

Связывание лигандов. Карманы связывания. Индуцированное соответствие.

Задание 1. Изменения

Мы проанализировали изменения, возникающие в конформации кармана белка при связывании лиганда. Для этого мы наложили структуры, соответствующие двум формам белка друг на друга (Рисунок 1). При этом произошло совмещение большинства элементов вторичной структуры внутри кармана за исключением двух неструктурированных участков белка. За счет образования водородной связи между остатком ASP-101 и лигандом, фрагмент белка, содержащий эту аминокислоту, меняет свое положение. За ASP-101 тянется ASP-98, который образует с ним водородные связи, в итоге происходит перемещение петли (Рисунок 1 в). Также происходит сближение неструктурированного участка, содержащего VAL-342, этот остаток образует водородную связь с лигандом. Некоторые аминокислоты активного центра меняют положение своих боковых цепей в связанной конформации. Так происходит с остатком LYS-295, который образует водородную связь с лигандом.

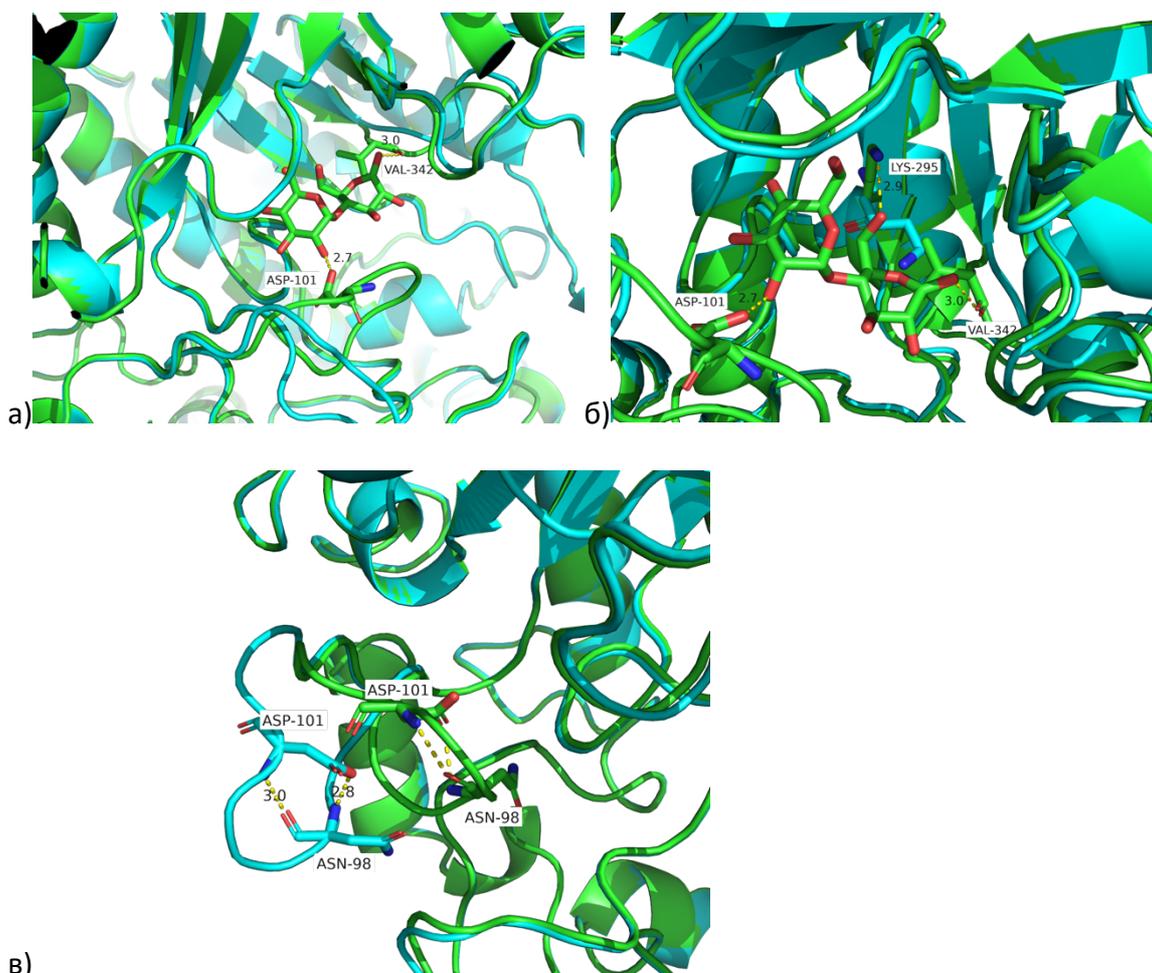


Рисунок 1. Изменения в конформации кармана фермента при связывании лиганда. Структуры белка в свободном (синий) состоянии и связанном (зеленый) наложены друг на друга.

Мы рассмотрели изменение объема кармана фермента при связывании фермента. Для этого мы воспользовались сервисом POCASA. В связанном состоянии объем кармана равен 393, а в свободном 1015. То есть при связывании фермента происходит значительное уменьшение объема карман. В основном это происходит за счет того, что полость кармана закрывается при связывании лиганда (Рисунок а.1, б.1). В связанном состоянии остатки оказываются более стянутыми, о чем можно судить по значению VD value (volume distribution) 2304 для связанной конформации, по сравнению с 3403 для свободной. Судить о том, в какой момент происходит изменения остатков по текущим наблюдениям невозможно. Кроме того, POCASA обнаружила другие карманы в структуре белка, но они маловероятно имеют какое-то функциональное значение.

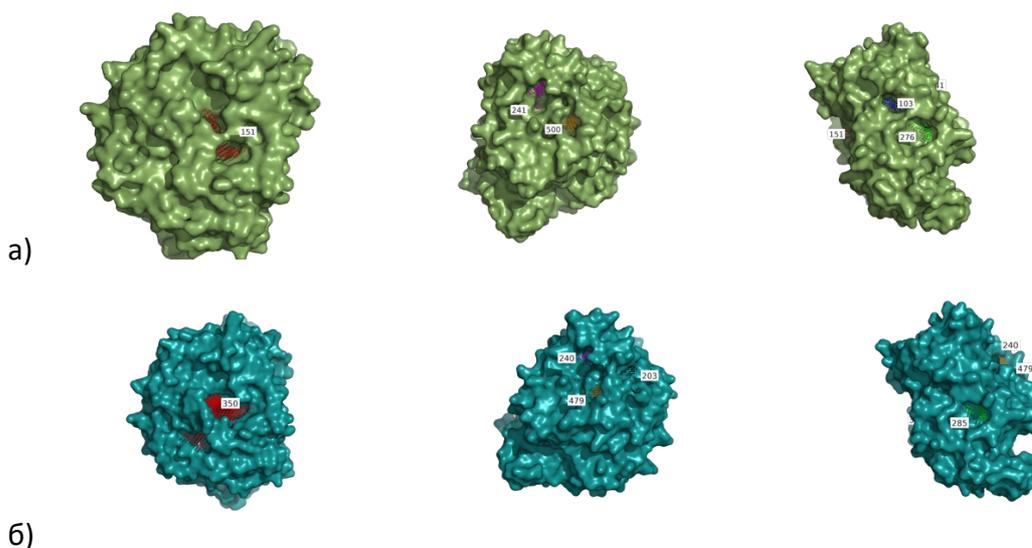


Рисунок 2. Полости в структуре анализируемого белка.

а) Белок в связанном состоянии, характеристики карманов:

Rank 1 is Pocket 151, the volume is 393, VD value is 2304

Rank 2 is Pocket 241, the volume is 66, VD value is 166

Rank 3 is Pocket 500, the volume is 50, VD value is 127

Rank 4 is Pocket 276, the volume is 44, VD value is 104

Rank 5 is Pocket 103, the volume is 37, VD value is 99

б) Белок в свободном состоянии, характеристики карманов:

Rank 1 is Pocket 350, the volume is 1015, VD value is 3404

Rank 2 is Pocket 479, the volume is 63, VD value is 224

Rank 3 is Pocket 203, the volume is 47, VD value is 184

Rank 4 is Pocket 285, the volume is 65, VD value is 174

Rank 5 is Pocket 240, the volume is 38, VD value is 102

Задание 2. Протонирование, подготовка к докинг

В этом задании мы подготовили структуры белка и лиганда для докинга.

Протонированная структура белка была получена с помощью сервиса PDB2PQR.

Протонирование лиганда было произведено с помощью программы SPORES. Результаты протонирования лиганда (Рисунок 3) соответствуют возможному расположению атомов.

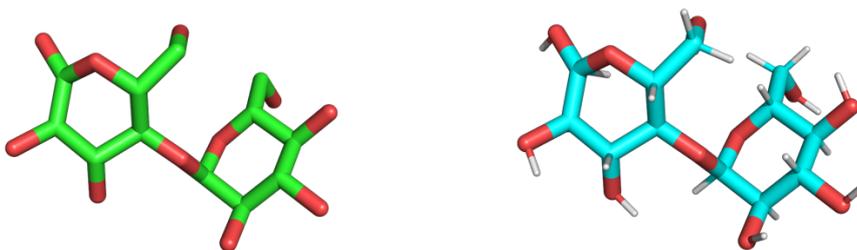
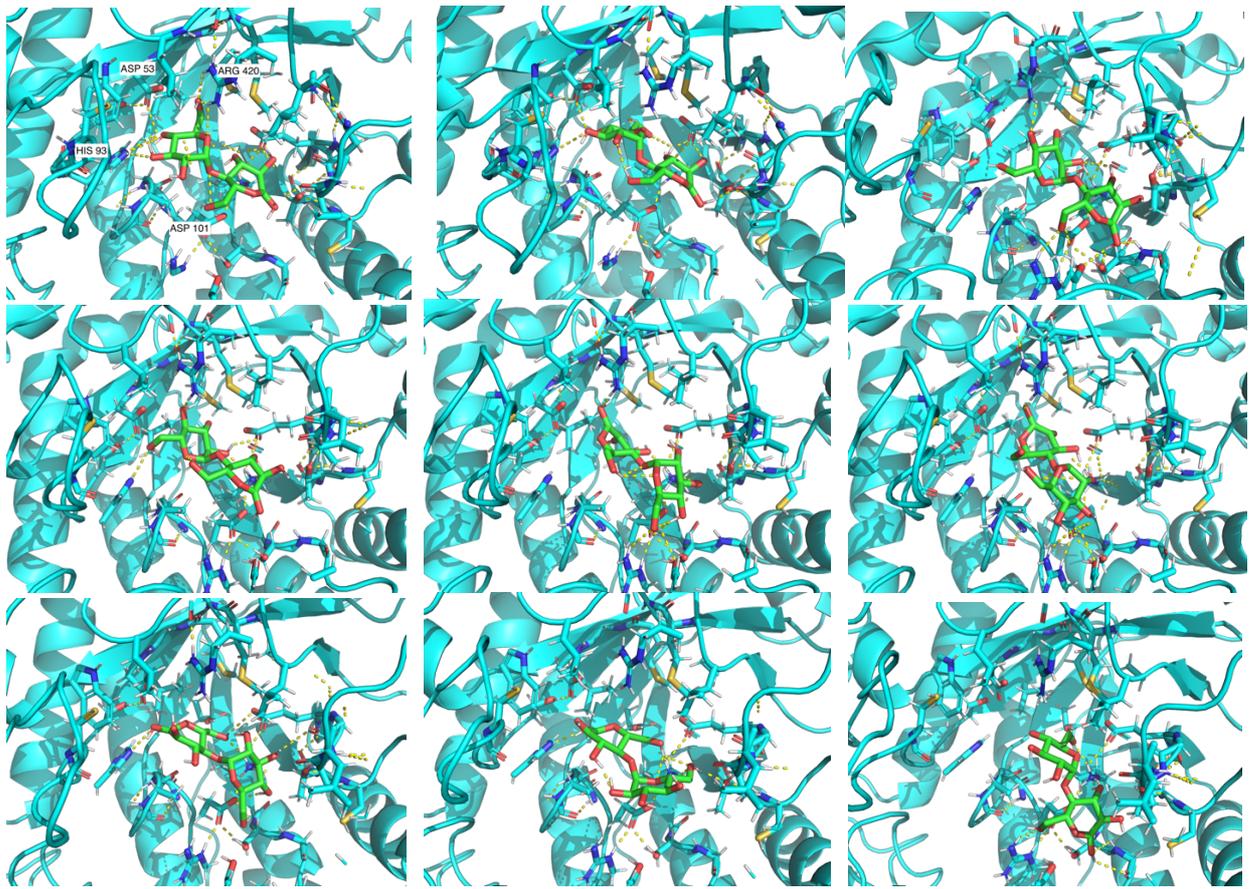


Рисунок 3. Структура лиганда до и после добавления водородов.

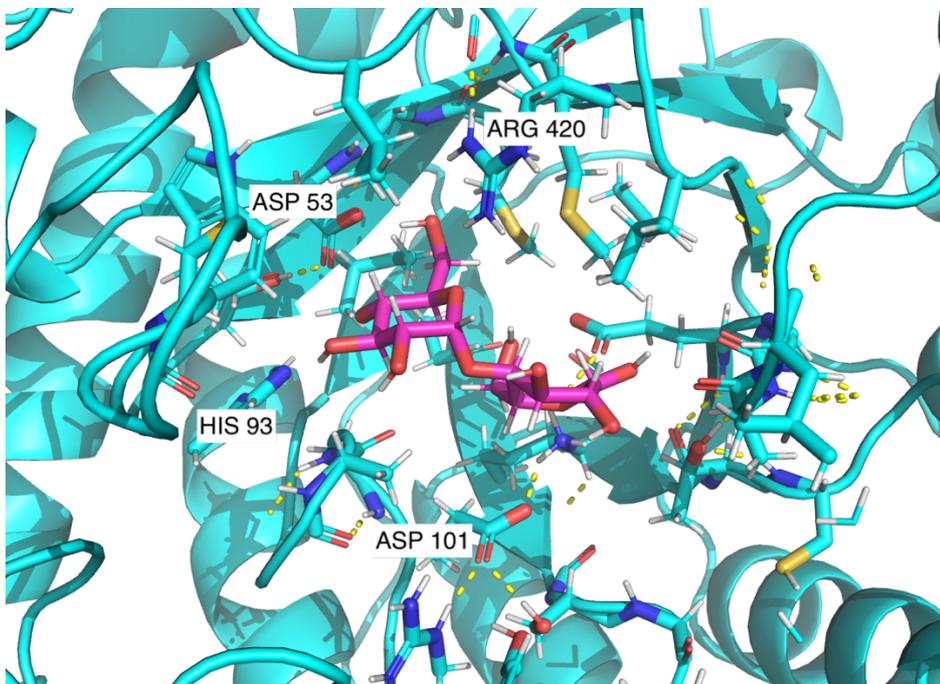
а) Структура без протонов; б) структура с протонами

Задание 3. Докинг

Мы произвели докинг белка с лигандом используя сервис Webina. Программа выдала 9 лучших предсказаний (Рисунок 4). В разных моделях лиганд образует разные связи с окружающими аминокислотными остатками. Причем многие взаимодействия, которые обнаруживаются в разных моделях присутствуют одновременно в оригинальной структуре белка, со связанным лигандом. То есть очевидно белок претерпевает конформационные изменения при связывании лиганда, которые обеспечивают возможность одновременного образования всех этих связей. Сравнивая лучшую модель докинга с оригинальной структурой, мы замечаем присутствие якорных взаимодействий. Связи между ARG420, ASP53, HIS93 присутствуют в обеих структурах. Это также подтверждается картами взаимодействий (Рисунок 5). Исходя из этого можно предположить, что в начале лиганд образует водородные связи с этими тремя аминокислотами, что индуцирует изменение конформации белка. Следующим шагом за образованием связей с этими тремя остатками, может быть взаимодействие с ASP101. Вероятно, это взаимодействие является ключевым для индуцирования изменения конформации белка. При этом происходит уменьшение объема кармана, в котором лежит лиганд, и образуются новые водородные связи. Таким образом при связывании лиганда реализуется механизм индуцированного взаимодействия.



a)



6)

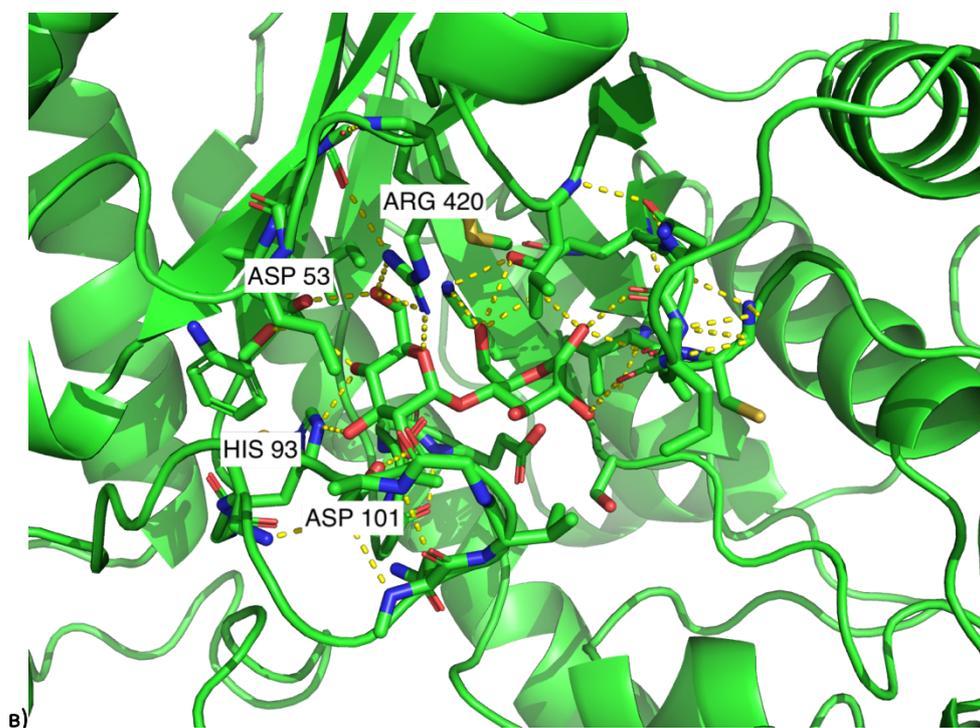


Рисунок 4. Связывание лиганда в кармане белка

а) Модели, полученные по результатам докинга. В левом верхнем углу изображена лучшая модель в кармане белка в свободной конформации; б) Оригинальная модель в кармане белка в свободной конформации; в) Оригинальная модель в кармане белка в связанной конформации

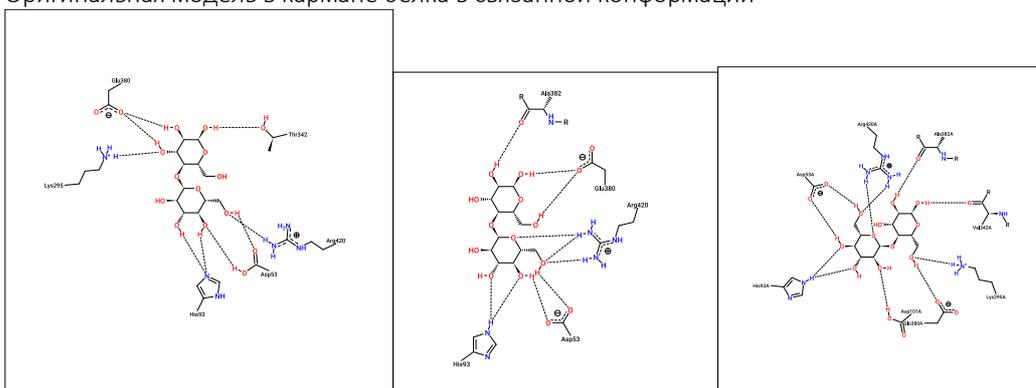


Рисунок 5. Карта взаимодействий лиганда с белком

а) Взаимодействия лучшей модели лиганда с белком в свободной конформации; б) Взаимодействия оригинальной модели с белком в свободной конформации; в) Взаимодействия оригинальной модели с белком в связанной конформации