แบบจำลองโครงสร้างของเมคาโนเซนซิทีฟแชนนัลจากข้อมูลแอกเซสซิบิลิตีและการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล

นายจเรวัตร จักรมุณี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2556

STRUCTURE MODELS OF MECHANOSENSITIVE CHANNEL FROM ACCESSIBILITY DATA AND MOLECULAR DYNAMICS SIMULATION

Mr. Jarewat Jakmunee

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Chemistry
Department of Chemistry
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2013

Thesis Title	STRUCTURE MODELS OF MECHANOSENSITIVE CHANNEL FROM ACCESSIBILITY DATA AND MOLECULAR DYNAMICS SIMULATION
By	Mr. Jarewat Jakmunee
Field of Study	Chemistry
Thesis Advisor	Associate Professor Pornthep Sompornpisut, Ph.D.

Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

.....Dean of the Faculty of Science

(Professor Supot Hannongbua, Dr.rer.nat.)

THESIS COMMITTEE

.....Chairman

(Assistant Professor Warinthorn Chavasiri, Ph.D.)

.....Thesis Advisor

(Associate Professor Pornthep Sompornpisut, Ph.D.)

.....Examiner

(Assistant Professor Somsak Pianwanit, Ph.D.)

.....External Examiner

(Arthorn Loisruangsin, Ph.D.)

จเรวัตร จักรมุณี : แบบจำลองโครงสร้างของเมคาโนเซนซิทีฟแชนนัลจากข้อมูลแอกเซสซิบิลิตีและการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล. (STRUCTURE MODELS OF MECHANOSENSITIVE CHANNEL FROM ACCESSIBILITY DATA AND MOLECULAR DYNAMICS SIMULATION) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ดร.พรเทพ สมพรพิสุทธิ์, 71 หน้า.

เมคาโนเซนซิทีฟแชนนัลชนิดค่านำไฟฟ้าสูง (MscL) เป็นเมมเบรนโปรตีนประเภทโฮโมเพนตาเมอร์ที่ทำหน้าที่เสมือนวาล์วนิรภัยสำหรับควบคุมแรงดันออสโมติกในเซลล์โปรคาริโอต โปรตีนชนิดนี้รับรู้และแปลงสัญญาณจากสิ่งเร้าเชิงกลไปเป็นการเคลื่อนที่ของโปรตีน MscL มีลักษณะพิเศษในการเปลี่ยนแปลงคอมฟอร์เมชันเพื่อตอบสนองเมมเบรนเทนชัน ในการศึกษานี้ ใช้ข้อมูลอีพีอาร์สองกลุ่มสำหรับสร้างคอนฟอร์เมชันของ MscL จากแบคทีเรียชนิดอีโคไล ที่สภาวะปิด (cl-ecoMscL) และสภาวะอินเทอร์มิเดียต (in-ecoMscL) ด้วยวิธี PaDSAR ซึ่งเป็นวิธีการจำลองพลวัติเชิงโมเลกุลแบบมีรีสเตรนที่นำมาจากการทดลอง แบบจำลองของ in-ecoMscL มีสภาพโดยรวมคล้ายคลึงอย่างมากกับแบบจำลอง cl-ecoMscL ซึ่งชี้แนะว่าแบบจำลองนี้อาจจะสอดคล้องกับแชนนัลสภาวะปิดที่ขยายตัวก่อน การเปรียบเทียบเชิงโครงสร้างระหว่าง cl-ecoMscL และ in-ecoMscL ทำให้เห็นว่าการขยับตัวส่วนใหญ่ของท่อนทรานสเมมเบรนอยู่ใกล้เกทไฮโดรโฟบิกที่ประกอบด้วยเรสซิดิวซ์ Leu19 และ Val23 เพื่อสำรวจสมบัติเชิงโครงสร้างและพลวัติ ได้ทำซิมุเลชันแบบ MD เป็นเวลา 100 นาโนวินาที สำหรับคอนฟอร์เมชันที่สภาวะปิดและสภาวะอินเทอร์มิเดียตในไบเลเยอร์ชนิดพามิโทอิล-โอเลอิล-ฟอสฟาทิดิลโคลีนและไดลาวโรอิล-กลีเซอโร-ฟอสฟาทิดิลโคลีน ตามลำดับ ผลการซิมุเลชันแสดงให้เห็นถึงความเสถียรเชิงโครงสร้างของ MscL ค่าโมบิลิตี้เชิงเปรียบเทียบของท่อน TM1 และ TM2 สอดคล้องกับข้อมูลโมบิลิตี้จากการทดลอง การเปลี่ยนแปลงความหนาของไบเลเยอร์ที่สังเกตได้จากซิมุเลชันชี้ให้เห็นว่าโปรตีนชักนำให้เกิดการบิดรูปของไบเลเยอร์อันเนื่องมาจากอิทธิพลของไฮโดรโฟบิกมิสแมทช์

ภาควิชา เคมี ลายมือชื่อนิสิต จเรวัตร จักรมุณี

สาขาวิชา เคมี ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก พรเทพ

ปีการศึกษา 2556

5471924323 : MAJOR CHEMISTRY
KEYWORDS: MSCL / MOLECULAR DYNAMICS SIMULATION / ACCESSIBILITY / EPR / PADSAR

JAREWAT JAKMUNEE: STRUCTURE MODELS OF MECHANOSENSITIVE CHANNEL FROM ACCESSIBILITY DATA AND MOLECULAR DYNAMICS SIMULATION. ADVISOR: ASSOC. PROF. PORNTHEP SOMPORNPISUT, Ph.D., 71 pp.

The mechanosensitive channel of large conductance (MscL) is a homopentameric membrane protein that serves as effective osmotic safety valves in prokaryotes. It senses and transduces mechanical stimuli into protein motion. MscL is specifically designed to change its conformation in response to changes in membrane tension. In this study, two different EPR dataset were used in modeling the Escherichia coli MscL channel in its closed (cl-ecoMscL) and intermediate (in-ecoMscL) conformations through PaDSAR, an experimentally restrained molecular dynamics simulation method. The in-ecoMscL model is in overall very similar to the cl-ecoMscL, suggesting the model may be correspond to pre-expanded closed state. Structure comparison between cl-ecoMscL and in-ecoMscL revealed the major transmembrane (TM) movement is located near the hydrophobic gate residues: Leu19 and Val23. To investigate structure and dynamics properties of the protein, 100ns molecular dynamics (MD) simulations of the closed and intermediate state conformations were performed in palmitoyl-oleoyl-phosphatidyl cholines bilayer and dilauroyl-glycero-phosphocholines bilayer, respectively. The results show structure stability of MscL during the course of MD simulations. The relative mobility of TM1 and TM2 segments is consistent with the experimental mobility data. The bilayer thickness change observed from the MD simulations indicates the protein-induced bilayer deformation due to the effect of hydrophobic mismatch.

Department: Chemistry
Field of Study: Chemistry
Academic Year: 2013

Student's Signature Jarewat Jakmunee
Advisor's Signature

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to acknowledge my supervisor, Associate Professor Dr. Pornthep Sompornpisut, for all help and support during thesis work. I would also like to express my sincere appreciation to all the exam committee, Assistant Professor Dr. Warinthorn Chavasiri, Assistant Professor Dr. Somsak Pianwanit and Dr. Arthorn Loisruangsin for their useful advice.

I also wish to express my thanks to my family and my friends, Miss Sunan Kitijaruwankul, Miss Wannaruedee Wannapukdee, Miss Pattama Wapeesittipan, Miss Kanokporn Petnapapun, Mr. Kanon Sujaree, Miss Sunit Fuklang and Mr. Chirayut Supunyabut for their friendships and valuable suggestions. I would like to acknowledge the computational chemistry unit cell (CCUC) at Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University for providing facilities throughout the course of this research.

Finally, I would like to acknowledge the National Research University Project of CHE (HR1155A), Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund, RES560530217-HR, the Thai Government Stimulus Package 2 (TKK2555) and Kasetsart University scholarship from the Faculty of Science at Sriracha, Kasetsart University Sriracha Campus, Chonburi, Thailand for facilities and finance.

CONTENTS

Page

Page

LIST OF TABLES

LIST OF FIGURES

LIST OF ABBREVIATIONS

Ms	Mechanosesitive channels
MscL	Mechanosesitive channels of Large conductance
MscS	Mechanosesitive channels of Small conductance
PD	pore domain
TM	transmembrane
Å	angstrom
°	degree
MD	molecular dynamics
PDB	protein data bank
PSF	protein structure file
VMD	visual molecular dynamics
APBS	adaptive Poisson-Boltzmann solver
PBE	Poisson-Boltzmann equation
PaDSAR	pseudoatom-driven solvent accessibility refinement
EPR	electron paramagnetic resonance
α	alpha
SDSL	site directed spin labeling
V	Valine
L	Leucine
ΔG_{elec}	electrostatic salvation free energy
L_{mem}	range of membrane bilayer thickness
ε_m	dielectric constant of the membrane
ε_w	dielectric constant of the water
$\varepsilon_{protein}$	dielectric constant of the protein
POPC	palmitoyl oleoyl phosphatidyl cholines
DLPC	Dilauroylglycero phospho cholines

ns	nanosecond
RMSD	root-mean-square-deviation
RMSF	root-mean-square-fluctuation
3D	three dimensional
Kcal	kilocalorie
mV	milivolt
DSSP	database of secondary structure assignments of all protein
nS	nanosiemens