



**TURKISH CHEMICAL SOCIETY**  
Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry  
Owned by the Turkish Chemical Society  
Correspondence e-mail: [jotcsa@turchemsoc.org](mailto:jotcsa@turchemsoc.org)  
Founded in February, 2014

## **A MOLECULAR DYNAMICS STUDY OF THE HEAT SHOCK PROTEIN**

### **Hsp70**

## **ISI ŞOK PROTEİNİ Hsp70'İN MOLEKÜLER DİNAMİK SİMÜLASYONLARI İLE İNCELENMESİ**

Bülent Balta\*<sup>1</sup>, Gizem Dinler-Doğanay<sup>1</sup>

Istanbul Technical University, Department of Molecular Biology and Genetics, Maslak, Istanbul,  
Turkey

\*Corresponding author. [bbalta@itu.edu.tr](mailto:bbalta@itu.edu.tr)

## **ABSTRACT**

Heat shock protein Hsp70 is a chaperon which helps folding of other proteins. It consists of two domains: a nucleotide binding domain where ATP or ADP binds and a substrate binding domain where the protein to be folded binds [1]. In the presence of ATP, the substrate affinity of Hsp70 is low. Binding of a substrate triggers ATP hydrolysis. In ADP bound form, the substrate affinity is high [1]. The allosteric communication between the two domains is mediated by a linker. The ATPase activity is pH dependent, the optimum pH being around 7.5 [2].

This study aims at understanding the role of the linker in triggering the ATP hydrolysis and the origin of the pH dependence of the reaction using molecular dynamics simulations.

It is experimentally known that an Hsp70 construct containing only the nucleotide binding domain and the linker has the same ATPase rate as the full length Hsp70. Hence, in order to reduce the computational cost, simulations have been made on a truncated Hsp70 structure. Several simulations with different nucleotide states (ATP bound, ADP bound or nucleotide free) and with different starting geometries have been carried out in order to determine possible positions of the linker and its effect on the active site arrangement. Moreover, pKa values of some important residues inside or near the active site [3, 4] have been calculated via thermodynamic integration simulations.

Thermodynamic integration simulations indicate that Asp194 and Asp201 have elevated pKa values, suggesting that these residues may be protonated at pH 7.5. Asp8 and Glu171 have lower pKa values, hence are probably unprotonated. Simulations with different protonation states of Asp194 and Asp201 have been carried out. It has been observed that the protonation states of these residues affect the conformational behavior of Hsp70.

## **Keywords**

Heat shock protein, Hsp70, molecular dynamics simulations, pKa calculations.

## ÖZET

Isı şok proteini Hsp70 başka proteinlerin katlanmasına yardımcı olan bir şaperon proteindir. ATP ya da ADP'nin bağlanabildiği bir nükleotit bağlanma domeni ve katlanacak proteinin bağlandığı bir substrat bağlanma domeni olmak üzere iki domenden oluşur [1]. ATP varlığında Hsp70'in substrat ilgisi düşüktür. Substrat bağlanması ATP hidrolizini tetikler. ADP bağlı halde substrat ilgisi yüksektir [1]. İki domen arasındaki allosterik iletişim bir bağlaç tarafından sağlanır. ATPaz aktivitesi pH bağımlıdır ve optimum pH 7.5 civarındadır [2].

Bu çalışma, ATP hidrolizinin tetiklenmesinde bağlacın rolünün ve tepkimenin pH bağımlılığının kaynağının moleküler dinamik simülasyonları yoluyla anlaşılmasını hedeflemektedir.

DeneySEL olarak yalnızca nükleotit bağlanma domeni ve bağlacı içeren bir Hsp70 yapısının tüm dizim Hsp70 ile aynı ATPaz hızına sahip olduğu bilinmektedir. Bu yüzden, hesap zamanını azaltmak amacıyla, simülasyonlar bu kısaltılmış Hsp70 yapısı üzerinde gerçekleştirildi. Farklı nükleotit bağlanma halleri (ATP bağlı, ADP bağlı, nükleotitsiz) ve farklı başlangıç geometrileri ile çok sayıda simülasyon gerçekleştirilerek bağlacın olası konumları ve bunun aktif bölge düzenlenmesine etkisi araştırıldı. Ayrıca, aktif bölge içinde ya da yakınında bulunan bazı önemli amino asitlerin [3, 4] pKa'ları termodinamik integrasyon simülasyonları ile hesaplandı.

Termodinamik integrasyon simülasyonları Asp194 ve Asp201 kalıntılarının yüksek pKa değerlerine sahip olduğunu ve pH 7.5 civarında protonlu halde bulunabileceklerini gösterdi. Asp8 ve Glu171'in pKa'larının daha düşük olduğu ve muhtemelen protonsuz halde oldukları gözlemlendi. Asp194 ve Asp201'in farklı protonlanma halleri ile simülasyonlar yapıldı. Bu kalıntıların Hsp70'in konformasyonel davranışını etkilediği görüldü.

## Anahtar Kelimeler

Isı şok proteini, Hsp70, moleküler dinamik simülasyonları, pKa hesaplamaları.

## Kaynaklar / References

- [1] M. P. Mayer and B. Bukau, CMLS, Cell. Mol. Life Sci., 62, 670-684, (2005).
- [2] J. F. Swain, G. Dinler, R. Sivendran, D. L. Montgomery, M. Stotz, L. M. Gierasch, Molecular Cell, 26, 27-39, (2007).
- [3] S. M. Wilbanks, C. DeLuca-Flaherty, D. B. McKay, J. Biol. Chem., 269, 12893-12898, (1994).
- [4] K. M. Flaherty, S. M. Wilbanks, C. DeLuca-Flaherty, D. B. McKay, J. Biol. Chem., 269, 12899-12907, (1994).