

Caracterización por simulación de las funciones de la proteína G

Characterization of the G-protein functions from simulation

M Louet¹

¹ University Paris Diderot, Equipe MTI

E-mail: louetme@gmail.com

Resumen. Proteínas Heterotrimeric G, son constituidos por subunidades α , β y γ , son las primeras actrices de la transducción de señales intracelulares e interactúan directamente acoplándose con la proteína receptores G (GPCR). El heterotrímero es capaz de unirse ya sea formando una molécula de GDP (estado inactivo) o una molécula de GTP (estado activo). El intercambio de nucleótidos es desencadenado por la interacción de un GPCR activado y conduce a la disociación de todo el heterotrímero en dos entidades independientes: la subunidad α y el complejo $\beta\gamma$ que se encuentra fuertemente unido. Ambas unidades se propagan aún más la señal en el compartimiento intracelular. El objetivo es comprender mejor el mecanismo de activación de las proteínas G y GPCR mediante la combinación de varias técnicas de mecánica molecular como la dinámica molecular (MD) y Análisis de Modo Normal (NMA).

Primero se describirá los grandes movimientos de amplitud de toda la heterotrímero de la proteína G obtenida con un NMA. Luego se presentarán dos métodos desarrollados con el fin de seleccionar los modos normales (NM) pertinentes en los sistemas biológicos y extraer un ligando (la GDP, en el caso de la proteína G) fuera de la bolsa mediante el cálculo computarizado por NM. Con estos dos nuevos métodos, se va a demostrar que un movimiento concertado de la subunidad α promovería la apertura de unión de la bolsa de los nucleótidos y la liberación de la GDP. Con el fin de perfeccionar los resultados, diversas reconstrucciones de perfiles energéticos se han realizado con varias GDP putativos a lo largo de varias vías de salida. Por primera vez se propondrá un mecanismo de ajuste fino para la salida de la GDP a escala molecular y de aminoácidos claves putativos.

Adicionalmente, se presentará el modelo desarrollado para el proceso de disociación de la proteína heterotrimeric G, la cual es un paso clave de activación en el ciclo de la proteína G.

Por último, se centrará el interés en la GPCR: la proteína G compleja. Teniendo en cuenta lo anterior, se presentará que la proteína G restringe drásticamente los movimientos de la GPCR. El movimiento sobre-representado en la compleja ha permitido recuperar también varias estructuras cristalinas de diferentes GPCRs. Lo anterior sugiere que este movimiento podría ser el movimiento de activación de un GPCR putativo.

Abstract. Heterotrimeric G-proteins, constituted of α , β and γ subunits, are the first actresses of the intracellular signal transduction and interact directly with G-protein Coupled Receptors (GPCR). The heterotrimer is able to bind either a GDP molecule (inactive state) or a GTP molecule (active state). The nucleotide exchange is triggered by the interaction with an activated GPCR and leads to the dissociation of the whole heterotrimer into two independent entities: the α subunit and the tightly bound $\beta\gamma$ complex. Both units further propagate the signal into the intracellular compartment. We here aim to better understand the activation mechanism of G-proteins and GPCR by combining several molecular mechanics techniques such as Molecular Dynamics (MD) and Normal Mode Analysis (NMA).

We will first describe the large amplitude motions of the whole G-protein heterotrimer obtained with a NMA. We will present two methods we developed in order to select relevant Normal Modes (NM) in biological systems and extract a ligand (in the G-protein case, the GDP) out of its binding pocket along the computed NM. With these two new methods, we will show that a concerted motion of the α subunit would promote the opening of the nucleotide binding pocket and the GDP release. In order to refine our results, we performed free energy profiles reconstructions along several putative GDP exit pathways. We propose for the first time a fine-tuned mechanism of GDP exit at the molecular scale and putative key amino acids.

In addition, we will present our model of the heterotrimeric G-protein dissociation process, a key step in the G-protein activation cycle.

Finally, we have been also interested in the GPCR: G-protein complex. We will present that the G-protein constrains drastically the GPCR motions. The one over-represented motion in the complex has been also retrieved in every crystallized structures of several different GPCRs. This suggests that this motion could be the putative activation motion of a GPCR.