

Практикум 7. Поверхности, карманы, рКа.

Задание 1. SASA, MSA

Объект рассмотрения в этом и последующих заданиях - глутамин-связывающий белок в открытой конформации (PDB ID 1GGG) и закрытой (PDB ID 1WDN). Лигандом белка, очевидно, является глутамин. Структура открытой конформации представлена димером, но литературные данные указывают на то, что функциональная единица белка представлена мономером. Поэтому манипуляции проводились с одной цепью (chain A). Кроме того, в структуре открытой конформации нет лиганда. Структуры открытой и закрытой конформаций совпадают по составу элементов вторичной структуры, но довольно сильно различаются пространственным расположением этих элементов (рис.1). Это может быть связано с тем, что активный центр лиганда находится в середине белка, поэтому структурные части открытой конформации сдвигаются относительно закрытой. При этом сильнее всего смещаются петли.

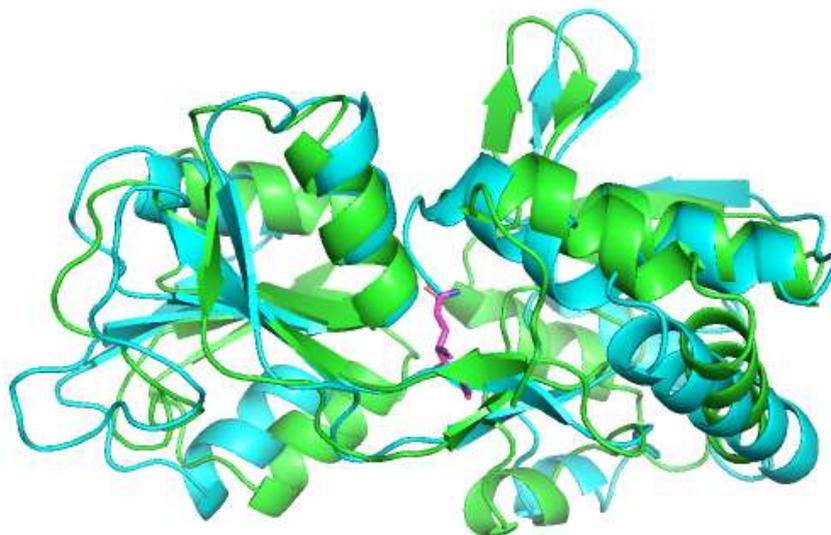


Рис.1. Наложение открытой (голубым цветом) и закрытой (зеленым цветом) конформаций глутамин-связывающего белка. Лиганд – глутамин обозначен розовым цветом.

Для обеих конформаций были вычислены площадь молекулярной поверхности (MS) и площадь поверхности, доступной растворителю (SAS). Результаты приведены в табл.1.

Конформация белка	MS, Å ²	SAS, Å ²
Открытая	24322.402	14961.898
Закрытая	26133.387	15983.512

Несмотря на закрытие кармана связывания лиганда, закрытая форма имеет бОльшие значения площади поверхности. Вероятно, это связано с тем, что при изменении формы экспонируются другие остатки, дающие вклад в площадь поверхности. На рис. 4 можно увидеть, что поверхность белка существенно меняется, и для закрытой формы действительно выглядит немного объемнее.

Задание 2. Карманы, объем

В этом задании нужно было визуально определить положение кармана связывания лиганда, а затем сопоставить его с выдачей сервиса frocket. Карман хорошо виден в закрытой конформации – виден “вход” для лиганда с одной стороны (рис.2).

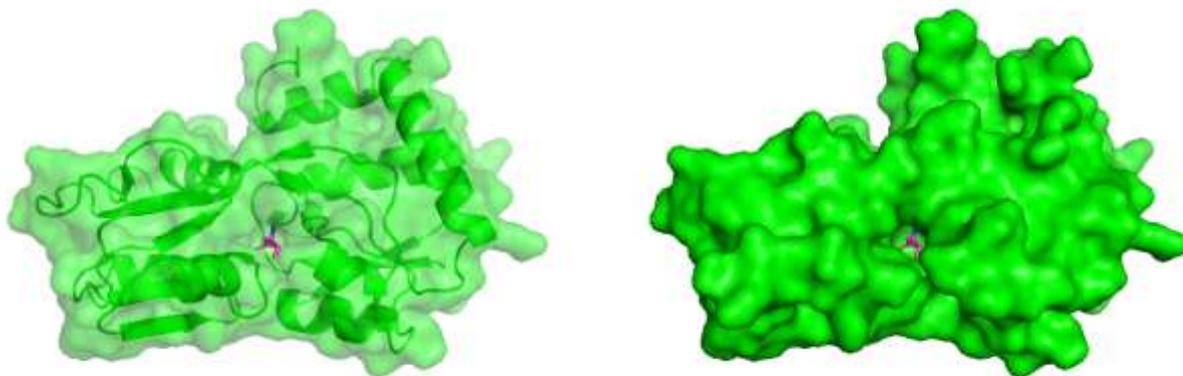


Рис. 2. Закрытая конформация (PDB ID 1WDN).

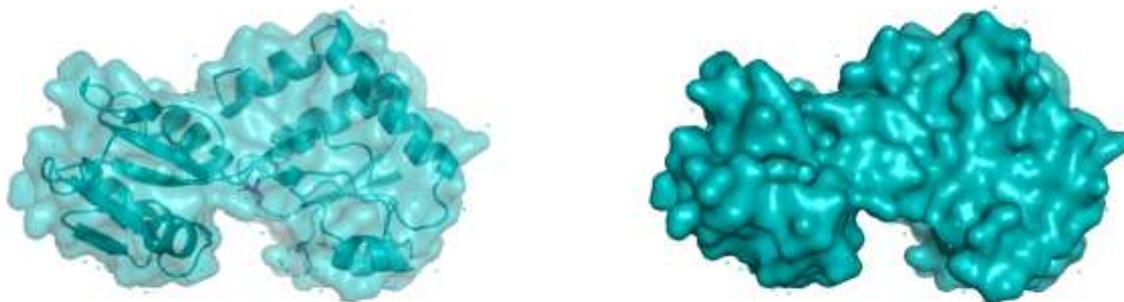


Рис.3. Открытая конформация (PDB ID 1GGG)

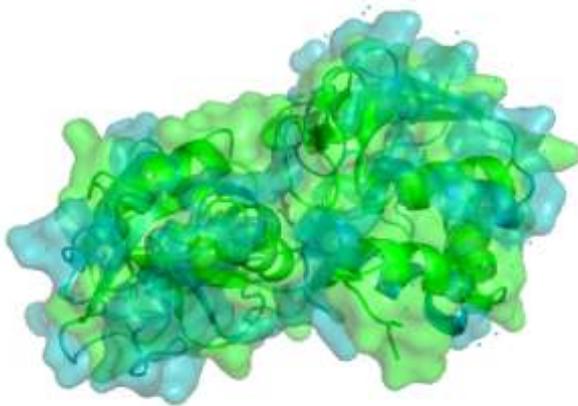


Рис.4. Наложение поверхностей открытой (синим цветом) и закрытой (голубым цветом) конформаций белка.

С помощью веб-сервиса focket были определены несколько карманов. Карману связывания с лигандом соответствует rocket1 выдачи программы. На рис.5 видно, что он тянется через одно из сечений молекулы белка. В закрытой конформации значение объема этого кармана равно 2033.1372 \AA^3 . В открытой форме объем кармана больше - 3298.8135 \AA^3 , что логично. На рис. 6 видно, что карман лиганда в открытой конформации (обозначен белыми шариками) тянется через молекулу белка, в то время как в закрытой конформации остается выход из кармана только на одну сторону (рис.5).

Интересно, что для закрытой конформации программа находит 13 карманов, а для открытой – 10. Это подтверждает предположение о том, что закрытая форма становится закрытой по отношению к лиганду, но открывает другие карманы, что дает ей большую площадь поверхности, чем у открытой формы.



Рис.5. Закрытая конформация. Белыми шариками обозначен карман связывания с лигандом.

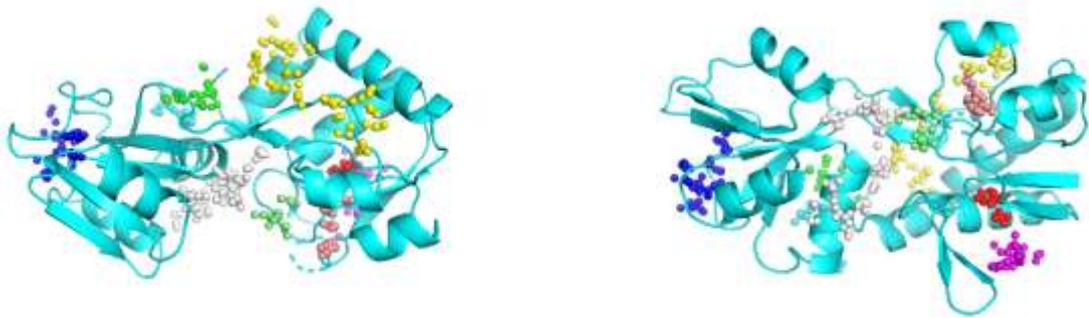


Рис.6. Открытая конформация. Белыми шариками обозначен карман связывания с лигандом.

Задание 3. Экспонированность

В этом задании с помощью программы mkdssp вычислялась экспонированность остатков в открытой и закрытой форме того же белка, что и в предыдущих заданиях. Я вычисляла разность значений экспонированности, выданных программой, для соответствующих остатков в закрытой и открытой формах. Наиболее изменил значение экспонированности глутамат 195 (рис.7). Такая разница связана, во-первых, с тем, что остаток находится на поверхности белковой молекулы и, следовательно, более подвижен, и во-вторых, значительной разницей в положениях закрытой и открытой конформаций.

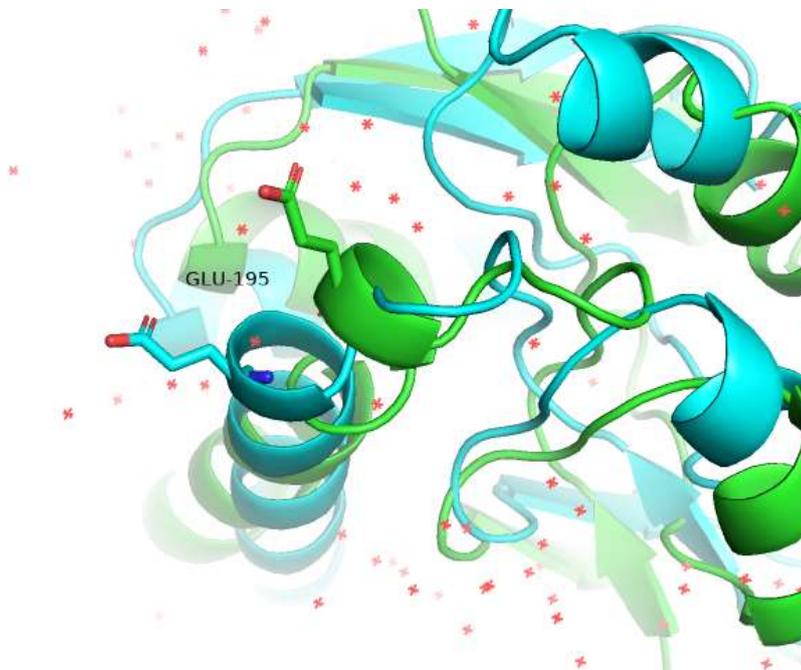


Рис.7. Участок белка с глутаматом 195. Голубым цветом показана открытая форма, зеленым – закрытая.