

## Взаимодействия. Субстратная специфичность

### PoseView

В задании рассматривалась структура белка главной протеазы коронавируса Sars-COV-2 (PDB ID: 5REL). С помощью Poseview на сайте Proteins.Plus сгенерирована 2Д диаграмма взаимодействия белка с лигандом T2G\_A\_404. Диаграмма показана на рис.1, зеленая линия соответствует гидрофобным взаимодействиям, а пунктир показывает водородную связь. Я сравнила взаимодействия, которые были найдены программой с теми, наличие которых предположила я при анализе данного лиганда (рис.2). В первую очередь, можно заметить, что Poseview не выдал ковалентное взаимодействие лиганда с Cys-145. Это взаимодействие серы с углеродом в PDB действительно выглядит немного странно и возможно является результатом ошибки при определении структуры. Водородная связь между кислородом лиганда и Glu-143 есть и в выдаче и в моем предположении, однако связи того же кислорода с Cys-145 в выдаче программы нет. Возможно, из-за того, что азот цистеина находится чуть дальше и под другим углом, чем азот глутамата, программа его не увидела, хотя мне кажется, что образование водородной связи в данной позиции вполне вероятно. Я в свою очередь при анализе структуры не обратила внимания на гидрофобные взаимодействия с Met-49, которые тоже делают вклад в связывание. Также я предположила, что взаимодействие с His-41 является Т-стекингом (когда согласно выдаче программы оно тоже гидрофобное), здесь, мне кажется, ошиблась программа.

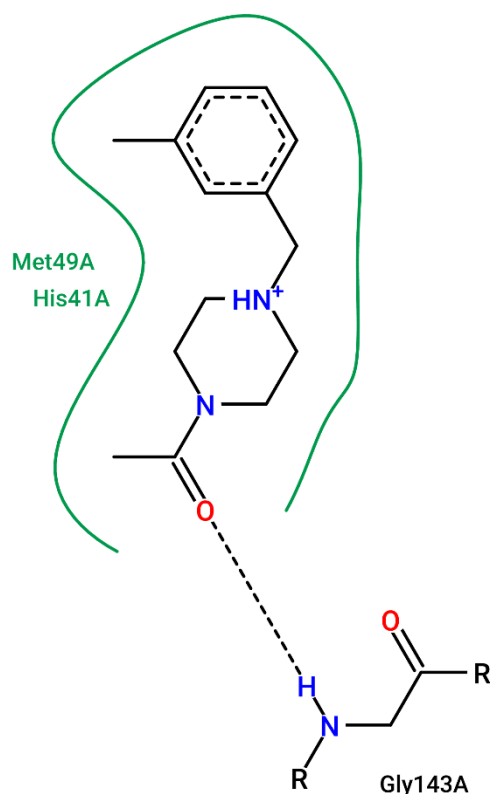


Рис.1 2Д диаграмму взаимодействия белка 5REL с лигандом T2G\_A\_404, полученная с помощью Poseview. Зеленая линия соответствует гидрофобным взаимодействиям, а пунктир показывает водородную связь.

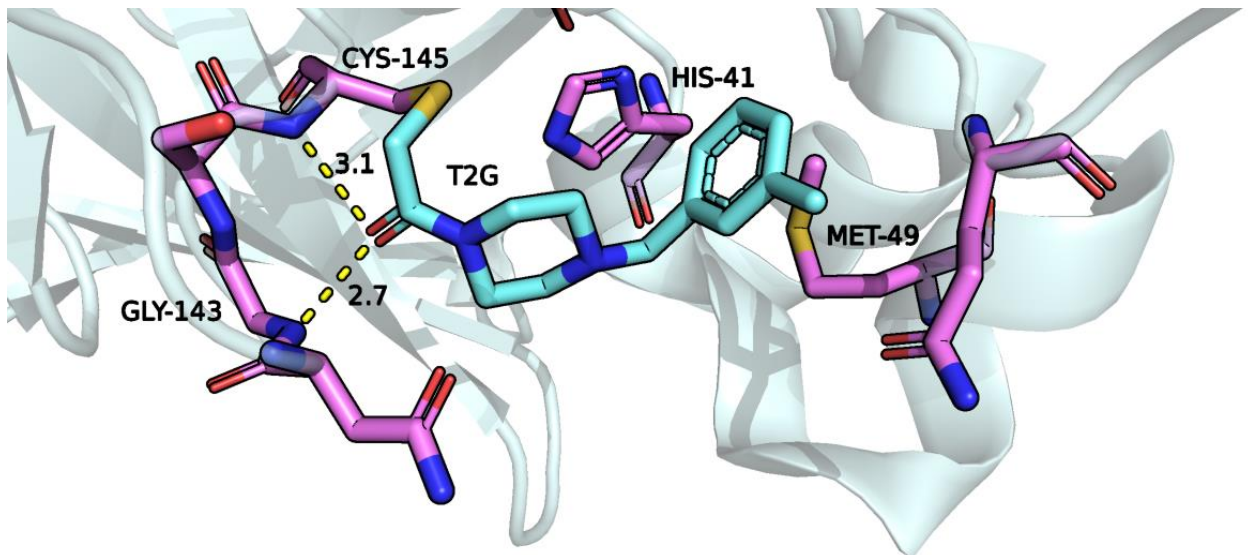


Рис.2 Сайт связывания лиганда T2G с белком главной протеазы коронавируса Sars-COV-2, PDB ID: 5REL (лиганд обозначен голубым цветом).

### PyMol mutagenesis

Для этого задания было получено два PDB файл, содержащих каждый комплекс антитела с пептидным антигеном. В антигене одна позиция была заменена на глицин, целью задания являлось предположить какая аминокислота была в структуре изначально.

Рассмотрев место связывания в первой структуре (рис.3), можно заметить, что рядом с глицином находится не очень большой карман, в который смотрит два остатка, которые в нативных условиях могут нести положительный заряд (аргинин 95 и глицин 96).

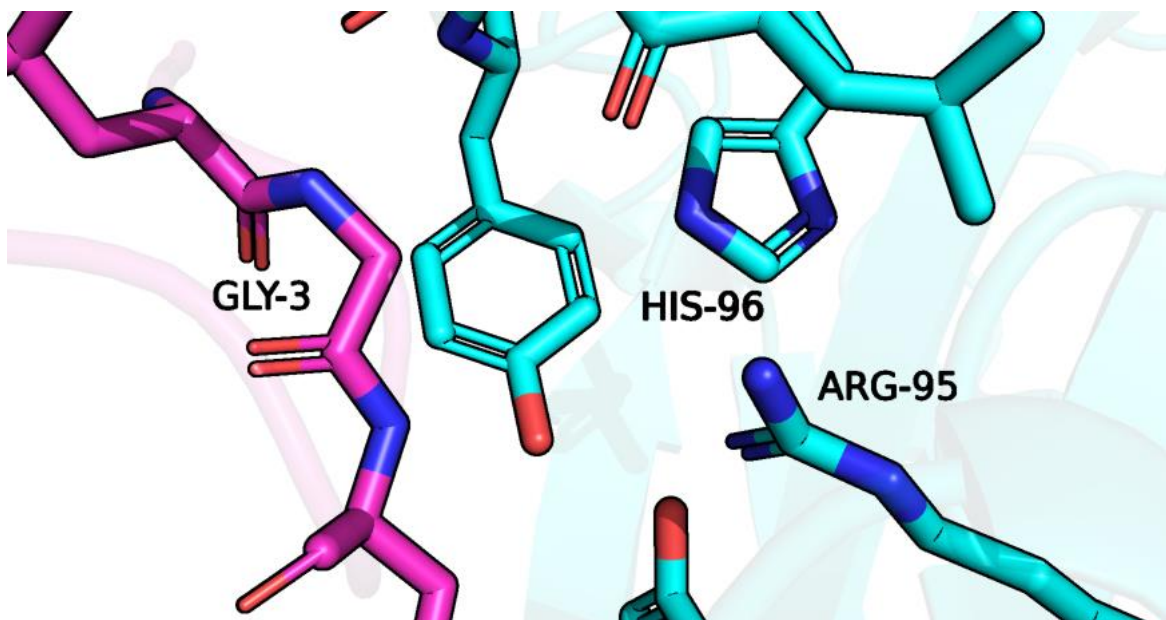


Рис.3 Карман связывания аминокислотного остатка антигена с антителом.

Таким образом здесь хорошо бы «вписалась» какая-нибудь кислота, поэтому в первую очередь стоит проверить глутамат и аспартат. У глутамата слишком длинный радикал, он плохо помещается в карман (рис.4).

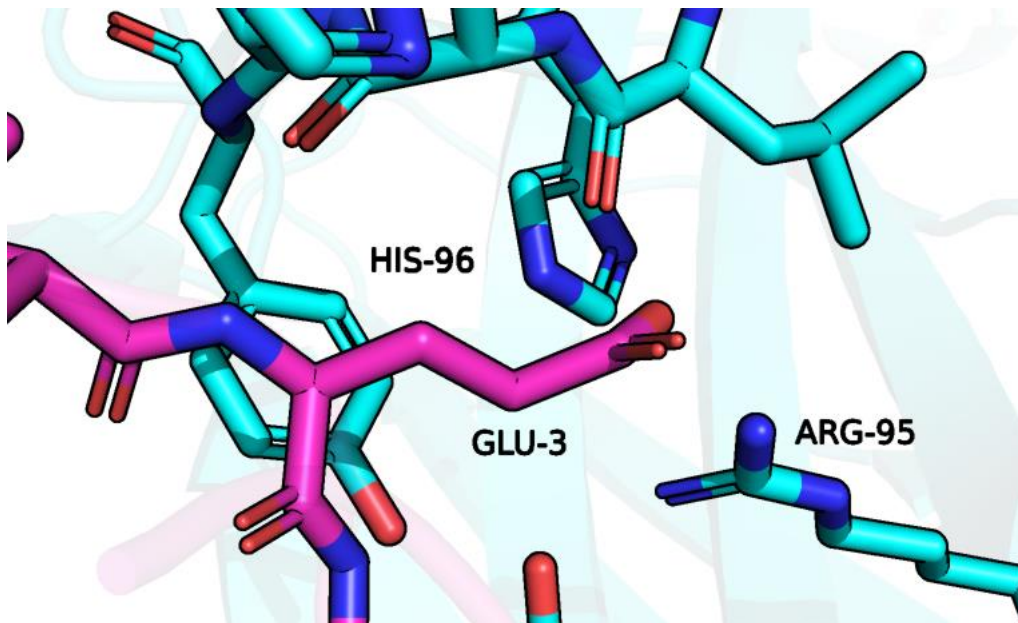


Рис.4 Результат замены аминокислотного остатка антигена на глутамат.

Аспартат как раз подходит, он может образовывать несколько водородных связей и вступать в ионное взаимодействие (показаны на рис.5).

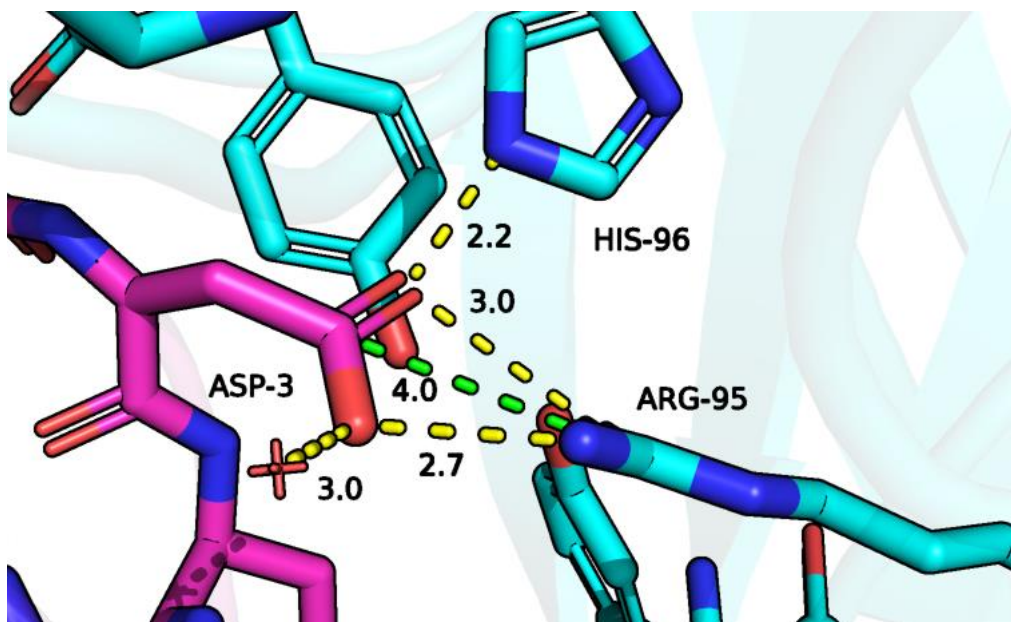


Рис.5 Результат замены аминокислотного остатка антигена на аспартат. Водородные связи показаны желтым пунктиром, солевой мостик — зеленым.

Однако представленность наиболее подходящего по образуемым связям и стерической напряженности (17.16) ротамера аспартата всего 6.7%, поэтому были проверены все остальные основания. Неплохо (но хуже, чем аспартат) подходят в данной позиции аспарагин (рис.6) и треонин (рис.7), хотя тоже в виде ротамеров с невысокой представленностью (8.5% и 1% соответственно). Подводя итог, мне кажется, что в данной позиции изначально стоял аспартат.

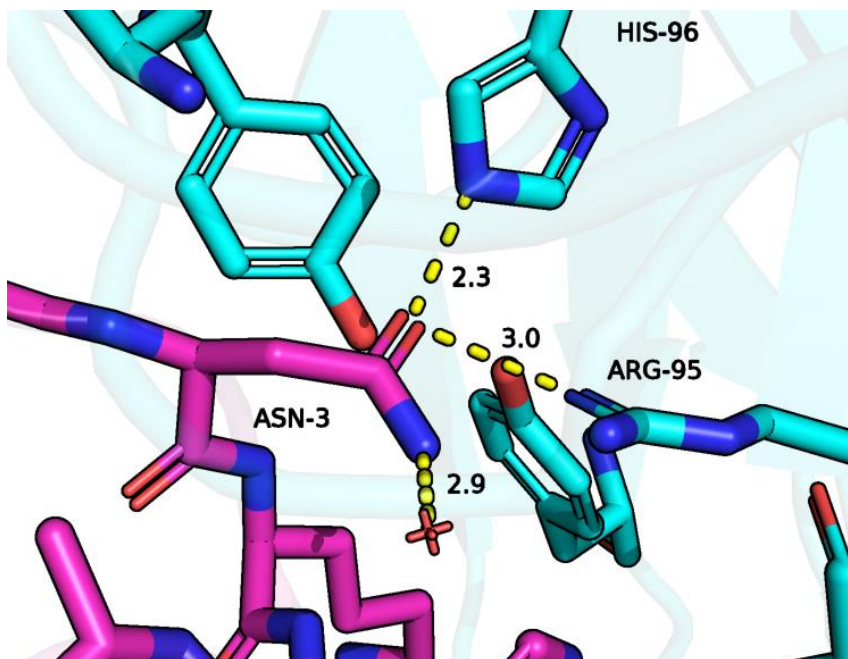


Рис.7 Результат замены аминокислотного остатка антигена на аспарагин. Водородные связи показаны желтым пунктиром.

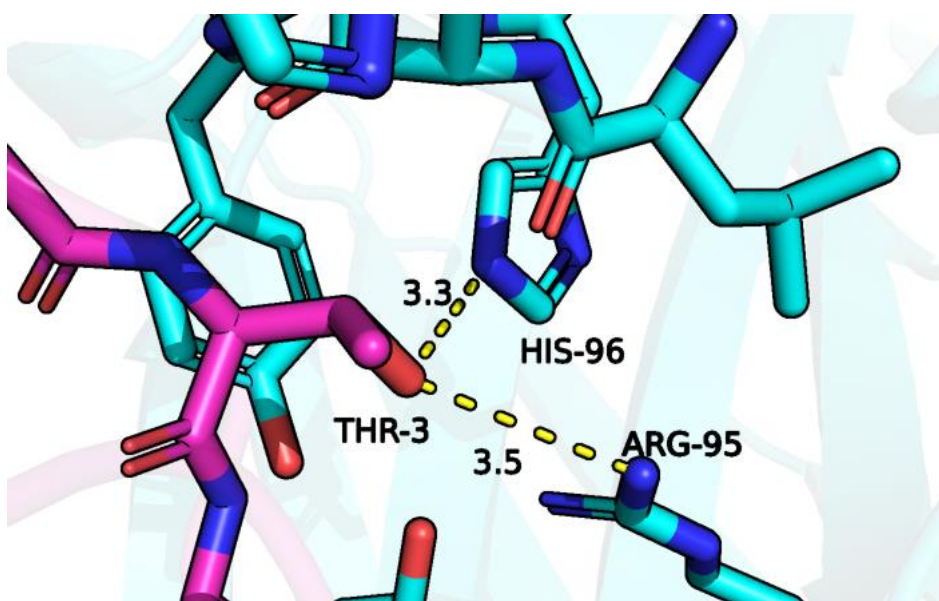


Рис.7 Результат замены аминокислотного остатка антигена на треонин. Водородные связи показаны желтым пунктиром.

Место замены во второй структуре изображено на рис.8. Карман связывания изначального остатка состоит в основном из гидрофобных или полярных незаряженных аминокислотных остатков. Только на большом удалении, в месте условного дна кармана есть аспарат. Небольшой намек на изначальный остаток может дать кислород остова тирозина 100 направленный прямо в область предполагаемого кармана. Таким образом может подойти, незаряженный полярный аминокислотный остаток, способный

образовать водородную связь с кислородом тирозина. Лучше всего на эту роль подходит серин (рис.9)

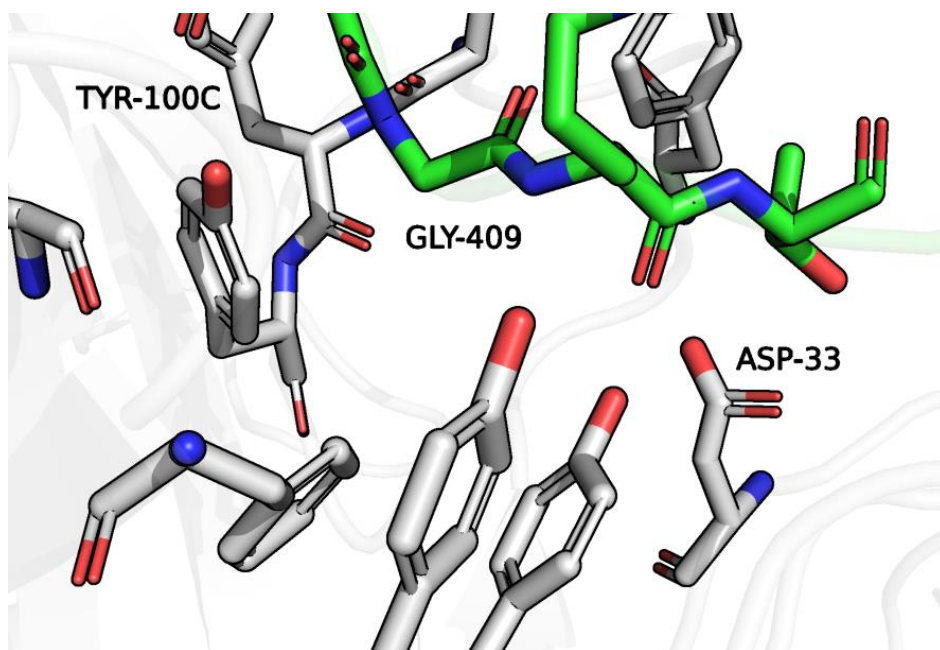


Рис.8 Карман связывания аминокислотного остатка антигена с антителом.

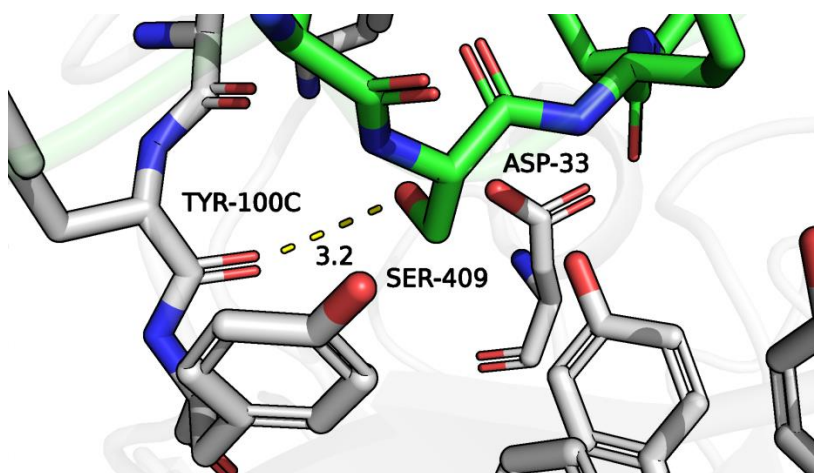


Рис.9 Результат замены аминокислотного остатка антигена на серин. Водородные связи показаны желтым пунктиром.

После просмотра остальных остатков можно заметить, что с достаточно низким значением напряжённости (16.84 и 17.54 соответственно при 13.98 у серина) к данному карману подходят аргинин (рис. 10) и лизин (рис.11), они за счет своего размера могут образовывать водородные связи с упомянутым аспаратом. При чем лизин подходит лучше, так как аспарат чуть-чуть не помещается (мешает гистидин 95). Однако, мне кажется, что по совокупности факторов серин подходит лучше.

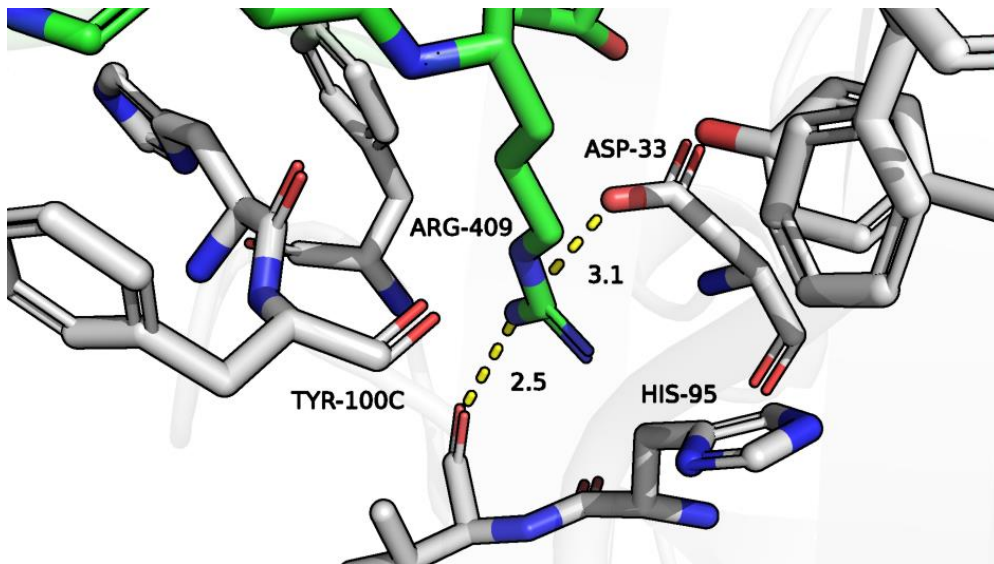


Рис.10 Результат замены аминокислотного остатка антигена на аргинин. Водородные связи показаны желтым пунктиром.

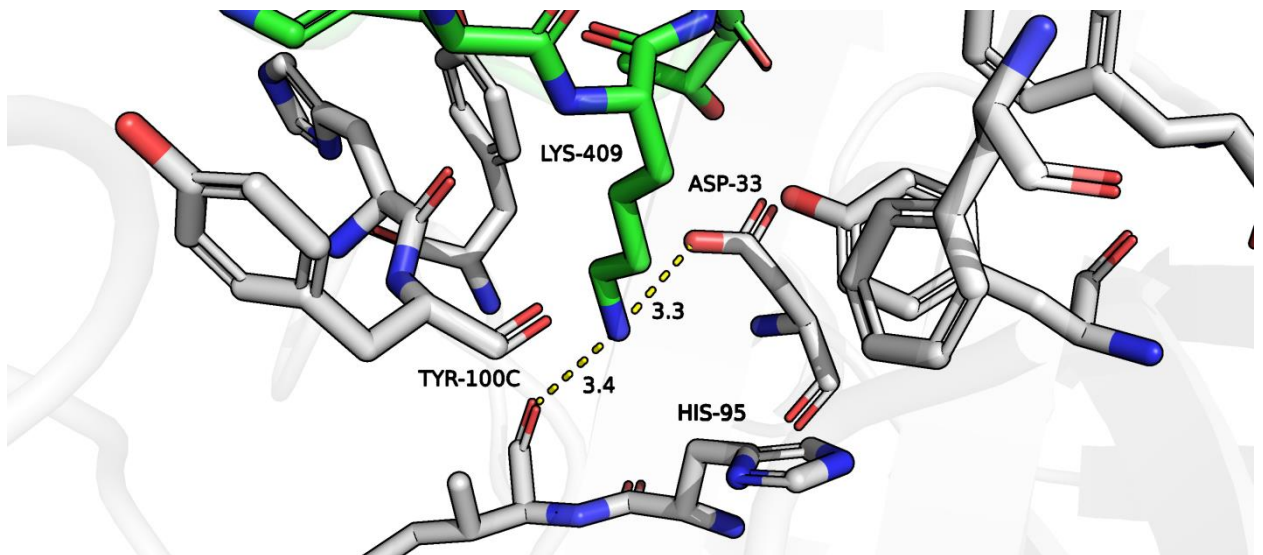


Рис.11 Результат замены аминокислотного остатка антигена на лизин. Водородные связи показаны желтым пунктиром.