

MOLECULAR MODELING OF TCR- α MHC COMPLEXES



KNIGA ARTEM



ЦЕЛЬ

In silico определение антигенной специфичности
опухоль-инфильтрирующих Т-лимфоцитов.

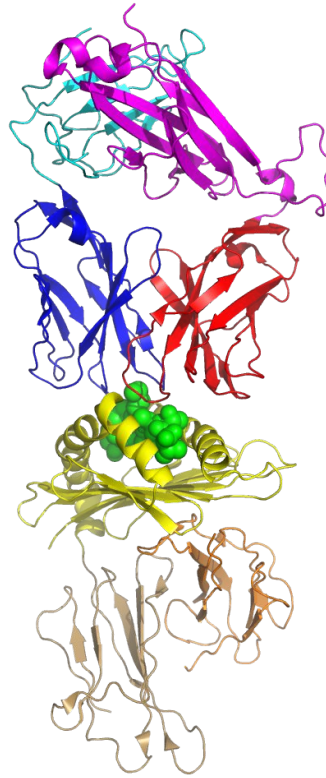
ЗАДАЧИ

1. Разработать метод моделирования TCR-pMHC.
2. Определить способно ли силовое поле Rosetta отличать энергетические характеристики агонистов иммунных рецепторов.
3. Обучить модели бинарного классификатора.

ВВЕДЕНИЕ

- Т-клеточные рецепторы позволяют осуществлять лимфоцитам контроль за клеточным перерождением, вызванным вирусным заражением или опухолеобразованием. Внеклеточная часть рецептора состоит из двух цепей (α, β), каждая состоит из двух фрагментов иммуноглобулиновой укладки: константного и переменного. (Рис 2a)
- Вторым компонентом данной системы является комплекс ГКГ и антигенного пептида - продукта деградации протеома сканируемой клетки в протеосомах. Для активации лимфоцита важна ориентация цепей иммунорецептора по отношению к ГКГ, контролируемая связывание CD8 с β -микроглобулином. (Рис 2b)

a



b

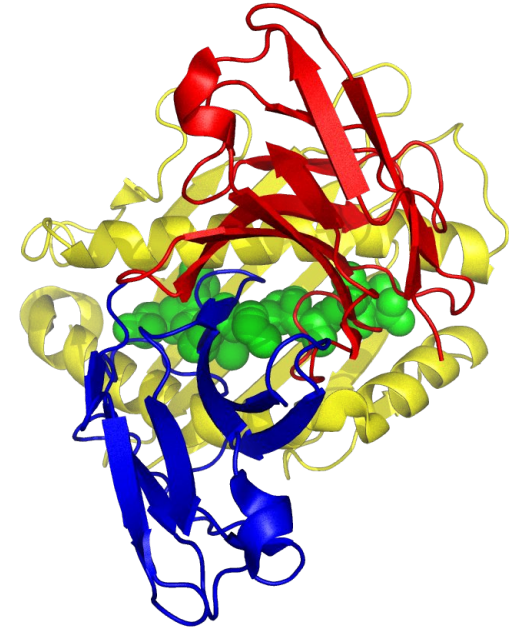


Рис. 1: а) ТК, б) он же, но сверху.

ВВЕДЕНИЕ

- Интерфейс молекулярного распознавания образуется центровым участком антигена (между якорными остатками) и CDR3 петлями иммунорецептора. (Рис. 3)
- Наибольшее влияние оказывает геометрическое соответствие молекулярных поверхностей, при этом конформация CDR3 может претерпевать изменение (до 1.5 Å RMSD).

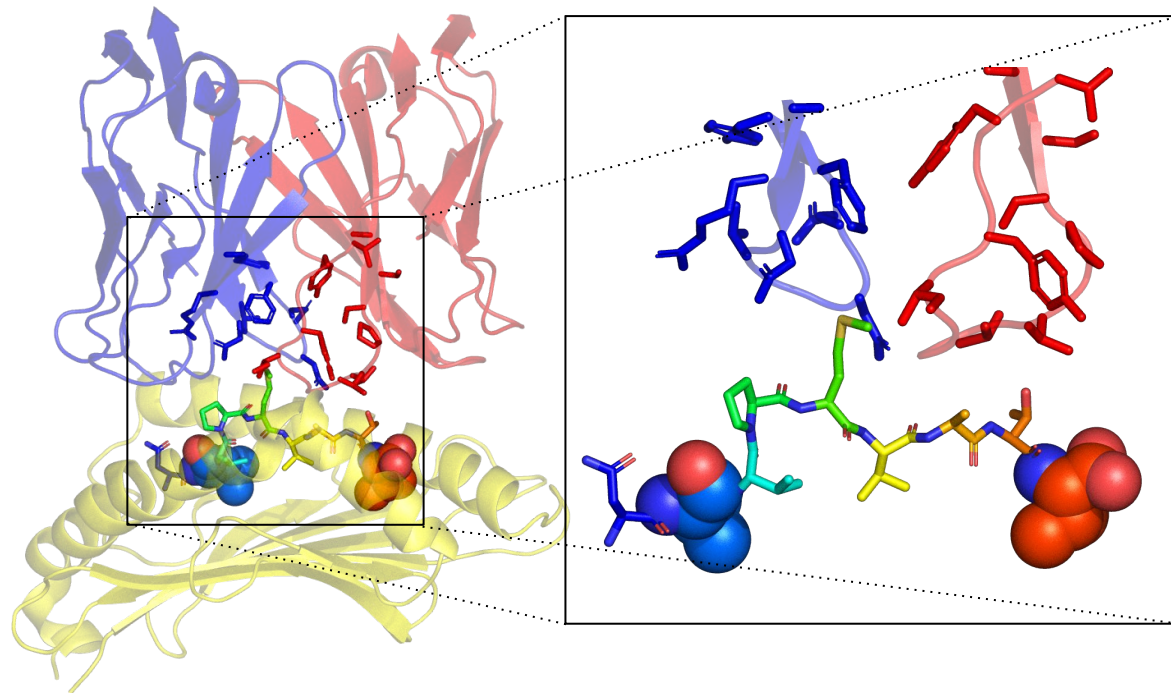


Рис. 2: слева, тройной комплекс целиком; справа, крупным планом: антиген (спектр), якорные остатки (сферически) и CDR3 α , β (синим и красным соответственно).

TetTCR-seq

Информация о секвенированных TCR с установленной специфичностью присутствует в нескольких открытых базах данных и была уже использована для обучения некоторых моделей классификаторов, например ERGO.

Zhang, SQ., Ma, KY., Schonnesen, A. et al. High-throughput determination of the antigen specificities of T cell receptors in single cells. *Nat Biotechnol* 36, 1156–1159 (2018). <https://doi.org/10.1038/nbt.4282>

Табл. 1: Стандартное представление TCR рецепторов в базах данных.

| name | TRAV | TRAJ | TRA_CDR3 | TRBV | TRBJ | TRB_CDR3 |
|-------|--------------|---------|-----------------|----------|---------|-------------------|
| 14770 | TRAV14/DV4 | TRAJ23 | CAEIYNQGGKLI | TRBV19 | TRBJ1-1 | CASSTPGGWNTAEFF |
| 14773 | TRAV5 | TRBJ2-6 | CAFSTAAGNKLT | TRBV30 | TRBJ1-2 | CAWSVSVYYGYTF |
| 14778 | TRAV38-2/DV8 | TRAJ43 | CAYYANDMRF | TRBV29-1 | TRBJ2-6 | CSVEAGGVSEAFF |
| 14780 | TRAV38-2/DV8 | TRAJ8 | CAMSEGFQKLV | TRBV27 | TRBJ1-5 | CASSPGQAE PQHF |
| 14782 | TRAV38-2/DV8 | TRAJ3 | CAVQSSYSSASKIIF | TRBV4-3 | TRBJ1-6 | CASSQEVGSSYNSPLHF |

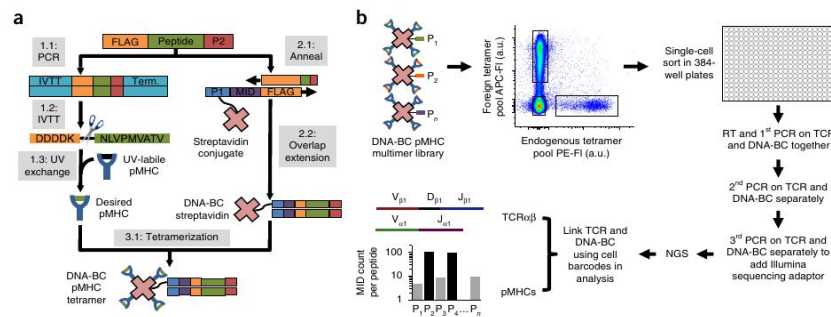


Рис. 3: схема эксперимента TetTCR-seq.

Моделирование по гомологии

Для моделирования по гомологии как TCR, так и pMHC удобно использовать Rosetta.

Для учёта подвижности CDR3 петель для каждой полученной модели можно произвести локальный конформационный поиск или моделирование молекулярной динамики.

Ragul Gowthaman, Brian G Pierce, TCRmodel: high resolution modeling of T cell receptors from sequence, *Nucleic Acids Research*, Volume 46, Issue W1, 2 July 2018, Pages W396–W401, <https://doi.org/10.1093/nar/gky432>

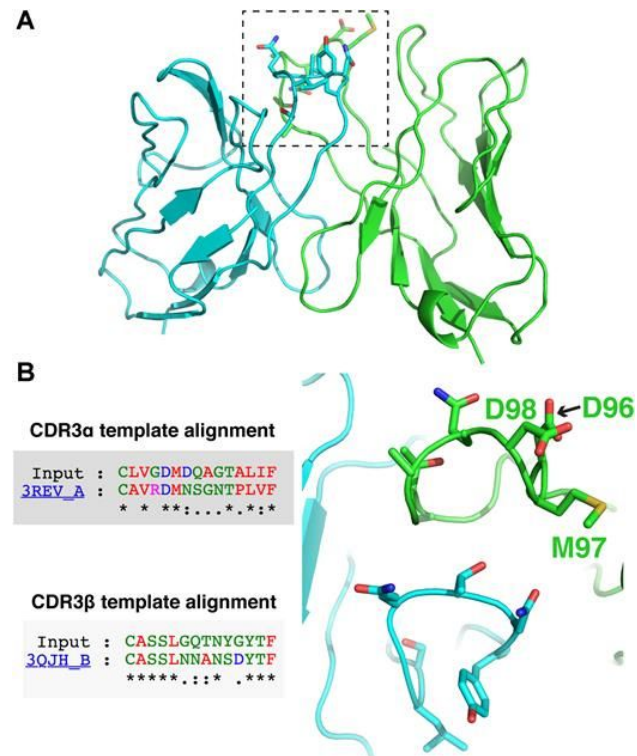


Рис. 4: TCRmodel, a) TCR, b) CDR3ab.

Alford R.F, Leaver-Fay, A., Jeliaskov, J.R. et al. The Rosetta all-atom energy function for macromolecular modeling. *J Chem Theory Comput* 13(6), 3031–3048. (2017). <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.7b00125>

Процедура докинга

Для ограничения конформационного пространства используем подходящие геометрические параметры, описывающие активирующую ориентацию иммунорецептора на ГКГ:

1. Расстояние от центра массы пептида до центров масс CDR3 $< 15\text{\AA}$.
2. Расстояния между центрами масс α и β цепи иммунорецептора и 2 и 1 альфа-спиралями ГКГ $< 30\text{\AA}$.

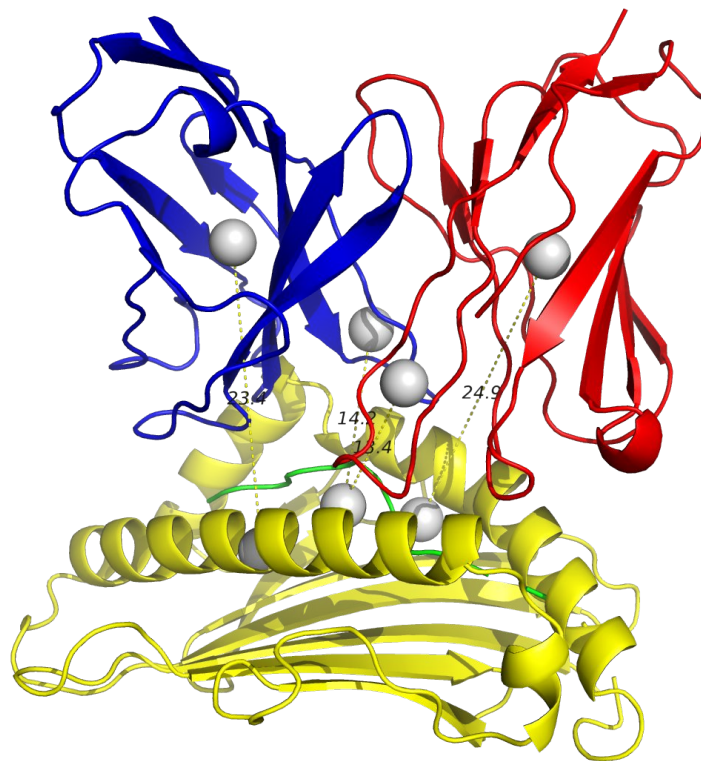


Рис. 5: Геометрические ограничения для ТК.

Различие оценок энергии REF2015

Для выборки агонистов каждого из 200 ТК были построены 1 модель рецептора и 1 модель лиганда, и получены 5 лучших моделей PatchDock. Для выборки же антагонистов, для каждой модели рецептора всего было получено 5 моделей, по 1 для каждого из 5 случайно выбранных лигандов. Для всех моделей после докинга проводилась минимизация энергии с помощью моделирования Монте-Карло (FastRelax). Для каждой модели были рассчитаны энергии диссоциации и заглубленная поверхность доступная растворителю (dSASA). На полученной парной выборке рецептор-агонист:рецептор-антагонист был проведен парный односторонний t-тест.

$$1) dG = (E_{TCR} + E_{pMHC} - E_{TCR-pMHC})/dSASA, [reu/nm^2]$$

- H_0 : Нет разницы, в среднем, между энергией диссоциации для структур ТК с агонистом и антагонистом. ($H_0: \mu = 0$)
- H_1 : Модели нативных ТК изменяют энергию диссоциации сильнее при мутации а.о. эпитопа в аланины, чем случайные ТК. ($H_1: \mu < 0$)

Значение парного одностороннего t-критерия $t(200)=-3.83$ и $p=1.67 \times 10^{-4}$, следовательно нулевую гипотезу H_0 можно отвергнуть.

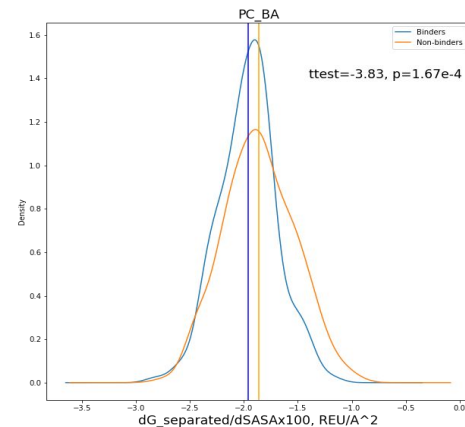
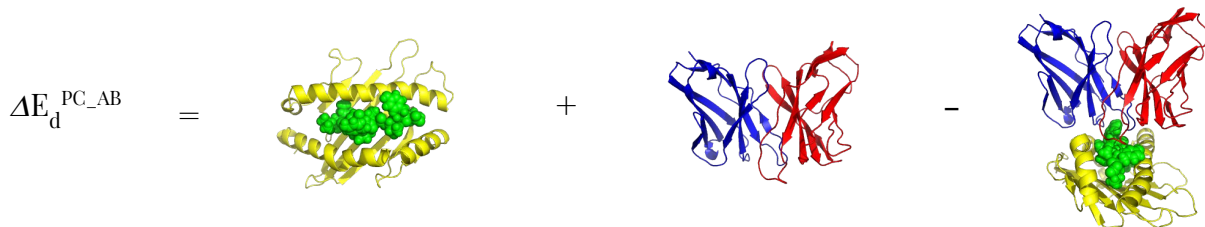
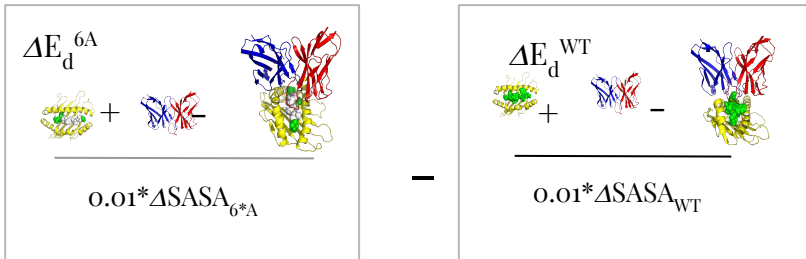


Рис 6. Распределения плотностей вероятности для dG для парных выборок агонист-неагонист.

Различие оценок энергии REF2015

$$\Delta E_{\text{rec}} = \frac{\Delta E_d^{6A}}{0.01 * \Delta \text{SASA}_{6A}} - \frac{\Delta E_d^{\text{WT}}}{0.01 * \Delta \text{SASA}_{\text{WT}}}$$


- 1) $dG = (E_{\text{TCR}} + E_{\text{pMHC}} - E_{\text{TCR-pMHC}}) / d\text{SASA}$, [reu/nm²]
- 2) $ddG = dG_{6A} - dG_{\text{WT}}$
- 3) $di = ddG_B - ddG_{\text{NB}}$, для TCR_i

- H_0 : Нет разницы, в среднем, между изменением энергии диссоциации при мутации эпитопа в аланин для структур ТК с аффинным и случайным антигеном. ($H_0: \mu_d = 0$)
- H_1 : Модели нативных ТК изменяют энергию диссоциации сильнее при мутации а.о. эпитопа в аланины, чем случайные ТК. ($H_1: \mu_d > 0$)

При замене аффинного эпитопа на случайный, относительная разница изменений энергий диссоциации при мутации центральных позиций в аланин составила $\mu_d = 7.209 \times 10^{-2}$ reu/nm², 95% CI [3.938×10^{-2} , 1.047×10^{-1}]. $\sigma_d = 2.03 \times 10^{-1}$. Размер эффекта по Коэну $d = 0.4$.

Значение парного одностороннего t-критерия $t(200) = 4.35$ и $p = 1.1 \times 10^{-5}$, следовательно нулевую гипотезу H_0 можно отвергнуть.

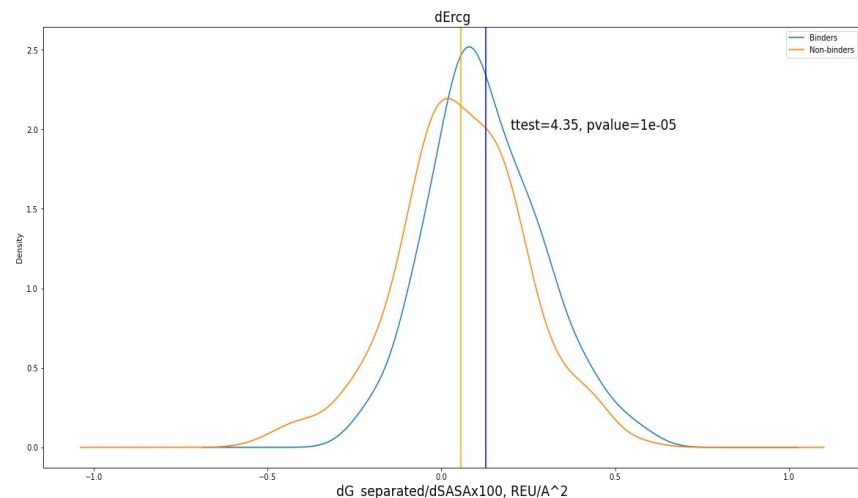


Рис. 7: Распределение плотности вероятности для значений E_{rec} для парных выборок агонист-неагонист.

Классификатор PatchDock

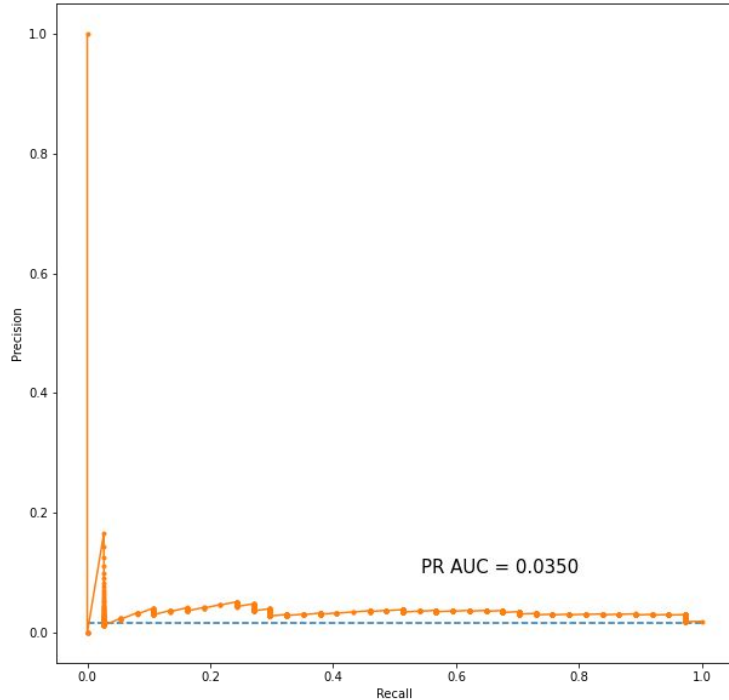


Рис. 8: PATCH DOCK,
Precision - Recall

Табл. 2. ANOVA и коэффициенты логистической регрессии для выборки TCR x pMHC, PATCHDOCK.

| F | p-value | ТЕРМ | ОПИСАНИЕ | coef. |
|----------------|------------------|-------|---|-----------|
| 6.6112 29 | 1.01454 7e-02 | as1 | геометрическая комплементарность только на основе антигена | 0.003706 |
| 59.149 924 | 1.57270 5e-14 | as2 | геометрическая комплементарность только на основе CDR3ab петель. | -0.004296 |
| 135.75 9883 | 3.29036 7e-31 | as12 | геометрическая комплементарность CDR3ab и антигена. | 0.042945 |
| 5.1719 41 | 2.29717 9e-02 | score | Комплементарность всего интерфейса | 0.000298 |

Классификатор REF2015

Табл. 3. ANOVA и коэффициенты логистической регрессии для выборки TCR x pMHC, REF2015.

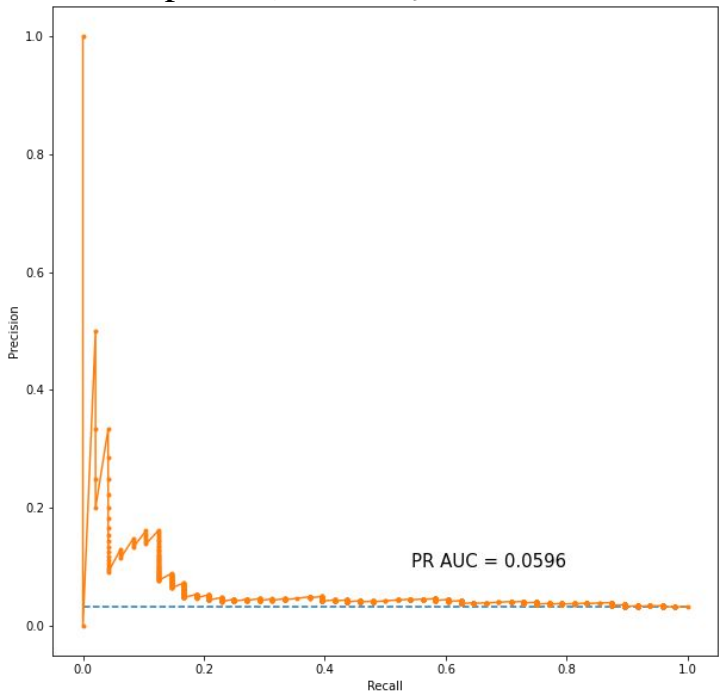


Рис. 9: REF2015, Precision - Recall

| F | p-value | TEPM | ОПИСАНИЕ | coef |
|------|---------|----------------------|---|---------------|
| 7.63 | 0.006 | dSASA_hphobic_WT | Площадь заглубленной гидрофобной поверхности на интерфейсе | -0.125 183 |
| 7.63 | 0.006 | omega_pA | Омега угол пептидных связей pA | 0.1750 43 |
| 7.16 | 0.007 | omega_WT | Омега угол пептидной связи WT | -0.081 550 |
| 5.97 | 0.014 | nres_int_WT | Число а.о. на интерфейсе WT | -0.142 679 |
| 4.68 | 0.031 | dSASA_int_WT | Площадь заглубленной поверхности | 0.0937 99 |
| 4.62 | 0.032 | delta_unsatHbonds_WT | Число заглубленных водородных связей на интерфейсе | -0.077 462 |
| 4.02 | 0.045 | nres_int_pA | Число остатков на интерфейсе pA | 0.0879 77 |
| 3.98 | 0.046 | fa_atr_WT | Притяжение потенциала Леннард-Джонса (диполь-дипольное индуцированное взаимодействие, электронная корреляция) | 0.0509 26 |
| 3.95 | 0.047 | rama_prepro_pA | Штраф за мутации пролина в аланины. | 0.0315 92 |

ВЫВОД

- Разработан новый подход молекулярного моделирования TCR-pMHC комплексов.
- Показана его способность различать структуры агонистических ТК от случайных.
- Получены модели классификатора TCR-pMHC на основе логистической регрессии, дана оценка их эффективности.