

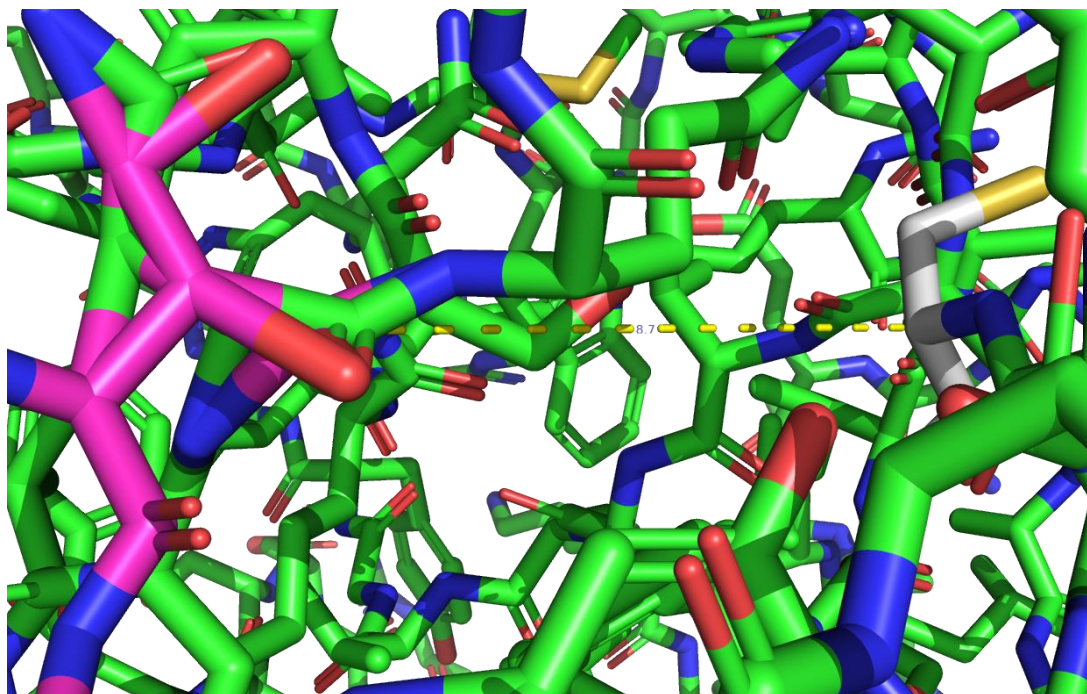
Практикум 7

Задание С

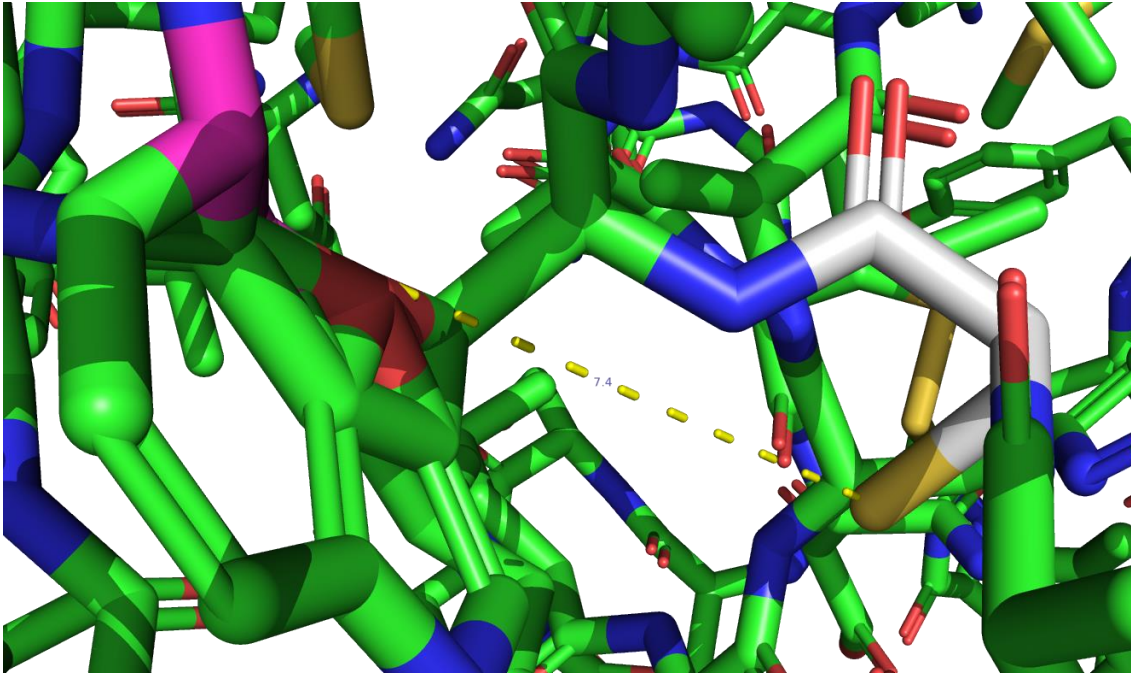
Для выполнения этого задания выбрала цистеиновую эндопротеазу катепсин К (Uniprot ID P43235). Физиологически релевантный сиквенс ее субстрата, взятый из базы протеаз MEROPS – пептид NVVGARRS. Данный катепсин вырабатывается клетками тонкого кишечника человека для расщепления белков в пище. Как подобает цистеиновой протеазе, в её активном центре находится каталитическая триада из цистеина (в данном случае 139 а.о.), гистидина (276) и аспарагина (296 номер остатка согласно базе данных Uniprot). Рассмотрим, как Alfafold-2 справился с расположением субстрата относительно аминокислотных остатков активного центра.

Всего Alfafold-2 выдал 5 лучших предсказаний. Для валидации полученных структур сперва я померила расстояние от субстрата до компонентов активного центра. На иллюстрациях ниже углероды пептида отмечены розовым, цистеин серым.

Предсказание №1: Цистеин, который первый взаимодействует с субстратом среди триады, осуществляя нуклеофильную атаку, расположен серой на расстоянии аж 8.7 ангстрем от пептида. Предсказанный комплекс нерелевантный.



Предсказание №2: Нерелевантно. Расстояние между серой цистеина и ближайшим углеродом пептида 7.4 ангстрема. Также было неудачно предсказано расположение триптофана № 140 протеазы, он перекрывается расположением с субстратом.

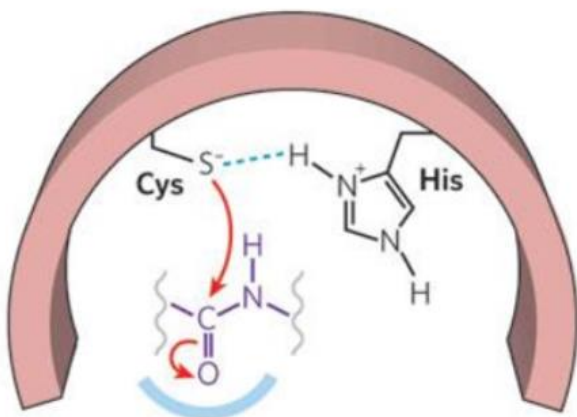


Предсказание №3: Нерелевантно. Триада расположена в другой части белка от области предсказанного положения субстрата.

Предсказание №4: Не правдоподобное, между цистеином активного центра и субстратом значительное расстояние, занятое другими частями протеазы.

Предсказание №5: Нерелевантно. Расстояние между серой цистеина и ближайшим углеродом пептида 9.4 ангстрема.

Если бы расстояния были меньше, стоило бы рассмотреть, что геометрия триады и атакуемого остатка пептида соответствовала такому расположению (схема без аспарагина, рассматривают как диаду):

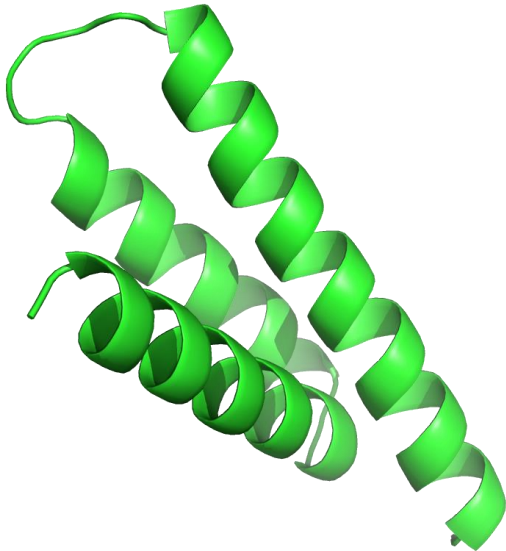


Таким образом, вероятно, нельзя использовать AlphaFold для задачи предсказания комплекса протеазы с субстратом. Чтобы убедиться в этом, нужно также посмотреть предсказанные комплексы других протеаз, желательно из различных организмов и различного типа, с различными субстратами.

Задание А

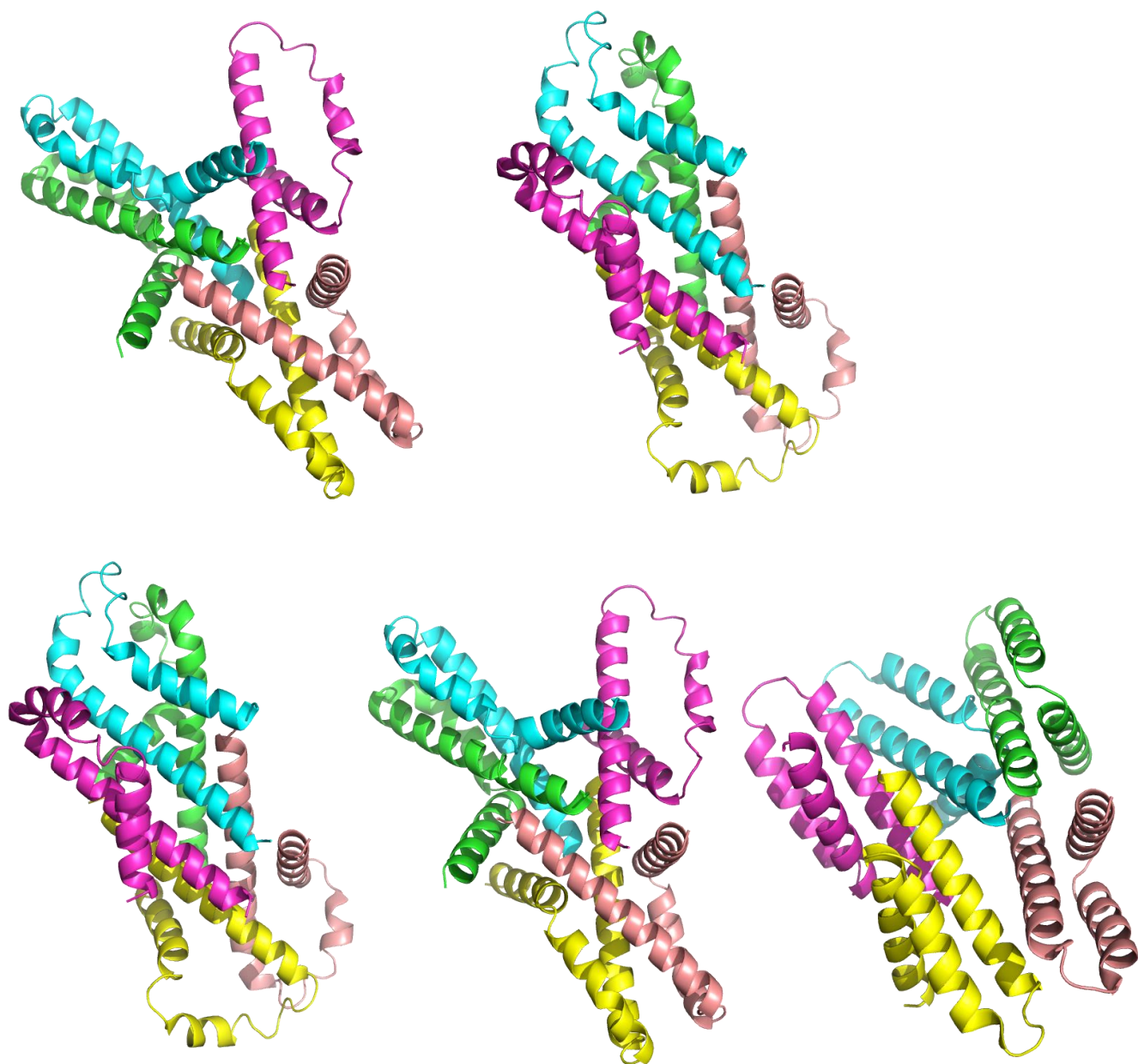
Для анализа структуры амилоида выбрала пептид SFFSFLGEAFDGMWRAYSMDREANYIGSDKYFHARGNYDAAKRGPGGVWAAEAISDARENIQR (A15) в таблице. При помощи алгоритма BLAST выяснилось, что это фрагмент человеческого белка сывороточного амилоида А-1 (ген SAA1). Этот амилоид является секретлируемым белком, который участвует в G-белок опосредованном сигналинге, подавляя иммунный ответ.

Структура мономера, предсказанная Альфафолдом (варианты мономеров слабо отличаются между собой):



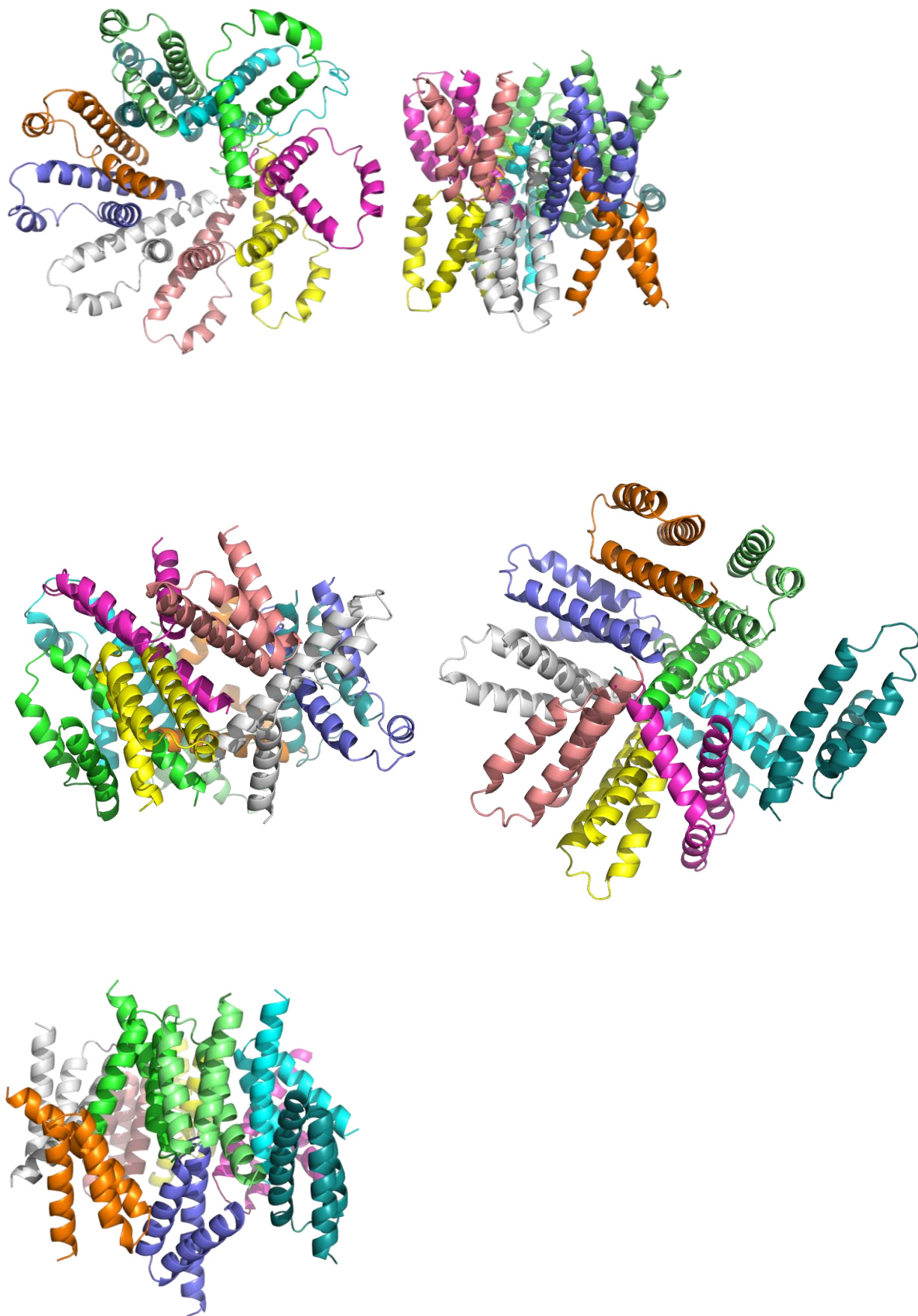
Структура сходится с соответствующим фрагментом транскрипта SAA1, полученным методом PCA.

Возможные структуры пентамера:



Здесь не очень прослеживается структура полимера, но можно предположить, что структуры №2, 3 и 5 будут образовывать фибриллы.

Предсказанные структуры из 10 амилоидов:



По ним также прослеживается, что структуры 2,3 5 образуют фибриллы, а 1 образует симметричную гранулу или часть “толстой” фибриллы, и 4 несимметричную гранулу. Итого Альфафолду точно удалось предсказать структурные особенности полимеров амилоидов.