

## Поверхности, карманы, рКа

Во всех заданиях данного практикума рассматривались открытая (PDB ID: 6UHS) и закрытая (PDB ID: 6UHI) конформации химерного белка Vt-hRyR\_12 из *Bacteroides thetaiotaomicron*, которая является одной из самых распространенных бактерий в кишечной флоре человека. Согласно данным UniProt целый, изначальный белок RYR1 присутствует в клетках человека и является кальциевым каналом, регулируемым несколькими лигандами.

### Задание 1. SASA, MSA

В целом рассмотренные структуры одинаковы по составу элементов вторичной структуры, но различаются пространственным их расположением. На рис.1 приведено наложение, полученное с помощью структурного выравнивания (команда `super`).  $\beta$ -тяжи в одном конце белка («основании») почти не смещаются при переходе из одной конформации в другую, только немного поворачиваются.  $\alpha$ -спирали, идущие «снизу-вверх» смещаются в стороны относительно вертикальной оси белка, при чем ближе к «вершине» белка смещение сильнее. Сильнее всего в результате перестроек смещаются неструктурированные петли. Вероятно, карман связывания находится в центральной части белка, доступ к которой открывается при образовании открытой конформации. Еще можно заметить, что у открытой конформации в одной из петель отсутствует несколько остатков, но это вероятно связано только с расшифровкой.

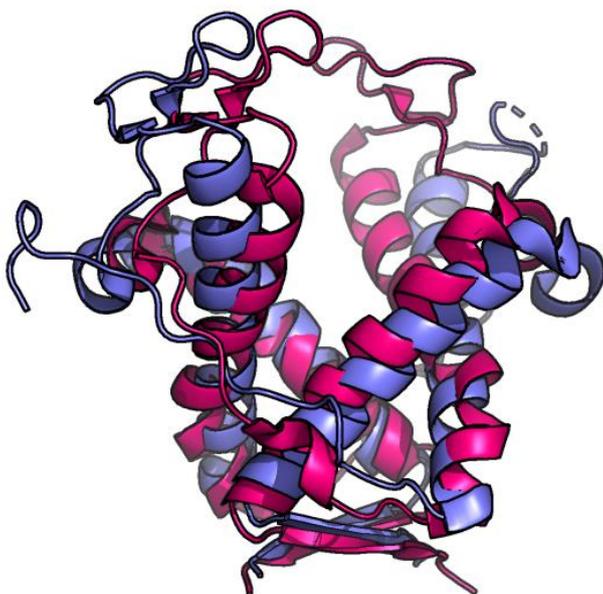


Рис.1 Наложение структур открытой (фиолетовая) и закрытой (розовая) конформаций белка Vt-hRyR\_12.

В таблице 2 приведены площади молекулярной поверхности (MS) и площади поверхности, доступной растворителю (SAS) для обеих форм. При образовании открытой конформации немного уменьшаются оба параметра, при чем SAS изменяется более заметно. Вероятно, образование крупного кармана в центре белка компенсируется переходом других остатков в менее экспонированную форму.

Таблица 1: площади молекулярной поверхности (MS) и площади поверхности, доступной растворителю (SAS) для открытой и закрытой конформаций белка Vt-hRyR\_12.

Конформация белка	MS, Å <sup>2</sup>	SAS, Å <sup>2</sup>
Открытая	21415.887	14398.831
Закрытая	21438.873	14661.982

### Задание 2. Карманы, объем

Как уже было замечено в предыдущем задании, основной карман связывания почти наверняка находится в центральной части белка, он становится доступен при переходе в открытую конформацию (рис.3). В закрытой конформации данного кармана почти нет, есть полость между  $\alpha$ -спиралями и небольшое углубление в верхней части белка.

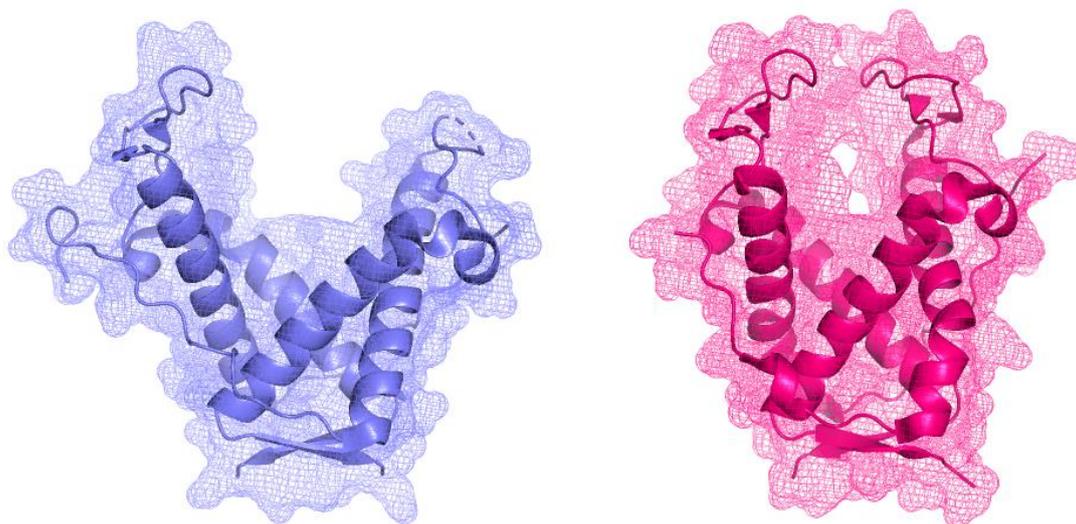


Рис.3 Открытая (фиолетовая) и закрытая (розовая) конформации белка Vt-hRyR\_12.

Карманы в данных структурах были проанализированы с помощью программы frocket. В каждой структуре было выделено 16 карманов. Больше всего на выделенный визуально карман связывания похож первый из 16 (первый он и для открытой и для закрытой конформации). Первый карман для закрытой конформации находится в точности между  $\alpha$ -

спиралями (желтый на рис.3). В открытой структуре (желтый на рис.4) он немного отклонен вбок поэтому сложно сказать точно ли он соответствует месту связывания лиганда, или основания соседнего (зеленого) кармана тоже участвуют в связывании. Тем не менее первый карман находится глубже всего в структуре, и, при изменении конформации после связывания, лиганд не будет мешать  $\alpha$ -спиралям. Приблизительный объем кармана по результатам работы программы в закрытой конформации  $4361.7158 \text{ \AA}^3$ , в открытой  $2527.0295 \text{ \AA}^3$ . Не очень логично, что в открытой конформации объем кармана меньше, но, как видно на рисунке, программа продлила карман в закрытой конформации слишком вверх, туда где сходятся спирали. К тому же в открытой конформации область, открывшаяся для связывания поделена на несколько карманов, суммарный объем которых  $5302.0427 \text{ \AA}^3$ .

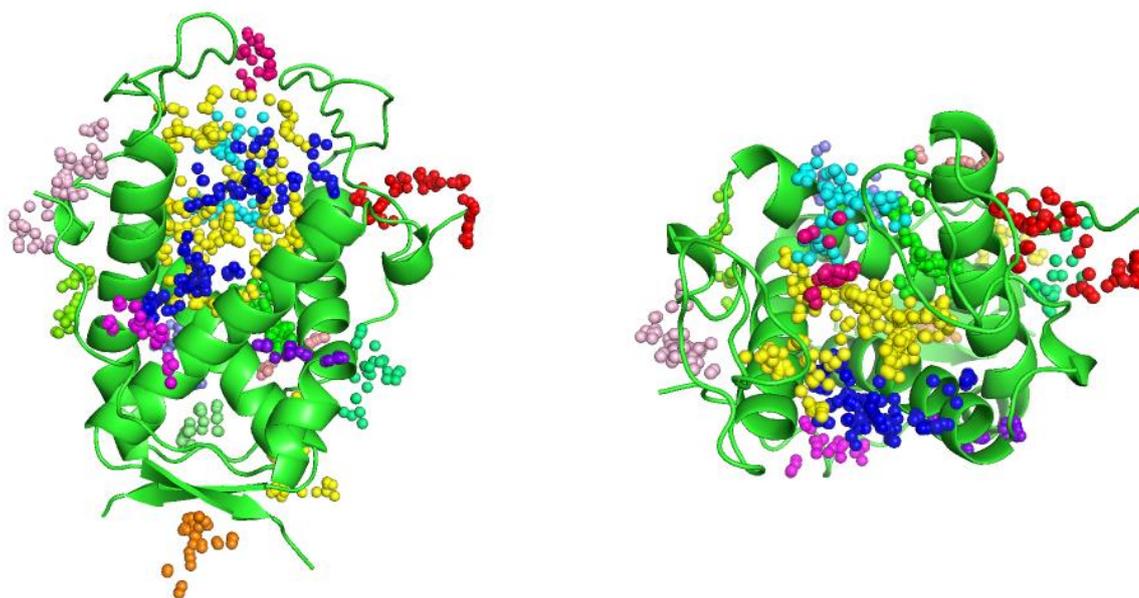


Рис.3 Карманы в структуре белка Vt-hRyR\_12 в закрытой конформации, по результатам работы программы fprocket (слева вид «сбоку», справа вид «сверху»).

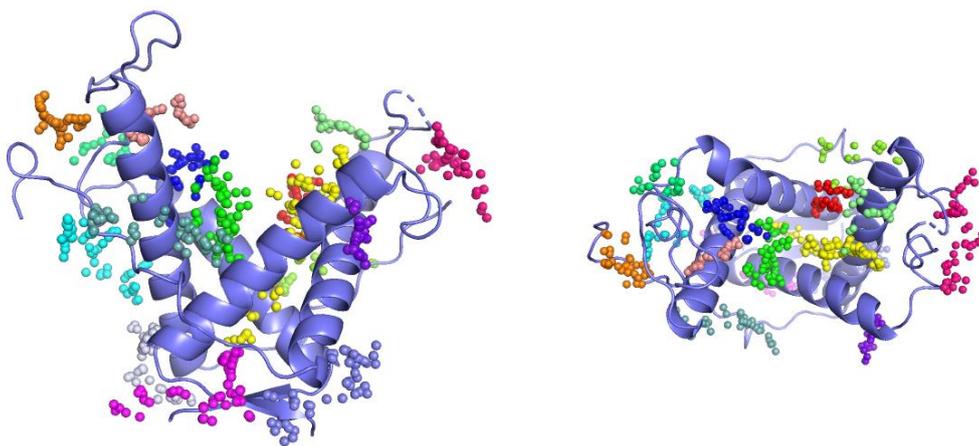


Рис.4 Карманы в структуре белка Vt-hRyR\_12 в открытой конформации, по результатам работы программы focket (слева вид «сбоку», справа вид «сверху»).

### **Задание 3. Экспонированность**

Для той же пары PDB была получена экспонированность каждого аминокислотного остатка. Я выбирала остаток экспонированность которого сильнее всего увеличилась при образовании открытой конформации. Этим остатком оказался глутамат 213 (рис.5). Однако данное наблюдение вряд ли несет какой-то биологический смысл, так как данный глутамат находится на самом конце неструктурированного участка и следующий за ним концевой аспарат есть только в закрытой конформации, в открытой же концевым является сам глутамат. То есть данный глутамат в разных условиях в двух расшифровках не только из-за конформации. Поэтому я рассмотрела второй сильно изменивший экспонированность атом, это тирозин 77 (рис.6-7). В закрытой конформации этот атом образует одно взаимодействие с треонином, также он «прикрыт» от растворителя остатками соседней спирали. В открытом состоянии расстояние до соседней спирали увеличивается с примерно 4 до 9 ангстрем и взаимодействие с треонином также пропадает (остатки отодвигаются друг от друга). Таким образом в открытой конформации данный атом становится полностью доступен растворителю.

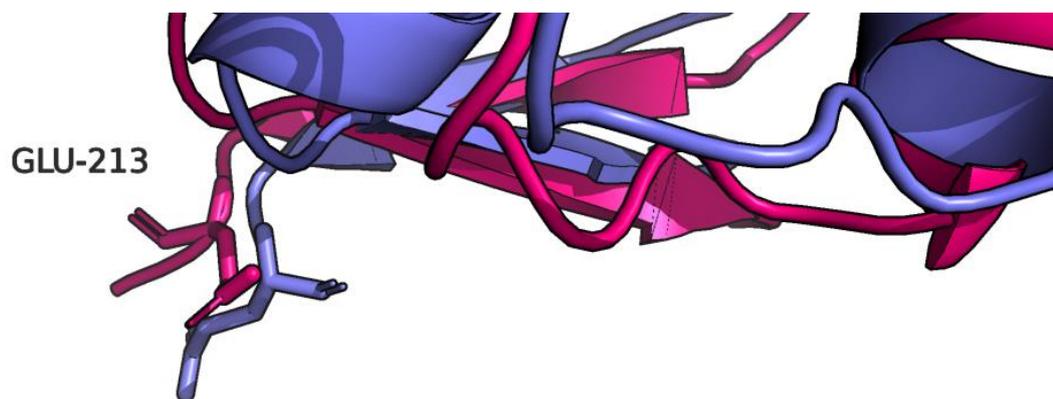


Рис.5 Глутамат 213 в открытой (фиолетовая) и закрытой (розовая) конформациях белка Vt-hRyR\_12.

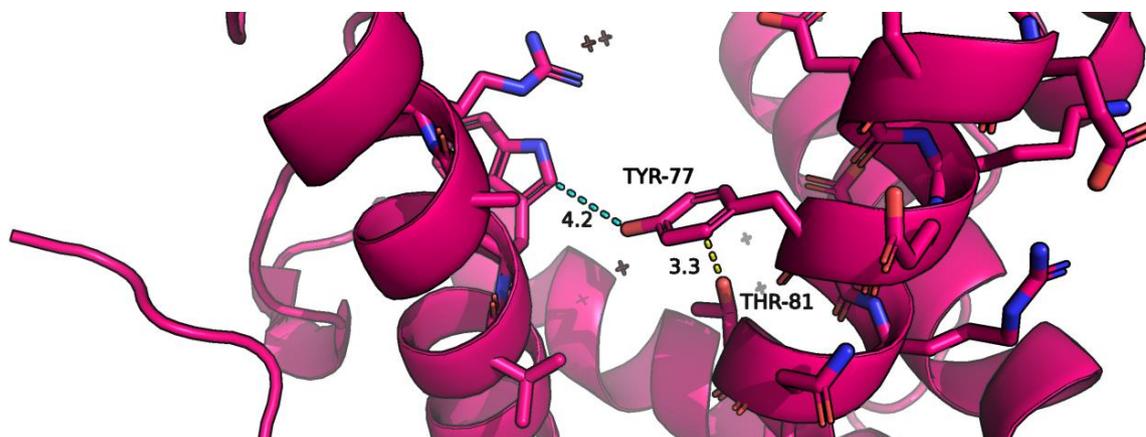


Рис.6 Тирозин 77 в закрытой конформации белка Vt-hRyR\_12 (пи-водородная связь показана желтым, расстояние до соседней спирали — голубым).

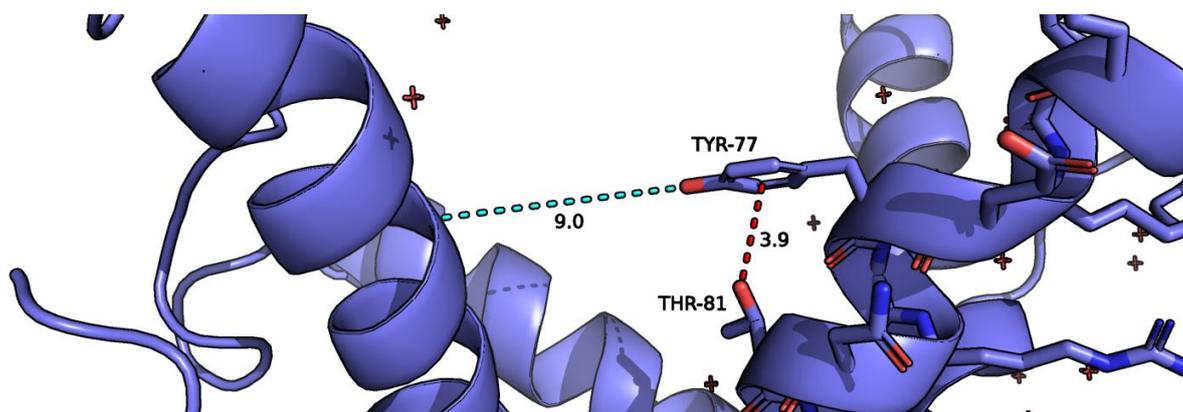


Рис.7 Тирозин 77 в открытой конформации белка Vt-hRyR\_12 (пропавшая водородная связь показана красным, расстояние до соседней спирали — голубым).