

Két, idegi jelátvitelben is szerepet játszó fehérjeszerkezeti elem bioinformatikai elemzése

TÉZISFÜZET



Pázmány Péter Katolikus Egyetem
Információs Technológiai és Bionikai Kar

Készítette
Dudola Dániel

Konzulens
dr. Gáspári Zoltán

Budapest, 2020

1. fejezet

Bevezető

1.1. A magányos α -hélixek

A töltéssel rendelkező, magányos α -hélix egy ritka szerkezeti motívum, melynek egyik fő tulajdonsága, hogy habár általában az egyszálú α -hélixek önmagukban nem stabilak, specifikus aminosav szekvenciák megléte esetén (pl. négy glutaminsav (E) és négy pozitív töltésű aminosav, az arginin (R) és lizin (K) váltakozó ismétlődése) oldatfázisban stabilak, a harmadlagos-negyedleges szerkezet stabilizáló hatása nélkül. Ez az ER/K motívum számos élőlény számos, különböző funkciókat betöltő fehérjéjében megtalálható [12]. A magányos α -hélixek (single alpha helix - SAH) megtalálását nehezíti, hogy az algoritmusok által keresett töltéssel rendelkező régiók a szuperhélixekben is megtalálhatóak, bár a töltéssel rendelkező aminosavak aránya a SAH doménekben magasabb. Emiatt az algoritmusok által detektált szuperhélixek egy része vélhetően SAH domén, de ezek egyértelmű megállapításához további vizsgálatok szükségesek [9]. A SAH domén kialakulása akkor valószínűsíthető, ha negatív és a pozitív töltésű aminosavak is nagy számban vannak jelen, viszont hiányzik a hidrofób varrat (a szuperhélixek esetén a szuperhélixet alkotó α -hélixek átlapolódási helyei), valamint minél több hélixen belüli E-K, R-K interakció jön létre.

Habár a SAH domének sokkal elterjedtebbek, mint amilyenek a felfedezésük köré vélték őket, a domének pontos szerepe nem tisztázott, viszont a jelenlétük több esetben jól valószínűsíthető fizikai jelentőséggel bírhat. Ezen funkciók egyike a miozin molekula karjának meghosszabbítása, mely megnöveli az egy erő kifejtés/fordulat alatt a miozin molekula aktin szálon megtett távolságát. Mérésekkel igazolták, hogy a miozin egyes fajtáiban található SAH domének elég merevek ezen kar-meghosszabító funkció betöltéséhez. [1]

1.2. A PDZ domének

A PDZ domének a fehérje-fehérje felismerésben és interakcióban vesznek részt, mellyel hozzájárulnak többek közt a jel-/ingerületátviteli útvonalakhoz nélkülözhetetlen fehérje komplexumok létrehozásához. A körülbelül 90 aminosavból álló szekvencia igen elterjedt, megtalálható többek között a muslica (*Drosophila*) fotoreceptoraiiban és az emlősök szinapszisaiban, és a megszekvenált genomokban az egyik leggyakrabban előforduló domén [6]. Maga az elnevezés egy mozaikszó, amely abból a három fehérje nevéből áll össze, melyekben először kimutatták a PDZ domént, ezek a posztzinaptikus PSD-95, a muslicában található szoros csomópontokban (tight junction) lévő Discs-large és a ZO-1 fehérjék.

A fehérje-fehérje kölcsönhatásokban betöltött szerepe a fehérje szerkezeti adottságaira vezethető vissza. A peptid ligandumok kötőhelye β 2 redő és az α 2 hélix határolta kötőzseb, melyben a kötő fehérje β -redője hozzáadódik a kötőzseb β -redőjéhez [5]. A kötés során a kis kötőzsebbe a ligandum peptid körülbelül 5 aminosav hosszúságú C-terminálisa ékelődik be, a zseb töltöttsége a hidrofób aminosavakkal (valin, izoleucin, leucin) végződő szekvenciák kötődésének kedvez. A C-terminálisokon kívül az ehhez hasonló belső motívumok is részt vehetnek a PDZ doménnel kialakított kötésben.

Mivel a PDZ domén rövid, flexibilis C-terminálisokat és az ehhez hasonló szerkezetű belső motívumokat köt, ezért gyakorlatilag szinte minden fehérjével képes kötetést kialakítani, különösen a membrán fehérjék iránt mutat nagyobb affinitást, mint például az ion csatornák, amik jellemzően rövid C-terminálissal rendelkeznek. A kötés a ligandum tekintetében is "kímélő", a kötött ligandum szerkezete nem módosul a szabad állapothoz képest [6], a tranziens kötődés miatt az egyensúly gyorsan és könnyen átrendeződik.

A kötött helyzetben a β -redők stabilizálják a ligandum helyzetét, melyben a ligandum kötésben részt vevő oldallánca egyenesen a PDZ domén kötőzsebe felé mutat. Így a ligandum β -redőjének és a polarizált oldallánc helyzetére vezethető vissza a domén kötési specifikása.

A rövid C-terminálisokra vonatkozó kötési affinitás mellett a PDZ domén képes felismerni belső fehérje motívumokat is, amennyiben azok térszerkezeti szempontból hasonlóak a lánc végződéshez. A kötés ezen fajtája jellemzően csak akkor jön létre, ha a ligandum peptid C-terminálisa a ligandum szerkezetéből kifolyólag nehezen elérhető, térbeli helyzete megnehezíti vagy ellehetetleníti a kötés kialakítását. A domén kötési specifikása miatt ilyen, a ligandum belső motívumával kialakított kötés vélhetően ritkábban jön létre, mivel a domén kötési helyének geometriája és polarizáltsága kiemelkedően specifikus.

1.3. Dinamikus fehérjeszerkezeti sokaságok elemzése

A fehérjék szerkezeteinek és funkciójának tanulmányozása során egyre nagyobb szerepet kapnak a szerkezetek dinamikai tulajdonságai, mivel felismerésre került a szerkezetek belső mozgásainak funkcionális szerepe. A szerkezetmeghatározáshoz használt kísérleti módszerek régebben nem tették lehetővé a szerkezetek mozgásainak részletes megfigyelését, amiből az a téves következtetés született, hogy a fehérjék egy jól körülhatárolható, rigid szerkezettel rendelkeznek. Az egyik első szerkezetmeghatározásra használt kísérleti módszer a röntgen kristallográfia, ami – ahogy a módszer nevében is megjelenik – egy fehérje egykristály diffrakciós vizsgálata. A kristályosított – meglehetősen életszerűtlen – állapotban a fehérjék eleve képtelenek a mozgásra, így a szerkezetek dinamikai tulajdonságaira csak vonatkoztatni lehet.

A mágneses magrezonancia spektroszkópia (nuclear magnetic resonance spectroscopy - NMR) az első kísérletes módszer, amivel a szerkezetek atomi szintű meghatározása mellett azok dinamikai tulajdonságairól is információ nyerhető. A fehérjeszerkezetek dinamikus szerepe a fehérjék modellezésében is megjelent a dinamikus fehérjeszerkezeti sokaságok formájában, mivel egy modellel nem írható le a szerkezet által bejárt konformációs tér. Ebben a konformációs térbeli állapotok között egy dinamikus egyensúly figyelhető meg, mely egyensúly eltolódása is hatással lehet a fehérje biológiai tulajdonságaira.

A fehérjeszerkezetek sokaságként való reprezentálása mellett szól az is, hogy egyes rendszerek esetében az egy konformerre épülő modellek nem reprezentálják jól az adott fehérje tényleges struktúráját. Jó példát adnak erre a rendezetlen fehérjék (intrinsically disordered proteins – IDPs), melyeknek a globuláris fehérjékhez viszonyított nagyfokú hajlékonysága hamar rávilágított a tényre, hogy az ilyen szerkezeteket csak sokaságként lehet jellemezni. Az ilyen fehérjeszerkezetek erősen dinamikus szerkezete sok, eddig ismeretlen biokémiai mechanizmus felfedezésében segített, bár ezek atomi szintű jellemzése gyakran nehézkes.

A manapság leginkább gyümölcsözőnek tekintett megközelítés a kísérletek és a számítások kombinációja, ahol a mérésekből származó paramétereket megfelelő térbeli interpretáció segítségével kényszerfeltételként használjuk fel molekuladynamikai számításokban. Ez a megközelítés nagyban hasonlít a hagyományos szerkezetmeghatározáshoz, az eltérés a kísérleti eredmények felhasználásában rejlik. A dinamikát tükröző sokaságok előállítása során ugyanis a paraméterek értelmezése ténylegesen is sokaságalapú, azaz ahelyett, hogy minden egyes konformertől elvárnánk, hogy minden kísérleti adatnak megfeleljen, a megfelelést a teljes sokaságon értelmezzük és várjuk el.

2. fejezet

Alkalmazott módszerek

A SAH detektálás céljából készült SCAN4CSAH és az FT_CHARGE algoritmusok megtervezésekor szempont volt, hogy az algoritmusok csak SAH domént alkotó töltéssel rendelkező aminosavakat vegyék figyelembe. A hamis pozitív találatok csökkentése céljából implementáltam egy helicitás szűrőt, amely a várhatóan nem helikális szerkezeteket eltávolítja a találatok közül.

A filter beállításához a nem-redundáns PDB SELECT adatbázisban [4] található szekvenciák DSSP annotációját [2] használtam fel. Az itt található, legalább 15 aminosav hosszú alfa-hélixek esetében kiszámoltam az egy aminosavra jutó átlagos Chou-Fasman-féle $P\alpha$ értéket. Ezen értékekre az R program [10] segítségével EVD eloszlást illesztettem. Az ennek alapján kapott valószínűségi küszöbérték meghatározásához a SwissProt adatbázis 2015_08 kiadásán prediktált SAH szekvenciákat vizsgáltam meg, és ennek alapján a P értéket 0.5-nek választottuk, azaz csak az ennél kisebb P-értékkel rendelkező szekvenciákat vettem figyelembe.

A PDZ doménnel folytatott munka során a kibővített PDZ sokaság létrehozásához megszorító paraméterek nélküli molekuladinamikai szimulációkat futtattam a PDB adatbázisban megtalálható PDZ sokaságokkal (2KPL, 2LC6, 2LC7, 2LOB, 1GM1, 1OZI, 2KPK, 1VJ6, 1UM7), amelyekhez kísérletileg előállított kémiai eltolódás értékek is rendelkezésre álltak. A szimulációval előállított sokaságok a kísérletileg megállapított paraméterekkel történő egyezését a CoNSEnsX+ szerverrel ellenőriztem, valamint a CoNSEnsX+ szerver általam hozzáadott új funkciójával a kémiai eltolódásokra történő szelekcióval alsokaságokat hoztam létre. Az így készített sokaságokat egyéb, PDB-s PDZ modellekkel kiegészítve létrehoztam egy "PDZ mag" sokaságot, ami a továbbiakban az összehasonlító elemzés egyik alapját képezte. A különböző sokaságok egy nagyobb sokasággá történő összefűzése egy valamennyi modellre alkalmazott MAMMOTH illesztéssel történt.

3. fejezet

Új tudományos eredmények

3.1. Első téziscsoport: A SAH domének vizsgálata

1. Beépítettem az FT_CHARGE algoritmusba egy helicitás szűrőt, az algoritmus által detektált, de várhatóan nem helikális találatok kiszűrésére.

A hélix kialakulásában (vagy a kialakulásának megakadályozásában) a töltéssel rendelkező aminosavak megléte és sorrendje mellett szerepe van viszont a szekvenciában található aminosavak együttes kompozíciójának is, például a magas prolin tartalmú szekvenciák általában nem képeznek hélixet. Ezen probléma kiküszöbölésére a dekektált SAH doménekben még beépítettem egy helicitás filtert a munkamemóriába a Chou-Fasman módszer alapján. A webszerver későbbi fejlesztése során a filtert tovább finomítottam, mert észrevettem, hogy a hosszú, több szakaszból álló SAH szekvenciák esetében nem működik megbízhatóan. Ezért a filtert nem csupán a teljes SAH szakaszokra, hanem – mivel az FT_CHARGE az FFT eljárás miatt adott ablakméretbe eső szegmenseket elemez – az FT_CHARGE által azonosított minden egyes szegmensre alkalmazom, és csak a filteren 'átment' szakaszokat használom fel a teljes SAH összerakásához. Ezzel biztosítható, hogy ne forduljon elő az a helyzet, hogy egy hosszú SAH a végső szűrőn essen ki, hanem megtartható a releváns, várhatóan valóban helikális szakasza. Mindkét szűrési lépést a csahdetect.pl szkriptbe építettük be, ez a szkript végzi az FT_CHARGE által talált szakaszok összefűzését, a SCAN4CSAH eljárással való konszenzus megállapítását és így a végső kimenetként megadott SAH szakaszok pontos határainak megállapítását [II, III].

Név	UniProt ID	SAH kezdete	SAH vége	Javasolt paraméterek A \geq 7 P \leq 0.05	Magas érzékenység A=0.5 P \leq 0.5	Előző értékek A \geq 10 P \leq 0.01
Caldesmon	A0A1L1RXH5	196	252	174-316 408-521	1-36 153-384 394-528	178-312 411-517
GCP60	Q9H3P7	183	238	158-274	158-283	158-268
INCENP	P53352	503	715	502-679	484-769	
MAP4K4	O95819	417	480	374-503	355-533	386-500
MFAP1	P55081	267	344	225-259	173-273	
Myosin 10	Q9HD67	813	909	773-870	765-880 903-955	
Myosin 7	P97479	866	935	848-929	829-939	
Myosin 6	Q9UM54	915	980	932-995	889-923 932-995	932-994
Snu23	G0S6R0	131	164		110-214	

3.1. táblázat. Az FT_CHARGE optimalizált paraméterezése a kísérletekből megállapított SAH domének alapján

2. Az eddig ismert, SAH domént tartalmazó fehérjék felhasználásával javítottam az FT_CHARGE paraméterezésén.

Az új, kísérletileg feltérképezett SAH domének megjelenése rávilágított meglévő algoritmusok gyengeségeire, miszerint az algoritmusok nem detektálták azokat a SAH doméneket, melyen megléte kísérleti úton bizonyításra került, szükségessé téve az algoritmusok paraméterezésének felülvizsgálatát [III].

Az FT_CHARGE algoritmus új paraméterezésének beállításához 9, kísérletileg igazolt SAH domént és az azokat tartalmazó fehérjéket, valamint negatív kontrollakat használtam fel. A beállításához a paraméterek adott kombinációival lefutattam az FT_CHARGE eljárást a tesztben szereplő fehérjékre, és megvizsgáltam, hogy a SAH szakaszokba eső aminosavak mekkora hányadát sikerült az egyes beállításokkal azonosítani a konszenzus (SCAN4CSAH + FT_CHARGE) eljárással, illetve csak az FT_CHARGE használatával. A kapott eredmények vizsgálata alapján a javasolt új beállítások: minimális amplitúdó 7, a hozzá tartozó P-érték pedig 0.05. Fontos megjegyezni, hogy a pontos szakaszhatárok predikciója/megállapítása nem reális, hiszen kísérletes oldalról nem várható, hogy aminosavak egyenkénti hozzáadásával nagy számú konstrukciót állítsanak elő és elemezzenek, és várhatóan még ebben az esetben sem lenne egyszerű és egyértelmű pl. CD-spektroszkópiával ezekre kapott α -helikális jelleg esetében az egyes konstrukciókra kapott értékek között határt vonni. Így a pontos tól-ig pozíciók meghatározása a SAH szegmensek esetében nem feltétlenül életszerű, az átmenet feltehetően többé-kevésbé folytonos rendezetlen és/vagy szuperhélix szakaszok felé a szekvencia mentén.

3. Az új paraméterekkel elemzett humán proteomban több, eddig nem ismert SAH-tartalmú fehérjét azonosítottam, köztük idegrendszeri jelátvitelben résztvevőket is.

A konszenzus módszer 8 SAH domént tartalmazó fehérjét prediktált, melyek az idegrendszeri jelátvitelben is szerepet játszhatnak. A septin 7 fehérje a citoszekeletális fehérjék egy viszonylag újonnan azonosított családjába, a septinek közé tartozik. A septinek szálakat és gyűrűket képeznek, melyek állványzatként és diffúziós határolóként működnek. Részt vesznek többek közt a dendritikus tüskék kifejlődésében és a sejtosztódás folyamatában is. A citoszekeletális (pl. CLIP2, miozin 6, caldesmon) és a sejtkéregben található fehérjék (piccolo, drebrin) részt vesznek a sejtfüggelékek, mint például a dendritek fejlődésében és a szinaptikus vezikulák kibocsátásában. A SAH domén keresés során 17 olyan fehérjét találtunk, amely a SynptomeDB-ben is megtalálható, illetve 13 fehérje UniProt annotációja arra enged következtetni, hogy ezek funkciója is kapcsolatba hozható a neurális fejlődéssel. A PCLO (protein piccolo) fehérje a preszinaptikus aktív zónákban található és a szinaptikus vezikulák szállításában vesz részt [3]. A drebrin egy posztzinaptikus fehérje, melynek a dendritekben található citoszekeletális állványzat formálásában van szerepe és a hosszútávú potenciáció keretében történő szinaptikus változásokkal, illetve az Alzheimer-kórral hozható összefüggésbe [11].

	Cyto skele ton	Cell corte x	Paras peckle s	Exon- exon junctio ns	Golgi appar atus	RNA bindi ng	MAP KKK K aktivit y	Neur onal proce ss	Syna ptom eDB
All	31	10	3	3	18	21	3	13	17
Cytoskeleton		9		1	4	2	1	8	9
Cell cortex					2			5	6
Paraspeckles						3		1	1
Exon-exon junctions						3			
Golgi apparatus						3	1	3	
RNA binding								1	3
MAP kinase kinase kinase activity								2	2
Neuronal process									8

3.1. ábra. A konszenzus módszer által prediktált, SAH domént tartalmazó humán funkcionális csoportok

3.2. Második téziscsoport: A CoNSEnsX szerver fejlesztése

1. Újraimplementáltam és funkciókkal egészítettem ki a meglévő CoNSEnsX szervert, amit CoNSEnsX+ néven publikáltunk.

A meglévő CoNSEnsX szervert a könnyebb fejleszthetőség és a fenntarthatóság jegyében újra implementáltam Python nyelvben, illetve létrehoztam a szerver és az újonnan hozzátartozó adatbázis Docker-es környezetét. Amennyiben a feladat engedte, a legtöbb funkcionalitás implementálása során standard könyvtárakat használtam (PDB, STAR-NMR formátumú fájlok kezelése, ábrák készítése, főkomponens analízis). Implementáltam az RDC (residual dipolar couplings - maradvány dipoláris csatolások) visszaszámolás során, hogy az egy mérésből származó adatkészleteket együtt kezelje és jelenítse meg a program, illetve az oldallánc rendparaméterek visszaszámolását és teljesen új grafikus felülettel láttam el a szervert.

2. Az új CoNSEnsX+ szerverbe egy sokaság szelekciós algoritmust implementáltam.

A CoNSEnsX+ szerver egyik főbb új funkcionalitása a szelekció, melyben a kiválasztott megfelelési mérőszám (korreláció, rmsd, q-érték) mentén a felhasználó által megadott paraméterkészleteknek való megfelelést maximalizálok. A módszerrel a megadott kísérleti paramétereknek jól/jobban megfelelő, a kiindulási sokaságnál jellemzően sokkal kisebb alsokaságok állíthatóak elő. A sokaságok méretével csökken az paraméterek túlillesztettsége, illetve a feldolgozásuk számításigénye is.

A szelekció végeztével megjelenítésre kerülnek a szelektált sokságra vonatkozó mérőszámok és letölthetővé válik a szelektált sokaság. Emellett a szelektált sokaság főkomponens analízissel is összehasonlításra kerül a kiindulási sokasággal, aminek vizualizálása a szelekció után láthatóvá válik.

3. Megmutattam, hogy az implementált szelekciós eljárás képes biológiailag releváns mozgásokat tükröző, túlillesztésmentes alsokaságok előállítására.

A CoNSEnsX+ szerverben implementált szelekciós algoritmus biológiai relevanciáját több, molekuladinamikai szimulációval előállított sokaságon teszteltem, különböző sokaságokból mintavételezett konformációs terek összehasonlításával. A kiindulási és a szelektált sokaságok főkomponens elemzése alapján elmondható, hogy a referencia sokaságban megfigyelt mozgások kisebb sokaságokkal is jól reprezentálhatóak, ami egyúttal a referencia sokaság túlillesztettségére is utal, tehát a referencia konformációs teret magában foglaló konformációs térből szelekcióval elő lehet állítani a referencia sokasághoz hasonló sokaságokat.

Az algoritmust rendezetlen (IDP - intrinsically disordered protein) fehérjeszerkezetekkel való működését a pE-DB [13] adatbázis 9AAC α -szinuklein sokaságával is teszteltük. A kiindulási és szelektált sokaságok főkomponens analízise itt is igazolta, hogy a szelektációs algoritmus egy rendezetlen fehérjéből álló sokaság esetén is képes a releváns tulajdonságokat megőrizve egy kisebb alsokaságot előállítani

3.3. Harmadik téziscsoport: A PDZ domének dinamikájának vizsgálata

1. Molekuladinamikai szimulációval előállítottam PDZ domének dinamikus szerkezeti sokaságait.

A vizsgált sokaságok elemzése során felmerült az igény egy viszonyítási alapként is használható, a PDZ domént általánosaságban reprezentáló nagyobb sokaságra. Ennek összeállításához a már meglévő NOE alapú PSD-95 PDZ1 és PDZ2 sokaságokhoz [7] további sokaságokat kerestem, amelyekhez elérhetőek kísérletileg megállapított kémiai eltolódások (2KPL, 2LC6, 2LC7, 2LOB, 1GM1, 1OZI, 2KPK, 1VJ6, 1UM7). Az így kiválasztott sokaságokkal ezután rövid (20 ns), megszorító paraméterek nélküli molekuladinamikai szimulációkat futtattam, majd az így készült sokaságokból a CoNSEnsX⁺ szerver szelektáció funkciójával a H α és C α kémiai eltolódásoknak való megfelelést maximalizálva alsokaságokat.

PDB ID	Leírás	BMRB ID	Alsokaság méret
Rövid szimulációk			
2KPK	MAGI-1 PDZ1	16558	11
2KPL	MAGI-1 PDZ1 / E6CT	16559	7
1GM1	Second PDZ Domain (PDZ2) of PTP-BL	5131	9
1VJ6	PDZ2 from PTP-BL in complex with the C-terminal ligand from the APC protein	5131	12
2LC6	Solution structure of Par-6 Q144C/L164C	17599	13
2LC7	Solution structure of the isolated Par-6 PDZ domain	17600	17
1OZI	The alternatively spliced PDZ2 domain of PTP-BL	5762	11
1UM7	Solution structure of the third PDZ domain of synapse-associated protein 102	11198	21
Hosszú szimulációk			
2KPK	MAGI-1 PDZ1	16558	11
2KPL	MAGI-1 PDZ1 / E6CT	16559	14
1GM1	Second PDZ Domain (PDZ2) of PTP-BL	5131	25
1VJ6	PDZ2 from PTP-BL in complex with the C-terminal ligand from the APC protein	5131	29

3.2. táblázat. A molekuladinamikai szimulációval előállított sokaságok és a belőlük szelektált alsokaságok mérete

2. A PDZ domének mozgásainak összehasonlító elemzéséhez összeállítottam a "PDZ mag"-nak nevezett referencia sokaságot.

Az előállított sokaságok egy közös sokságba történő összefűzéséhez először illeszteni kellett azok szerkezeteit. A több szerkezetre alkalmazott illesztés a MAMMOTH-Mult programmal készült [8]. Ehhez az egyes sokaságok első modelljeit, illetve a több láncból álló szerkezetek első láncait használtuk fel. A tandem PDZ doméneket tartalmazó szerkezetek fel lettek darabolva úgy, hogy a PDZ doméneket külön-külön is fel lehessen használni. Mivel a MAMMOTH-Mult programmal nem lehetett egyszerre mind a 152 szerkezetet illeszteni, ezért az illesztés több körben történt, az egyes illesztések eredményeit összefűztük, azokat a részeket megtartva, amelyek valamennyi felhasznált szerkezetben megtalálhatóak. Az így kapott illesztés felhasználásával minden felhasznált PDB-s modellt és sokaságot redukáltam, hogy csak az illesztés során kapott, közös aminosavakat tartalmazzák, ez lesz a további összehasonlítások egyik alapja, amit "PDZ mag"-nak neveztünk el.

3. A vizsgált PDZ domének összehasonlító elemzésével megmutattam, hogy a ligandumkötés hatására bekövetkező dinamikai változások doménfüggők.

Várakozásainkkal ellentétben a nyitó-cukó mozgás mentén a szabad és kötött formák eloszlása nem egységes az egyes PDZ domének esetében. A PSD-95 PDZ1 és PDZ2 esetében a szabad forma ezen mozgás mentén a teljes teret mintavételezi, a kötött forma ezen térrész zárt konformációjának megfelelő részében mozog. Ugyanakkor a PSD95 PDZ3 domén kötött formája ezzel ellentétben a nyitott formában stabilizálódik a ligandum kötött állapotban. Ez a megfigyelés igaz marad akkor is, ha az ezkehez a doménekhez tartozó, PDB-ben elérhető szerkezeteket vizsgáljuk, bár ebben az esetben a különbségek kevésbé látványosak, mivel ezek lényegesen kisebb konformációs teret reprezentálnak. Ez a megfigyelés két másik, kémiai eltolódások alapján szelektált sokaságra is igaz, valamint az ezekhez használt kiindulási PDB-s modellekről is elmondható. Az egyetlen kivétel az 1GM1-1VJ6 PDB azonosítójú sokaság pár (a PTP-BL fehérje második PDZ doménje, szabad és kötésben lévő állapotban), ahol az eredeti sokaságok elemei csak a harmadik főkomponens mentén válnak el.

4. fejezet

Publikációs jegyzék

4.1. Az értekezés alapjául szolgáló folyóiratcikkek

- I D. Dudola, B. Kovács, and Z. Gáspári. Evaluation and Selection of Dynamic Protein Structural Ensembles with CoNSEnsX. *Methods Mol Biol*, 2112:241–254, 2020.
- II Á. Kovács, D. Dudola, L. Nyitray, G. Tóth, Z. Nagy, and Z. Gáspári. Detection of single alpha-helices in large protein sequence sets using hardware acceleration. *J. Struct. Biol.*, 204(1):109–116, 10 2018.
- III D. Dudola, G. Tóth, L. Nyitray, and Z. Gáspári. Consensus Prediction of Charged Single Alpha-Helices with CSAHserver. *Methods Mol. Biol.*, 1484:25–34, 2017.
- IV D. Dudola, B. Kovács, and Z. Gáspári. CoNSEnsX+ Webserver for the Analysis of Protein Structural Ensembles Reflecting Experimentally Determined Internal Dynamics. *J Chem Inf Model*, 57(8):1728–1734, 08 2017.
- V D. Dudola, A. Hinsenkamp, and Z. Gáspári. Ensemble-based analysis of the dynamic allostery in the PSD-95 PDZ3 domain in relation to the general variability of PDZ structures. *Int J Mol Sci*, 21(21), 2020

Irodalomjegyzék

- [1] M. Batchelor, M. Wolny, L. Dougan, E. Paci, P. J. Knight, and M. Peckham. Myosin tails and single α -helical domains. *Biochem. Soc. Trans.*, 43(1):58–63, Feb 2015.
- [2] P. Carter, C. A. Andersen, and B. Rost. DSSPcont: Continuous Secondary Structure Assignments for Proteins. *Nucleic Acids Res.*, 31(13):3293–3295, Jul 2003.
- [3] S. D. Fenster, W. J. Chung, R. Zhai, C. Cases-Langhoff, B. Voss, A. M. Garner, U. Kaempf, S. Kindler, E. D. Gundelfinger, and C. C. Garner. Piccolo, a presynaptic zinc finger protein structurally related to bassoon. *Neuron*, 25(1):203–214, Jan 2000.
- [4] S. Griep and U. Hobohm. PDBselect 1992-2009 and PDBfilter-select. *Nucleic Acids Res*, 38(Database issue):D318–319, Jan 2010.
- [5] Baruch Z. Harris and Wendell A. Lim. Mechanism and role of pdz domains in signaling complex assembly. *Journal of Cell Science*, 114(18):3219–3231, 2001.
- [6] Albert Hung and Morgan Sheng. Pdz domains: Structural modules for protein complex assembly. *The Journal of biological chemistry*, 277:5699–702, 03 2002.
- [7] B. Kovács, N. Zajác-Epresi, and Z. Gáspári. Ligand-dependent intra- and interdomain motions in the PDZ12 tandem regulate binding interfaces in postsynaptic density protein-95. *FEBS Lett*, 594(5):887–902, 03 2020.
- [8] Dmitry Lupyan, Alejandra Leo-Macias, and Angel R. Ortiz. A new progressive-iterative algorithm for multiple structure alignment. *Bioinformatics*, 21(15):3255–3263, 06 2005.
- [9] Michelle Peckham and Peter J. Knight. When a predicted coiled coil is really a single α -helix, in myosins and other proteins. *Soft Matter*, 5:2493–2503, 2009.

- [10] R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2013. ISBN 3-900051-07-0.
- [11] T. Shirao, K. Hanamura, N. Koganezawa, Y. Ishizuka, H. Yamazaki, and Y. Sekino. The role of drebrin in neurons. *J. Neurochem.*, 141(6):819–834, 06 2017.
- [12] S. Sivaramakrishnan, B. J. Spink, A. Y. Sim, S. Doniach, and J. A. Spudich. Dynamic charge interactions create surprising rigidity in the ER/K alpha-helical protein motif. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 105(36):13356–13361, Sep 2008.
- [13] M. Varadi, S. Kosol, P. Lebrun, E. Valentini, M. Blackledge, A. K. Dunker, I. C. Felli, J. D. Forman-Kay, R. W. Kriwacki, R. Pierattelli, J. Sussman, D. I. Svergun, V. N. Uversky, M. Vendruscolo, D. Wishart, P. E. Wright, and P. Tompa. pE-DB: a database of structural ensembles of intrinsically disordered and of unfolded proteins. *Nucleic Acids Res.*, 42(Database issue):D326–335, Jan 2014.