

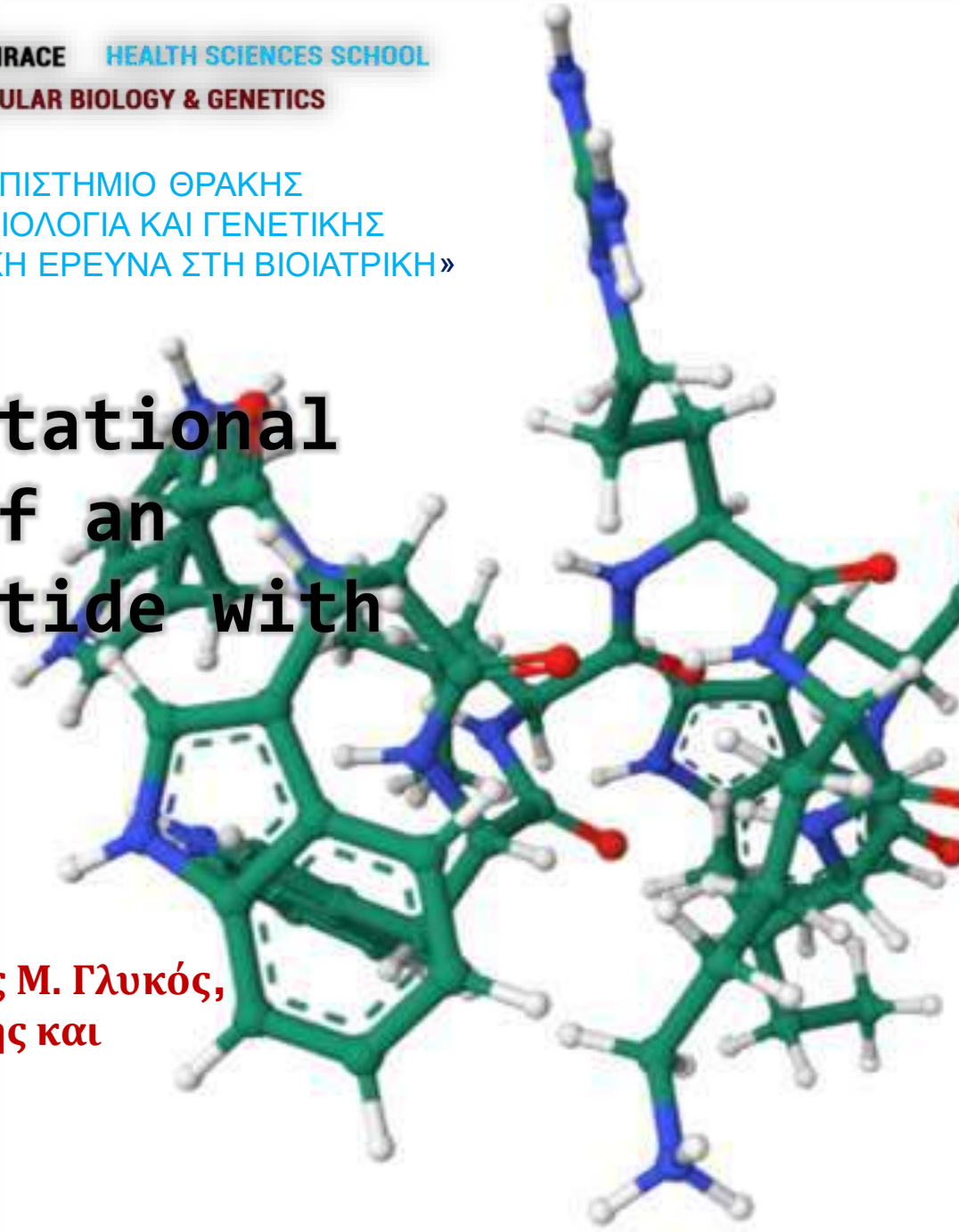


ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΡΑΚΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ
ΠΜΣ: «ΜΕΤΑΦΡΑΣΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ ΣΤΗ ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΗ»

"Structural computational biology studies of an antimicrobial peptide with a WWW motif"

Μήτραινα Γεωργία

Επιβλέπων Καθηγητής: Νικόλαος Μ. Γλυκός,
Αναπληρωτής καθηγητής Δομικής και
Υπολογιστικής Βιολογίας



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

- Βασικά στοιχεία πρωτεϊνών
- Πρόβλημα αναδίπλωσης πρωτεϊνών
- Μέθοδοι μελέτης αναδίπλωσης πρωτεϊνών
- Προσομοιώσεις Μοριακής Δυναμικής
- Ρόλος του διαλύτη στις προσομοιώσεις Μοριακής Δυναμικής
- Βασικά στοιχεία πεπτιδίου Tetra-F2W-RK
- Σκοπός παρούσας διπλωματικής εργασίας
- Εργαλεία και μέθοδοι
- Αποτελέσματα
- Σύγκριση με πειραματικά δεδομένα
- Συζήτηση

ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ

ΔΟΜΗ

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ

ΕΠΙΠΛΕΟΝ
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ

ΔΟΜΗ

- Πρωτοταγής δομή: Σειρά αμινοξέων στην πολυπεπτιδική αλυσίδα
- Δευτεροταγής δομή: Οι δομές βασίζονται σε δεσμούς υδρογόνου
- Τριτοταγής δομή: Αλληλεπιδράσεις μεταξύ απομακρυσμένων αμινοξέων
- Τεταρτοταγής δομή: Πολυπεπτιδικές αλυσίδες σχηματίζουν λειτουργική πρωτεΐνη

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ

ΕΠΙΠΛΕΟΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ

1. Καταλυτικές λειτουργίες
2. Μεταφορά και αποθήκευση μορίων
3. Στήριξη δομής και άμυνα
4. Κίνηση
5. Μετάδοση νευρικών παλμών
6. Έλεγχος κυτταρικής ανάπτυξης και διαφοροποίησης

ΕΠΙΠΛΕΟΝ
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ

ΕΠΙΠΛΕΟΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Λειτουργικές ομάδες → αλκοόλες, θειοαίθερες κ.α.

Διαδραστικότητα μεταξύ πρωτεϊνών → πολύπλοκα
συγκροτήματα μεταξύ πρωτεϊνών και άλλων μορίων

ΠΡΟΚΛΗΣΕΙΣ

Protein folding problem: προσπάθεια
πρόβλεψης τρισδιάστατης δομής από τη
σειρά των αμινοξέων

* Πολυπλοκότητα επίλυσης του προβλήματος

Πρόβλημα αναδίπλωσης πρωτεϊνών

Levinthal's Paradox: Το πρόβλημα αναγκαιότητας για μια λειτουργική πρωτεΐνη παρά την αρχική της σύνθεση σε γραμμική μορφή.

Μοντέλα Πρωτεϊνικής Αναδίπλωσης:

1. Diffusion Collision model

2. Nucleation Condensation Model

3. Jigsaw Puzzle Model

4. Energy Landscapes Model-
Folding Funnels

Μέθοδοι μελέτης της αναδίπλωσης των πρωτεϊνών

Πειραματικές Προσεγγίσεις

- Κρυσταλλογραφία ακτινών Χ
- Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός (NMR)
- Κυκλικός Διχροϊσμός (CD)
- Κρυσηλεκτρονική μικροσκοπία (Cryo-EM)

Υπολογιστικές Προσεγγίσεις

- Ab initio μέθοδοι
- Μέθοδοι Αναγνώρισης Δομών
- Μέθοδοι Συγκριτικής Μοντελοποίησης
- Τεχνητά Νευρωνικά Δίκτυα - AlphaFold

ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΙΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ

Μελέτη της
κίνησης των
μορίων υπό την
επίδραση
διατομικών
δυνάμεων.

ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΙΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ

Μελέτη της κίνησης των μορίων υπό την επίδραση διατομικών δυνάμεων.

Αρχική εφαρμογή στα αέρια και επέκταση σε υγρά και στερεά υλικά.

ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΙΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ

Μελέτη της κίνησης των μορίων υπό την επίδραση διατομικών δυνάμεων.

Αρχική εφαρμογή στα αέρια και επέκταση σε υγρά και στερεά υλικά.

Μελέτη δομικών και δυναμικών χαρακτηριστικών των μορίων, ακόμη και σε ακραίες συνθήκες

ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΙΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ

Μελέτη της κίνησης των μορίων υπό την επίδραση διατομικών δυνάμεων.

Αρχική εφαρμογή στα αέρια και επέκταση σε υγρά και στερεά υλικά.

Μελέτη δομικών και δυναμικών χαρακτηριστικών των μορίων., ακόμη και σε ακραίες συνθήκες

Κατηγορίες Μοριακής Δυναμικής:

1. MD
(Προσομοιώσεις
Μοριακής
Δυναμικής)

ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΙΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ

Μελέτη της κίνησης των μορίων υπό την επίδραση διατομικών δυνάμεων.

Αρχική εφαρμογή στα αέρια και επέκταση σε υγρά και στερεά υλικά.

Μελέτη δομικών και δυναμικών χαρακτηριστικών των μορίων., ακόμη και σε ακραίες συνθήκες

Κατηγορίες Μοριακής Δυναμικής:

1. MD
(Προσομοιώσεις Μοριακής Δυναμικής)

2. MC
(Προσομοιώσεις Monte Carlo)

ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΙΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ

Μελέτη της κίνησης των μορίων υπό την επίδραση διατομικών δυνάμεων.

Αρχική εφαρμογή στα αέρια και επέκταση σε υγρά και στερεά υλικά.

Μελέτη δομικών και δυναμικών χαρακτηριστικών των μορίων., ακόμη και σε ακραίες συνθήκες

Κατηγορίες Μοριακής Δυναμικής:

1. MD
(Προσομοιώσεις Μοριακής Δυναμικής)

2. MC
(Προσομοιώσεις Monte Carlo)

3. Υβριδικές τεχνικές που συνδυάζουν αμφότερες τις μεθόδους.



Κλασσική
μηχανική

2^{ος} Νόμος του
Νεύτωνα

$$F=ma$$

$$(a+b)^n = \sum_{k=0}^n \binom{n}{k} a^{n-k} b^k = \binom{n}{0} a^n + \binom{n}{1} a^{n-1} b + \dots + \binom{n}{k} a^{n-k} b^k + \dots + \binom{n}{n} b^n$$



$$F = G \cdot \frac{m_1 \cdot m_2}{r^2}$$

Προσομοίωση
τροχιάς

Αρχικές
θέσεις
ατόμων

Αρχική
κατανομή
ταχυτήτων

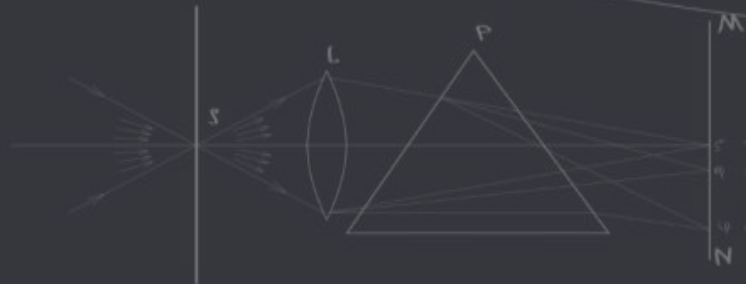
Επιτάχυνση
συστήματος

$$S = \int_a^b f(x) dx = F(x) \Big|_a^b = F(b) - F(a)$$

Ολοκλήρωση
εξισώσεων κίνησης

Αλγόριθμοι

- Αλγόριθμος Verlet
- Αλγόριθμος Leap-frog
- Velocity verlet
- Beeman's αλγόριθμος



Δυναμική ενέργεια

«Δεσμικές» (**bonded**)
Αλληλεπιδράσεις

- Μήκος του δεσμού
- Γωνία του δεσμού
- Περιστροφή δίεδρων γωνιών

«Μη δεσμικές» (**non-bonded**) Αλληλεπιδράσεις

- Δυνάμεις **van der Waals**
- Ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις

Δυναμικά πεδία: Εμπειρικές συναρτήσεις για τον υπολογισμό της δυναμική ενέργειας του συστήματος

AMBER

CHARMM

GROMOS

OPLS

ΡΟΛΟΣ ΔΙΑΛΥΤΗ ΣΤΙΣ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΙΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ

ΕΠΙΡΡΟΗ:

1. Δομή μορίου
2. Δυναμική μορίου
3. Θερμοδυναμικές παραμέτρους
4. Ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις

Τύποι διαλυτών:

1. **Implicit solvents**

Δεν απαιτούν την αναπαράσταση των μορίων του διαλύτη, καθιστώντας τη διαδικασία γρηγορότερη.

2. **Explicit solvents**

Απαιτούν τον υπολογισμό των αλληλεπιδράσεων μεταξύ όλων των ατόμων τόσο της διαλυμένης ουσίας όσο και του διαλύτη.

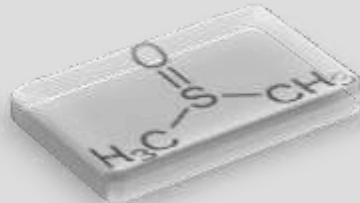
ΔΙΑΛΥΤΕΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

ΝΕΡΟ

- Ο πιο κοινός διαλύτης
- Δημιουργεί δεσμούς υδρογόνου
- Επηρεάζει ηλεκτροστατικές, θερμοδυναμικές παραμέτρους
- Επηρεάζει δομή και δυναμική των μορίων

Διμεθυλοσουλφοξειδίο (DMSO)

- Διαλύει υδρόφοβα αμινοξέα
- Αυξάνει διαπερατότητα της μεμβράνης
- Αλλάζει πρωτεϊνικές ιδιότητες



2,2,2-τριφθοροαιθανόλη (TFE)

- Σταθεροποιεί διατεταγμένες διαμορφώσεις, όπως α-έλικα, β-φύλλο
- Διαλύει πεπτίδια
- Προάγει σταθερή μορφή πεπτιδίων



ΒΑΣΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ:

- Αντιμικροβιακές ιδιότητες
- Παρουσία 4 Τρυπτοφάνων (**Trp**)
- Παρουσία Λυσίνης (**Lys**) και Αργινίνης (**Arg**) για ενισχυμένη αντιμικροβιακή δράση

ΔΟΜΗ:

- Αμφιπαθής α-ελικοειδής
- Ανάλυση μέσω Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (**NMR**)
- Τρεις **Trp** σχηματίζουν π διάταξη → Σταθεροποίηση της δομής

TETRA-F2W-RK

Protein Data Bank:

- Ταυτότητα: 6NM2
- Δημοσίευση: 2019, Διαθέσιμο: 2020
- Δομικό βάρος: 1.27 kDa
 - 9 αμινοξέα

ΔΡΑΣΗ:

- Εξουδετέρωση βακτηρίου **Staphylococcus aureus USA300** (βακτήριο με αντοχή στα αντιβιοτικά)
- Επιλεκτικότητα εναντίον των παθογόνων, με μειωμένη τοξικότητα για τον ανθρώπινο οργανισμό
- Αμινοξέα **Trp1, Trp2, Lys 4, Trp 8** → αλληλεπίδραση με βακτηριακές μεμβράνες

ΣΚΟΠΟΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ερευνητική ερώτηση

- Κατανόηση της δομή και της συμπεριφοράς του πεπτιδίου **Tetra-F2W-RK** στους διαλύτες **DMSO**, **TFE** και νερό, και σύγκριση των αποτελεσμάτων με τα πειραματικά δεδομένα των ερευνητών **Zarena D.** και **Wang G.**, που χρησιμοποίησαν μικκύλια.

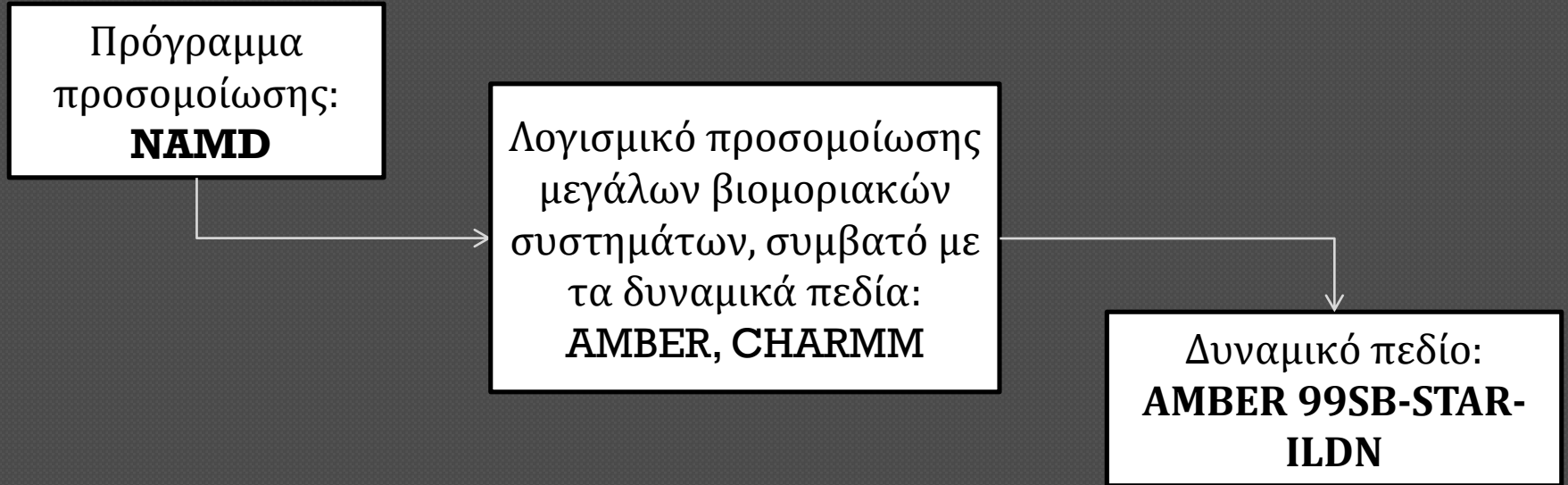
Κύριος στόχος

- Να διαπιστωθεί εάν το πεπτίδιο διατηρεί την ίδια δομή σε αυτούς τους διαλύτες όπως και στα μικκύλια, και συνεπώς, εάν οι υπό εξέταση διαλύτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εναλλακτικές λύσεις των μικκυλίων.

Μέθοδος εργασίας

- Χρήση Προσομοιώσεων Μοριακής Δυναμικής για την παρατήρηση της εξέλιξης της δομής του πεπτιδίου στους διάφορους διαλύτες καθώς και των αλληλεπιδράσεων των αμινοξέων με το περιβάλλον.

ΕΡΓΑΛΕΙΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ



- Μείωση υπολογιστικού κόστους
- Αύξηση απόδοσης



Computing cluster:
NORMA

Τμήμα Μοριακής Βιολογία και
Γενετικής, Δημοκρίτειο
Πανεπιστήμιο Θράκης

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΑΡΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΜΕ NAMD

PDB (Protein Data Bank) αρχείο

Ατομικές συντεταγμένες,
ταχύτητα, δυνάμεις

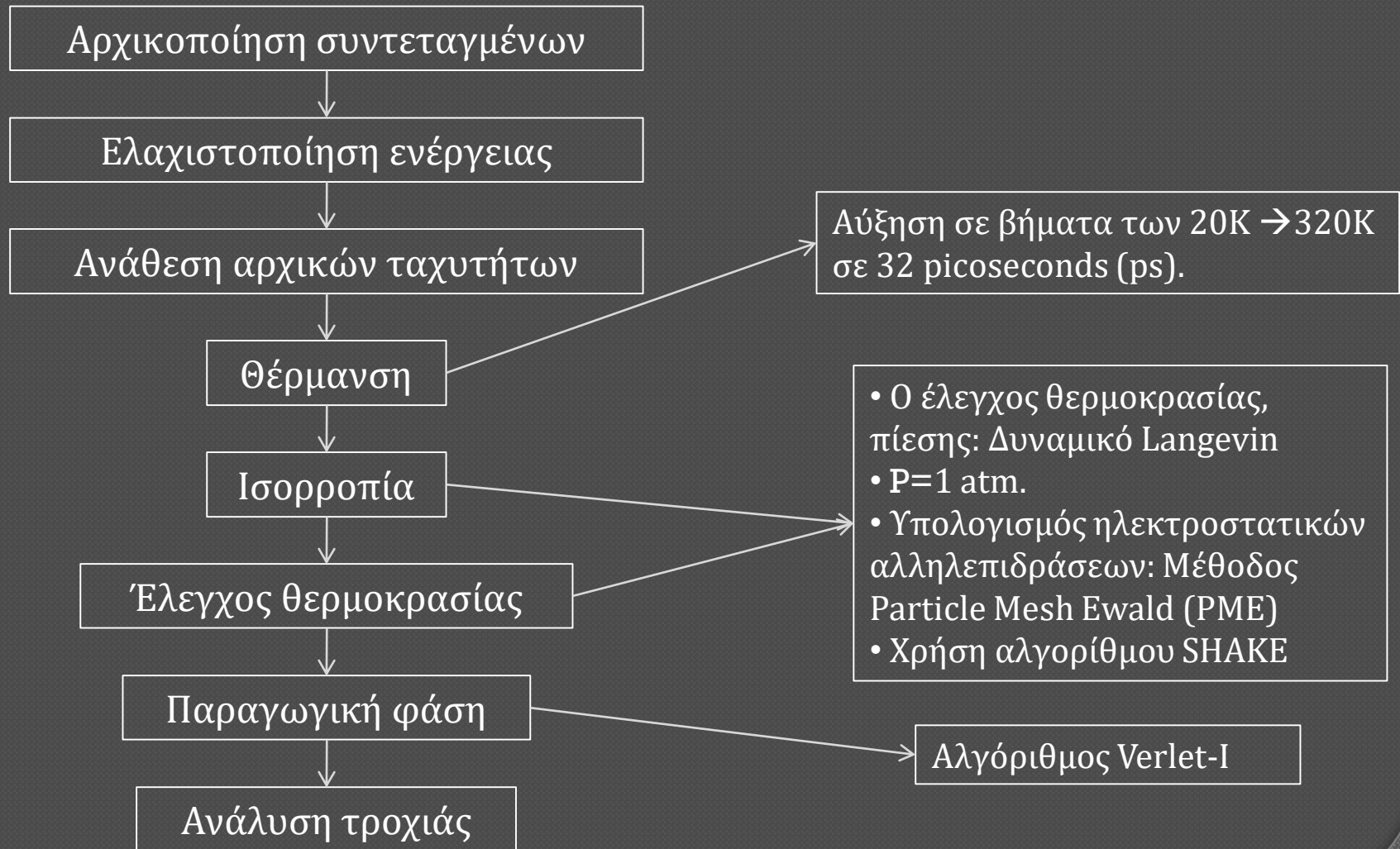
**Αρχείο παραμέτρων δυναμικού
πεδίου (Force Field parameter
file)**

Αριθμητικές παράμετροι,
Χρήση: AMBER 99SB-
STAR-ILDN.

**Αρχείο διαμόρφωσης
(Configuration file)**

Προδιαγραφές για
τρόπο εκτέλεσης από
το NAMD

ΒΗΜΑΤΑ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ



ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΙΣ ΜΕ:

DMSO

- Πρόγραμμα NAMD για 15 μ s
- Διαλυτοποίηση και ιονισμός: πρόγραμμα LEAP
- Ελαχιστοποίηση ενέργειας με 2000 συζευγμένα βήματα κλίσης
- Αποκοπή για τις αλληλεπιδράσεις van der Waals: 8 Å
- Συνολικά 15,807,750 διαμορφώσεις (frames)

TFE

- Πρόγραμμα NAMD για 10 μ s
- Ελαχιστοποίηση ενέργειας με 1000 συζευγμένα βήματα κλίσης
- Αποκοπή για τις αλληλεπιδράσεις van der Waals: 9 Å
- Συνολικά 10,000,000 frames

NEPO

- Πρόγραμμα NAMD για 4 μ s
- Χρήση μοντέλο νερού TIP3P.
- Ελαχιστοποίηση ενέργειας με 1000 συζευγμένα βήματα κλίσης
- Αποκοπή για τις αλληλεπιδράσεις van der Waals: 9 Å
- Συνολικά 3,950,400 frames

ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΙΣ ΜΕ:

DMSO

- Πρόγραμμα NAMD για 15 μ s
- Διαλυτοποίηση και ιονισμός: πρόγραμμα LEAP
- Ελαχιστοποίηση ενέργειας με 2000 συζευγμένα βήματα κλίσης
- Αποκοπή για τις αλληλεπιδράσεις van der Waals: 8 Å
- Συνολικά 15,807,750 διαμορφώσεις (frames)

TFE

- Πρόγραμμα NAMD για 10 μ s
- Ελαχιστοποίηση ενέργειας με 1000 συζευγμένα βήματα κλίσης
- Αποκοπή για τις αλληλεπιδράσεις van der Waals: 9 Å
- Συνολικά 10,000,000 frames

ΝΕΡΟ

- Πρόγραμμα NAMD για 4 μ s
- Χρήση μοντέλο νερού TIP3P.
- Ελαχιστοποίηση ενέργειας με 1000 συζευγμένα βήματα κλίσης
- Αποκοπή για τις αλληλεπιδράσεις van der Waals: 9 Å
- Συνολικά 3,950,400 frames

ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΙΣ ΜΕ:

DMSO

- Πρόγραμμα NAMD για 15 μ s
- Διαλυτοποίηση και ιονισμός: πρόγραμμα LEAP
- Ελαχιστοποίηση ενέργειας με 2000 συζευγμένα βήματα κλίσης
- Αποκοπή για τις αλληλεπιδράσεις van der Waals: 8 Å
- Συνολικά 15,807,750 διαμορφώσεις (frames)

TFE

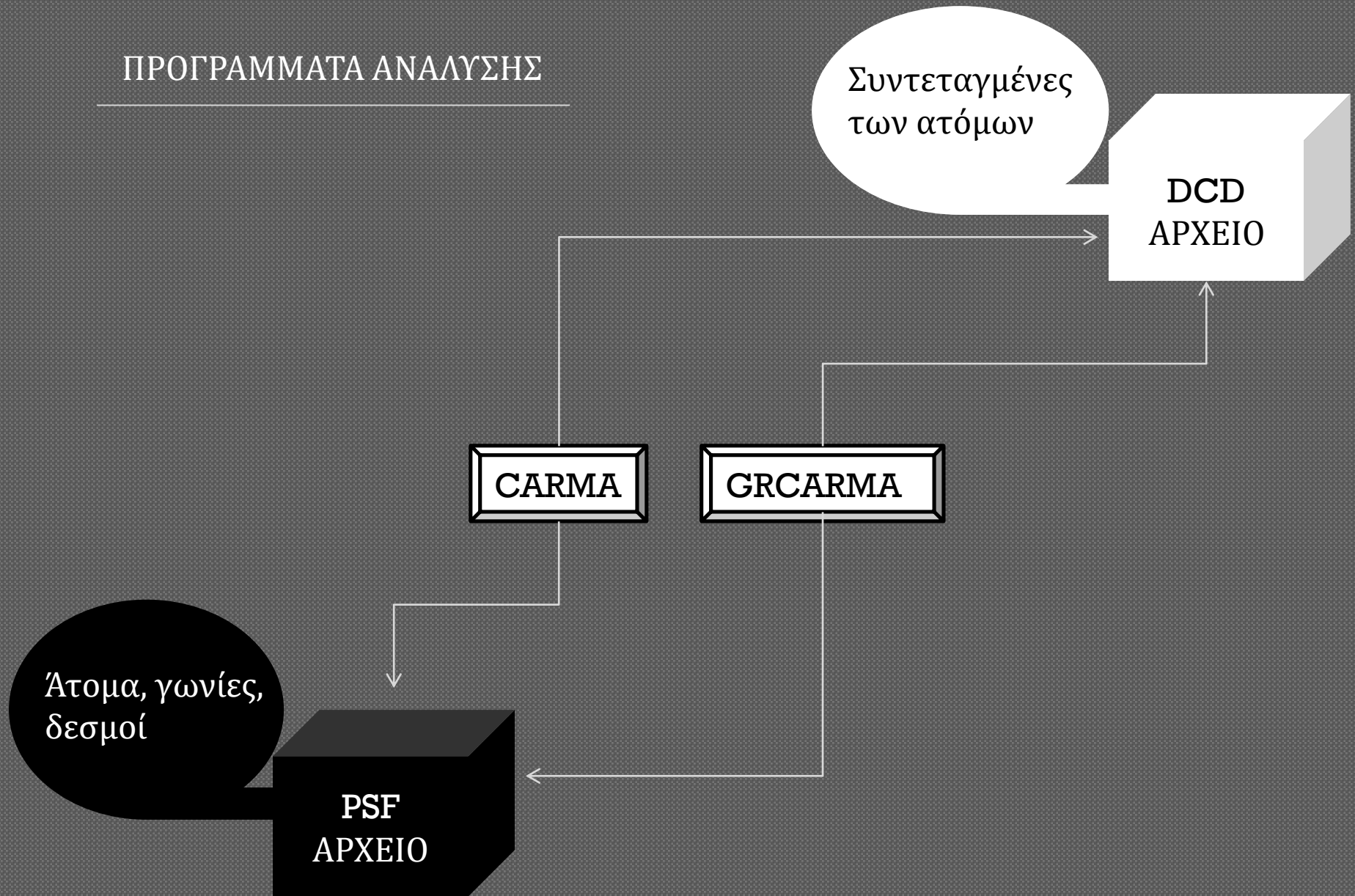
- Πρόγραμμα NAMD για 10 μ s
- Ελαχιστοποίηση ενέργειας με 1000 συζευγμένα βήματα κλίσης
- Αποκοπή για τις αλληλεπιδράσεις van der Waals: 9 Å
- Συνολικά 10,000,000 frames

ΝΕΡΟ

- Πρόγραμμα NAMD για 4 μ s
- Χρήση μοντέλο νερού TIP3P.
- Ελαχιστοποίηση ενέργειας με 1000 συζευγμένα βήματα κλίσης
- Αποκοπή για τις αλληλεπιδράσεις van der Waals: 9 Å
- Συνολικά 3,950,400 frames

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ



**RMSD Matrix
(Root Mean Square
Deviation)**

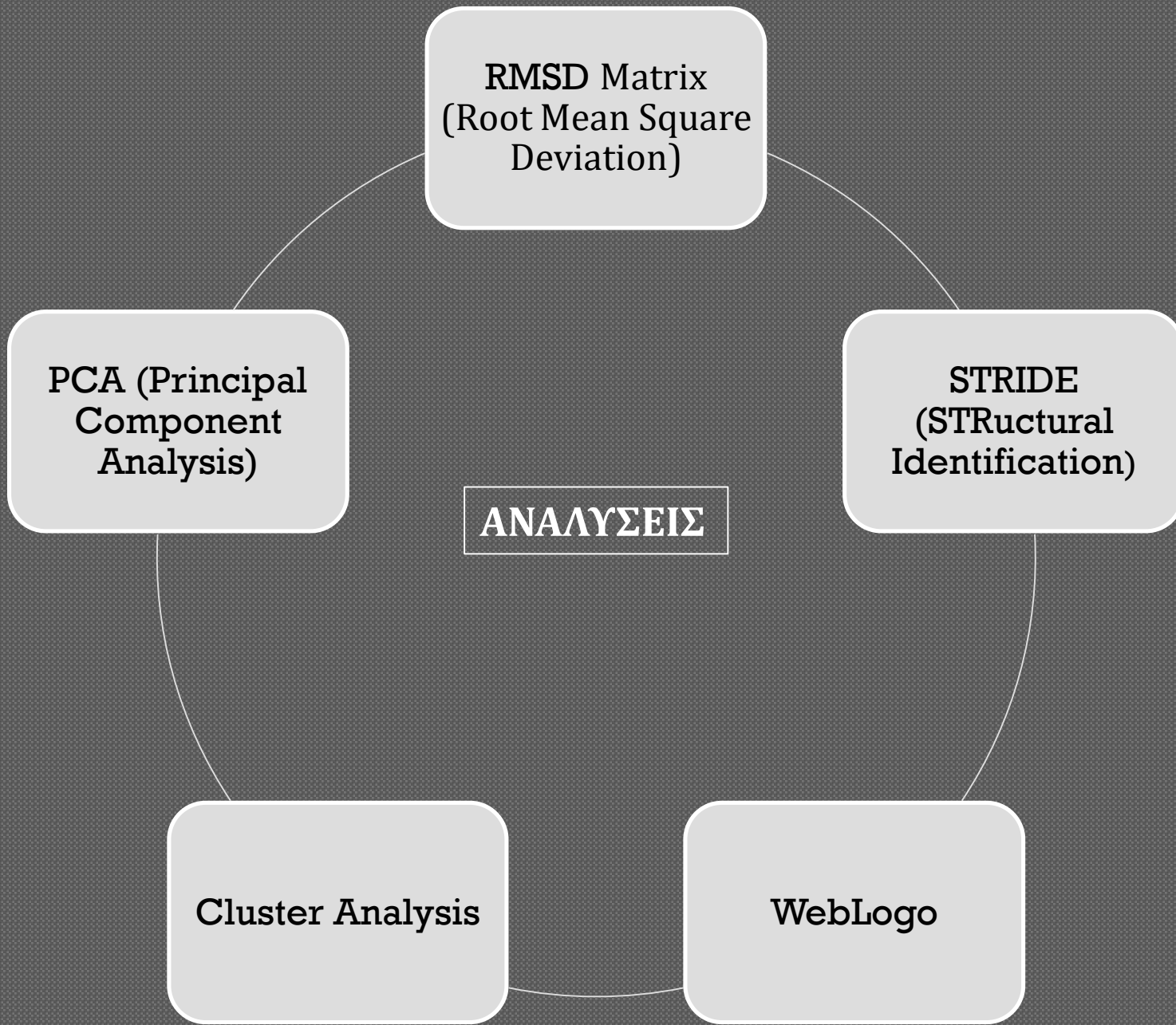
**PCA (Principal
Component
Analysis)**

**STRIDE
(STRuctural
Identification)**

ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

Cluster Analysis

WebLogo



ΑΝΑΛΥΣΗ RMSD

- Ανάλυση μακρομοριακών δομών και δυναμικής
- Υπολογίζει τη μέση απόσταση μεταξύ ατόμων
- Ποσοτικό μέτρο → δομής αναδιπλωμένης πρωτεΐνης -δομής φυσική διαμόρφωση πρωτεΐνης.

$$\text{RMSD} = \sqrt{\sum (\mathbf{x}_i - \mathbf{x}_{\text{ref}})^2 / N}$$

RMSD = 0.0 Å → Απόλυτα ίδιες δομές
RMSD < 2.0 Å → Παρόμοιες δομές



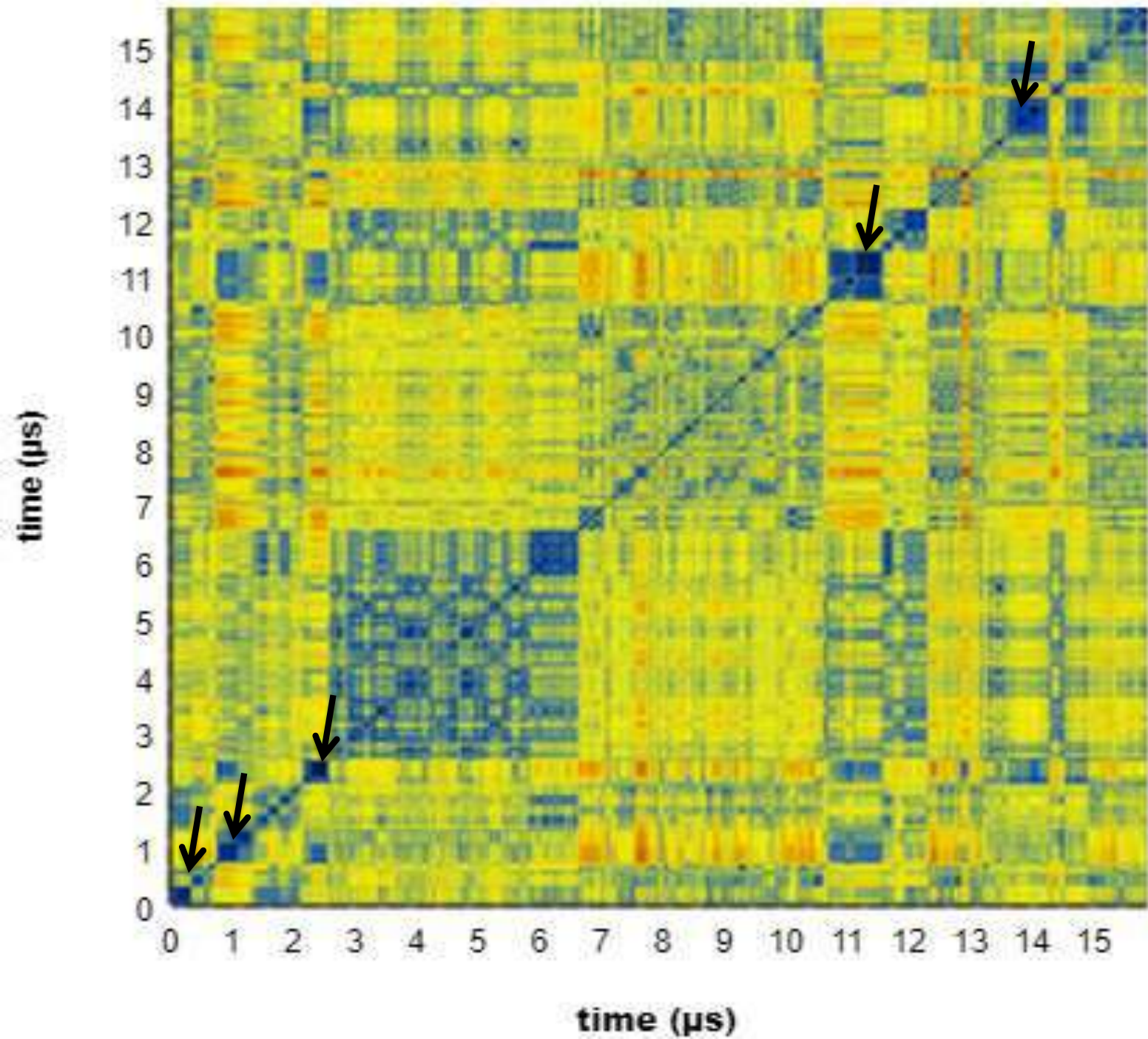
Χαμηλές τιμές RMSD (Σταθερές δομές)



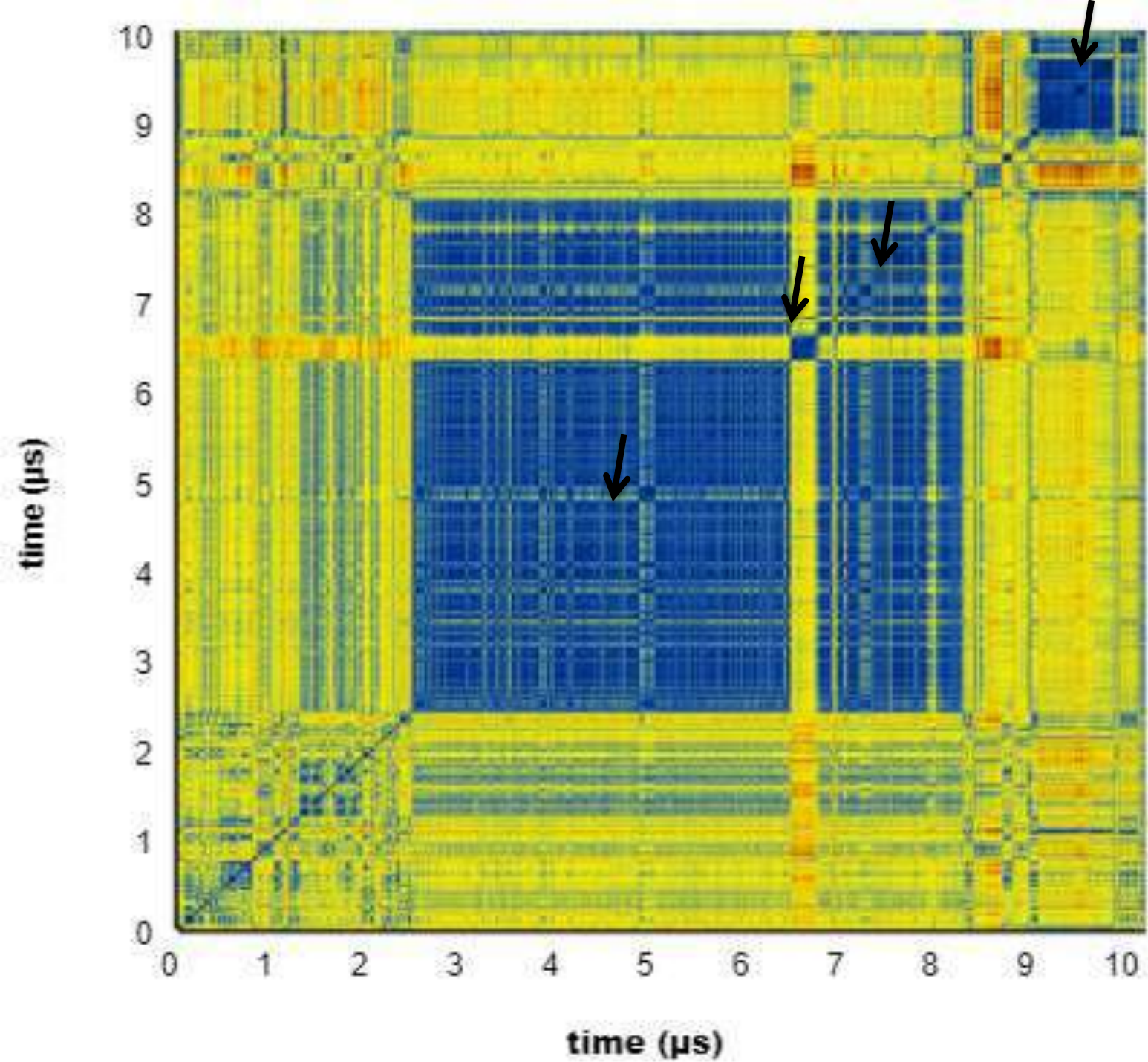
Υψηλές τιμές RMSD



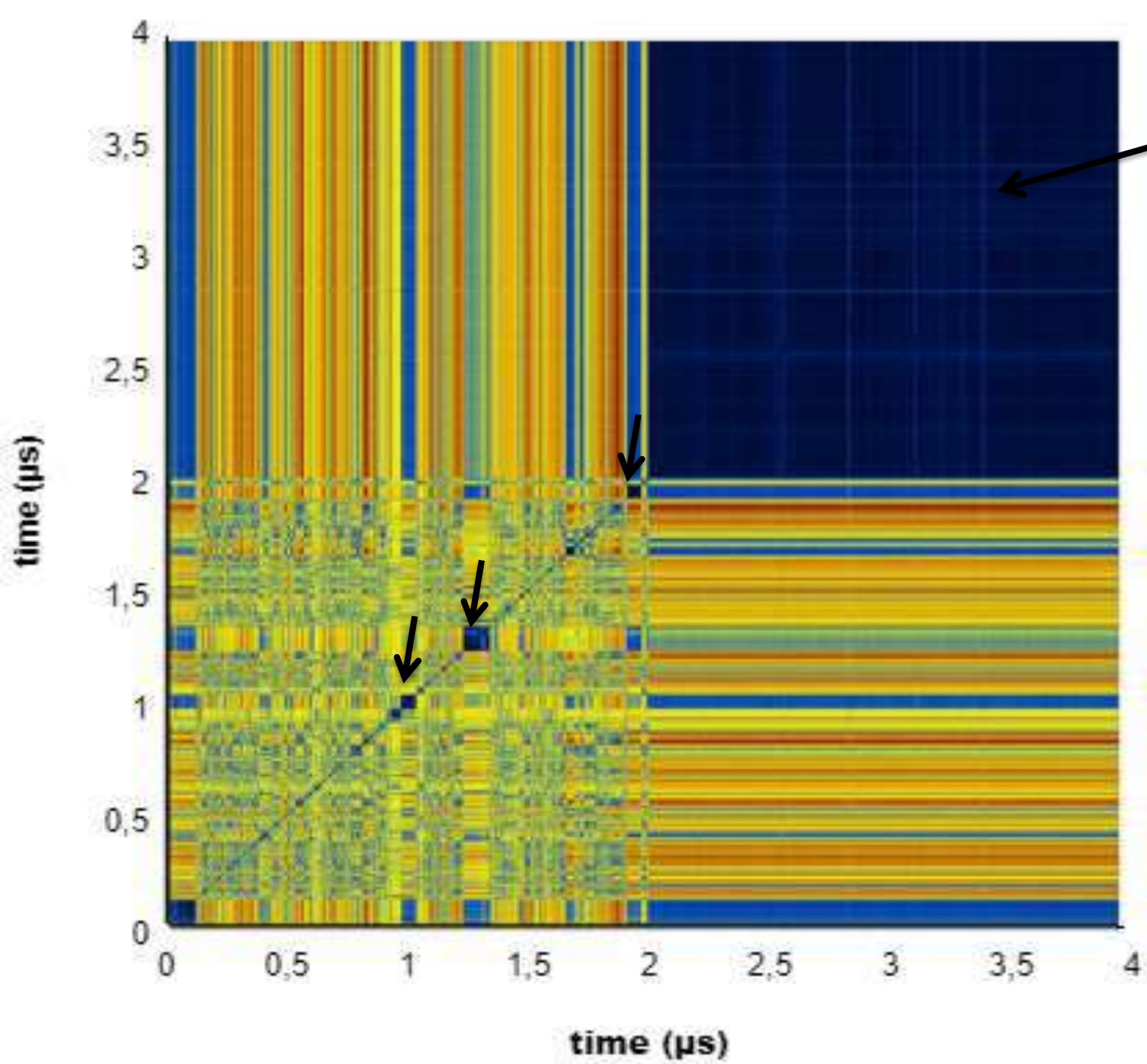
Ενδιάμεσες τιμές RMSD



Ανάλυση RMSD
Διαλύτης: DMSO



Ανάλυση RMSD
Διαλύτης: TFE



Ανάλυση RMSD
Διαλύτης: NEPO

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ STRIDE

- Πρόγραμμα ανάθεσης δευτεροταγούς δομής
- Αυτοματοποιημένος αλγόριθμος → συνδυάζει ενέργεια δεσμών υδρογόνου - δίεδρες γωνίες κύριας αλυσίδας
- Αποτέλεσμα: έγχρωμο διάγραμμα τροχιάς, χρώματα = στοιχεία δευτεροταγούς δομής

Αντιστοίχιση χρωμάτων- στοιχείων δευτεροταγούς δομής

-  α-έλικα
-  3-10 έλικα
-  β-φύλλο
-  στροφή
-  τυχαίο σπείραμα

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ WebLogo

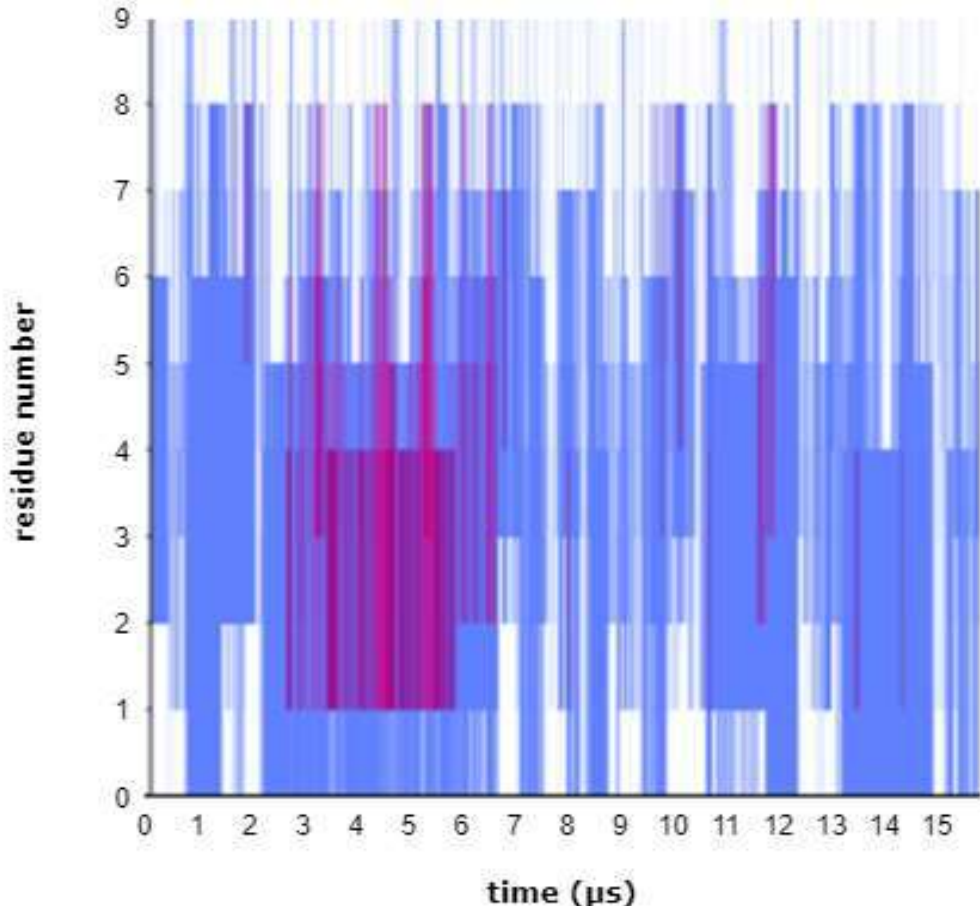
- Καλύτερη κατανόηση και περιγραφή δευτεροταγούς δομής
- Πίνακας με στοίβες γραμμάτων, όπου κάθε στοίβα αναφέρεται σε ένα κατάλοιπο της αλληλουχίας

Αντιστοίχιση γραμμάτων –
στοιχείων δευτεροταγούς δομής

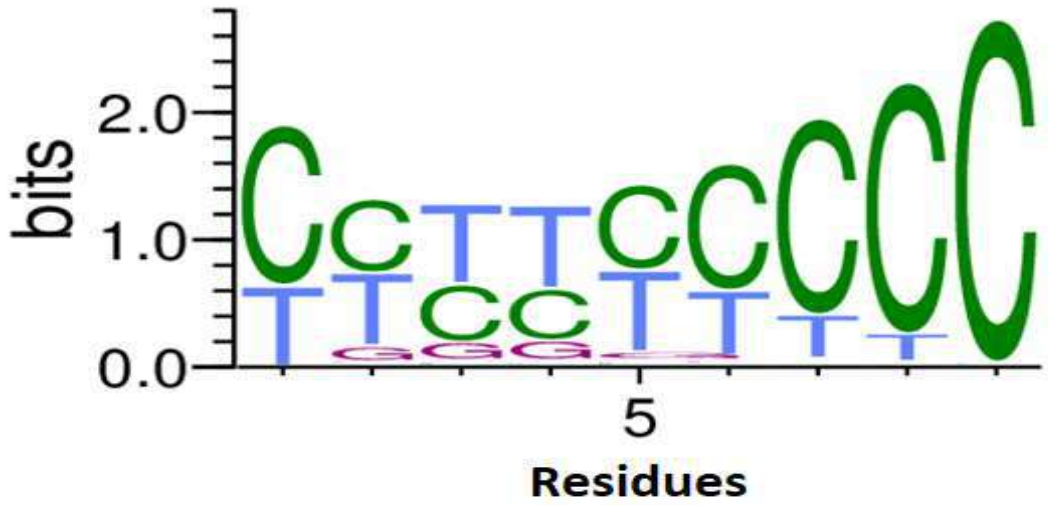
H	α-έλικα
G	3-10 έλικα
I	π-έλικα
E	β-φύλλο
B	β-γέφυρα
T	στροφή
C	τυχαίο σπείραμα

**Κυρίαρχα
στοιχεία:**

- 3-10 έλικα
- στροφή



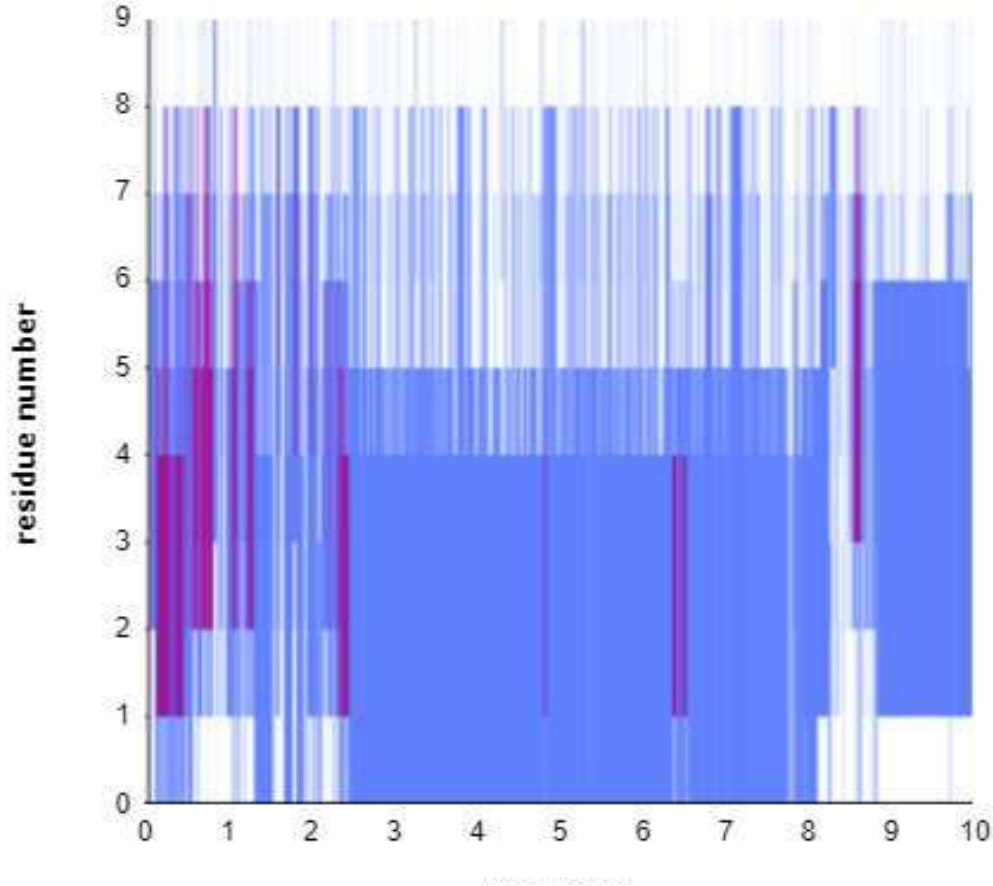
Πρόγραμμα STRIDE
Διαλύτης: DMSO



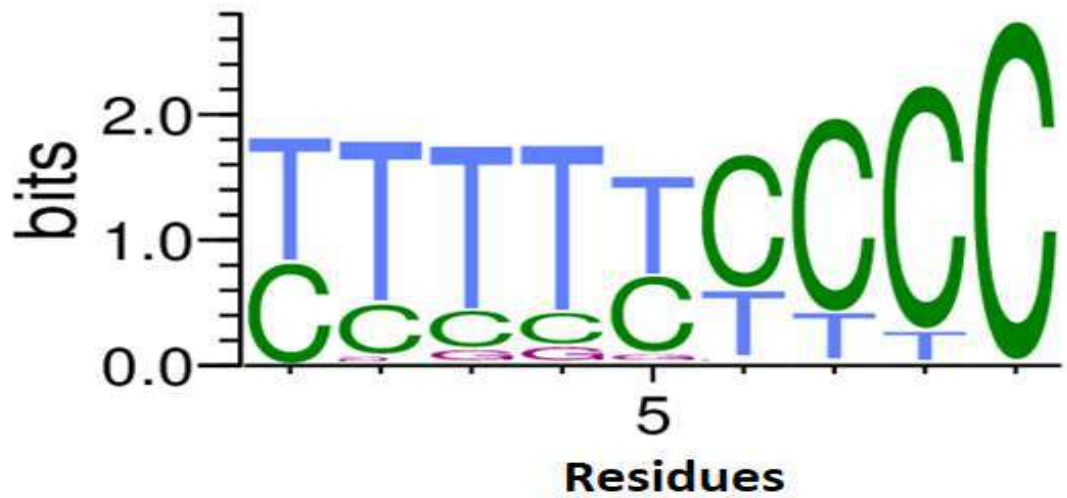
Διάγραμμα WebLogo
Διαλύτης: DMSO

Κυρίαρχα στοιχεία:

- 3-10 έλικα
- στροφή



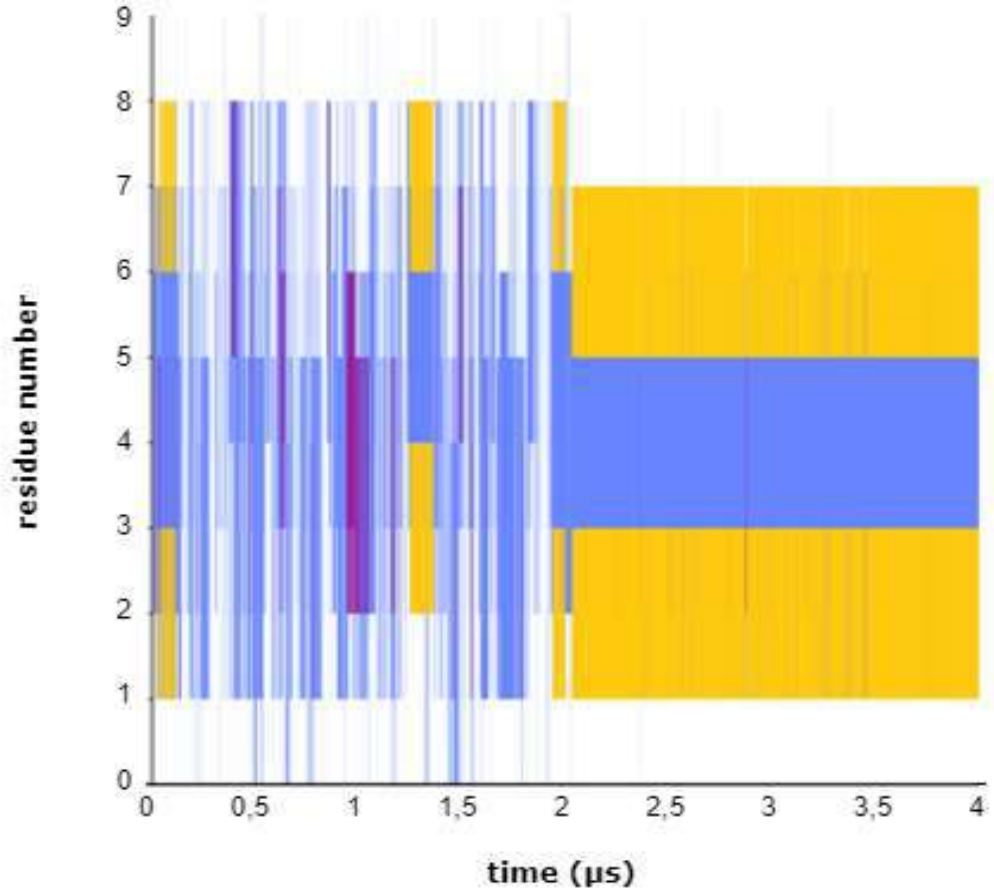
Πρόγραμμα STRIDE
Διαλύτης: TFE



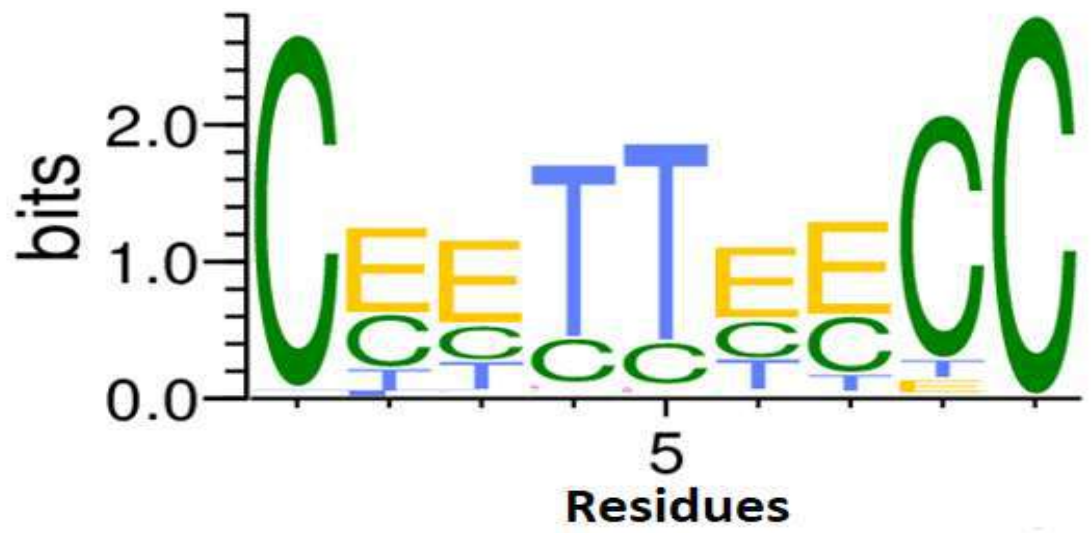
Διάγραμμα WebLogo
Διαλύτης: TFE

**Κυρίαρχα
στοιχεία:**

- β-φύλλο
- στροφή



Πρόγραμμα **STRIDE**
Διαλύτης: NEPO



Διάγραμμα **WebLogo**
Διαλύτης: NEPO

Ανάλυση κυρίων συνιστωσών (Principal Component Analysis-PCA)

- Στατιστική μέθοδος μείωσης των διαστάσεων ενός σύνθετου συστήματος για ανάλυση της δυναμικής των πρωτεϊνών

Δύο κατηγορίες

Cartesian PCA (cPCA):

- Μείωση διαστάσεων με βάση τις καρτεσιανές συντεταγμένες των ατόμων

Πιθανά **artifacts** → αποτυχία στον διαχωρισμό των διαμορφώσεων.

Dihedral PCA (dPCA):

- Μείωση διαστάσεων με βάση τις διέδρες γωνίες της κύριας αλυσίδας, ϕ και ψ .

- ✓ Μετατροπή γωνιών διέλευσης σε γραμμικό χώρο με χρήση τριγωνομετρικών συναρτήσεων.
- ✓ Ακρίβεια
- ✓ Αποφυγή θορύβου

Ανάλυση ομαδοποίησης (Cluster Analysis)

- Διαδικασία κατανομής ενός μεγάλου συνόλου δεδομένων σε μικρότερες ομάδες
- Ομάδα → τα δεδομένα εμφανίζουν πολλές ομοιότητες
- Εντοπισμός μοτίβων κίνησης

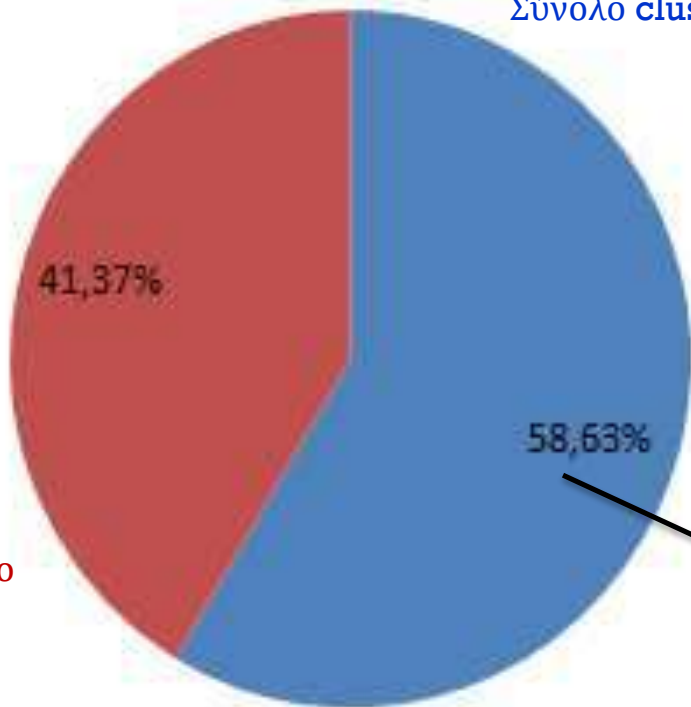


Τα δεδομένα PCA μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε συστάδες, ανάλογα με τις ομοιότητες των δεδομένων

Εφαρμογή στις τρεις περιπτώσεις διαλυτών (DMSO, TFE, νερό):

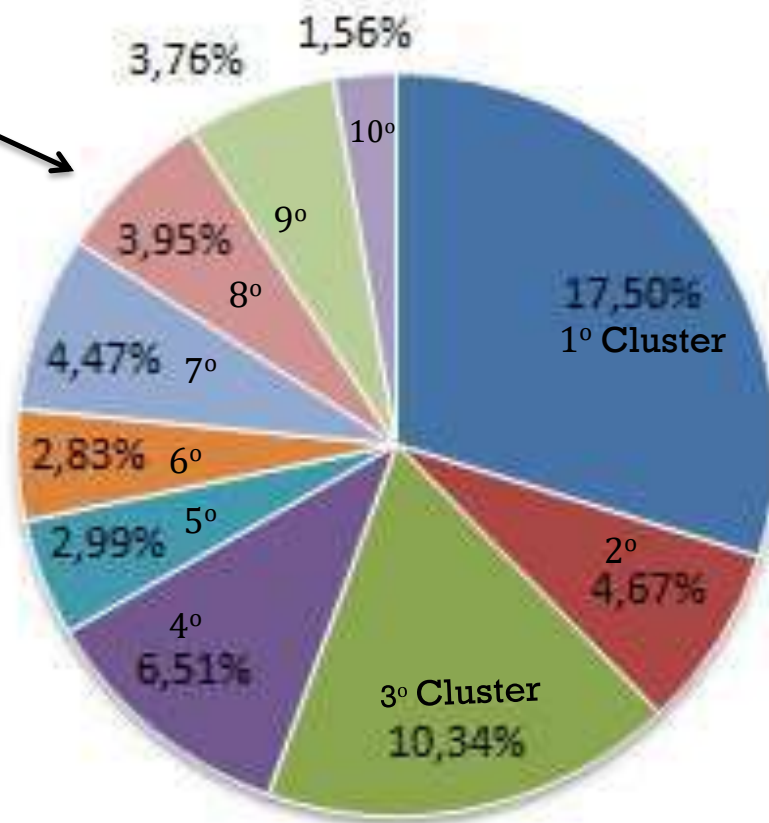
- Χρήση dPCA μετά την αφαίρεση του NME (N-methyl amide capping group)
- Αναλύσεις με το πρόγραμμα grcarma, μέγιστο όριο 10 clusters

Σύνολο clusters

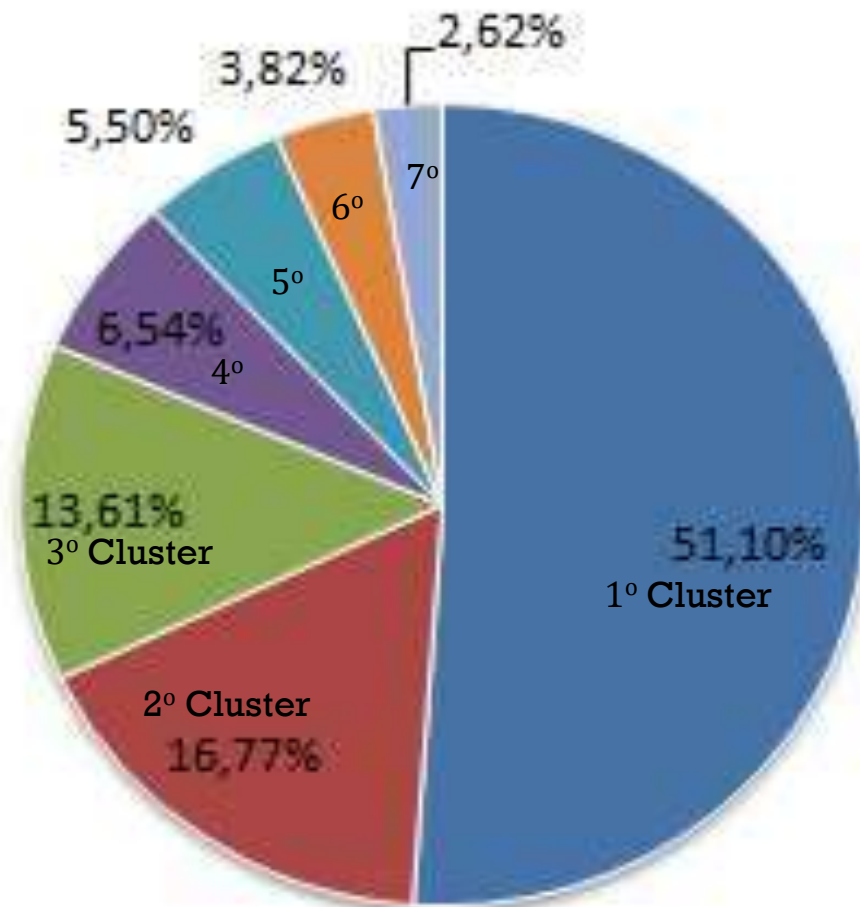


Ανάλυση dPCA
Διαλύτης: DMSO

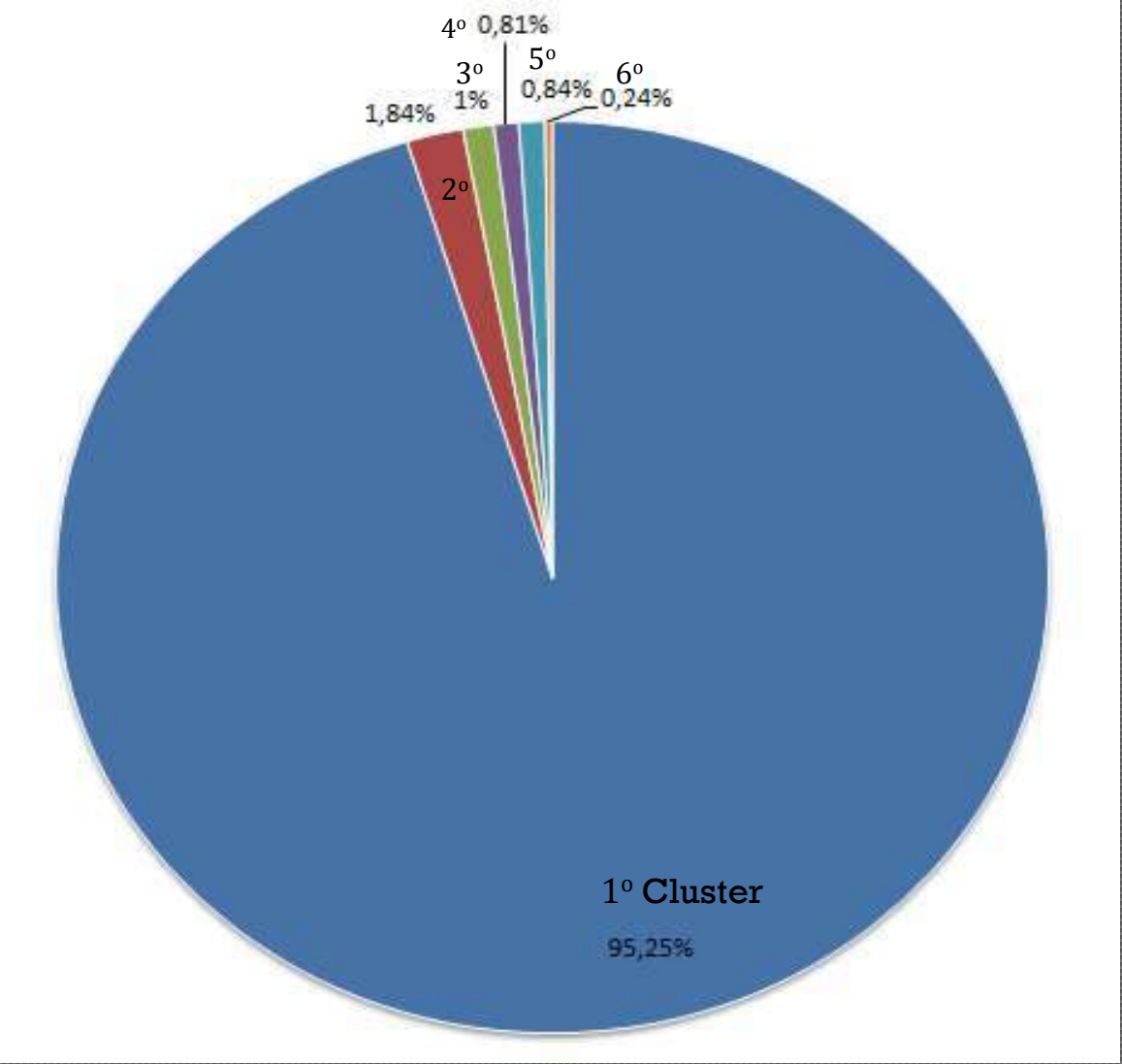
Υπόλοιπο



Ανάλυση dPCA
Διαλύτης: TFE



Ανάλυση dPCA
Διαλύτης: NEPO



ΑΝΑΛΥΣΗ CLUSTERS

Πρόγραμμα VMD

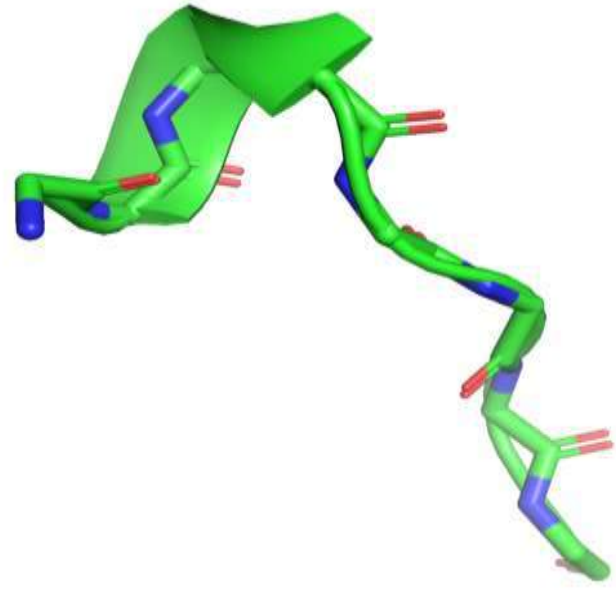
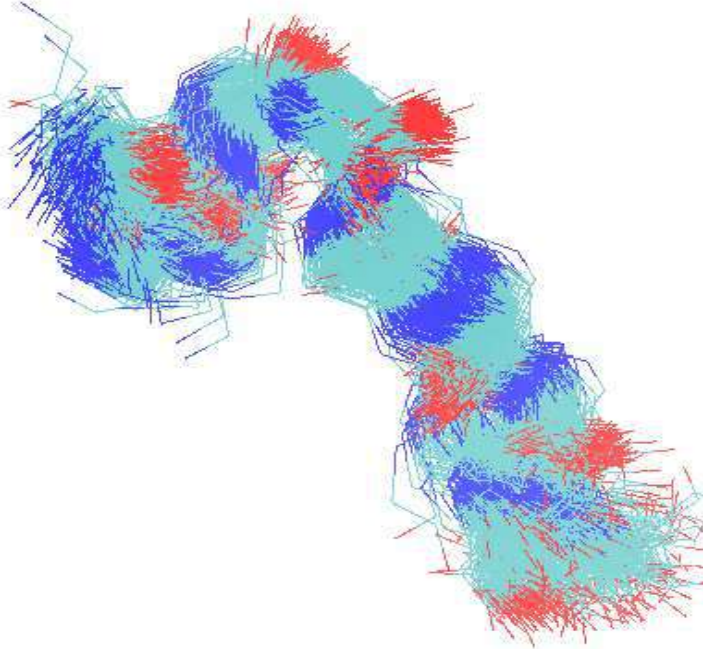
- Εμφάνιση 3D μοντέλου
- Χρήση αρχείων υπέρθεσης (**superposition files**) που παράγονται από την μέθοδο **dPCA**
- Χρωματική κωδικοποίηση: Κυανό για άτομα άνθρακα (**C**), μπλε για άτομα αζώτου (**N**) και κόκκινο για άτομα οξυγόνου (**O**).

Πρόγραμμα PYMOL

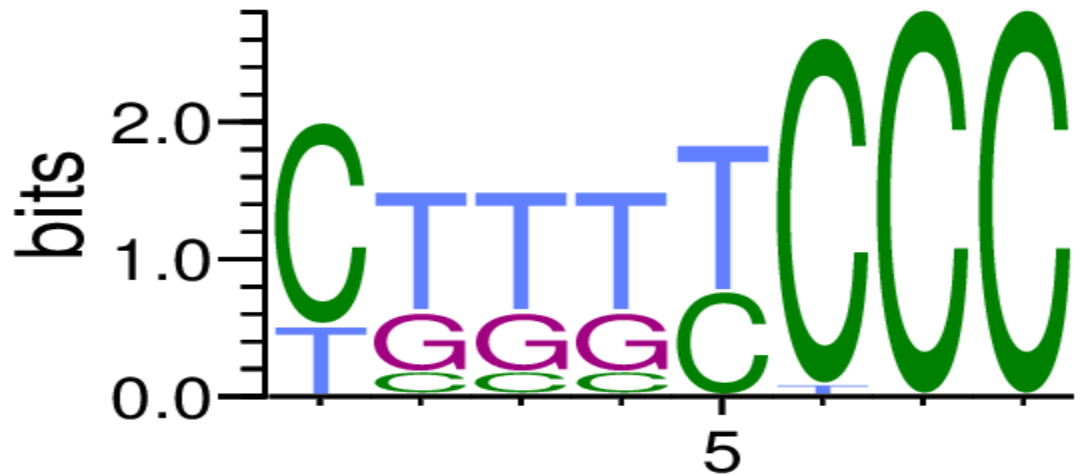
- Πρόγραμμα μοριακής οπτικοποίησης για 3D δομές
- Χρήση αρχείων αντιπροσωπευτικών δεδομένων (**representative files**) που παράγονται από την μέθοδο **dPCA**
- Χρωματική κωδικοποίηση: Πράσινο για άτομα άνθρακα (**C**), κόκκινο για άτομα οξυγόνου (**O**) και μπλε για άτομα αζώτου (**N**).

Clusters
Διαλύτης: DMSO

1° 2° 3° 4° 5° 6° 7° 8° 9° 10°



Κυρίαρχα
στοιχεία:
• 3-10 έλικα
• στροφή



Clusters
Διαλύτης: DMSO

1°

2°

3°

4°

5°

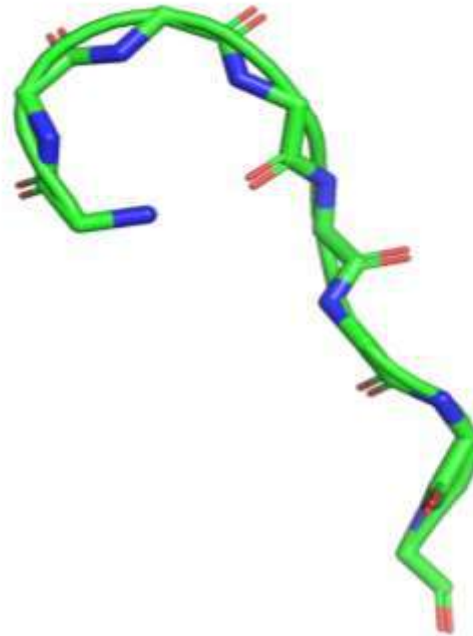
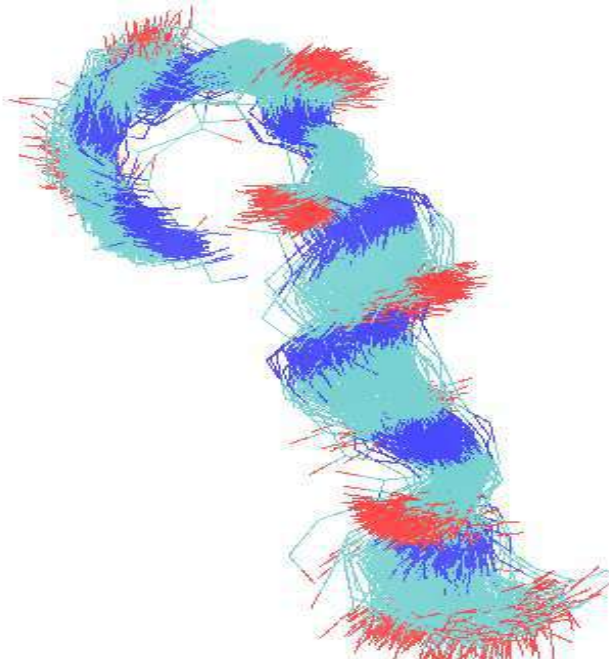
6°

7°

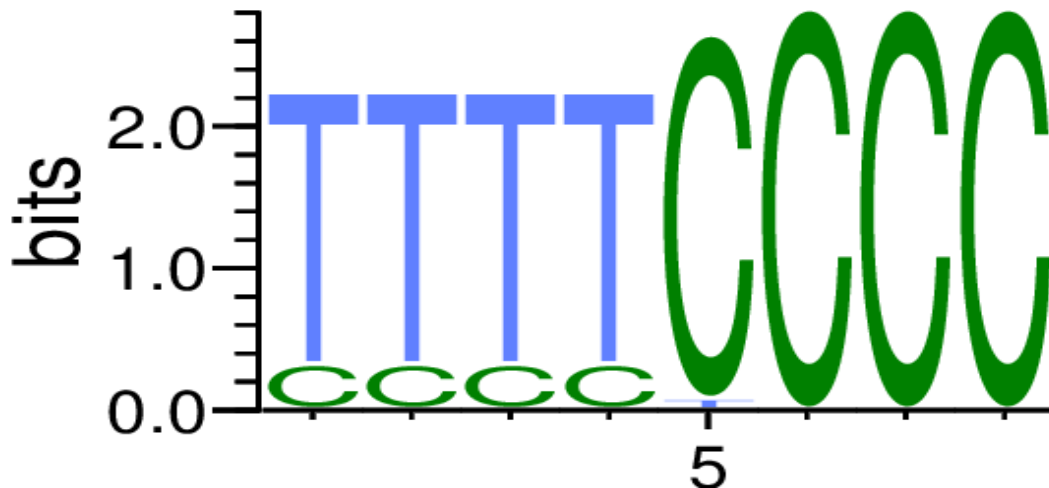
8°

9°

10°

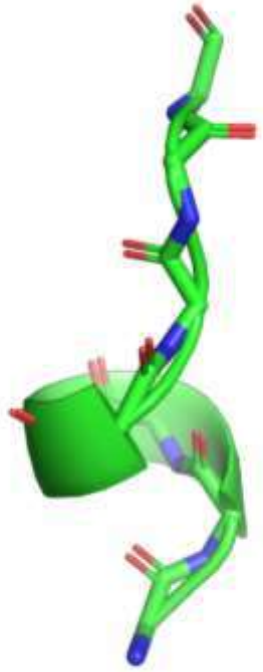
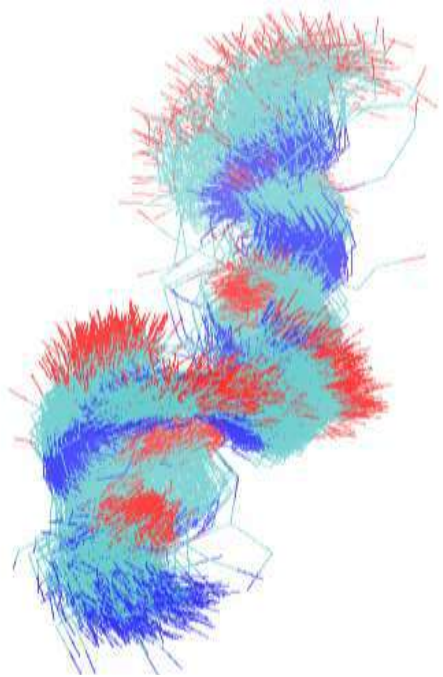


Κυρίαρχα
στοιχεία:
• στροφή

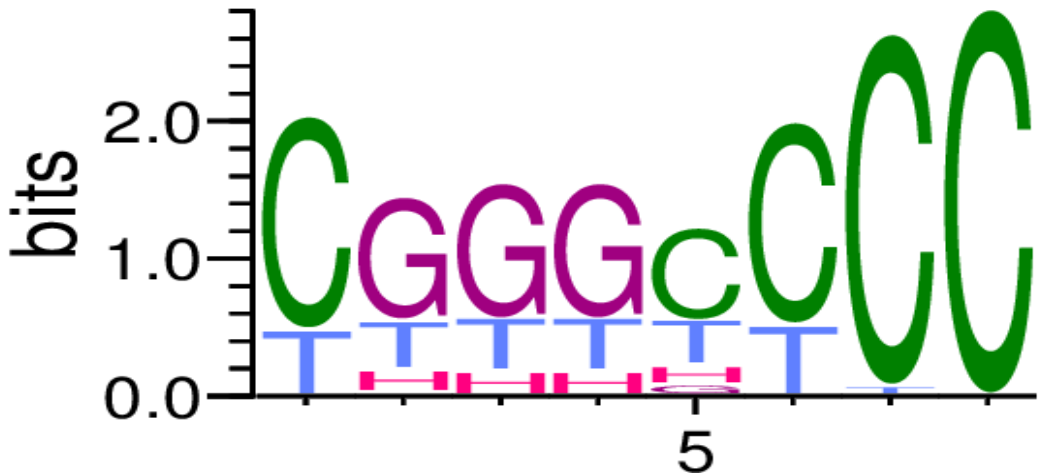


Clusters
Διαλύτης: DMSO

1° 2° 3° 4° 5° 6° 7° 8° 9° 10°



Κυρίαρχα
στοιχεία:
• 3-10 έλικα
• στροφή



Clusters
Διαλύτης: DMSO

1°

2°

3°

4°

5°

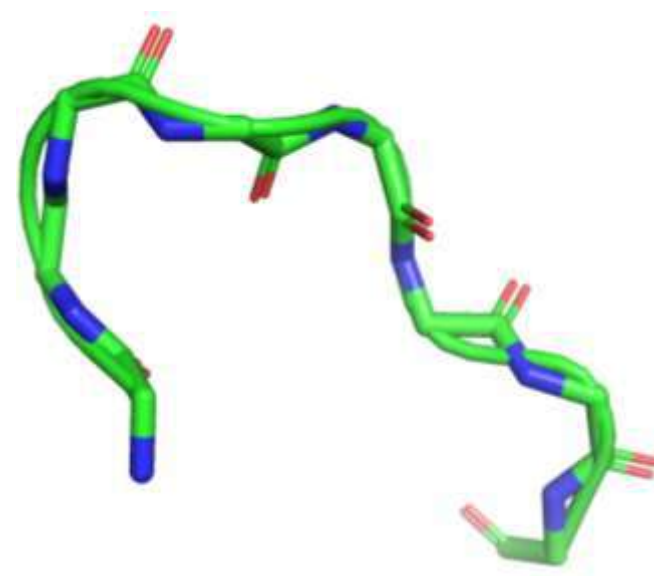
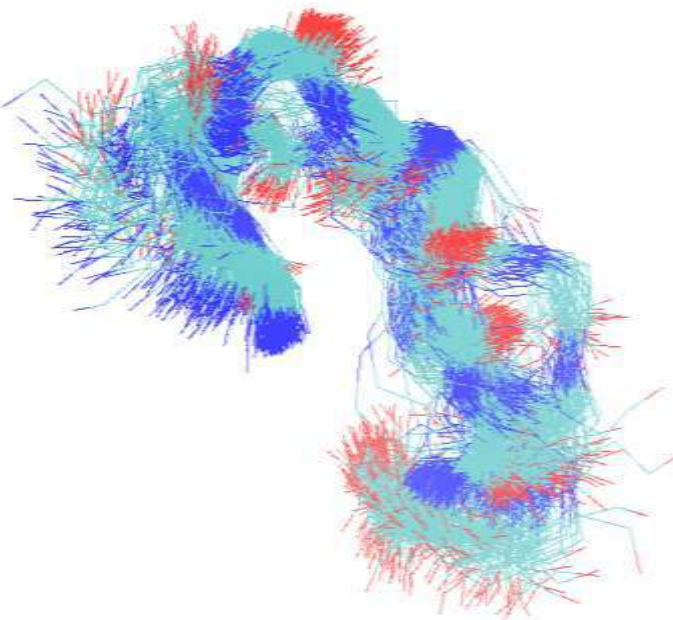
6°

7°

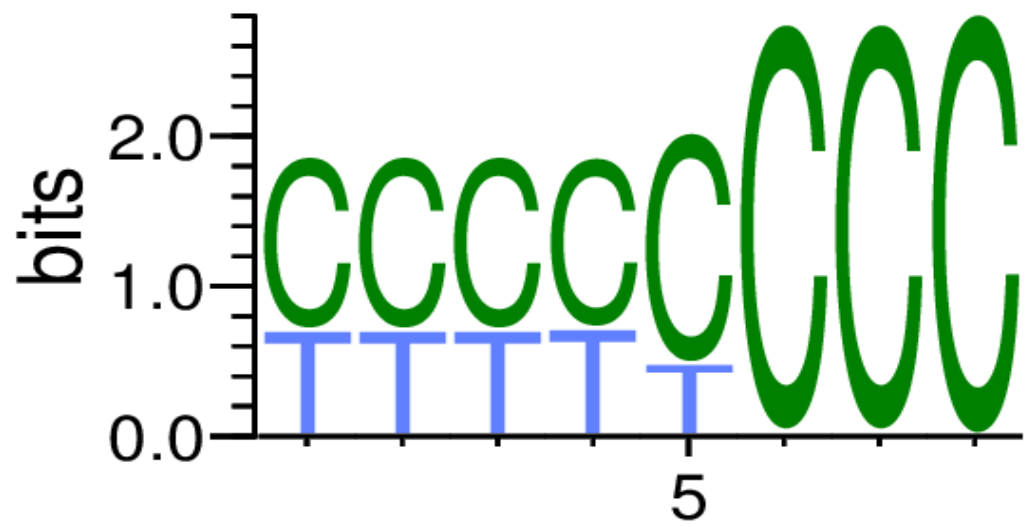
8°

9°

10°



Κυρίαρχα
στοιχεία:
• στροφή



Clusters
Διαλύτης: DMSO

1°

2°

3°

4°

5°

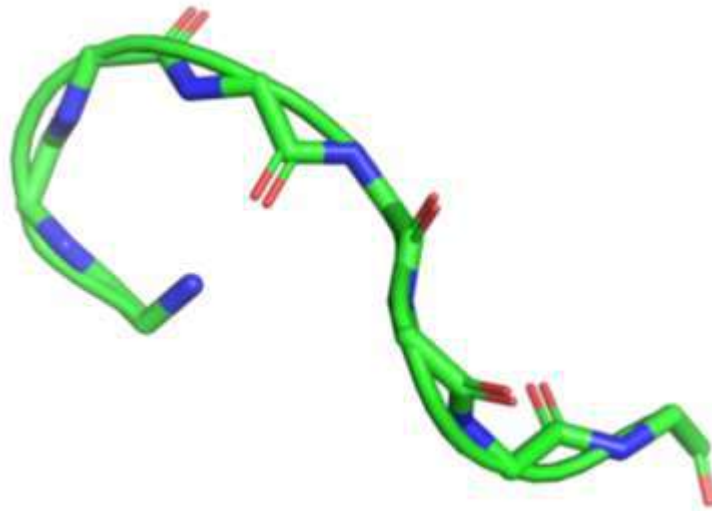
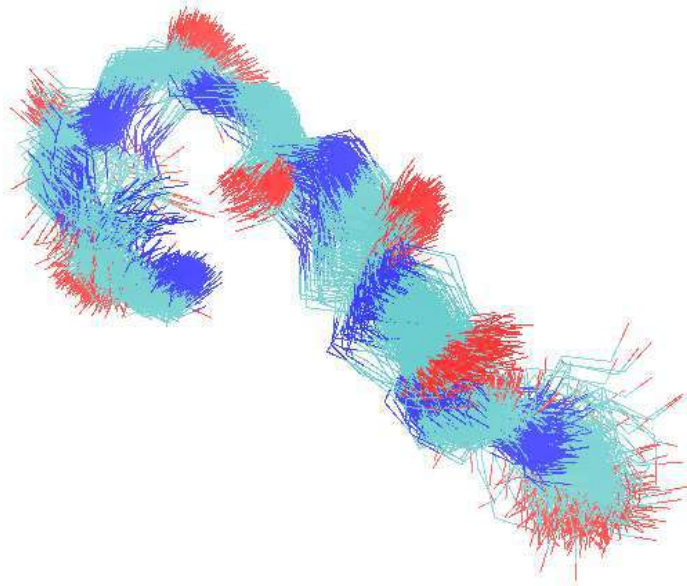
6°

7°

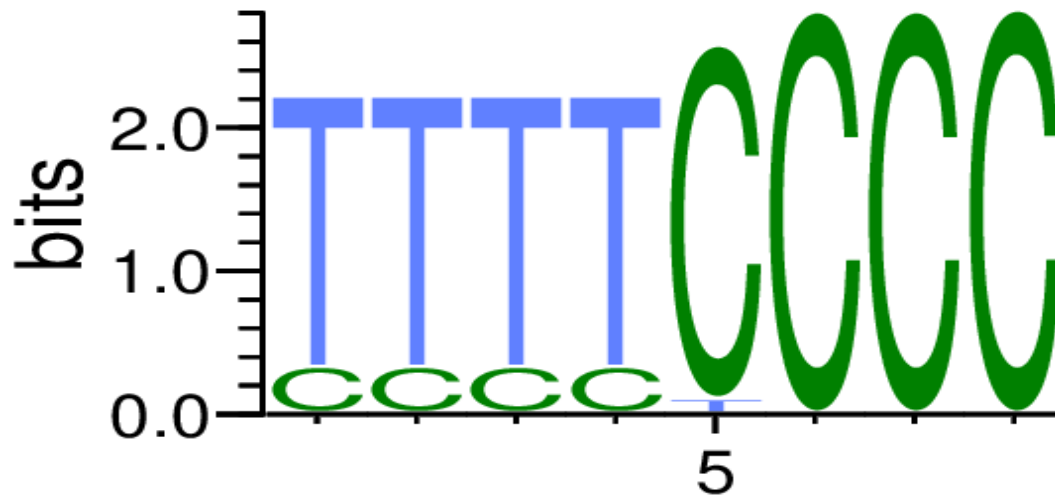
8°

9°

10°

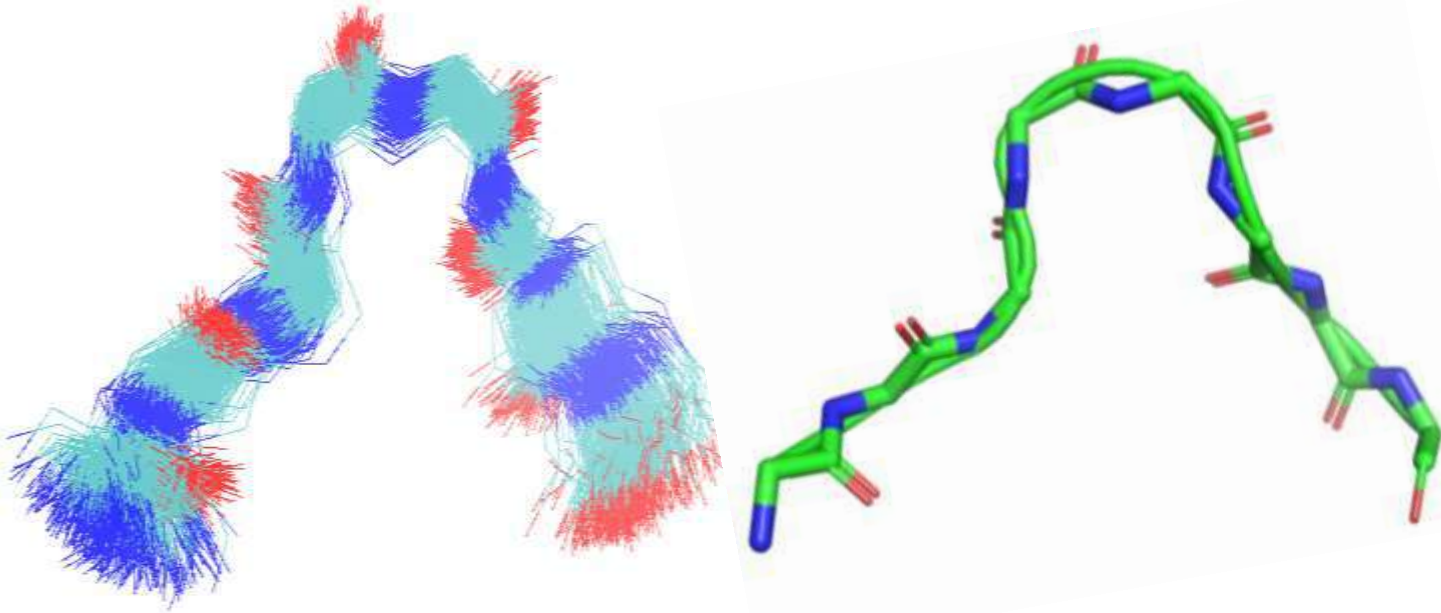


Κυρίαρχα
στοιχεία:
• στροφή

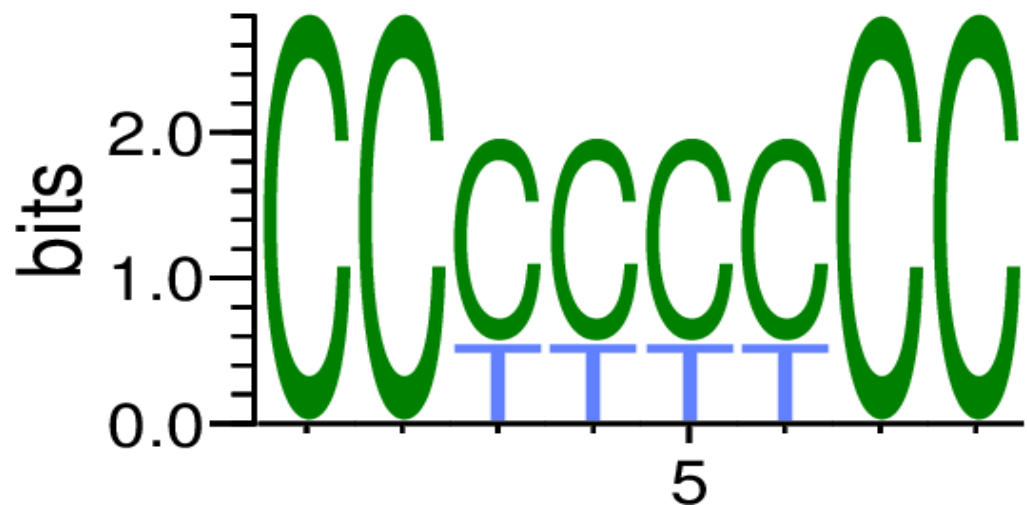


Clusters
Διαλύτης: DMSO

1° 2° 3° 4° 5° 6° 7° 8° 9° 10°



Κυρίαρχα
στοιχεία:
• στροφή



Clusters
Διαλύτης: DMSO

1°

2°

3°

4°

5°

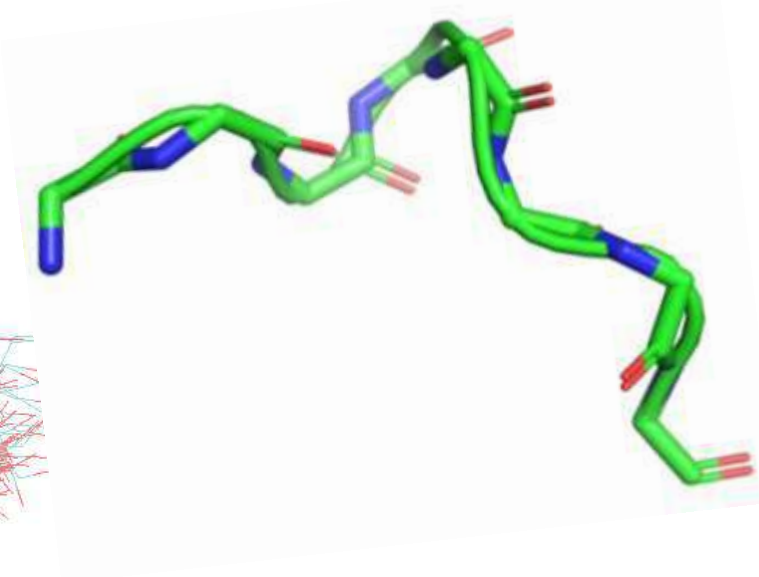
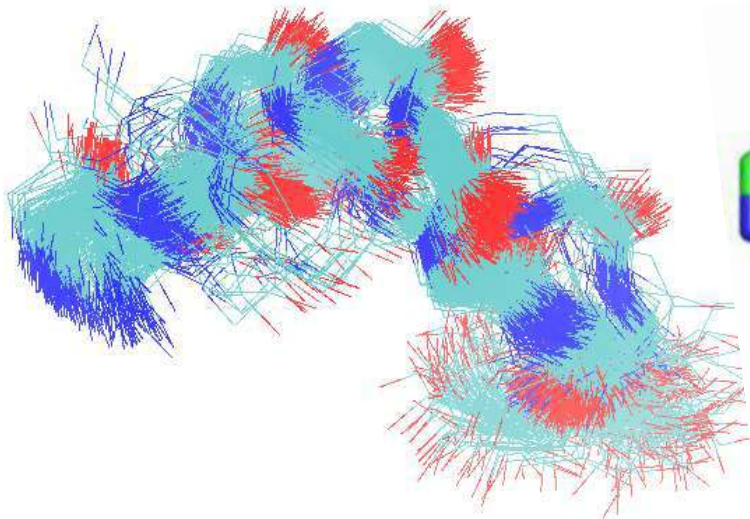
6°

7°

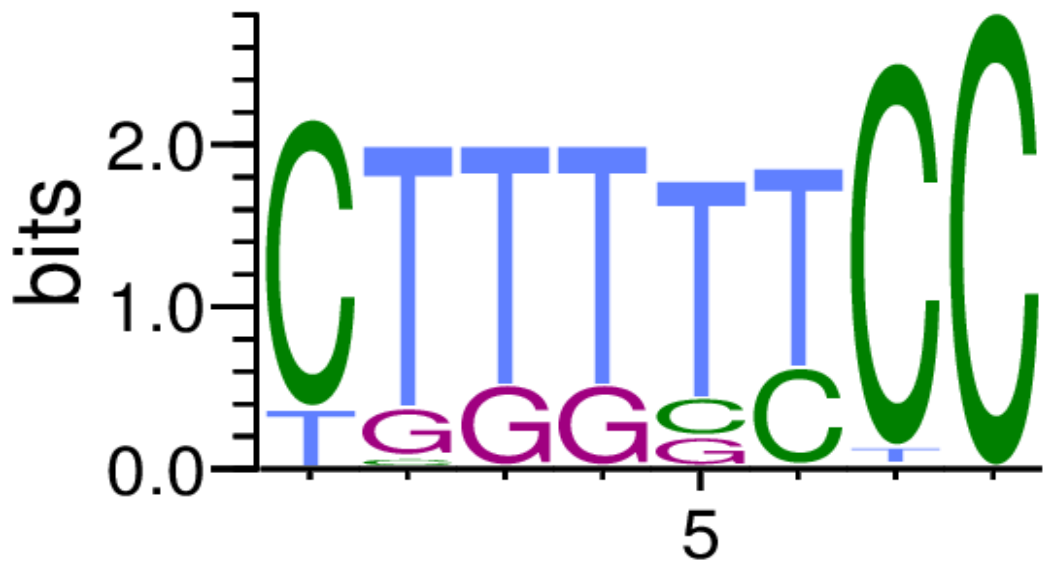
8°

9°

10°

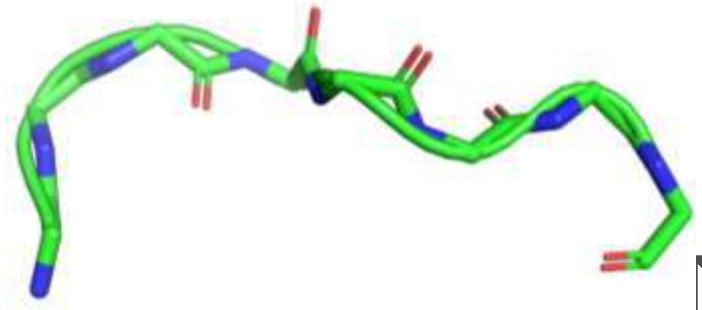
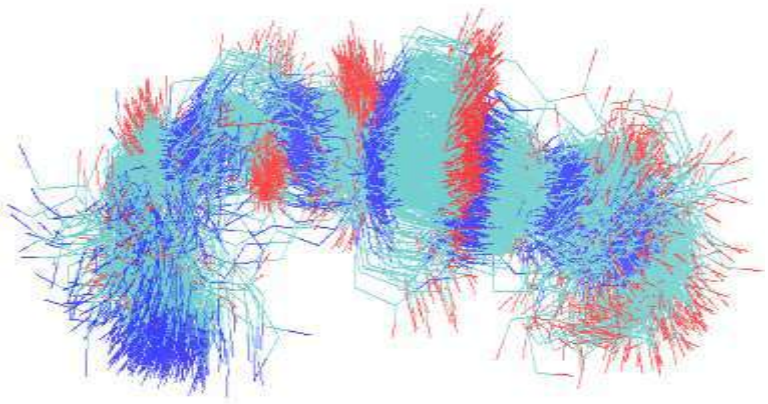


Κυρίαρχα
στοιχεία:
• 3-10 έλικα
• στροφή

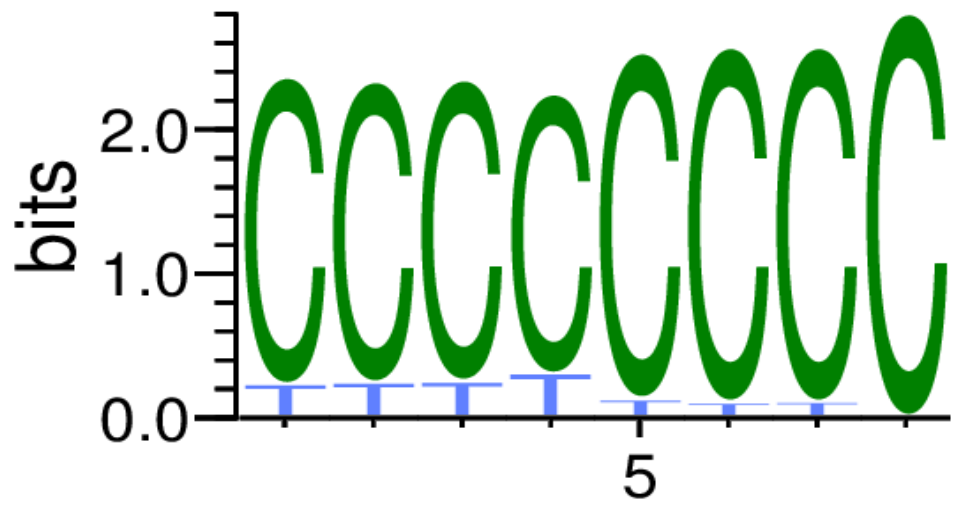


Clusters
Διαλύτης: DMSO

1° 2° 3° 4° 5° 6° 7° 8° 9° 10°

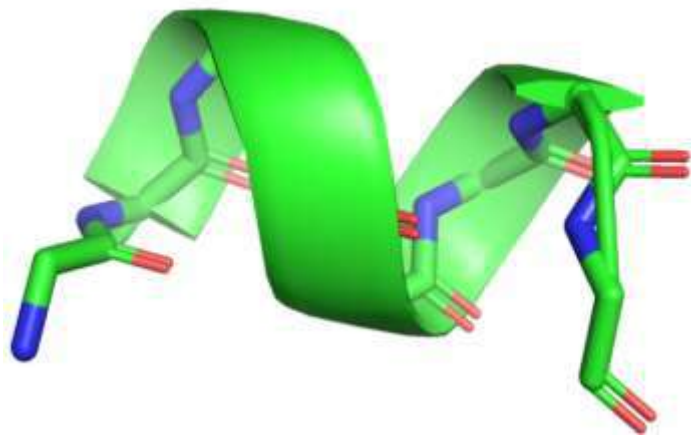
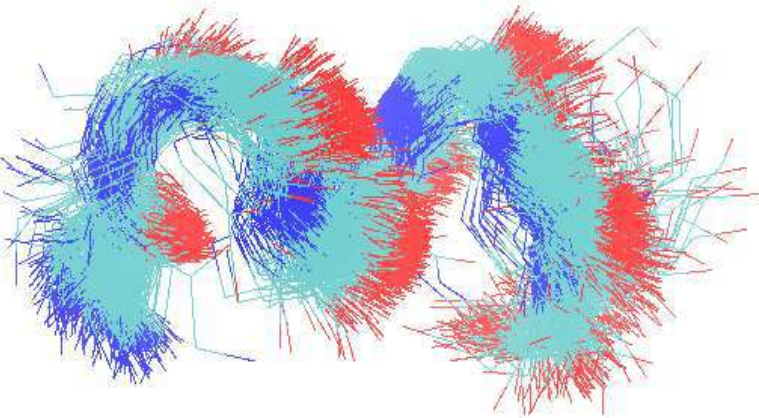


**Κυρίαρχα
στοιχεία:**
• στροφή



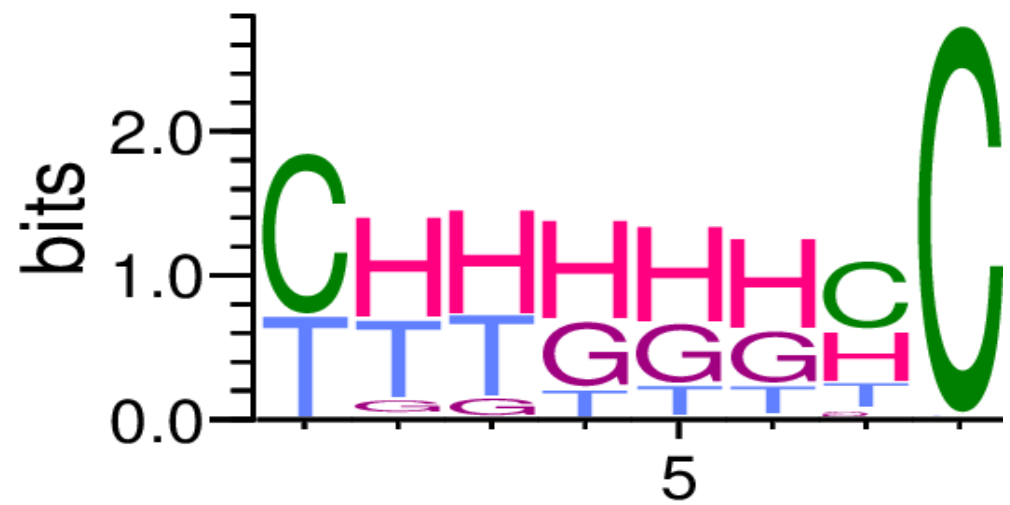
Clusters
Διαλύτης: DMSO

1° 2° 3° 4° 5° 6° 7° 8° 9° 10°



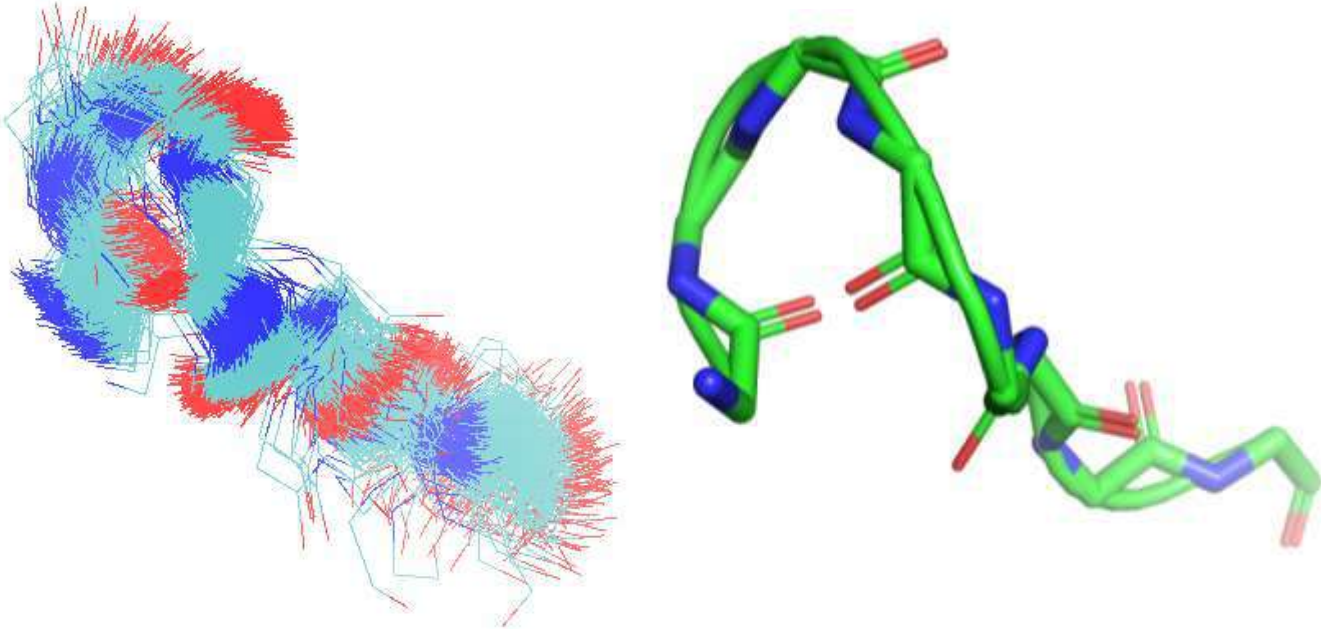
Κυρίαρχα στοιχεία:

- α- έλικα
- 3-10 έλικα
- στροφή

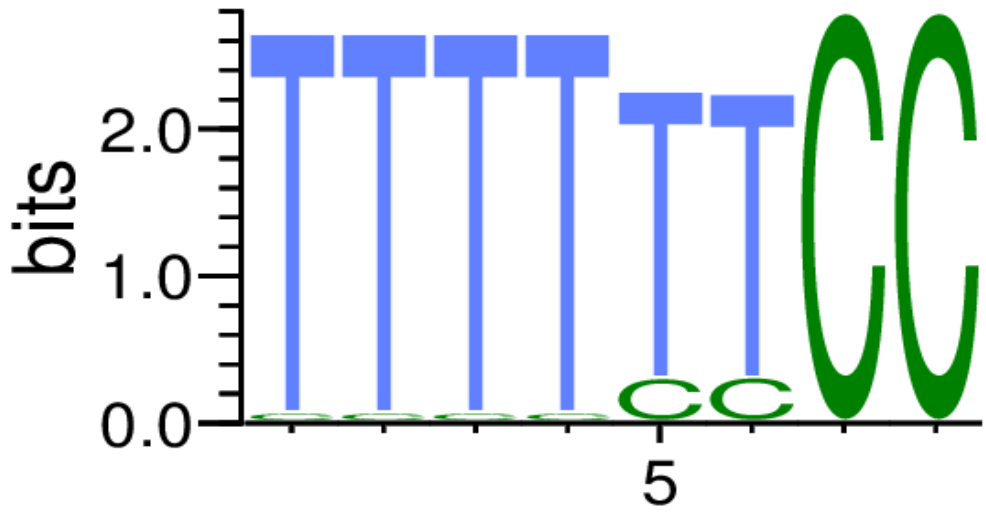


Clusters
Διαλύτης: DMSO

1° 2° 3° 4° 5° 6° 7° 8° 9° 10°

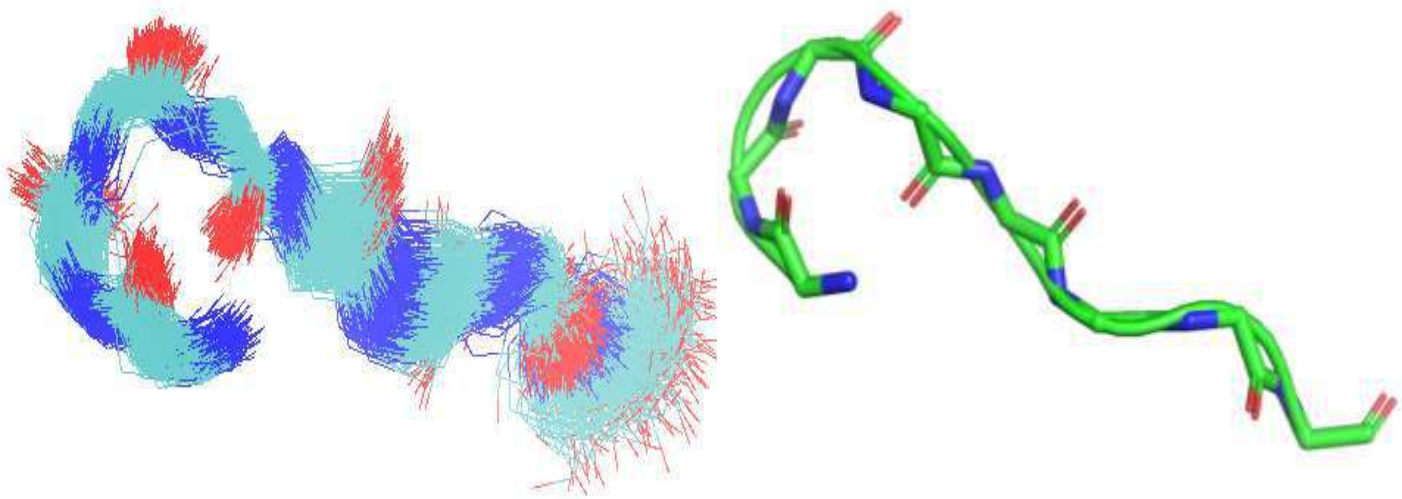


Κυρίαρχα
στοιχεία:
• στροφή

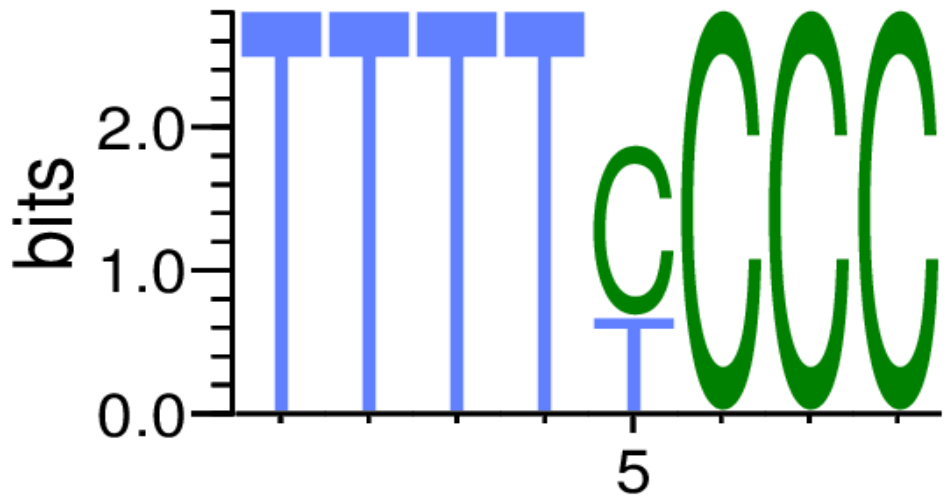


Clusters
Διαλύτης: TFE

1° 2° 3° 4° 5° 6° 7°

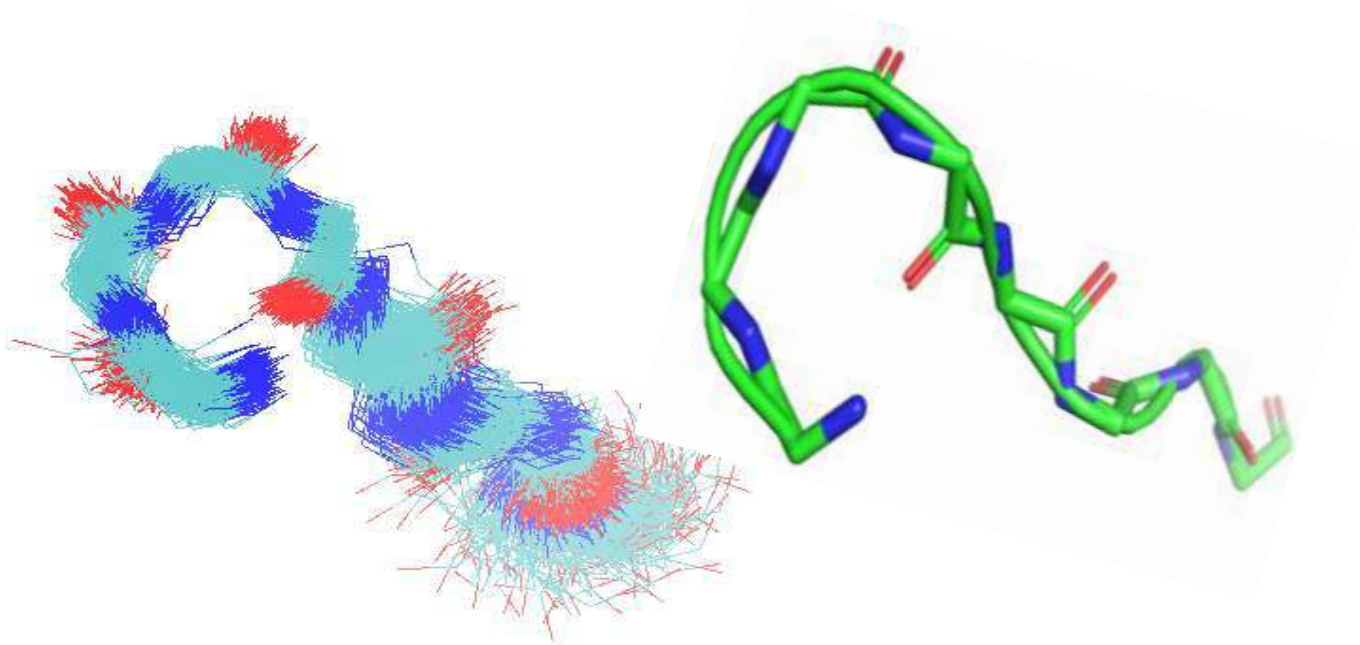


Κυρίαρχα
στοιχεία:
• στροφή

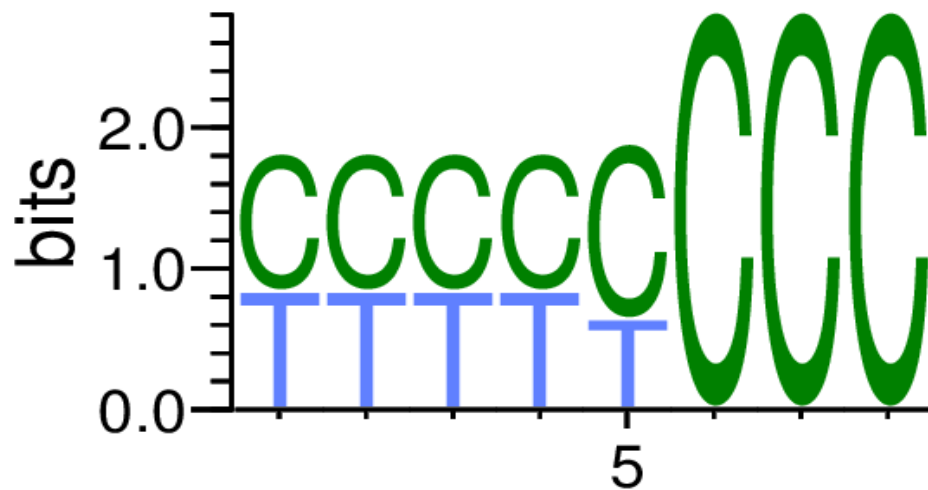


Clusters
Διαλύτης: TFE

1° 2° 3° 4° 5° 6° 7°

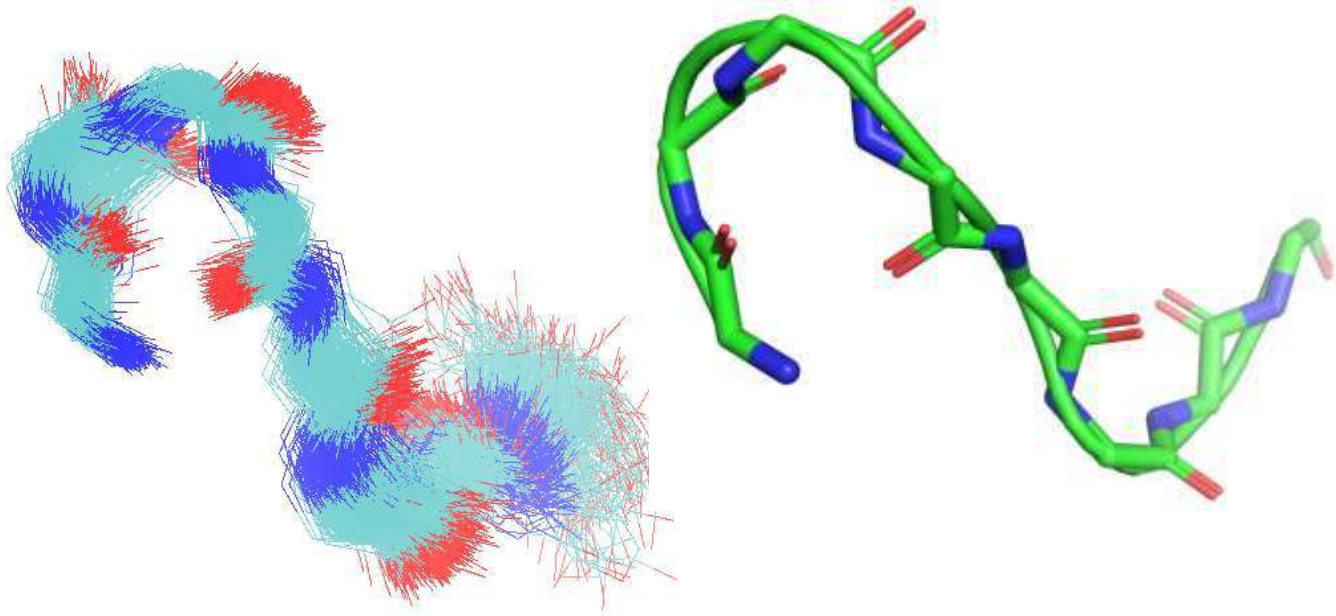


Κυρίαρχα
στοιχεία:
• στροφή

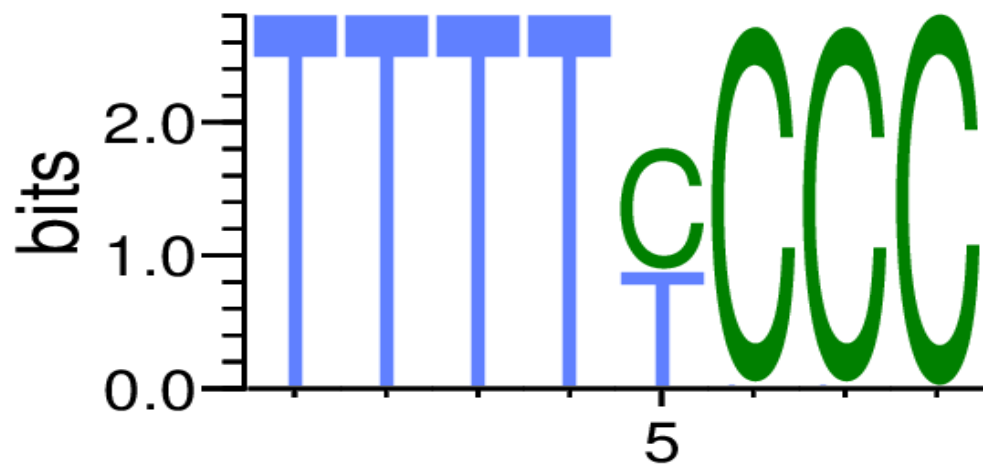


Clusters
Διαλύτης: TFE

1° 2° 3° 4° 5° 6° 7°

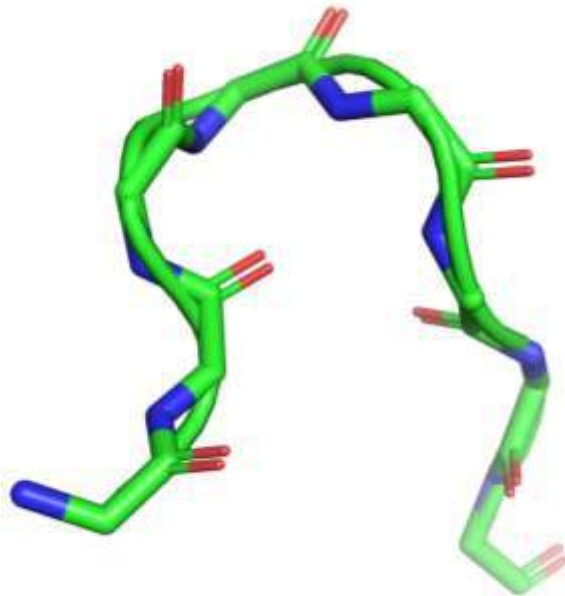
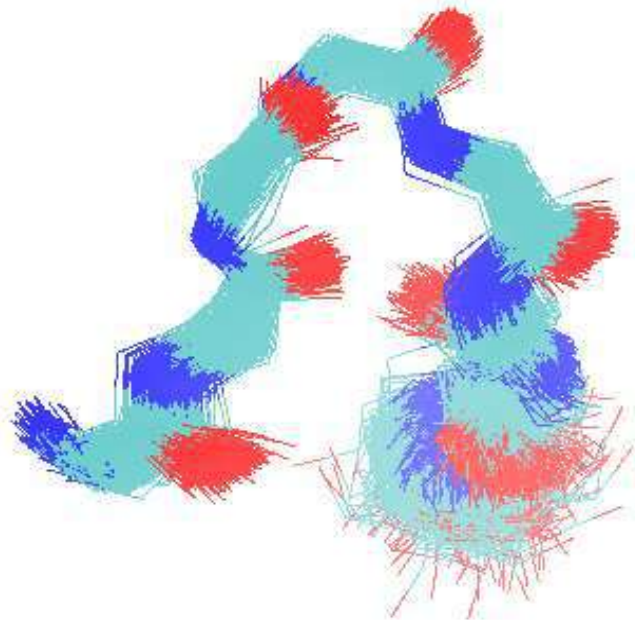


Κυρίαρχα
στοιχεία:
• στροφή

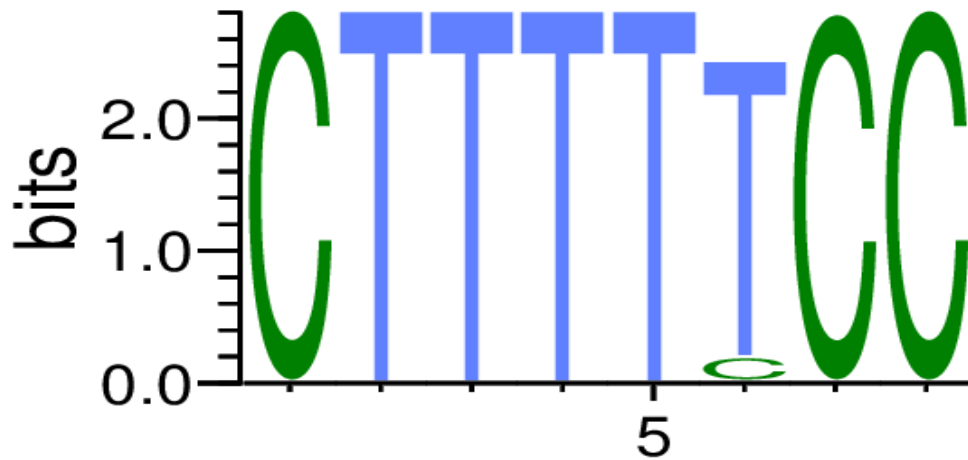


Clusters
Διαλύτης: TFE

1° 2° 3° 4° 5° 6° 7°

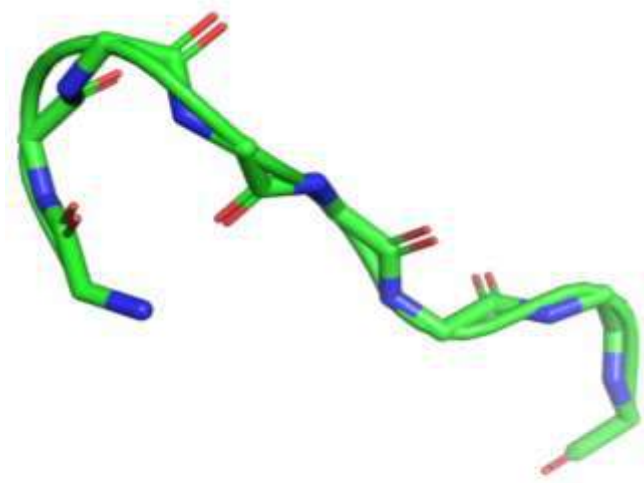
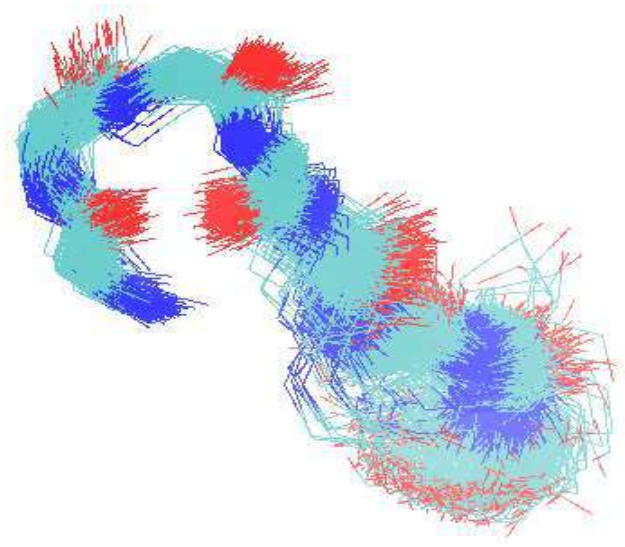


Κυρίαρχα
στοιχεία:
• στροφή

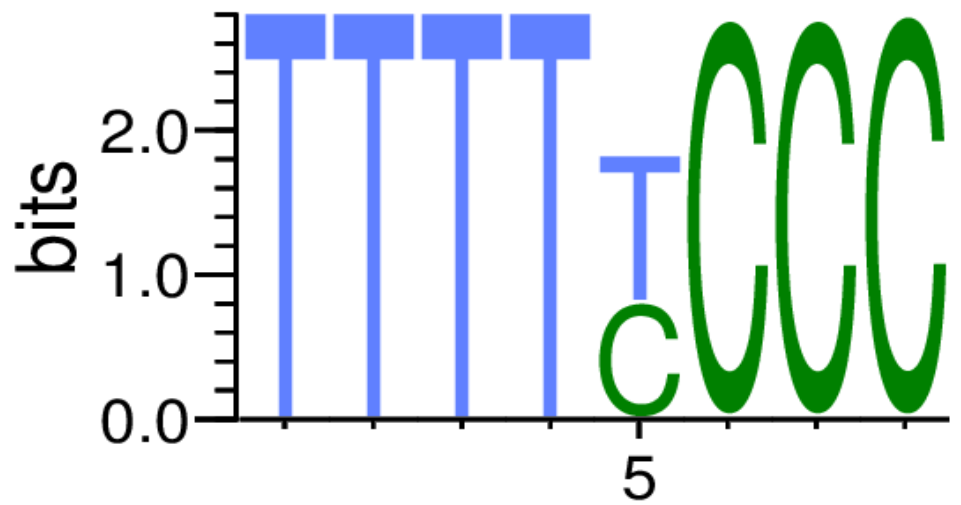


Clusters
Διαλύτης: TFE

1° 2° 3° 4° 5° 6° 7°

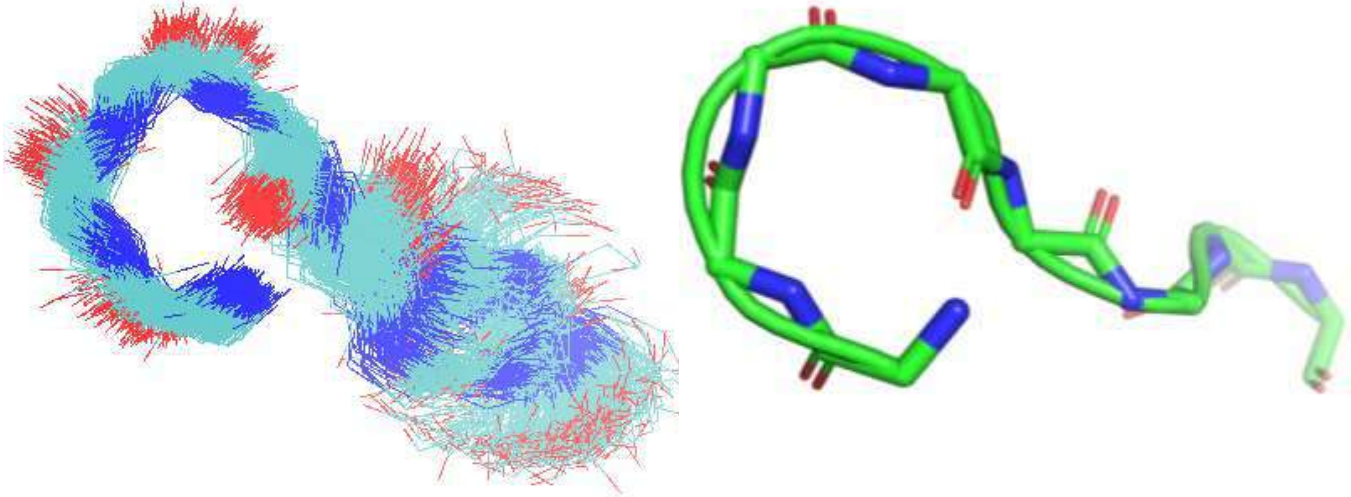


Κυρίαρχα
στοιχεία:
• στροφή

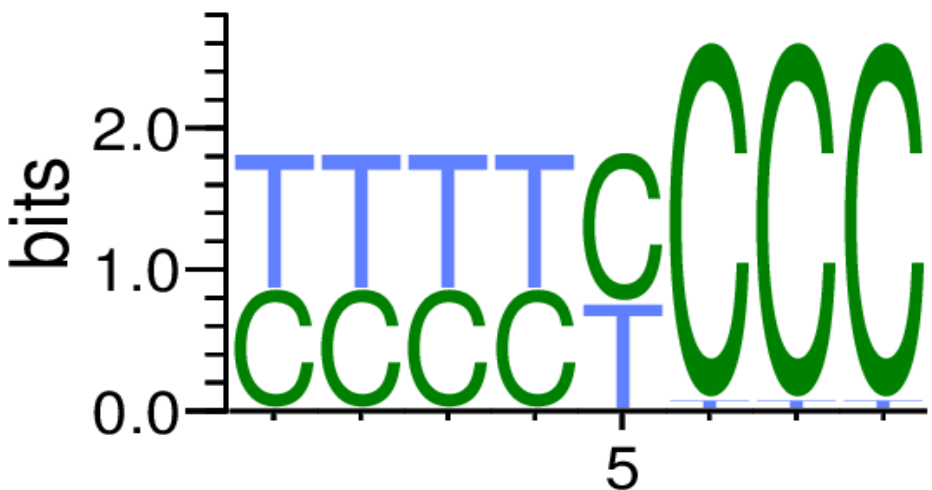


Clusters
Διαλύτης: TFE

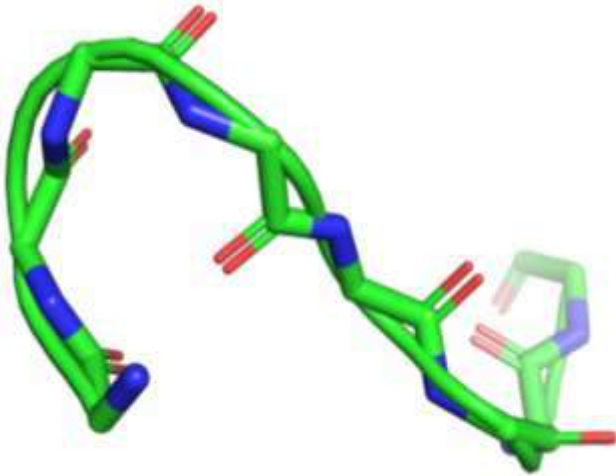
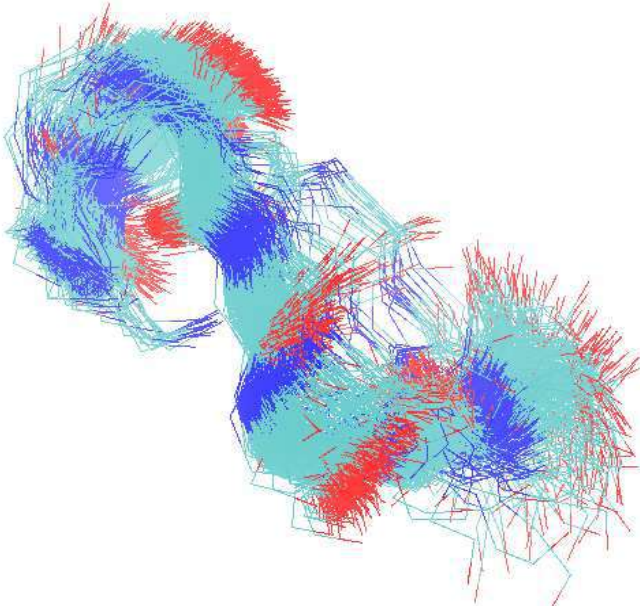
1° 2° 3° 4° 5° 6° 7°



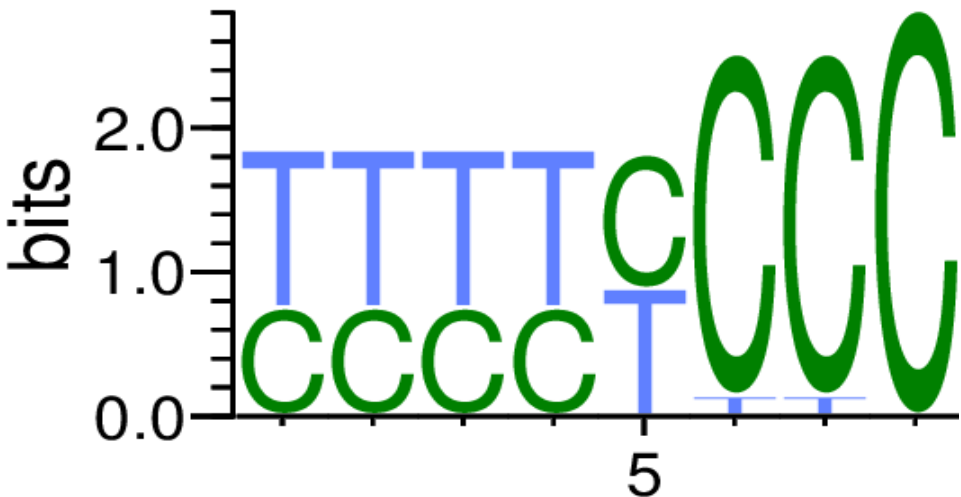
Κυρίαρχα
στοιχεία:
• στροφή



1° 2° 3° 4° 5° 6° 7°



Κυρίαρχα
στοιχεία:
• στροφή



Clusters
Διαλύτης: NEPO

1^ο

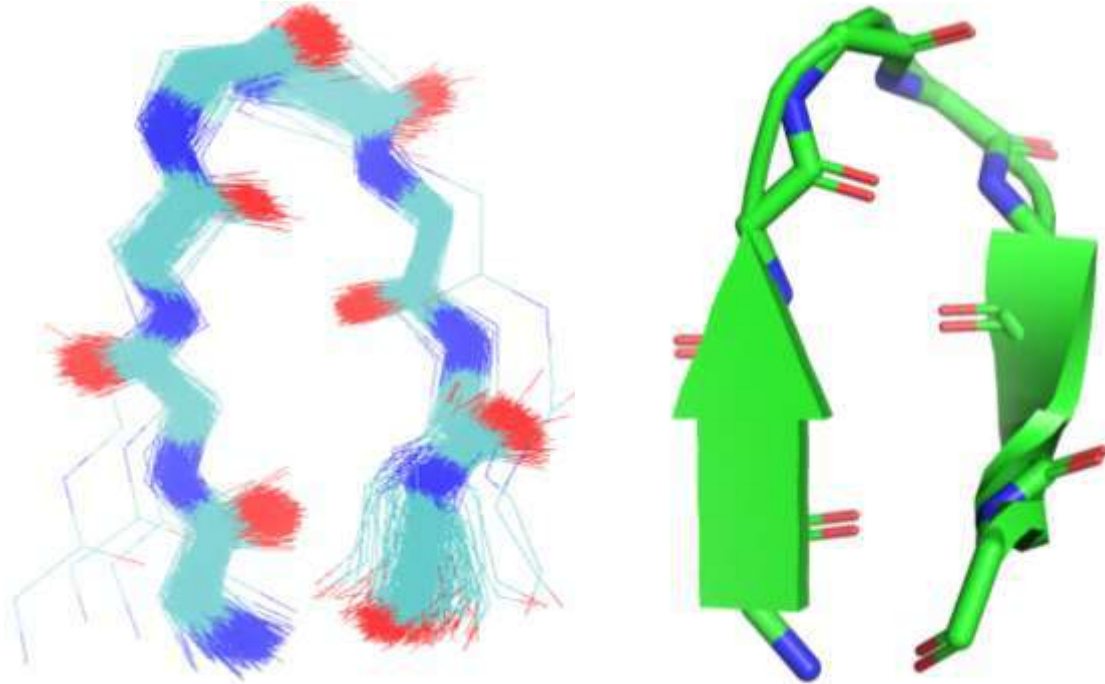
2^ο

3^ο

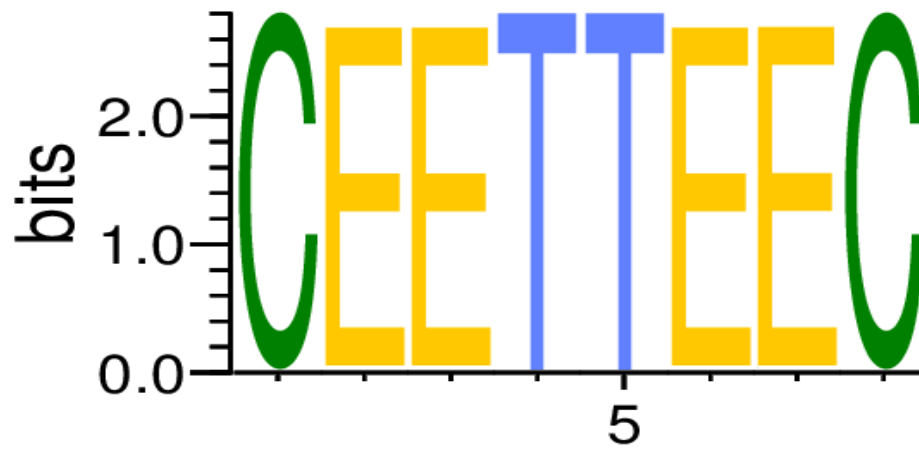
4^ο

5^ο

6^ο



Κυρίαρχα
στοιχεία:
• β-φύλλο
• στροφή



Clusters
Διαλύτης: NEPO

1°

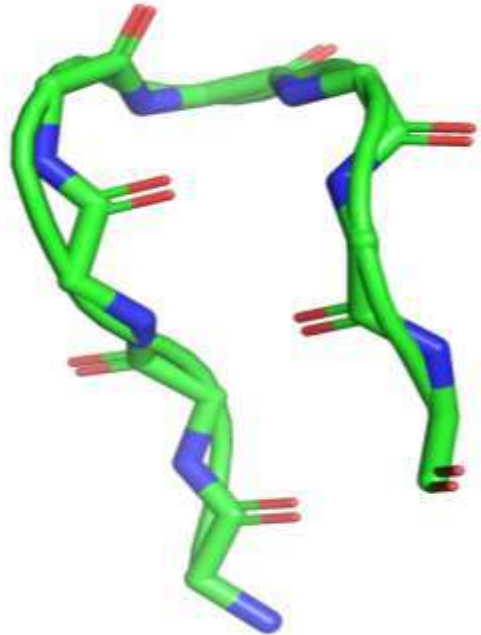
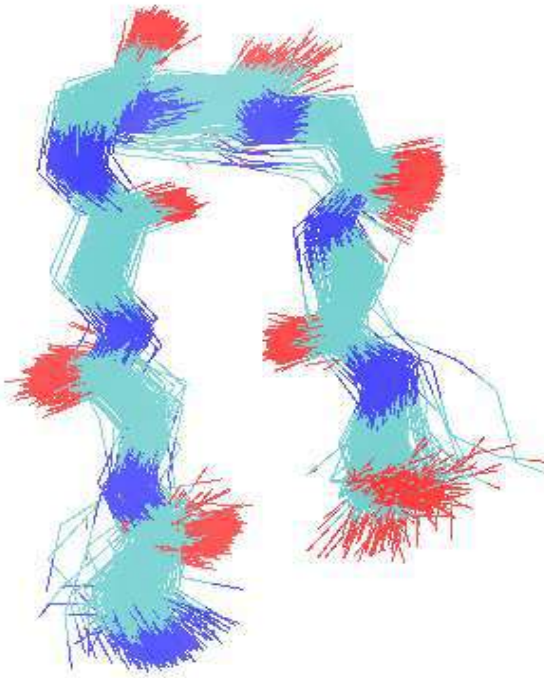
2°

3°

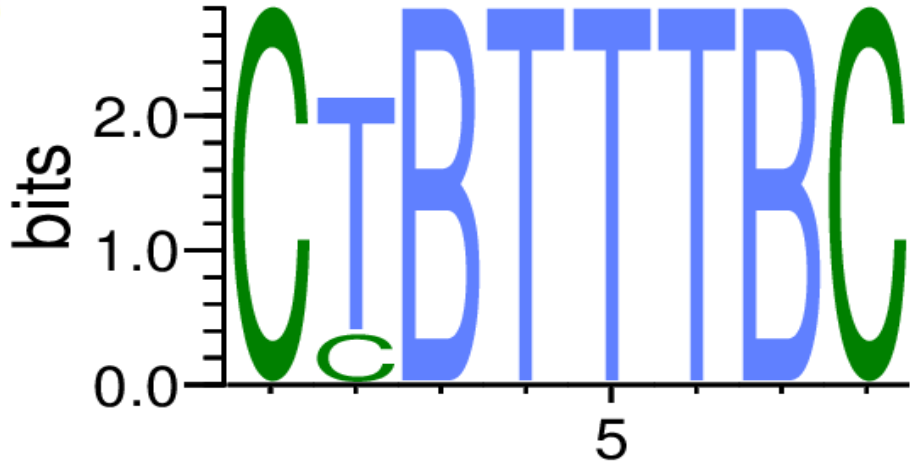
4°

5°

6°



Κυρίαρχα
στοιχεία:
• β-γέφυρα
• στροφή



Clusters
Διαλύτης: NEPO

1°

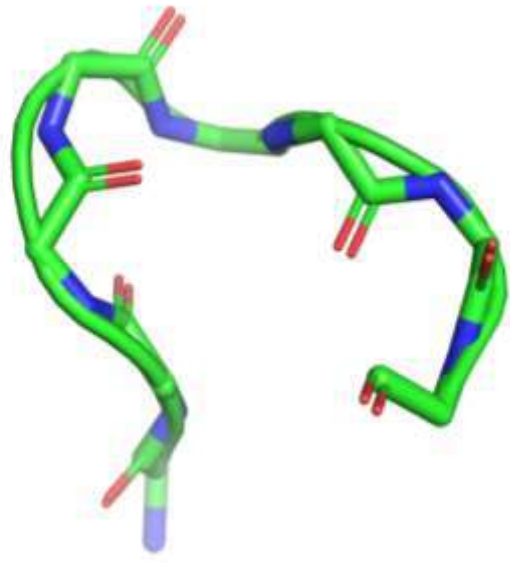
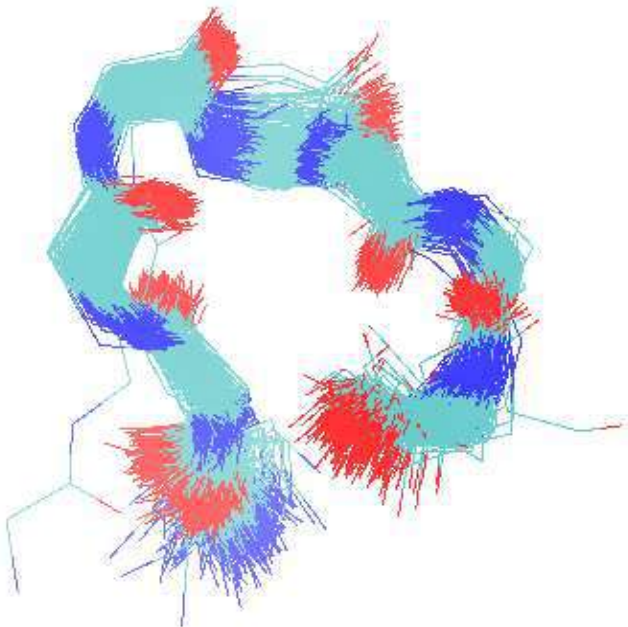
2°

3°

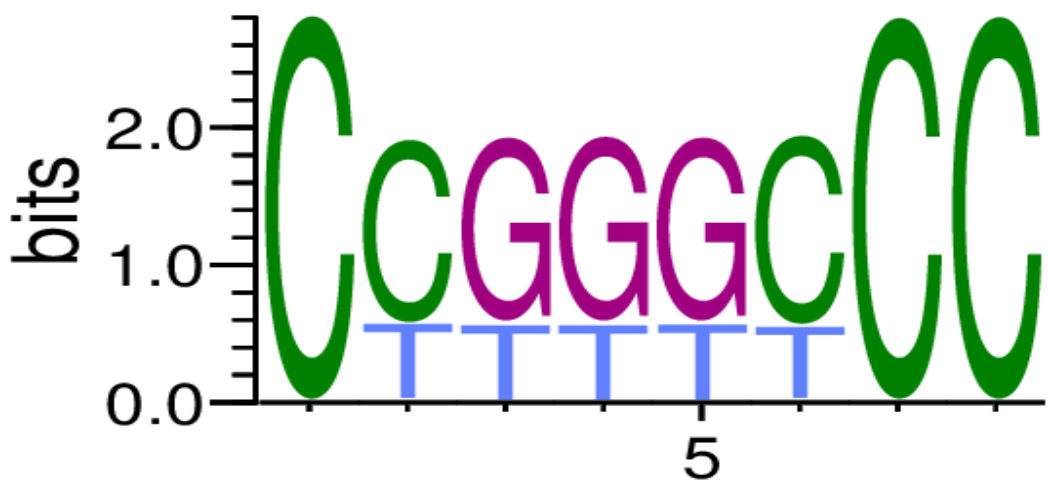
4°

5°

6°



Κυρίαρχα
στοιχεία:
• 3-10 έλικα
• στροφή



Clusters
Διαλύτης: NEPO

1°

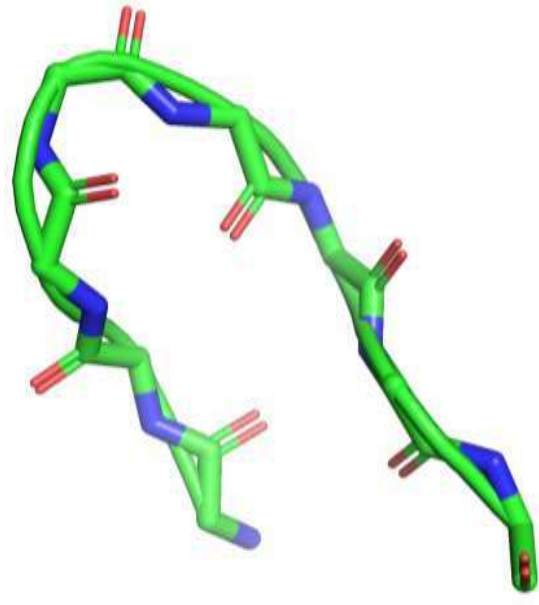
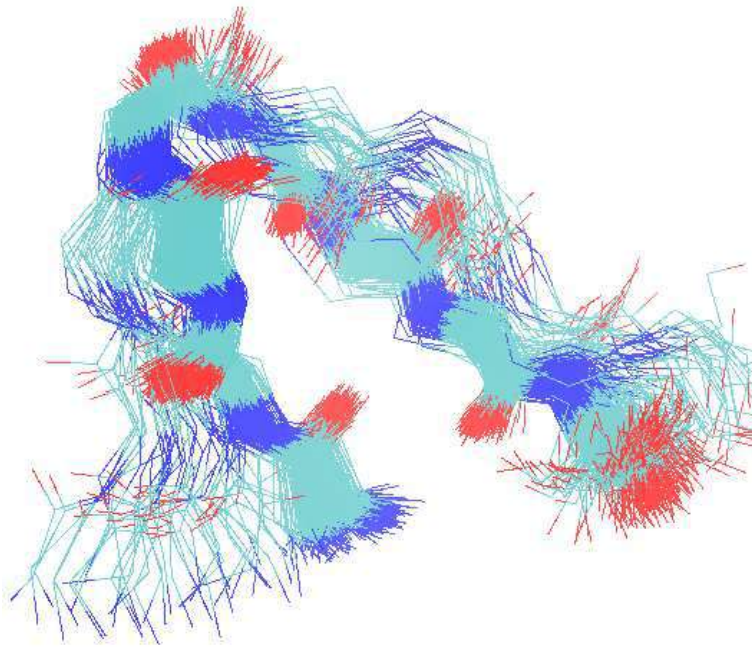
2°

3°

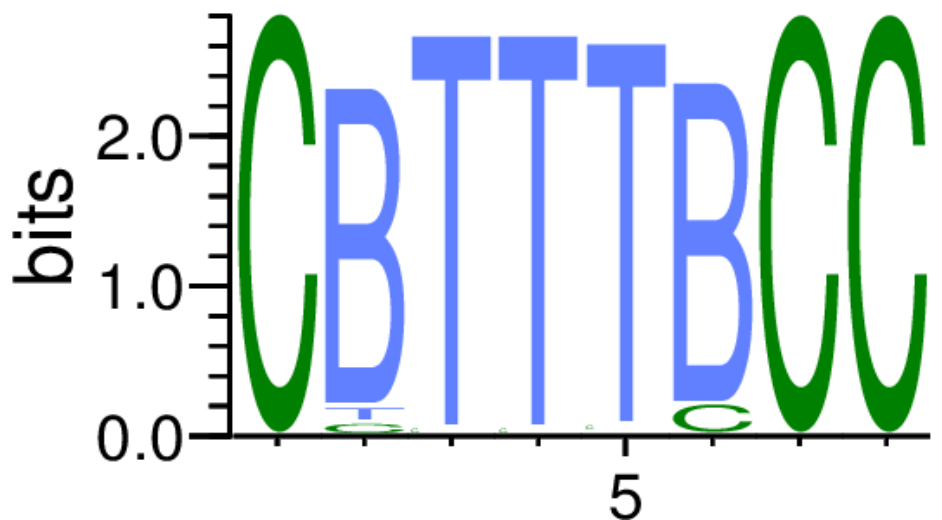
4°

5°

6°



Κυρίαρχα
στοιχεία:
• β-γέφυρα
• στροφή



Clusters
Διαλύτης: NEPO

1°

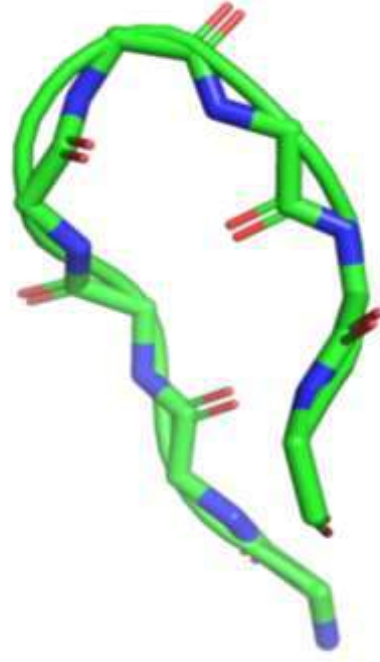
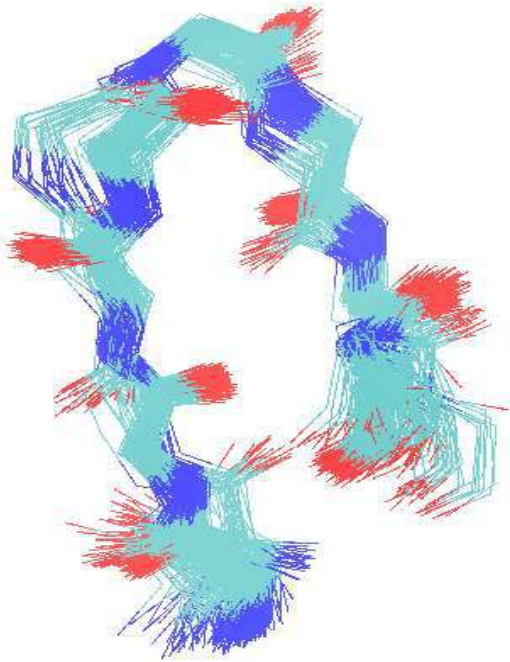
2°

3°

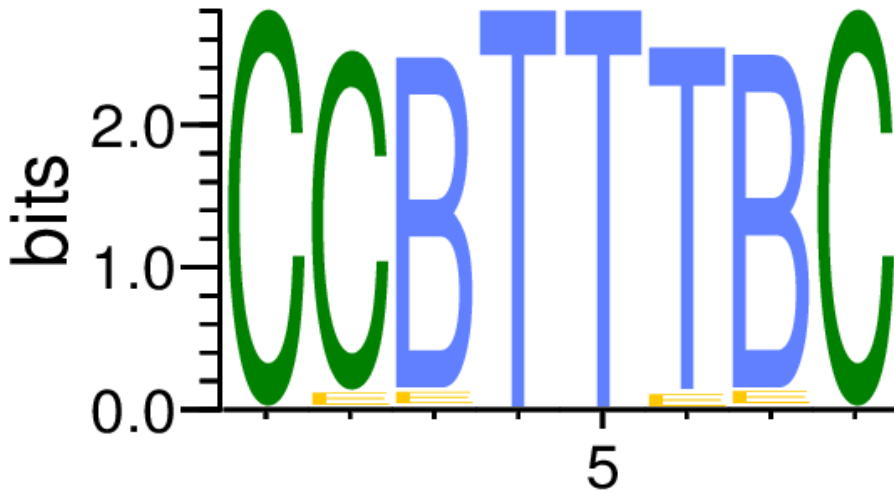
4°

5°

6°



Κυρίαρχα
στοιχεία:
• β-γέφυρα
• στροφή



1°

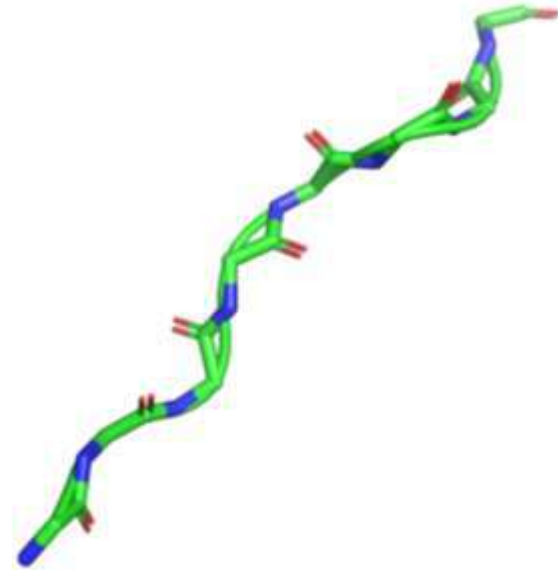
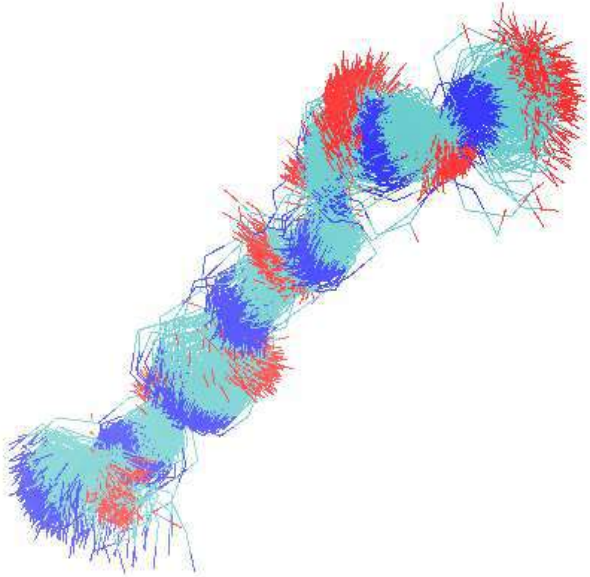
2°

3°

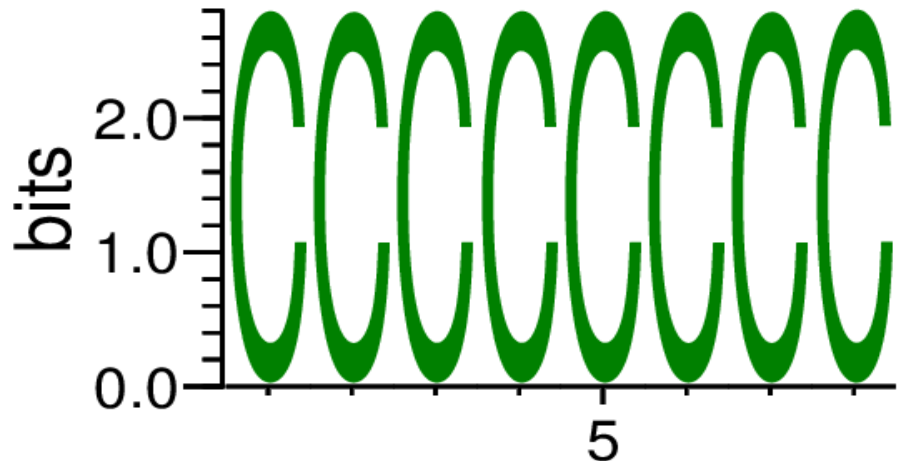
4°

5°

6°



Κυρίαρχα
στοιχεία:
• Αποκλειστικά
τυχαίο σπείραμα



Σύγκριση με πειραματικά δεδομένα

ΜΙΚΚΥΛΙΑ

- Σταθερή δομή σε συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα
- Προτίμηση για στροφές και έλικες
- ✓ Παρέχουν περιβάλλον που πλησιάζει τις βιολογικές μεμβράνες
- (-) Κόστος και δυσκολία στη χρήση
- Κατάλληλο για μελέτη δυναμικής συμπεριφοράς και αλληλεπιδράσεων με μεμβράνη

DMSO

- Σταθερή δομή πεπτιδίου σε σύντομα χρονικά διαστήματα
- Προτίμηση για στροφές και 3-10 έλικες
- ✓ Χαμηλό κόστος, ευκολία στη χρήση

TFE

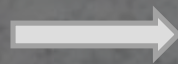
- ✓ Σταθερή δομή πεπτιδίου σε μεγάλα χρονικά διαστήματα
- Προτίμηση για στροφές

NEPO

- ✓ Σταθερή δομή πεπτιδίου για μεγάλα χρονικά διαστήματα (~ 2-3,95 μ s)
- Προτίμηση για στροφές και β -φύλλα, ενώ 3-10 έλικες και α -έλικες λιγότερο συχνές.
- ✓ Χαμηλό κόστος

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

- ❑ Προτίμηση για στροφές σε όλες τις συνθήκες διαλύματος
- ❑ Παρουσία 3-10 ελίκων κυρίως στο DMSO
- ❑ Παρουσία β-φύλλων στο νερό
- ❑ Περιορισμένη παρουσία β-γεφυρών και α-έλικας



Κανένας από τους υπό εξέταση διαλύτες δεν μπορεί να αντικαταστήσει τα μικκύλια

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

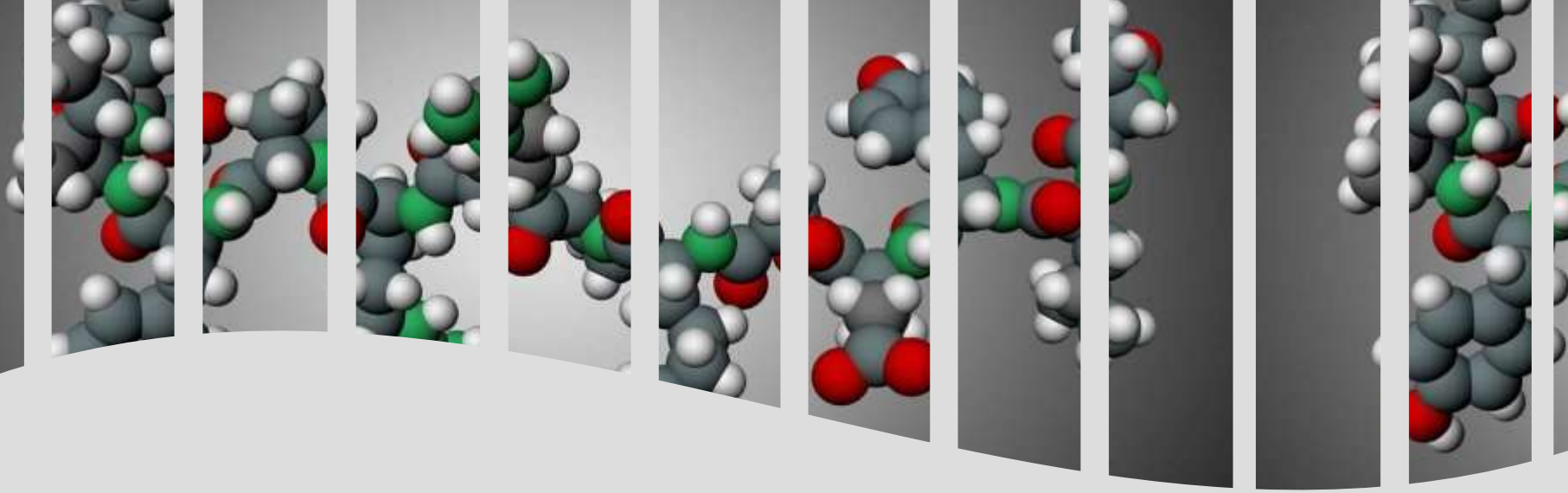
Επέκταση έρευνας

Μελέτη άλλων παραγόντων:

- Επίδραση της θερμοκρασίας
- Δυνατότητες περαιτέρω ερευνητικής διερεύνησης

Εφαρμογές

- Ανάπτυξη υλικών που βασίζονται σε πεπτίδια
- Σχεδιασμός φαρμάκων με βάση τις σταθερές δευτεροταγείς δομές των πεπτιδίων
- Βιολογικές εφαρμογές και κλινικές διερευνήσεις



ΣΑΣ ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ
ΠΟΛΥ