

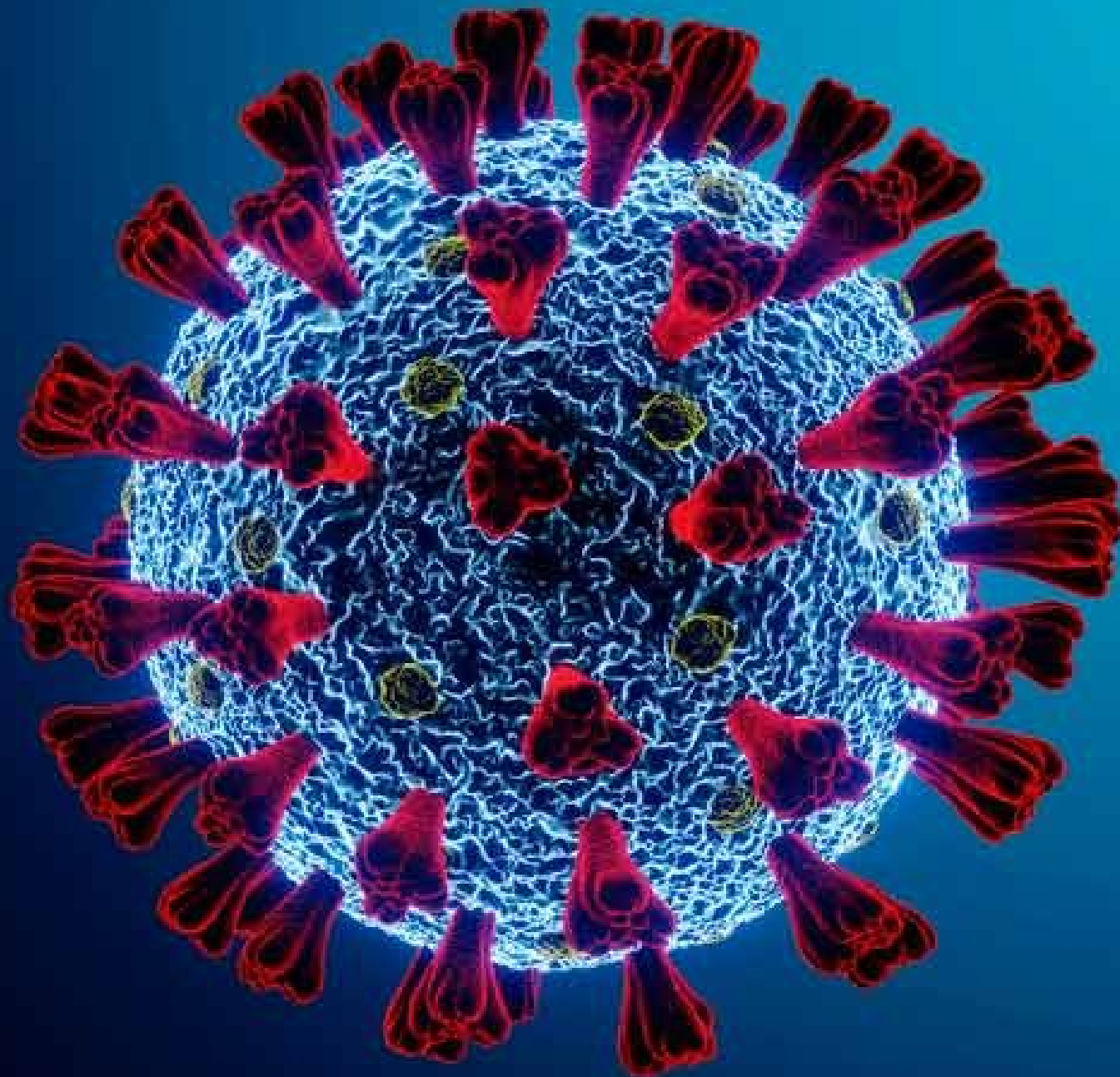
Използване на високопроизводителни пресмятания за изследване на механизма за блокиране на имунния отговор на SARS-CoV-2

Е. Лилкова¹, Н. Илиева¹,
П. Петков², Л. Литов²,
М. Рангелов³

¹ ИИКТ-БАН

² ФзФ на СУ

³ ИОХЦФ-БАН

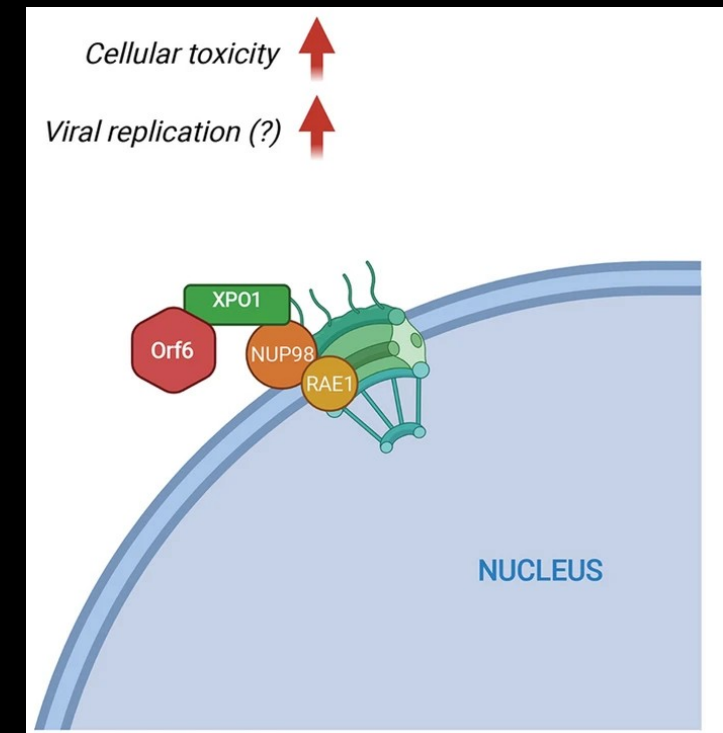


Въведение

- SARS-CoV-2 има 4 структурни, 16 неструктурни и 9 помощни протеина.
- Помощните протеини не са критично важни за репликацията и формирането на вирусните частици, но са от ключово значение за избягването на имунната реакция на клетките и патогенността на вируса.
- Най-токсичният протеин на SARS-CoV-2 е помощния протеин ORF6.
- Блокирането на неговата активност изисква разработването на структурен модел на белтъка и изследване на взаимодействията му с прицелните му клетъчни протеини.

Механизъм на действие на ORF6 на SARS-CoV-2

- Блокира интерфероновите пътищата за клетъчна сигнализация при патогенна инвазия, като транспорта на иРНК от ядрото към цитоплазмата
- Открива се основно в ендоплазмения ретикулум и апарата на Голджи
- Предполага се, че в N-края (а.к. 2–37) се образуват алфа-спирала, която се внедрява в мембраната
- С-краят е съществен за биологичната активност на протеина
- ORF6 антагонизира сигнализацията на приемника като се свързва с комплекса NUP98-RAE1



МД протокол

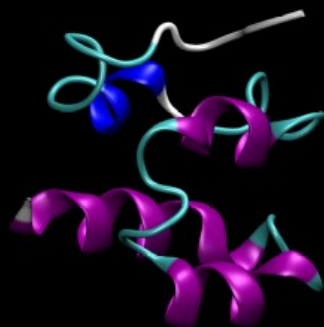
- МД симулационен пакет GROMACS version 2021.1;
- силово поле CHARMM36 + модифициран TIP3P модел на водата;
- правоъгълна симулационна кутия с 2 nm до стените;
- периодични гранични условия;
- твърди ковалентни връзки;
- интегратор “прескочи-кобила” с времева стъпка 2 fs;
- NPT ансамбъл при 310K (v -rescale, $\tau_T = 0.25\text{ps}^{-1}$) и 1 atm (Parrinello-Rahman, $\tau_P = 1.0\text{ps}^{-1}$);
- PME електростатика ($r_{\text{coulomb}} = 1.2\text{nm}$) + отместен VdW ($r_{\text{switch}} = 0.1\text{ nm}$, $r_{\text{vdw}} = 1.2\text{ nm}$)

Структурен модел на ORF6 на SARS-CoV-2

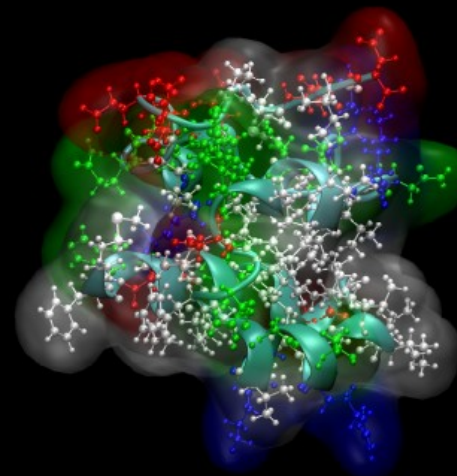
last-orf6-7um.pdb (#0) chain X	1	M	F	H	L	V	D	F	Q	V	T	I	A	E	I	L	L	I	I	M	R	T	F	K	V	S	I	W	N	L	D
last-orf6-7um.pdb (#0) chain X	31	Y	I	I	N	L	I	I	K	N	L	S	K	S	L	T	E	N	K	Y	S	Q	L	D	E	E	Q	P	M	E	I
last-orf6-7um.pdb (#0) chain X	61	D																													



7 us - ESCALATE4COV

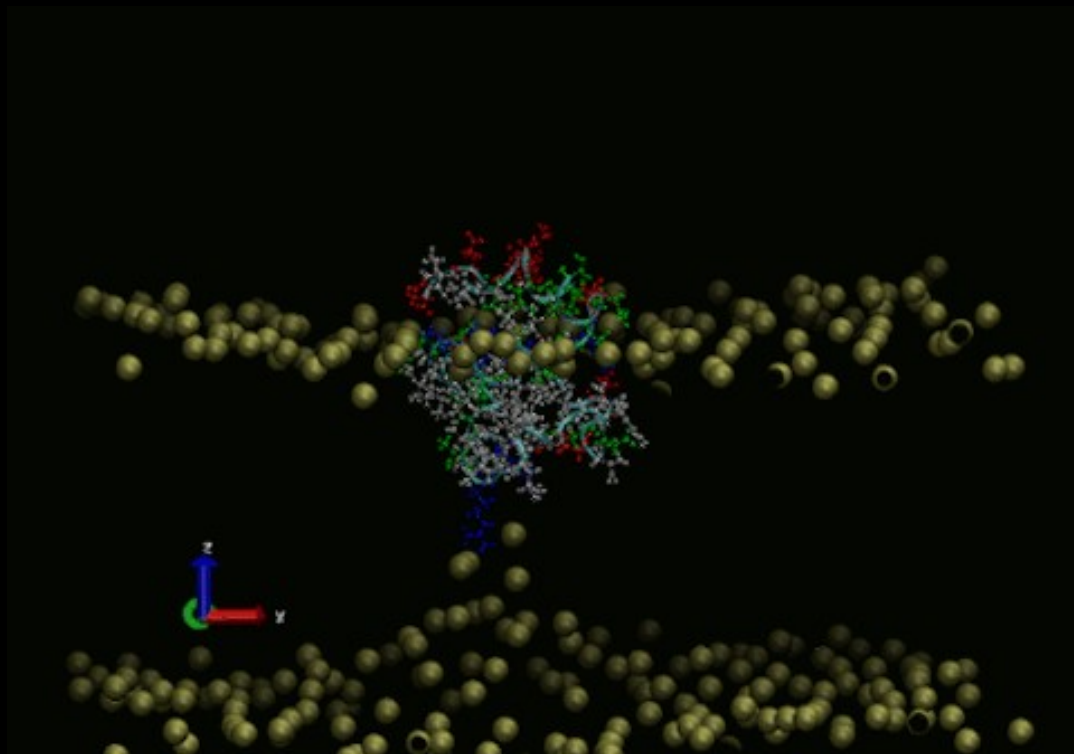


7 us – наши допълнителни симулации

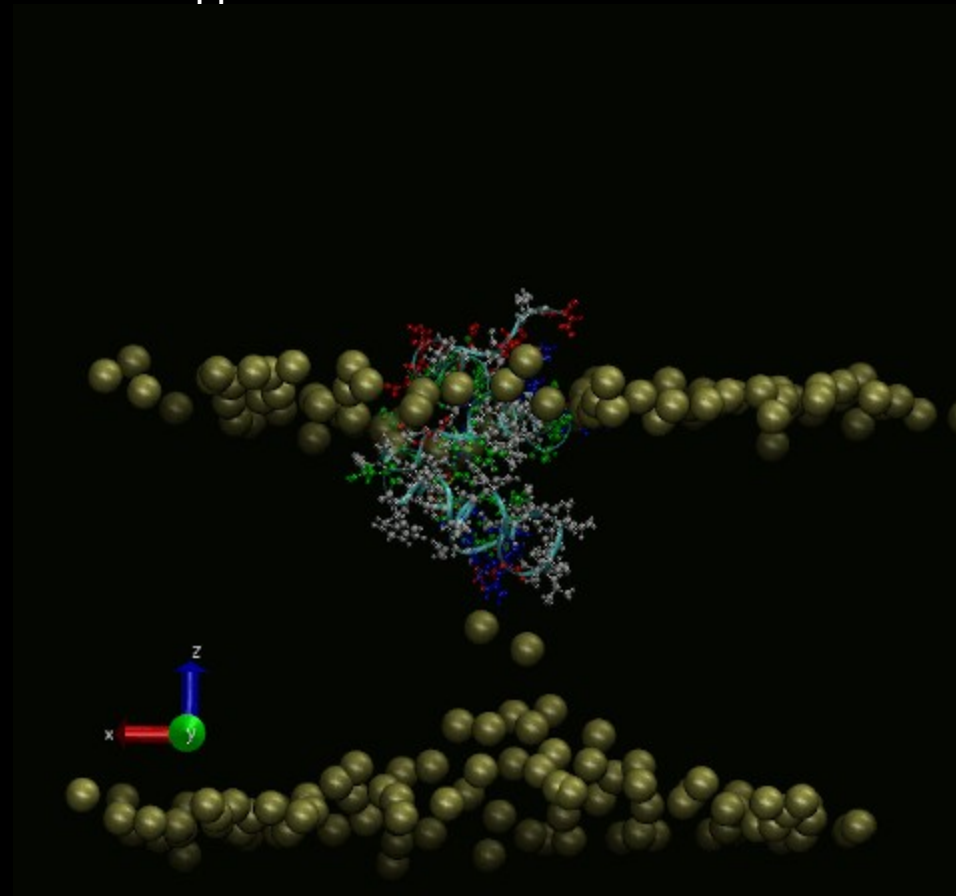


МД модел на ORF6 в EP

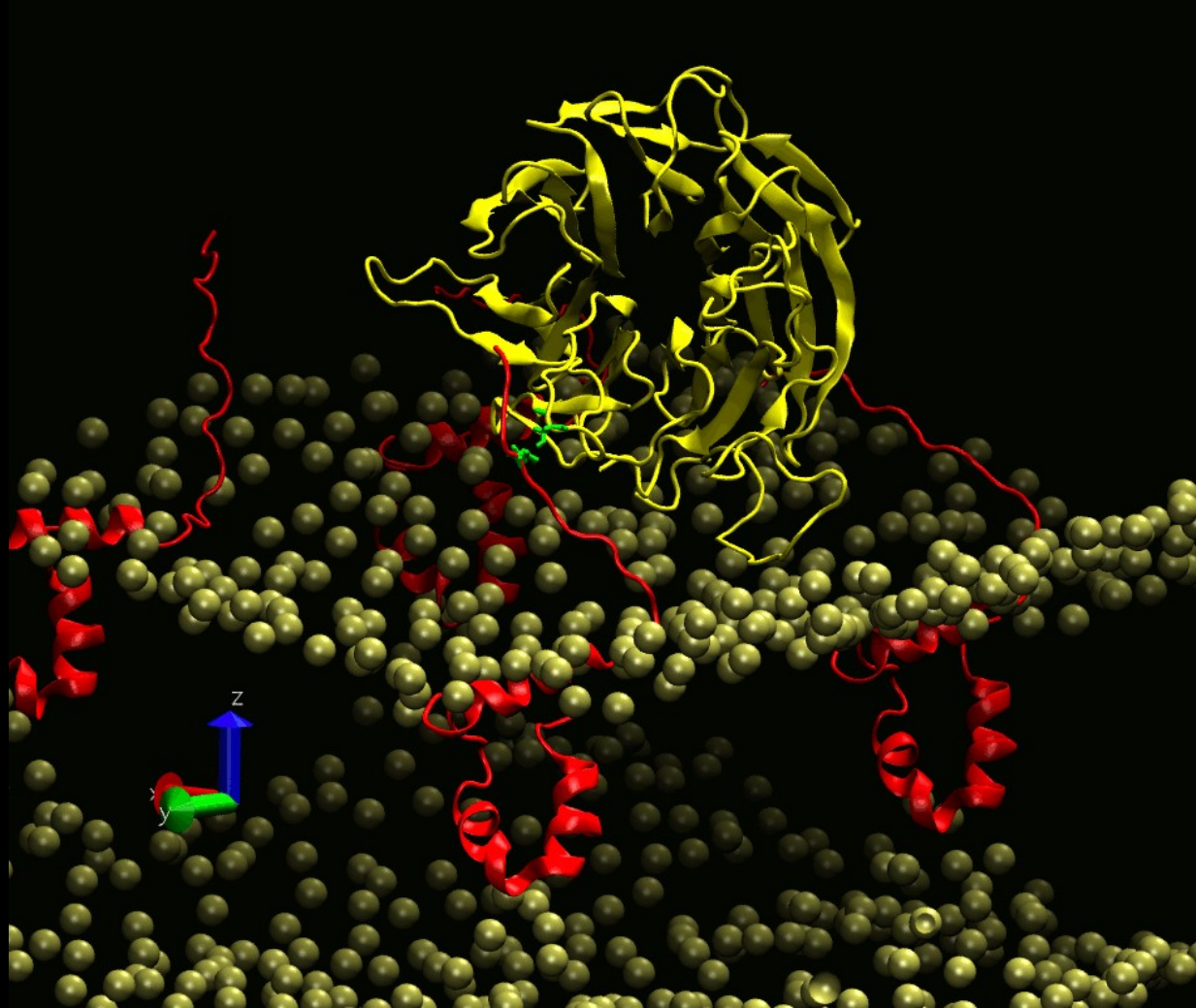
Модел 1 : ~ 350 ns



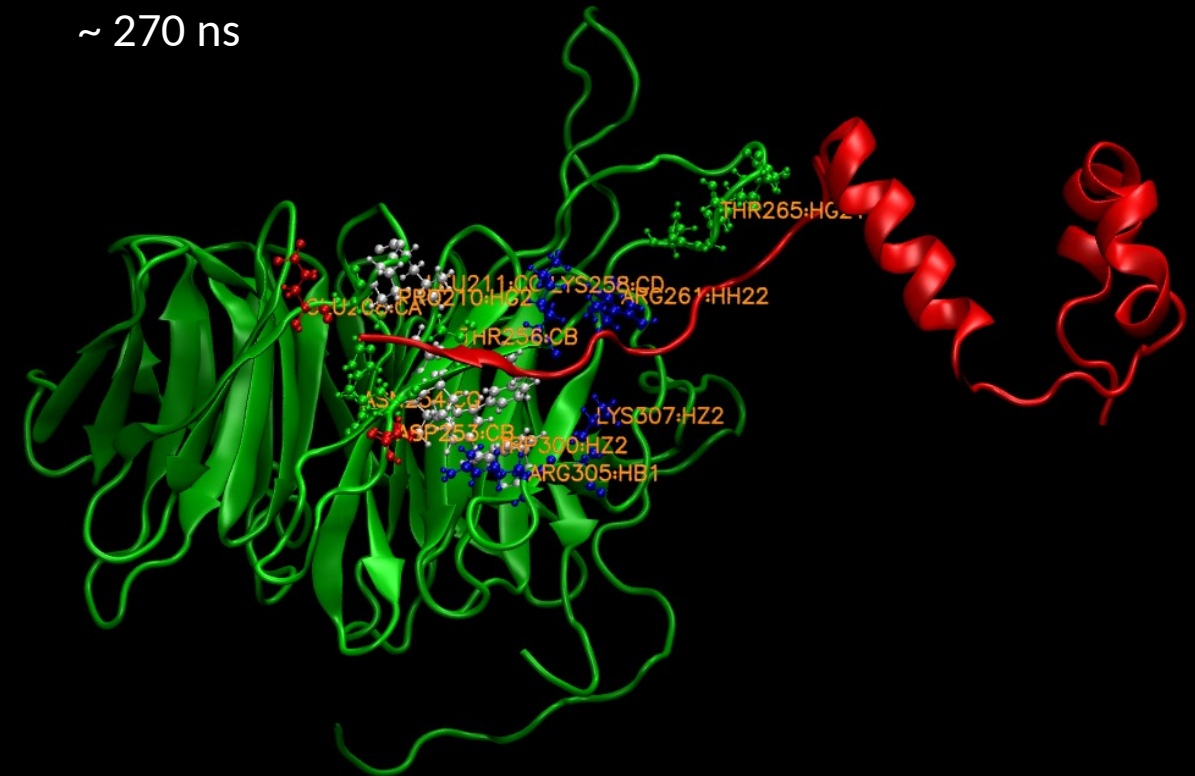
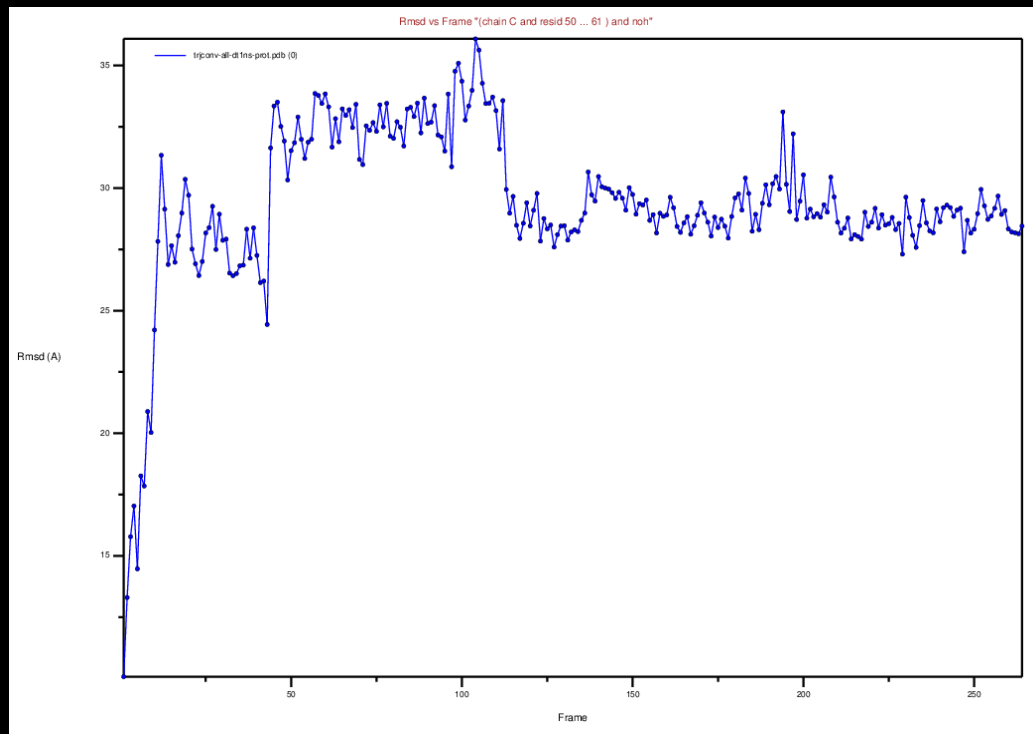
Модел 2 : ~ 1400 ns



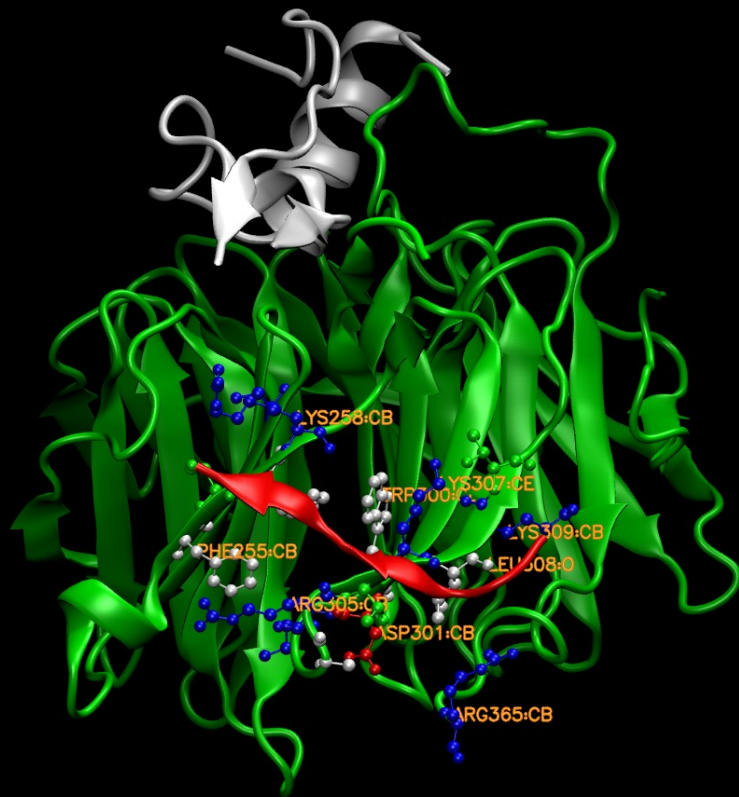
МД модел на взаимодействието на ORF6 в ER и RAE1



МД модел на взаимодействието на ORF6 в ER и RAE1



Експериментален комплекс на RAE1 и С-края на ORF6



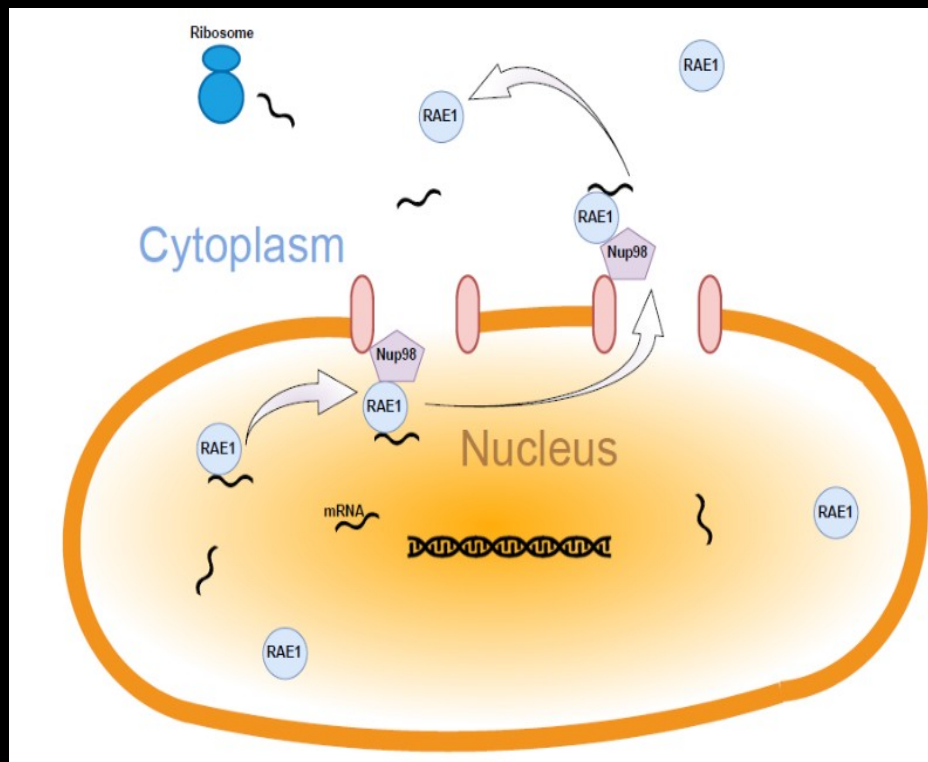
Front. Mol. Biosci., 12 January 2022

<https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.813248>

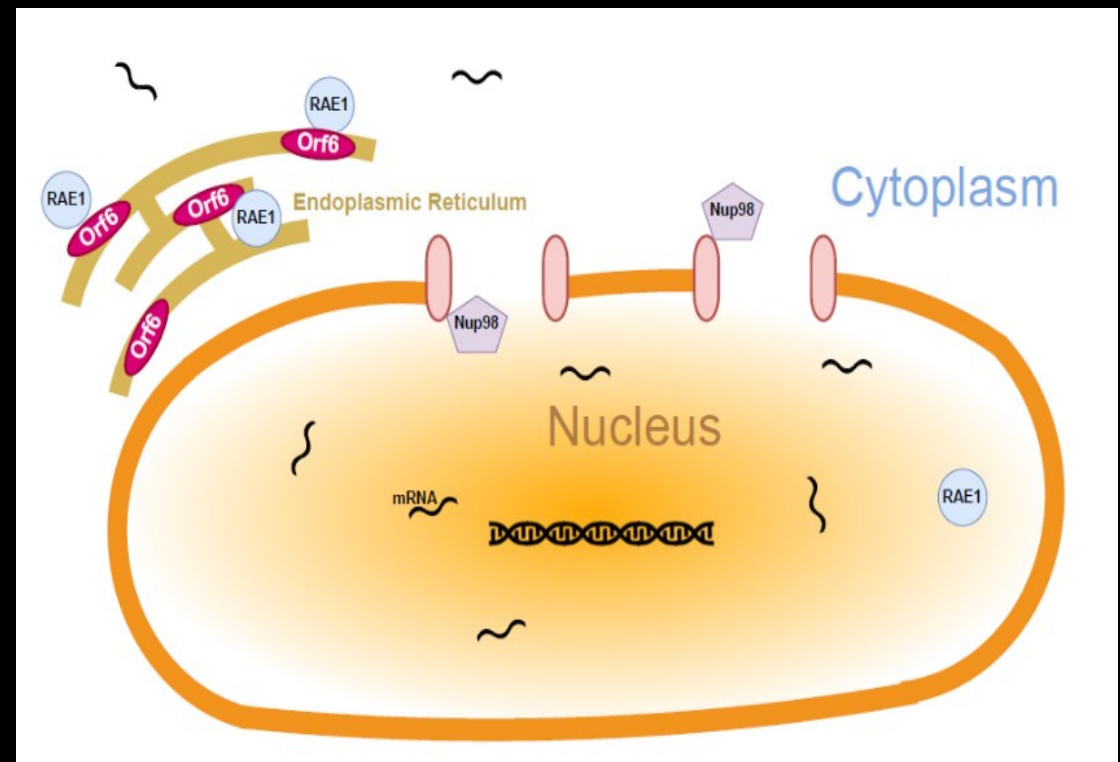
Експериментални данни за молекулния механизъм на таргетиране на комплекса Rae1-Nip98 от ORF6 на SARS-CoVs и конкуренция с ядрения транспорт на иРНК

Предложен модел на действие на ORF6

Здрава клетка



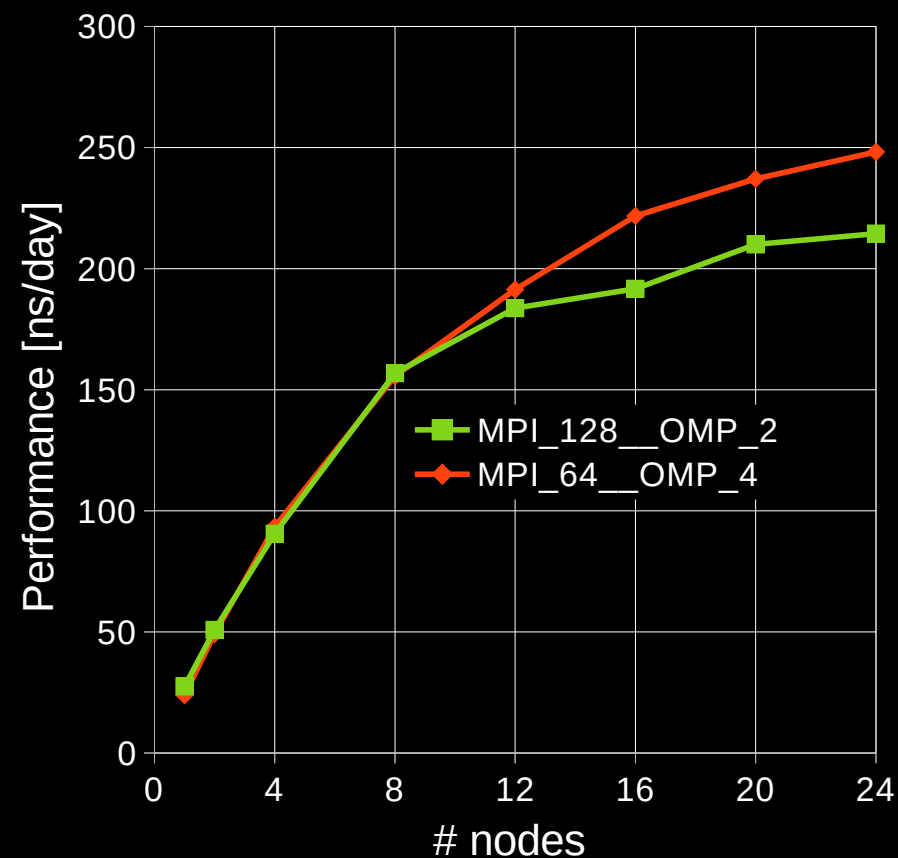
Заразена клетка



Скалируемост на симулациите

- Симулация ORF6+mem+RAE1:
~310000 атома
- Производителност на сървър
Fujitsu Primergy RX 2540 M4 с 48
ядра със CPU Intel Xeon Gold
5118 2.30GHz и NVIDIA Tesla
V100 32GB – **29.3 ns/day**.

Производителност на Discoverer,
GMX 2021.3, Intel compilers+MKL



Заклучение

- Разработен е първият структурен модел на ORF6 на SARS-CoV-2 във водна среда и в моделна мембрана на EP.
- Показано е, че С-края (последните ~ 21 а.к.), играещ ключова роля в свързването на ORF6, излиза от мембрана и се разгъва в цитоплазмата.
- Разработен е МД модел на взаимодействието на ORF6 в моделната мембрана и RAE1.
- Идентифицирани са контактите между двата белтъка.
- Резултатите от симулациите и експерименталните данни се съгласуват ОТЛИЧНО.

Благодарности

Тези изследвания са частично финансирана от ФНИ (договор КП-06-ДК 1/5/2021 SARSIMM).

Изчислителни ресурси бяха осигурени от високопроизводителния клъстер **BioSim** във ФзФ на СУ и от **Центъра за върхови постижения по Информатика и информационни и комуникационни технологии**, финансиран по договор BG05M2OP001-1.001-0003 по оперативна програма „Наука и образование за интелигентен растеж“ 2014 – 2020.

**Благодаря
за
вниманието!**