

Практикум № 7. Связывание лигандов. Карманы связывания. Индуцированное соответствие

1 Изменения

1.1 Форма кармана и взаимодействия

Посмотрим, как меняется форма кармана после взаимодействия фермента с лигандом. Сначала я приведу три изображения поверхности кармана, чтобы показать изменения самой полости.

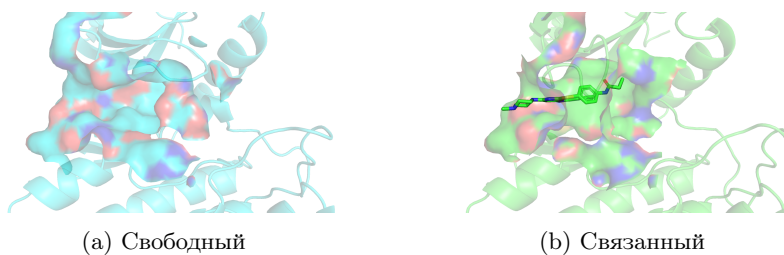


Рис. 1: Вид на карман связывания сбоку. Поверхность кармана показана surface

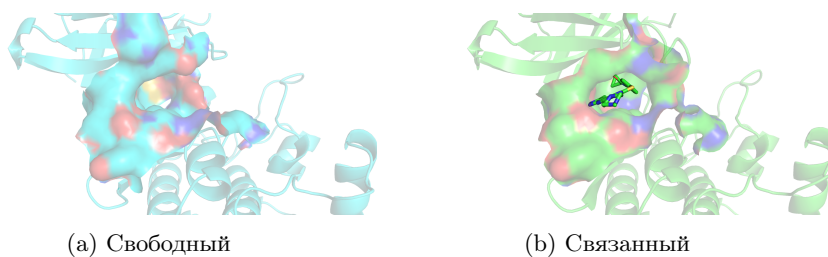


Рис. 2: Вид на карман связывания со стороны входа субстрата. Поверхность кармана показана surface

На двух изображениях видно, что несвязанная форма - скорее щель с очень большим входом, а связанная форма - более просторный карман, вход в который - узкий и лиганд даже выйти оттуда самопроизвольно не может.

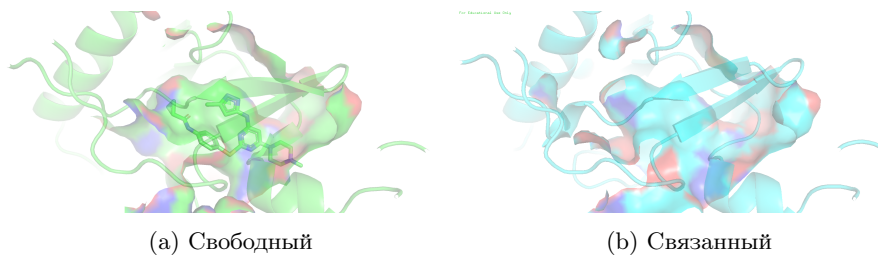


Рис. 3: Вид на карман связывания снизу. Поверхность кармана показана surface

Тут немного видно, что карман углубляется - поверхность, ограничивающая на рисунке 3 карман слева, отодвигается левее, в результате чего полость увеличивается.

Рассмотрим несколько взаимодействий которые поддерживают ту или иную структуру.

Изменения кармана происходят в основном за счет движения петель, которые занимают остатки 245-255 и 380-385. Давайте на них посмотрим:

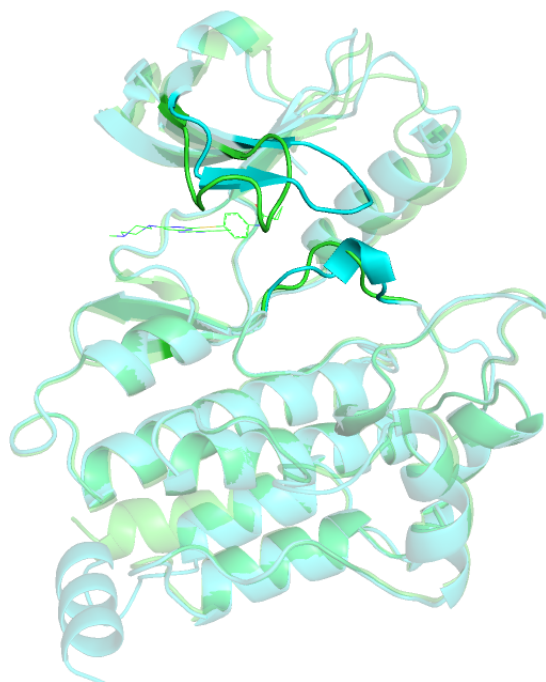


Рис. 4: Две структуры целиком. Голубым показана структура free, зеленым - структура bound. Более плотным показаны петли, меняющие строение кармана при связывании.

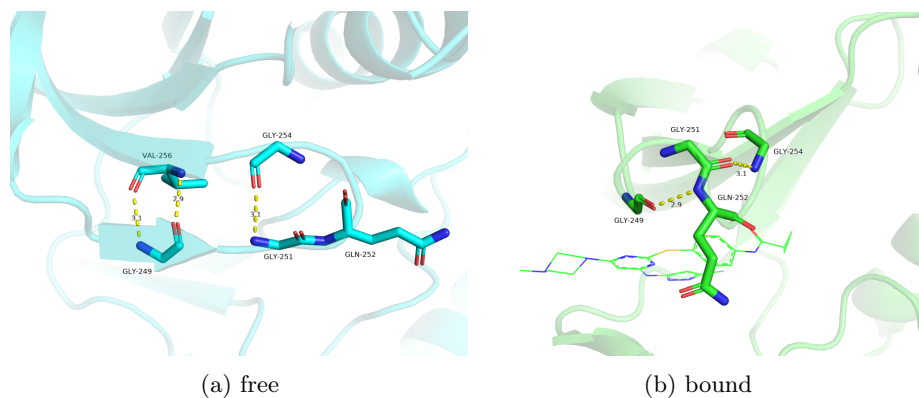


Рис. 5: Остатки, поддерживающие строение петель

В свободном состоянии петля входит некоторыми остатками в состав бета-слоя, который образует верхнюю плоскую 'крышу' щели для связы-

вания. При связывании петля сгибается и образует два водородные связи межостовные, которые делают из крыши скорее купол и прикрывают активный центр.

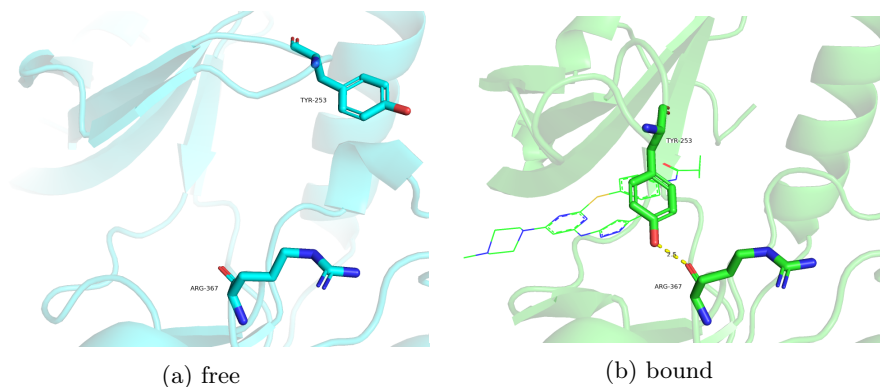


Рис. 6: Остаток-крючок

Тирозин 253 выступает в роли некоторого 'крючка' - при сгибании петли он, скорее всего образует водородную связь с остовом аргинина 367 и таким образом фиксирует петлю.

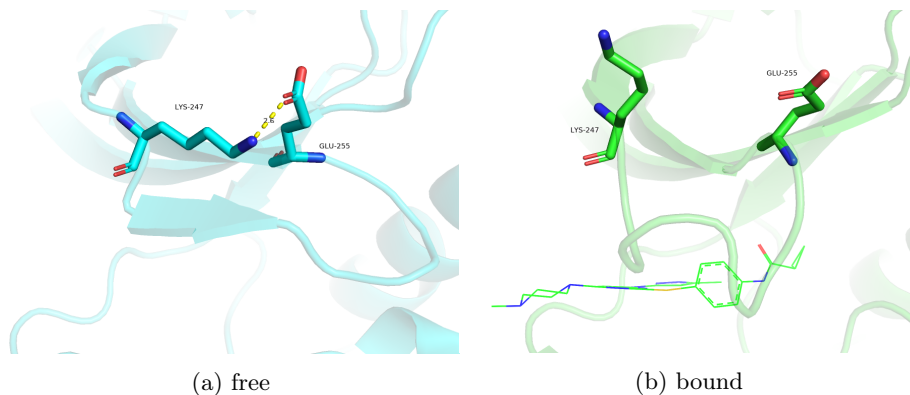


Рис. 7: Остаток-щелочда

Еще интересное ионное взаимодействие между лизином 247 и глутаматом 255, которое стабилизирует фермент в несвязанном состоянии. При связывании лизин отодвигается в сторону и позволяет петле двинуться вниз.

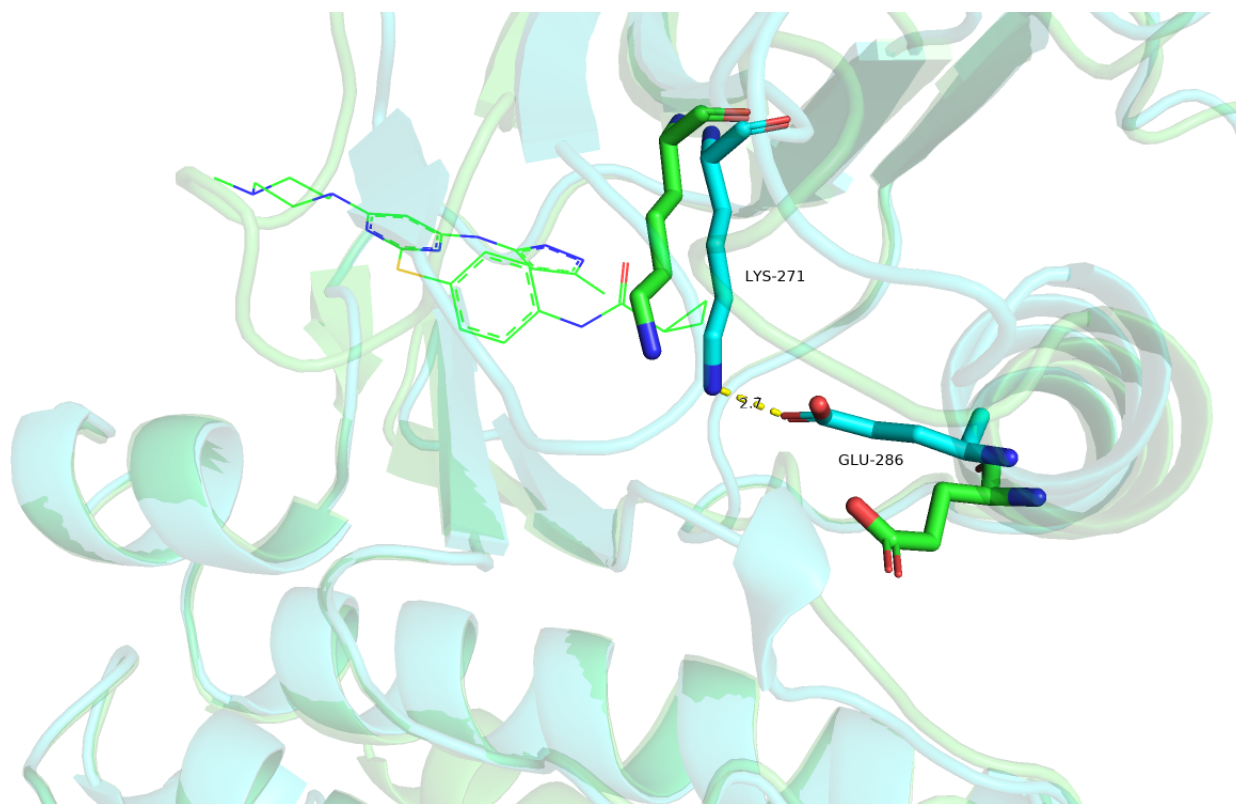
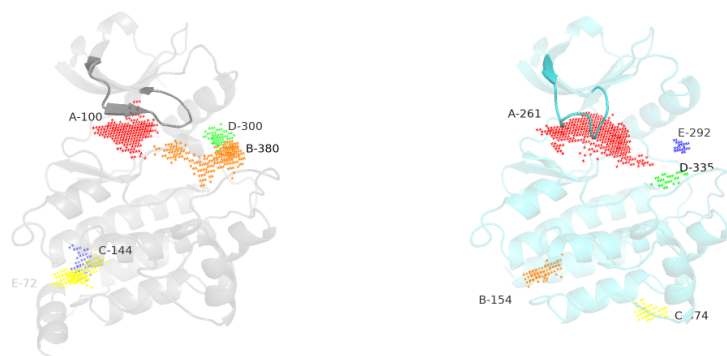


Рис. 8: Голубым показана структура free, зеленым - структура bound.

Еще одно здоровское подсказанное взаимодействие, показывающее, что и сам фермент немного сплющивается вокруг кармана - это ионная пара лизин 271 - глутамат 286, которая разрушается при образовании комплекса фермент-субстрат. При этом видно, что альфа-спираль, в состав которой входит глутамат немного отъезжает направо, что видимо позволяет верхней 'шапке' фермента немного опуститься вниз.

1.2 Объем полости

У меня не очень большой белок, и, как мне кажется, полости были найдены.



(a) Карманы несвязанной формы

(b) Карманы связанной формы

Рис. 9: Топ-5 карманов согласно POCASA. Серым показана несвязанная форма, голубым - связанная с лигандом. Красным показан карман связывания с лигандом. Более темным цветом показана петля, составленная из остатков 245-255.

В обоих случаях самый большой карман (А - покрашен красным в обоих случаях) и был карманом связывания лиганда. Объем кармана в несвязанной форме - 241, в связанной - 387. При этом интересно, что в моем случае в связанном белке наиболее сильно изменено положение петли, сформированной остатками с 245 по 255, и когда петля меняет положение, то карман А частично объединяется с карманом В.

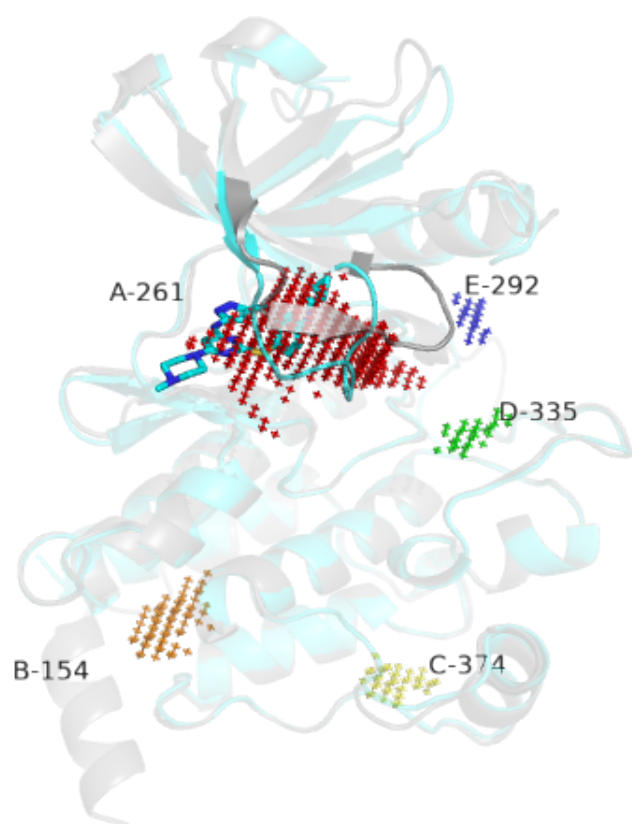


Рис. 10: Карманы связанной формы, показан сам лиганд и обе формы белка

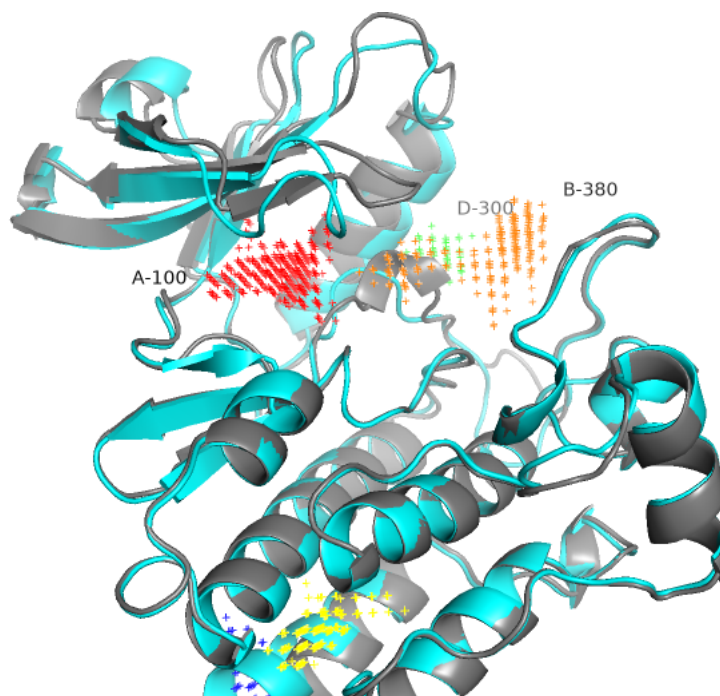


Рис. 11: Карманы несвязанной формы, показан сам лиганд и обе формы белка

Со стягиванием не так понятно. Очевидно, что у меня при связывании наоборот, полость увеличивается. Однако сам белок, как видно на картинке 2, действительно немного "стягивается" верхняя его часть, как крышка, немного закрывается. Я думаю, что передвижение петли и увеличение кармана происходит одновременно со связыванием, но как бы после того, как лиганд оказался "по пояс" внутри кармана. На самом деле на рисунке 3 также видно, что лиганд не целиком помещается (или еще поместился) внутри кармана).

2 Протонирование, подготовка к докинг

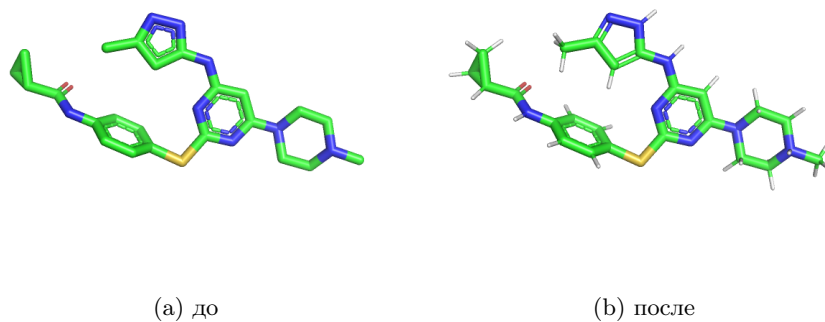


Рис. 12: Лиганд до и после протонирования с помощью PDB2PQR

Дообвление протоно разумно, кроме последнего метила:

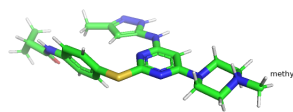


Рис. 13

думаю, этот протоны на этом метиле стоило бы повернуть на 60 градус.

3 Докинг

Лучший остаток в целом хорошо соответствует настоящему положению лиганда:

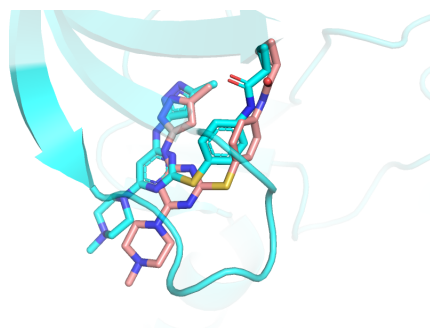
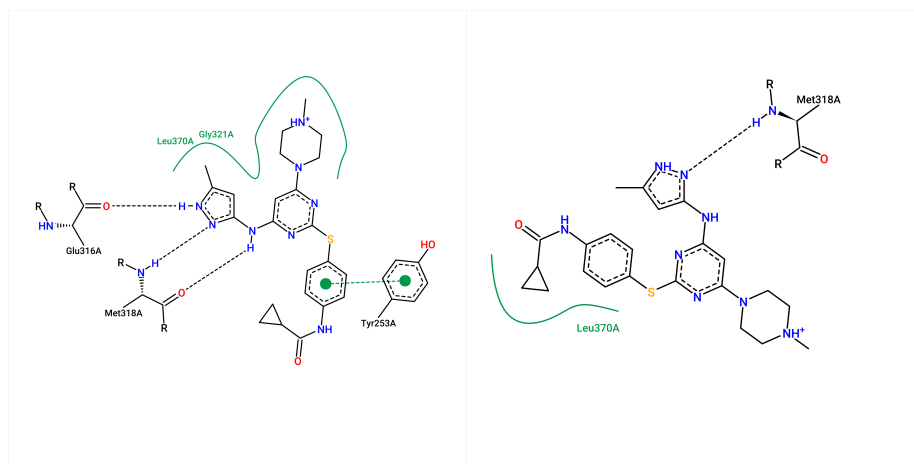


Рис. 14: Топ-1 выдача Webina покрашена розовым, настоящее положение - голубым, при этом прозрачным показан связанный белок.

Однако, давайте посмотрим на связи:



(a) Настоящий лиганд

(b) Докинг

Рис. 15: Взаимодействия в соответствии с сервисом Poseview

Видно, что связей у лиганда-результата докинга сильно меньше, чем у настоящего лиганда. Посмотрим, почему так могло произойти.

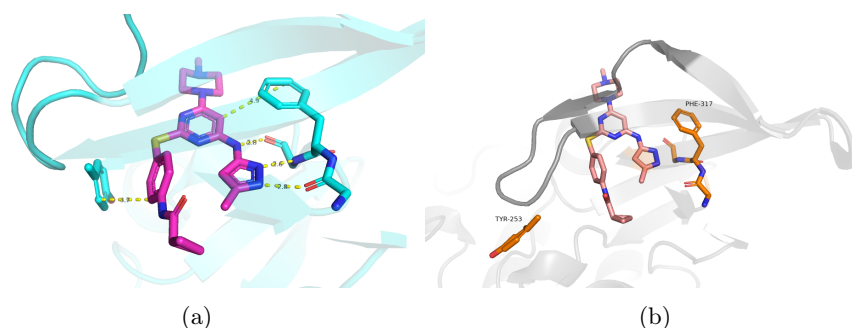


Рис. 16: Контакты с лигандом в связанном состоянии и тот же карман в несвязанном состоянии и выдачей докинга

Во-первых хотела сказать, что визуализировав карман, я бы предположила еще пи-стэкинг взаимодействие с PHE-217. С остальными взаимодействиями выдачи я согласна и других не обнаружила!

Как видно из трехмерной визуализации, докинг-лиганд не до конца "протасен" внутрь кармана. Чтобы сделать возможным взаимодействия с остовом, как в связанном состоянии, нужно как бы потянуть лиганд немного на зрителя на картинке 8b. Это совпадает с обнаруженным ранее фактом, что в несвязанном состоянии карман менее длинный - видимо лиганд просто невозможно продвинуть дальше в карман.

Также видно, что TYR-253 в несвязанной форме находится очень далеко от лиганда - чтобы взаимодействие стало возможным, петля должна изогнуться и сдвинуться ближе к лиганду, одновременно удлиняя карман.

В процессе есть только одна общая связь с MET-318. Однако я бы не сказала, что это первая связь - мне кажется лиганд уже достаточно глубоко внутри белка. А вот то, что дальнейшее закрывание фермента будет случаться как раз после того, как лиганд принял такое положение, как в докинге - кажется мне вполне реалистичным.

Таким образом я думаю, что вряд ли в данном случае происходит induced fit. После того, как лиганд влез в карман, случается перестройка белка, в результате чего карман увеличивается в объеме, лиганд проходит немного глубже и образует остальные связи.