnovna faktora koja je potrebno izabrati prije modeliranja:

1. **Razina** na kojoj ćemo promatrati sustav, odnosno koliko stupnjeva slobode ćemo imati (QM, klasično polje sila, *united atom ff*, krupnozrnati model (*coarse grained*), čitava makromolekula je jedan objekt, ...)
2. **Funkcija** kojom ćemo opisati interakcije
3. **Uzorkovanje** (*sampling*) – MD, MC, ...
4. **Tretiranje granica**

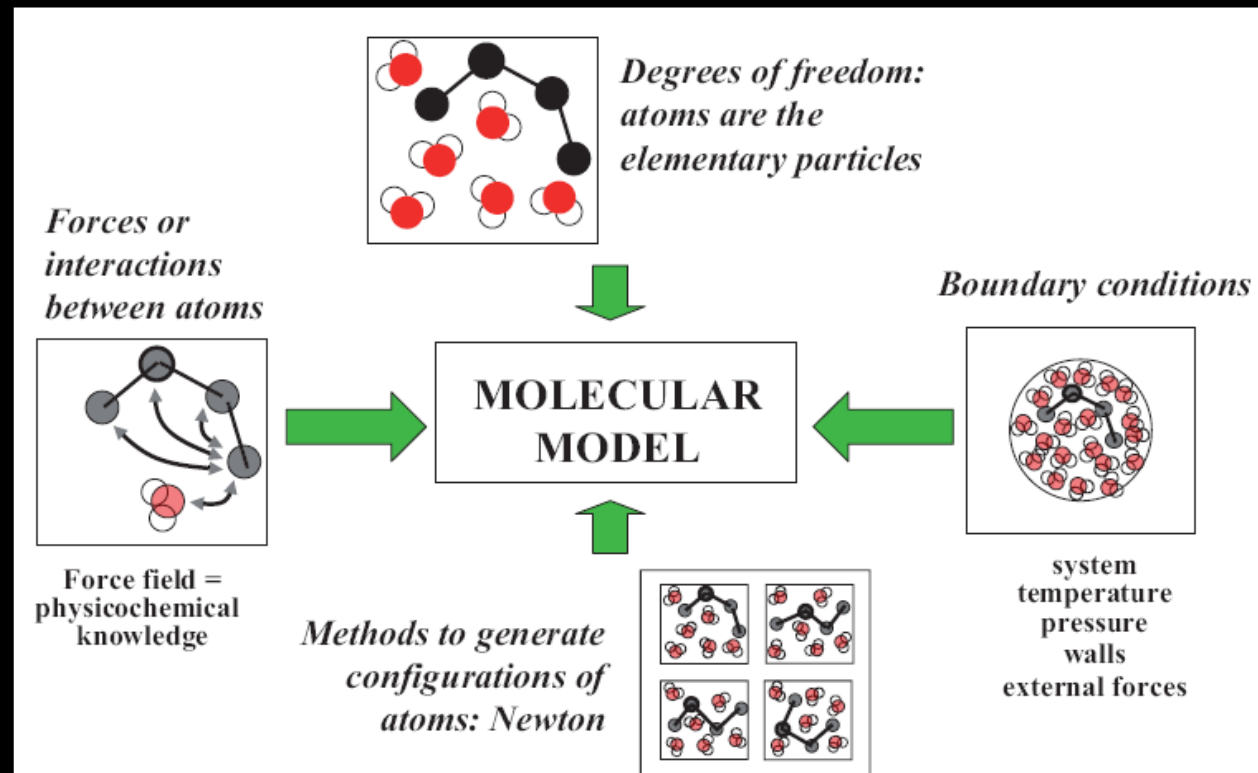


Figure 2. Four basic choices in the definition of a model for molecular simulation.

Četiri problema s kojima se empirijske (**FF**) metode susreću:

Table 2: Four basic problems of biomolecular modeling.

1. force-field problem	A) very small (free) energy differences, many interactions B) entropic effects C) variety of atoms and molecules
2. search problem	A) convergence B) alleviating factors C) aggravating factors
3. ensemble problem	A) entropy B) averaging C) nonlinear averaging
4. experimental problem	A) averaging B) insufficient number of data C) insufficient accuracy of data

- **problem eksperimentalnih podataka** – vrlo je mali broj eksp. podataka dobivenih mikroskopskim promatranjem sustava, većina eksperimentalnih observabli su **makroskopska** svojstva

Četiri razloga zašto je simulacija neophodna:

Table 3: Four reasons why computer simulation is used in science.

Simulation can replace or complement an experiment:

1. experiment is impossible	collision of stars or galaxies weather forecast
2. experiment is dangerous	flight simulation explosion simulation
3. experiment is expensive	high pressure simulation wind channel simulation
4. experiment is blind	many properties cannot be observed on very short time scales and very small space scales
