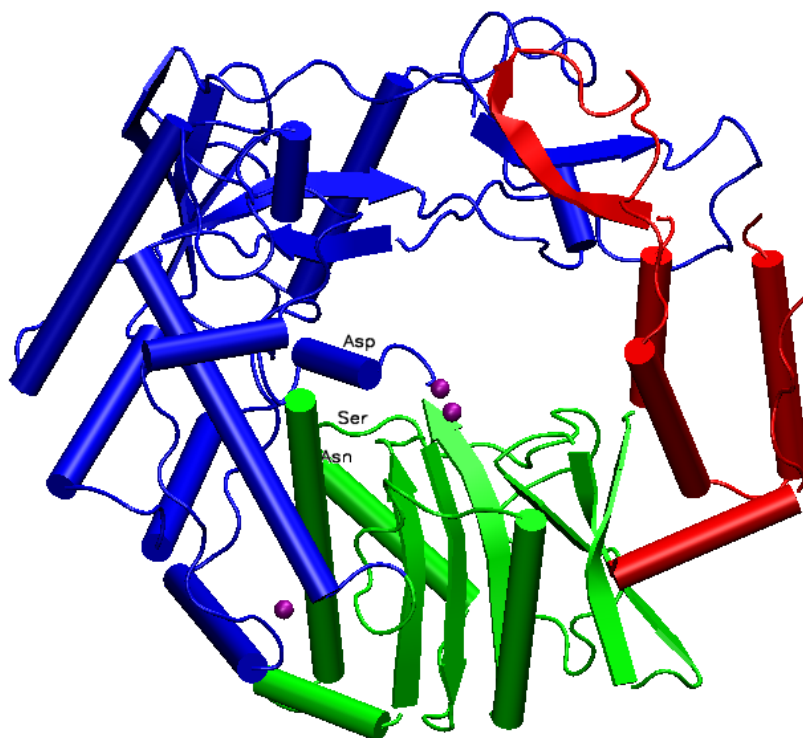


Univerzita Karlova v Praze
Matematicko-fyzikální fakulta

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
Krátké shrnutí



Jindřich Soukup

**Molekulárně-dynamické simulace proteinových
struktur**

Fyzikální ústav UK

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Ivan Barvík, Ph.D.

Studijní program: Fyzika, obecná fyzika

Výzkum léků proti virovým onemocněním

HIV, Hepatitida typu C, chřipka, mononukleóza, vzteklna či opar jsou příklady virových onemocnění. Některé jsou smrtelné, některé mohou ničit či oslabovat tělo, některé jsou jen nepříjemné. Na žádné z nich nezabírají antibiotika, která jsou určena hlavně na bakteriální choroby. Je proto nutné vyvíjet jiné typy léků založené na jiném principu. Jak takový vývoj probíhá?

Klíčová je co nejdetailnější znalost virů a jejich působení v lidském těle. Proti virové nákaze lze bojovat několika způsoby. Buď se pokusíme přinutit tělo, aby bojovalo s infekcí samo (imunitní systém často infekci nerozpozná a tak proti ní nebojuje, často ani nemá jak). Druhou možností je pak aktivně bojovat proti viru pomocí léků a například zabránit či zbrzdit jeho rozmnožování uvnitř buněk. Pokud známe strukturu viru a víme, jakým způsobem se množí, můžeme vytipovat chemické látky, které by množení virů v buňce zabraňovaly.

Předtím než je vytipované chemické látky použity v klinických testech, které jsou velmi finančně náročné, testují se, pokud to jde, na počítači pomocí molekulárně-dynamických simulací. Na základě těchto simulací se vybere nejperspektivnější chemická látka, která je dál prověřována v klinických testech, nejprve na zvířatech, později na lidech. Než se nový lék dostane na trh, uplyne od počátečního vytipování chemické látky více než deset let a utratí se miliony dolarů.

Co obsahuje moje práce

V rámci své práce jsou právě takovou molekulárně-dynamickou simulací prováděl. V první polovině práce je celkem detailní popis toho, jak takové molekulárně dynamické simulace fungují, jak je naprogramovat a jak je následně analyzovat. Druhá polovina práce dává základní znalosti z biochemie, popisuje strukturu a životní cyklus viru HCV (hepatitis C virus). Dále popisuje výsledky molekulárně-dynamické simulace proteinu, který je zodpovědný za kopírování genetické informace viru.

Co je to ta molekulárně-dynamická simulace?

Pokud víme, jaké síly působí na nějaký objekt jsme schopní pomocí pohybových rovnic předpovědět, jak se objekt bude pohybovat. Molekulárně-dynamické simulace (MD simulace) mají za cíl co nejdokladněji nasimulovat pohyb jednotlivých atomů či molekul. Každý atom je brán jako hmotný bod. Uvažované síly jsou fyzikální interakce mezi atomy - elektrostatická síla, van der Waalsova interakce, kovalentní vazby mezi atomy v molekule, ...

Simulace funguje následovně: umístíme si atomy a určíme si, které atomy budou propojeny kovalentními vazbami (budou tvořit molekuly). Pro každý atom si spočítáme, jaké na něj působí síly od všech ostatních atomů. Pro každý atom pak změním rychlost a polohu. Pro nové pozice atomů opět spočteme síly, upravíme rychlosti a polohy ... (numericky řešíme pohybové rovnice).

Jak upravujeme rychlosti a polohy a proč takovýto postup funguje? Základní myšlenkou je, že se tváříme, že po nějaký časový okamžik jsou působící síly konstantní a pohyb přímočarý a rovnoměrný. Můžeme tak použít základní vzorečky $F = m \cdot a$,

$v = v_0 + a \cdot \delta t$ a $s = s_0 + v \cdot \delta t$. Pokud budeme volit časový skok δt dostatečně malý, nevznikne moc velká nepřesnost. Právě analýzou vzniklé chyby se zabývá první kapitola bakalářky. Druhá kapitola pak popisuje podrobně vysvětluje principy, triky a zanedbání použita v MD simulacích.

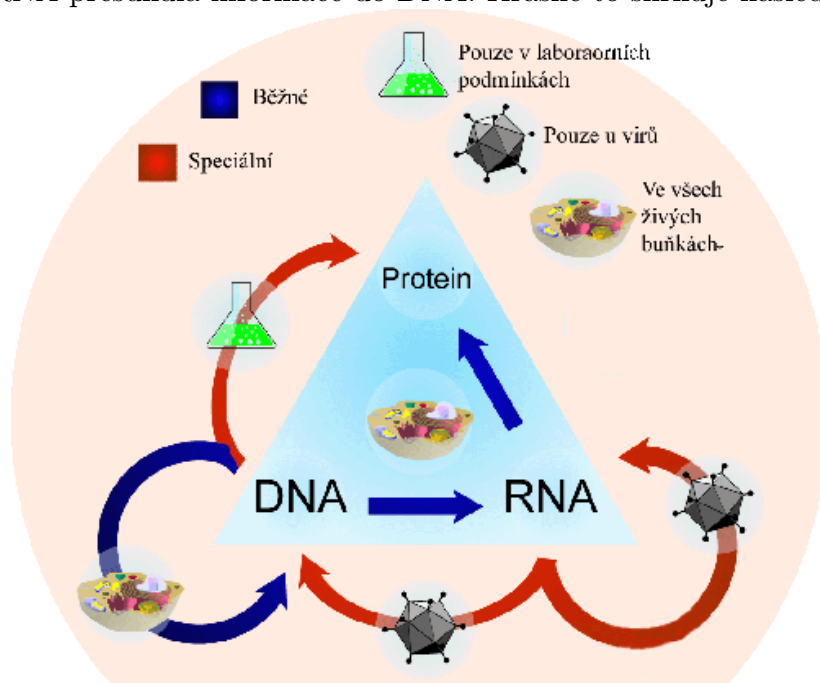
Video, jak vypadá výsledek takové MD simulace, si můžete prohlédnout na mých stránkách.

Jak se chovají viry v lidské buňce a jak jim v tom můžeme zabránit?

Viry nejsou schopné se samostatně rozmnožovat. K tomu potřebují lidskou (či jinou) buňku. Abychom pochopili, jak virus využívá buňky, musíme si nejprve říci, jaké procesy probíhají v buňce. Zaměříme se na tři typy molekul, a to DNA, RNA a bílkoviny.

Buňky lidského těla obsahují genetickou informaci uchovanou v jádře v dvoušroubovici DNA. V DNA je zakódováno, jak vyrobit všechny bílkoviny, které tělo potřebuje. Výroba těchto látek funguje následovně. Část dvoušroubovice obsahující danou informaci je rozmotána a část genetické informace je překopírována do RNA. Ta je transportována z jádra až k ribozomům, kde se na základě této informace nasyntetizuje daná bílkovina. Názornou představu vám můžou dát videa na youtube, hledejte pod hesly transcription, translation a protein synthesis.

Při množení buněk se molekula DNA musí dostat do obou dvou nových buněk. Buňka tedy musí mít možnost kopírovat DNA. To ale neplatí pro RNA, ta se v lidských buňkách vyrábí z DNA a není tedy potřeba jí replikovat. Také není možné, aby se z RNA přesunula informace do DNA. Krásně to shrnuje následující obrázek:



Tok informací v biologii

Viry mají často genetickou informaci zakódovanou v RNA. Aby se mohly rozmnožit, potřebují zkopírovat svojí genetickou informaci tedy zkopírovat svou RNA. Vzhledem k tomu, že lidská buňka na takovouto operaci nemá aparát, musí si to virus zařídit sám. Ve svém genetickém kódu má zakódovaný protein, který replikaci RNA s pomocí sloučenin přítomných v buňce zvládne. Vzhledem k tomu, že lidská buňka má naprogramováno, aby bílkoviny obsažené v RNA vyrobila, zajistí tím viru, aby se mohl rozmnožovat.

Mnoho léků se pak zaměřuje právě na tuto klíčovou bílkovinu, tzv. RNA-dependentní RNA polymeráza (zkráceně RdRP). Schématické znázornění této molekuly je na úvodní stránce. Proč zrovna tato molekula? V lidském těle se normálně nevyskytuje a je dostatečně odlišná od všech molekul v lidském těle. Díky tomu je menší pravděpodobnost, že by lék mohl ohrozit i přirozené pochody v buňkách, které zajišťují normální chod těla.

Co měla za úkol zjistit simulace v mé bakalářské práci?

Na obrázku na úvodní stránce jsou v proteinu zvýrazněny ionty hořčíku (fialové kuličky) a tři aminokyseliny (nápis Asp, Ser, Asn) v aktivní části proteinu. Ionty hořčíku pomáhají v připojení nových součástí k vytvářené molekule RNA. Zvýrazněné aminokyseliny pak slouží k tomu, aby správně rozpoznal, jestli připojuje správnou sloučeninu. Zajišťuje, aby se vytvořila RNA a na DNA (ribóza a deoxyribóza se liší jen nepatrně).

Jako základ simulace byla použita struktura Noroviru získaná experimentálně pomocí rentgenové difrakce. Experimentální metody mívají omezenou přesnost. Já jsem se pomocí MD simulace pokoušel tento experimentální výsledek ověřit případně zpřesnit.

Co jsem zjistil?

Simulace ukázala, jaký způsobem dochází k rozpoznávání deoxyribózy (sítí vodíkových můstků mezi deoxyribózou a aminokyselinami Asp, Ser, Asn). Druhým výsledkem bylo zpřesnění polohy nově vznikající molekuly RNA vůči iontům hořčíku.