

프로그래밍을 통한 병원성 미생물의 내산성 저해 후보물질 탐색

2022-2 파란학기 참여팀 pH-2

응용화학생명공학과 이경문

응용화학생명공학과 조재윤

지도교수 : 윤현진 교수님



1.파란학기제 지원 동기

깨야 깨닫는다-

파·란·학·기·제

아주대학교 도전학기 프로그램

[파란]

1. 아주대학교의 상징색(아주블루)
2. 희망, 꿈, 도전
3. 알에서 깨어나다. 세상에 나아가다. 틀을 깨다.

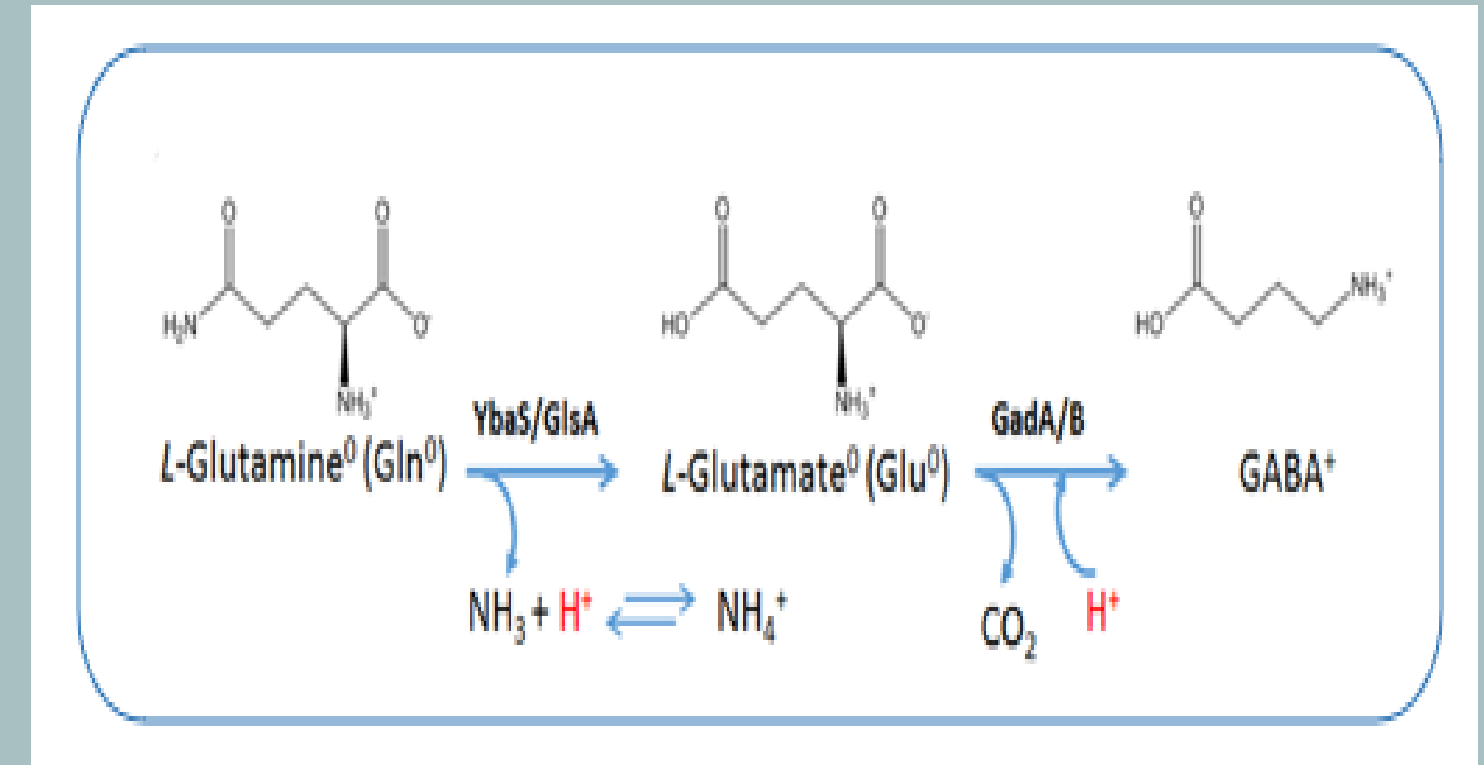


Index

-
1. 파란학기제 지원 동기
 2. 주제 배경
 3. 프로젝트 진행 내용
 - 3-1. 주차 별 계획 설정
 - 3-2. Docking 모의 실험
 - 3-3. 유의미한 후보군 추리기
 - 3-4. Wet 실험 설계
 - 3-5. 실험 결과 및 분석
 4. 프로젝트 기대 효과
-



2. 주제 배경



- 대장균은 치명적인 수준 이하로 세포 내 양성자의 농도를 유지하는 산 저항 메커니즘을 통해 극단적인 산성 환경에서도 생존 가능
- GABA(γ -Aminobutyric acid)를 형성함으로써 과잉 양성자를 사용하고 내산성을 나타냄
- Glutamate와 Glutamic acid decarboxylase(GAD)B가 결합하여 GABA로 전환되는 과정에서 CO_2 가 발생하고 proton을 사용하게 되는 과정이 병원성 미생물이 내산성을 갖추는 데 영향
- 이 때 관여하는 조효소 Vit B6도 내산성 기작에 영향



2. 주제 배경

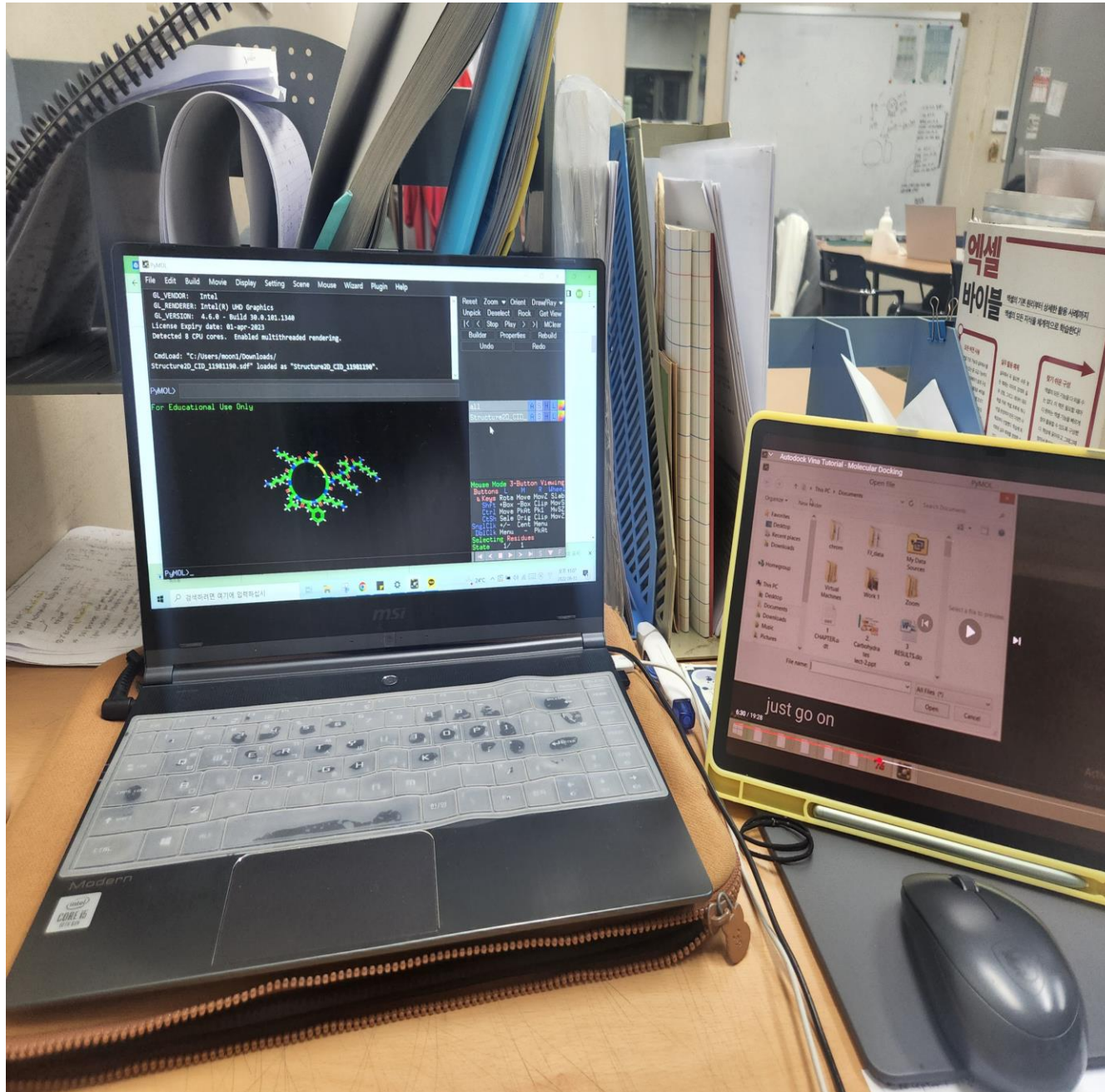
Docking program을 통한
도킹 모의 실험 진행

유의미한 후보군
추리기

미생물 실험으로
실제 내산성 효과
증명



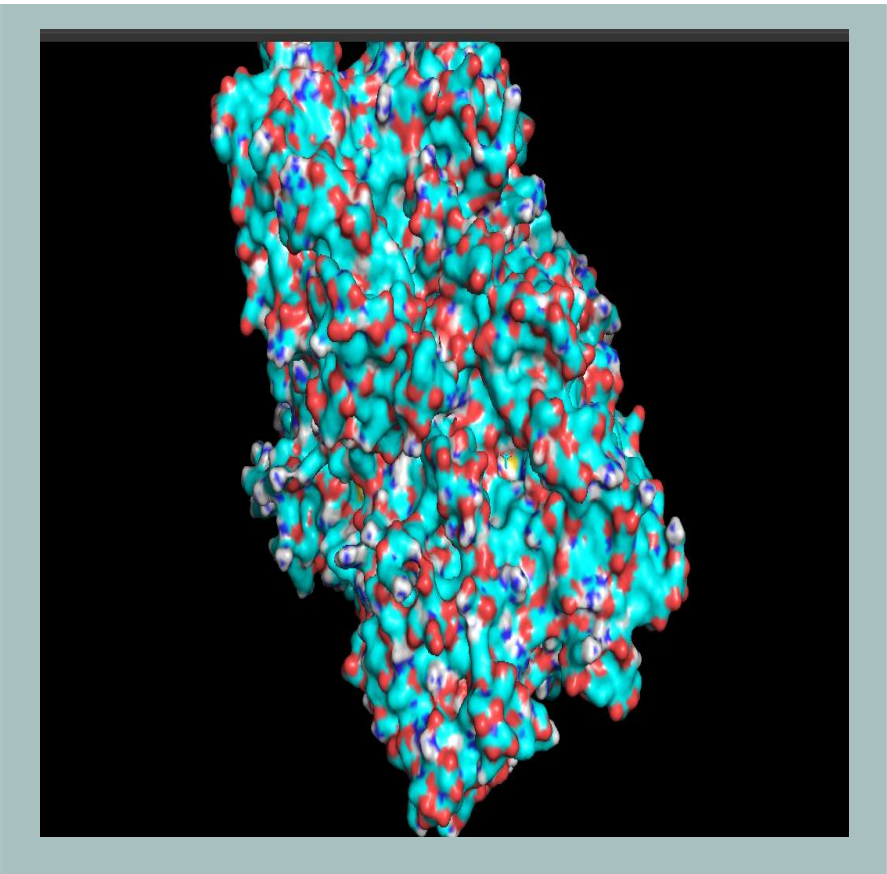
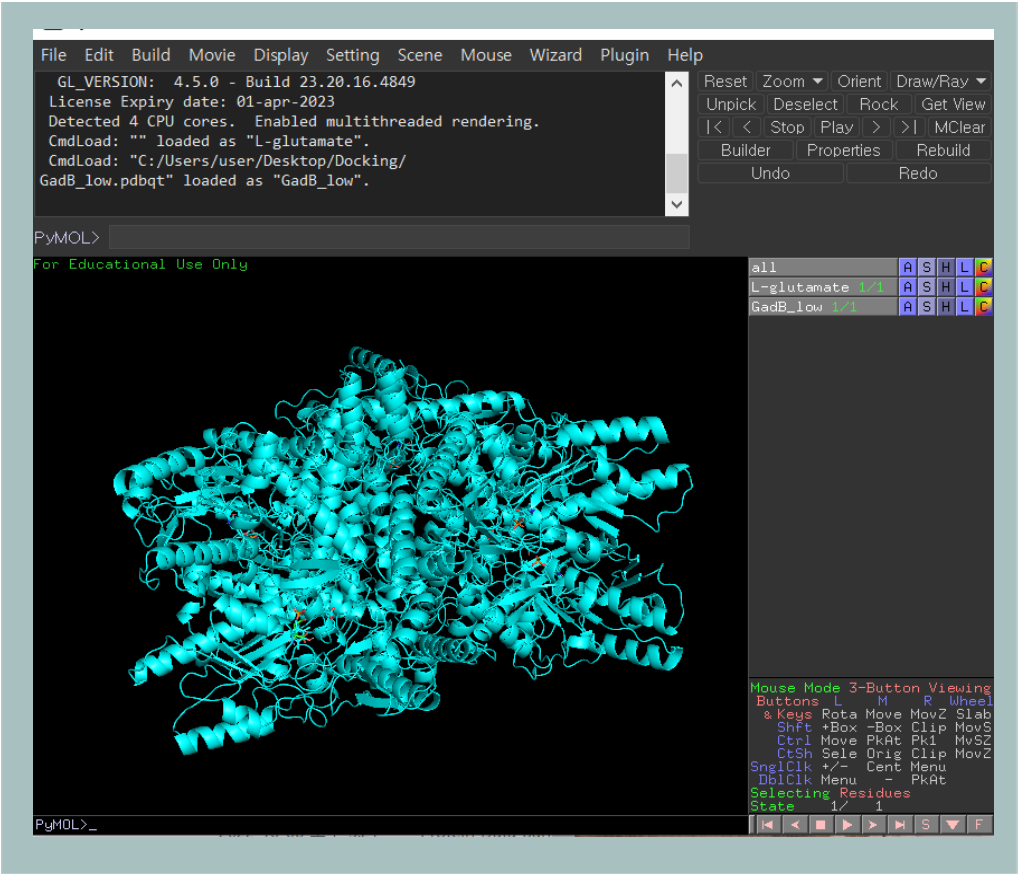
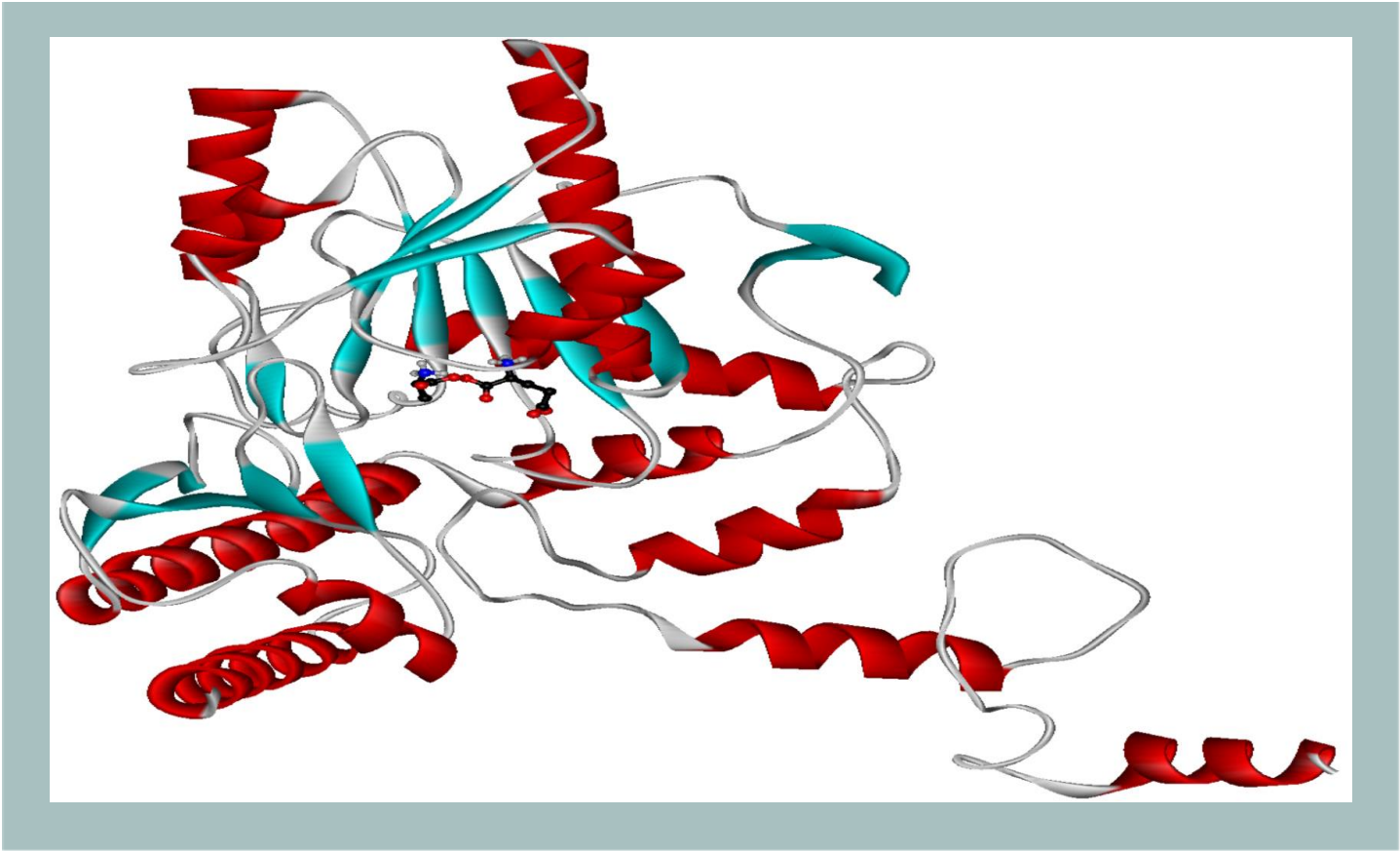
3. Docking 모의 실험



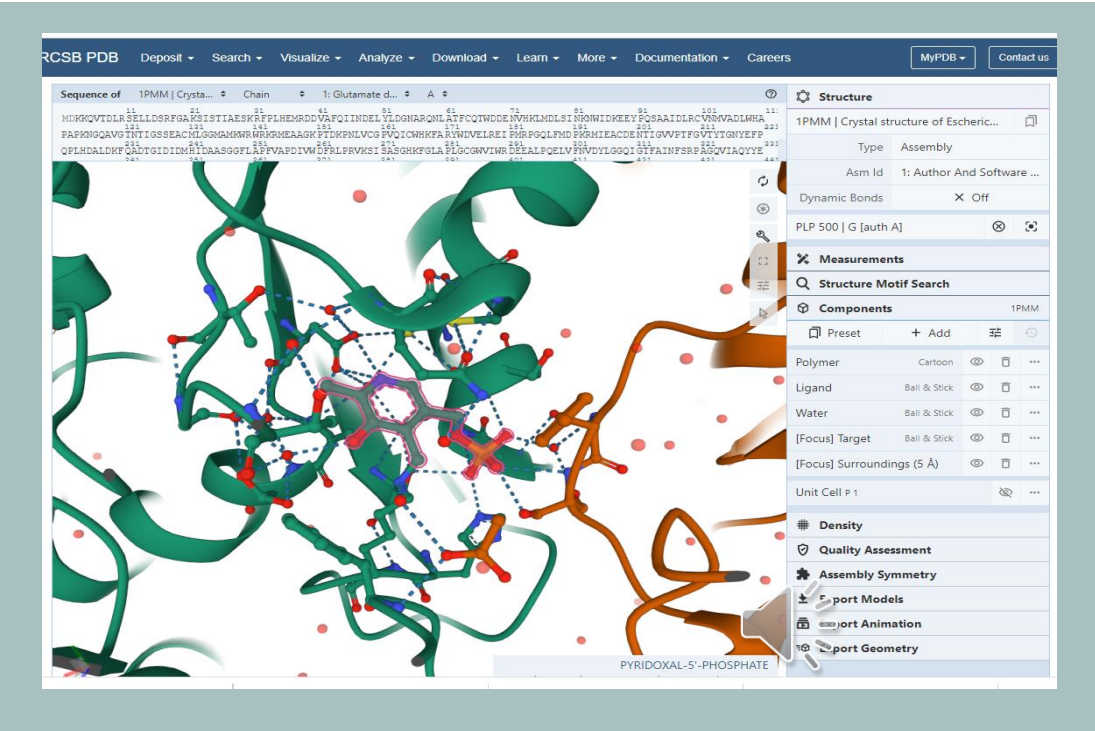
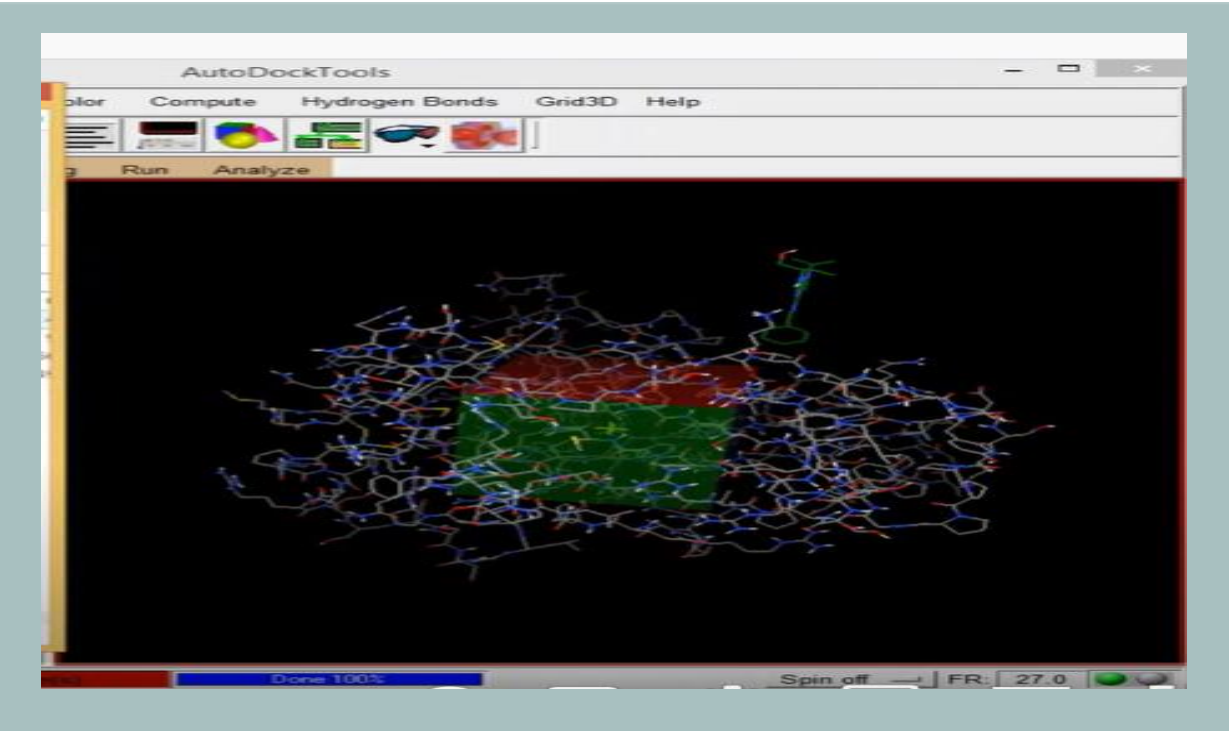
- Protein과 Ligand의 docking이 가능한가?
 - 우리가 사용할 단백질 시각화 프로그램인 'PyMol'과 호환 가능한가?
 - 참고 가능한 최신 자료들이 다양한가?
- Autodock3를 사용하여 Docking 모의 실험 진행



3. Docking 모의 실험



USER Number of conformations in this cluster = 9	
USER RMSD from reference structure = 2.209 Å	
USER Estimated Free Energy of Binding = -15.16 kcal/mol [(1)+(3)]	
USER Estimated Inhibition Constant, K _i = +7.73e-12 [Temperature = 298.15 K]	
USER Final Docked Energy = -15.36 kcal/mol [(1)+(2)]	
USER (1) Final Intermolecular Energy = -15.16 kcal/mol	
USER (2) Final Internal Energy of Ligand = -0.20 kcal/mol	
USER (3) Torsional Free Energy = +0.00e+00 kcal/mol	
USER DPF = ligprot.dpf	
USER NEWDPF move lig.pdbq	
USER NEWDPF about 2.251000 28.476000 -21.665001	
USER NEWDPF tran0 1.753349 29.565416 -21.374073	
USER NEWDPF quat0 0.138943 -0.945291 -0.295162 77.911260	
USER NEWDPF ndihe 5	
USER NEWDPF dihe0 -113.12 -73.33 160.43 80.64 14.50	
USER	
ATOM	x y z vdW Elec q RMS
1 O1 <1>	1 5.081 29.816 -21.467 -0.75 -0.49 -0.541 2.209
2 O3 <1>	1 4.179 28.293 -22.619 -0.27 -1.28 -0.541 2.209
3 C9 <1>	1 4.122 29.388 -22.088 -0.94 +0.12 +0.091 2.209
4 C7 <1>	1 2.867 30.215 -22.198 -1.11 -0.01 +0.103 2.209
5 C6 <1>	1 1.877 29.787 -21.113 -1.11 +0.02 +0.062 2.209
6 C8 <1>	1 0.913 28.746 -21.685 -1.12 +0.03 +0.051 2.209
7 C10 <1>	1 1.255 27.388 -21.130 -0.85 +0.07 +0.044 2.209
8 O2 <1>	1 1.689 26.519 -21.868 -0.72 -1.05 -0.546 2.209
9 O4 <1>	1 1.098 27.156 -19.943 -0.56 -0.89 -0.546 2.209
10 N5 <1>	1 3.200 21.636 -27.026 -0.47 -0.48 -0.734 2.209



3-2. 유의미한 후보군 선별

ligandk11	-12.62	kcal/mol
ligandk82	-12.49	kcal/mol
ligandk25	-12.41	kcal/mol
ligandk53	-12.4	kcal/mol
ligandk32	-12.37	kcal/mol
ligandk57	-12.33	kcal/mol
ligandk34	-12.32	kcal/mol
ligandk89	-12.26	kcal/mol
ligandk59	-12.2	kcal/mol
ligandk97	-12.17	kcal/mol
ligandk70	-12.15	kcal/mol
ligandk29	-12.09	kcal/mol
ligandk64	-12.06	kcal/mol
ligandk48	-12.04	kcal/mol
ligandk88	-11.97	kcal/mol
ligandk35	-11.93	kcal/mol
ligandk83	-11.89	kcal/mol
ligandk96	-11.82	kcal/mol
ligandk75	-11.77	kcal/mol
ligandk8	-11.73	kcal/mol
ligandk71	-11.71	kcal/mol
ligandk67	-11.7	kcal/mol
ligandk41	-11.66	kcal/mol
ligandk94	-11.58	kcal/mol
ligandk103	-11.57	kcal/mol
ligandk19	-11.54	kcal/mol
ligandk39	-11.5	kcal/mol
ligandk13	-11.48	kcal/mol
ligandk43	-11.47	kcal/mol
ligandk85	-11.47	kcal/mol
ligandk9	-11.46	kcal/mol
ligandk21	-11.42	kcal/mol

P9630 ▶ Sigma-Aldrich

4-Pyridoxic acid

★★★★★ (0)

≥ 98%

동의어(들):
2-Methyl-3-hydroxy-4-carboxy-5-hydroxymethylpyridine, 3-Hydroxy-5-hydroxymethyl-2-methyl-4-pyridinecarboxylic acid

Empirical Formula (Hill Notation):
C₈H₉NO₄

CAS Number: 82-82-6 Molecular Weight: 183.16 EC Number: 201-440-8

MDL number: MFCD00006334 PubChem Substance ID: 57654574 NACRES: NA.22

제품번호	팩 크기	재고 정보	가격	수량
P9630-25MG	25 MG	출고 가능일 2022년 10월 31일 세부사항...	₩112,900	- + ⓘ
P9630-100MG	100 MG	예상 입고일 2022년 11월 28일 세부사항...	₩186,100	- + ⓘ

문서
↓ SDS
Q COO/COA
📄 Specification Sheet
추가 자료 >>

PHR1036 ▶ Supelco

Pyridoxine hydrochloride

★★★★★ (0)

Pharmaceutical Secondary Standard; Certified Reference Material

동의어(들):
3-Hydroxy-4,5-bis(hydroxymethyl)-2-picoline hydrochloride, Adenine hydrochloride, PN HCl, Pyridoxal hydrochloride, Vitamin B₆ hydrochloride

Empirical Formula (Hill Notation):
C₈H₁₁NO₃ · HCl

CAS Number: 58-56-0 Molecular Weight: 205.64 Beilstein: 3632435

EC Number: 200-386-2 MDL number: MFCD00012807 PubChem Substance ID: 329823066

NACRES: NA.24

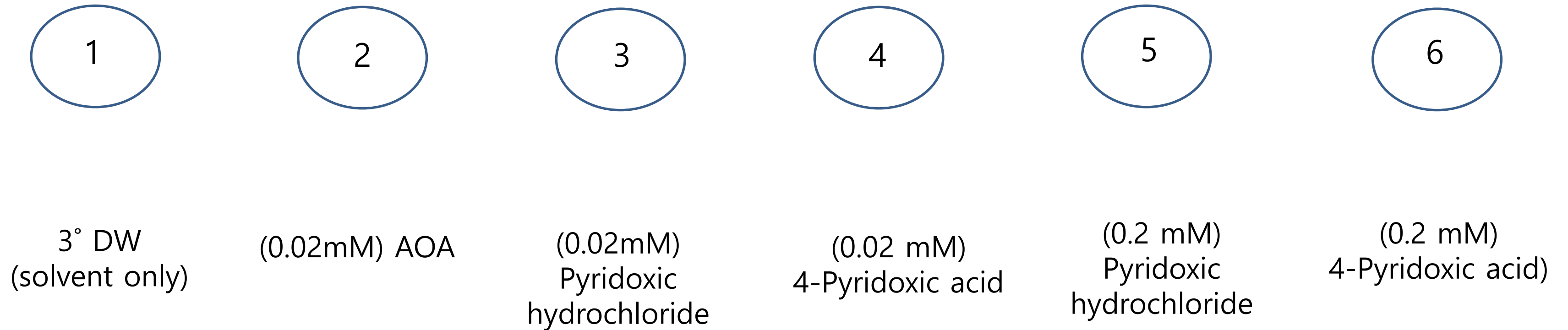
제품번호	팩 크기	재고 정보	가격	수량
PHR1036-500MG	500 MG	출고 가능일 2022년 10월 31일 세부사항...	₩136,000	- + ⓘ

문서
↓ SDS
Q COO/COA
추가 자료 >>



3. 프로젝트 진행 내용

(4) Wet 실험 설계: *E. coli* MG1655, M9최소배지, pH5.5, 37도씨



3. 프로젝트 진행 내용

(4) Wet 실험 설계: *E. coli* MG1655, M9최소배지, pH5.5, 37도씨

1. 병원성 박테리아 *E. coli* MG1655를 LB broth, 중성 조건(pH7)에서 배양한다.
(1차 pre-culture)
2. 약 7-8hr 후 균주를 M9최소배지로 옮겨 overnight 배양 (2차 pre-culture)
3. pH5.5, 37도씨에서 키우면서 1시간마다 미생물 OD 측정 (main-culture)
4. 산성 조건에서 병원성 미생물의 growth curve를 그린다.

OD값 ↑, 미생물 수 ↑



3. 프로젝트 진행 내용

(4) Wet 실험 설계: *E. coli* MG1655, M9최소배지, pH5.5, 37도씨



배지 제작



2 set, 6 groups

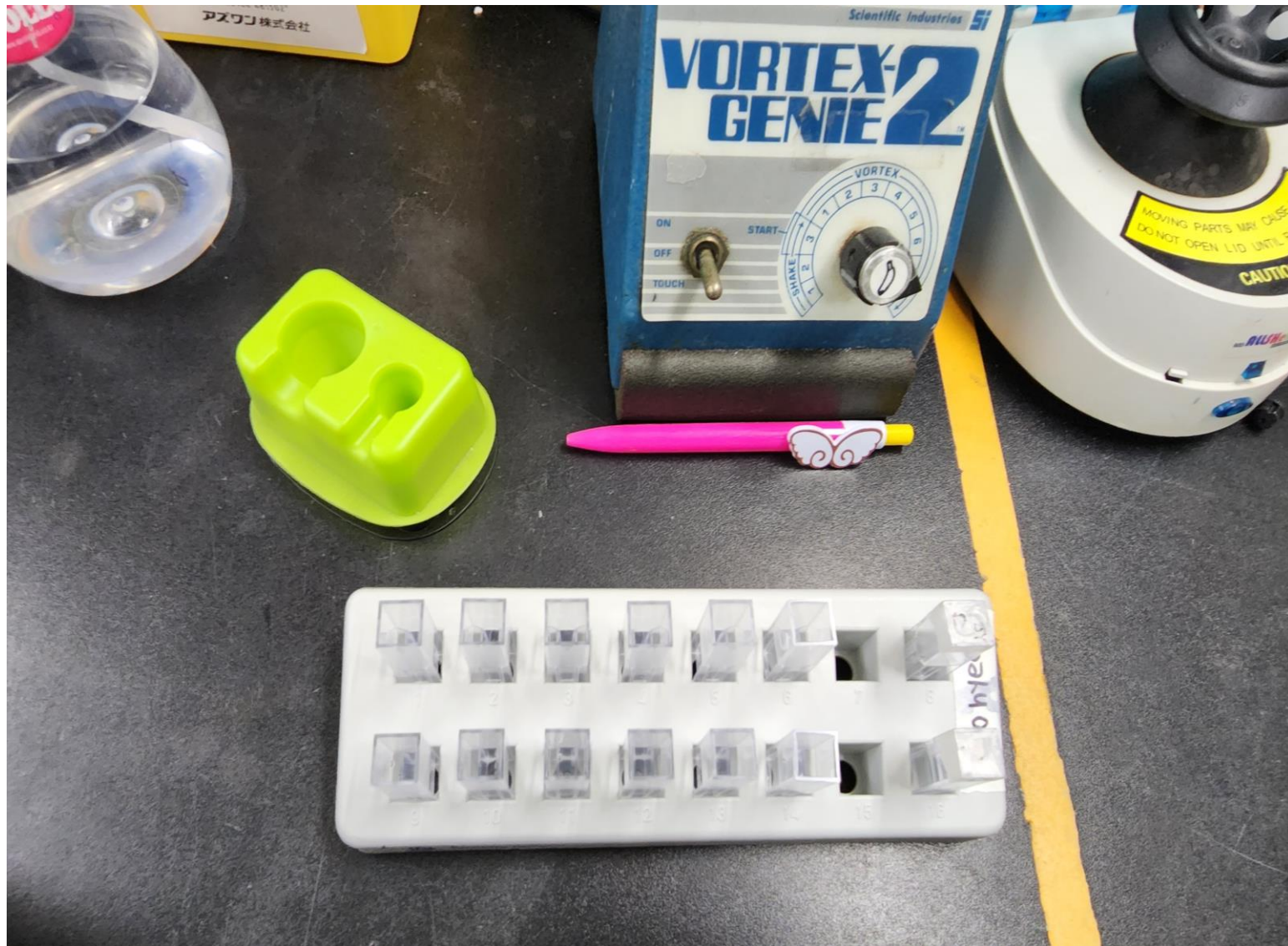


incubation

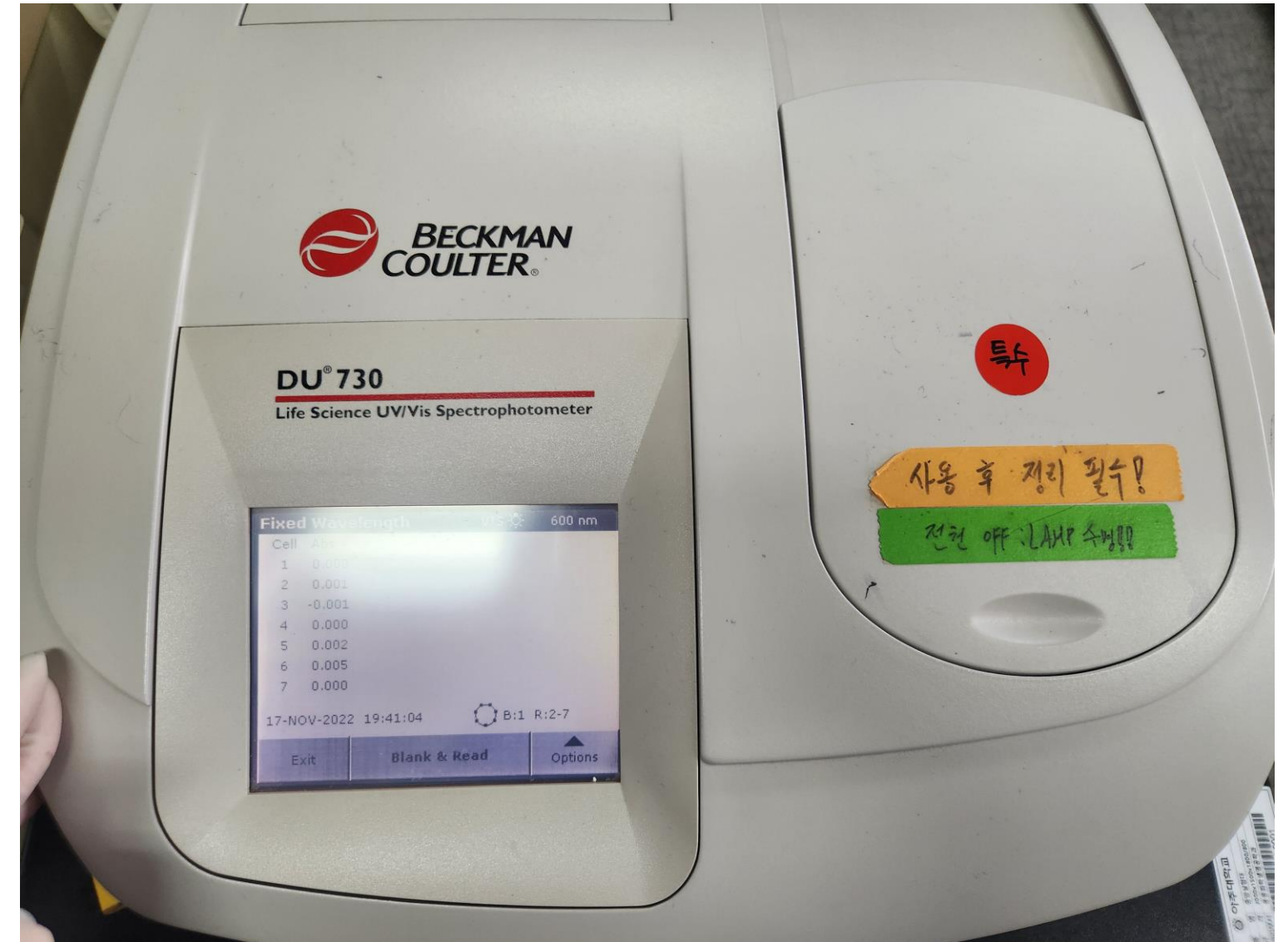


3. 프로젝트 진행 내용

(4) Wet 실험 설계: *E. coli* MG1655, M9최소배지, pH5.5, 37도씨



큐벳에 담긴 시료

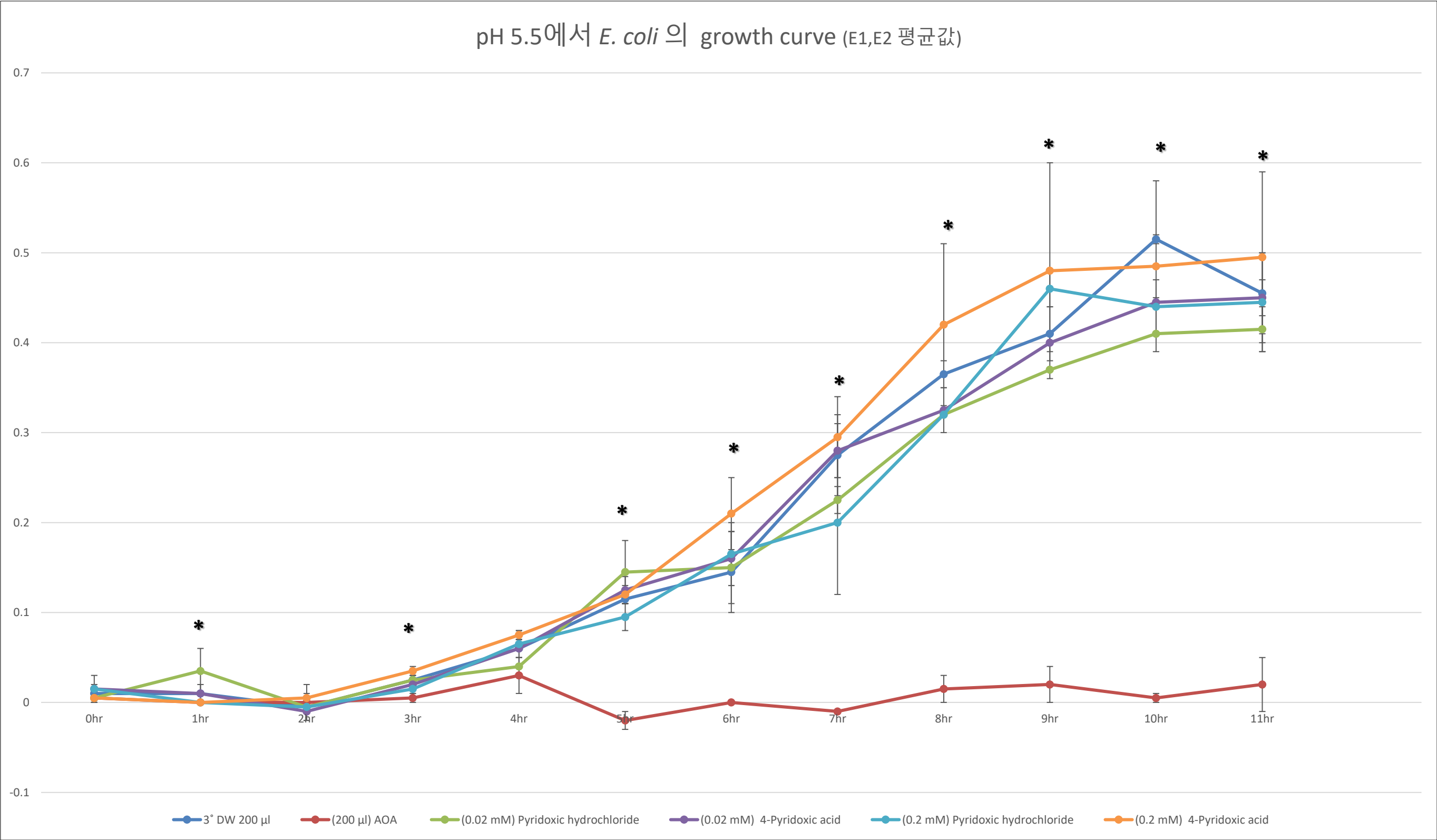


흡광도 측정 기기



3. 프로젝트 진행 내용

(5) 실험결과 및 분석



화합물	도킹에너지 (kcal/mol)
vitB6	-11.42
Aminooxyacetic acid(AOA)	-12.13
pyridoxine hydrochloride	-12.09
4-Pyridoxic acid	-12.37

4. 프로젝트 기대효과

