

Что может АльфаФолд2: предсказание структуры комплекса протеазы катепсина К и олигопептидного субстрата

Введение

В данном практикуме мне предстояло изучить возможности AlphaFold2 в предсказании структуры белка. Я выбрала задание с предсказанием структуры комплекса протеазы и олигопептидного субстрата. Работа проводилась с катепсином К. Катепсин К – это секретируемая цистеиновая протеаза, которая участвует в резорбции и ремоделировании костей. Для исследования я использовала последовательность фермента [P43235](#) и последовательность субстрата из MEROPS [CDILDVLD](#) (субстрат указан как физиологически релевантный). Работа проводилась при помощи сервиса ColabFold.

Полная последовательность

В начале работы с ColabFold я ввела в поле **query_sequence** полную последовательность катепсина К.

Предсказанная AlphaFold2 структура комплекса протеазы с предполагаемым субстратом сравнивалась с PCA-моделью [1ATK](#) фермента в комплексе с ковалентным ингибитором E-64. Лучшее предсказание представлено на Рис.1. Предсказанная структура (обозначена голубым) достаточно хорошо ложится на структуру 1ATK (обозначена зеленым), RMSD = 0.386. Олигопептид (обозначен синим) лег в стороне от предсказанной структуры, а не в активном центре предсказанного белка. Это могло произойти потому, что активный центр предсказанного фермента закрыт сигнальным пептидом и пропептидом.

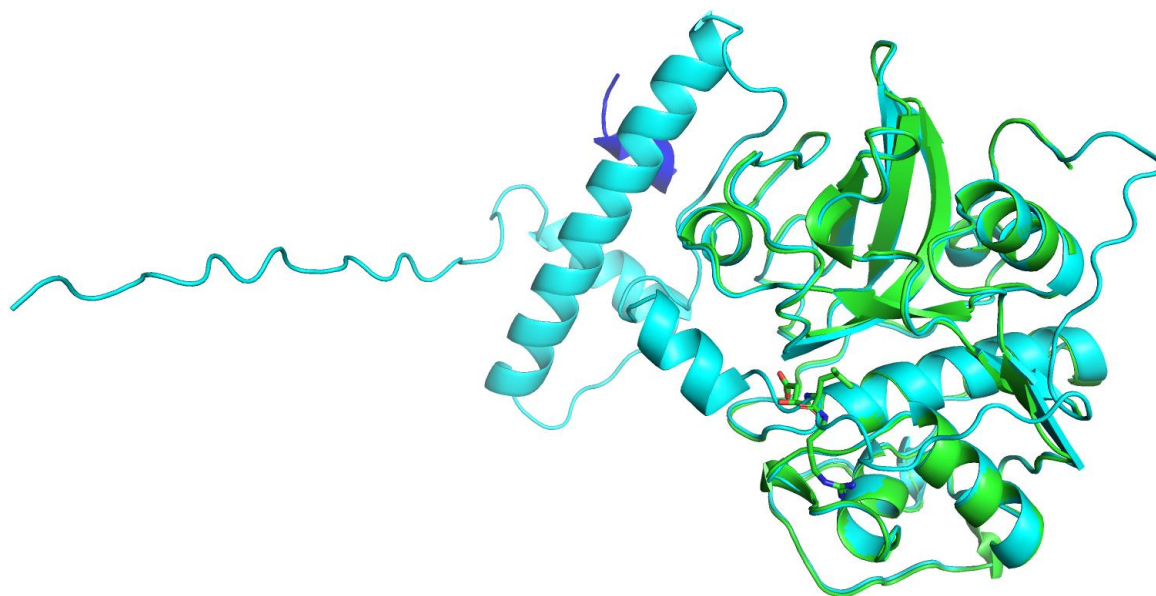


Рис. 1. Предсказание AlphaFold2 (пептидаза показана голубым, олигопептидный субстрат показан синим) и структура 1ATK (показана зеленым).

На Рис. 2. показана каталитическая триада катепсина К: Cys-25, His-162 и Asn-182 [1] и ингибитор E-64 (структура показана на Рис. 3.), ковалентно связанный с Cys-25. Как и у других цистеиновых пептидаз, у катепсина К остаток гистидина депротонирует цистеин, а цистеин проводит нуклеофильную атаку карбонильного атома углерода. Остаток аспарагина нужен для стабилизации гистидина [2].

Предсказанная структура фермента (обозначена серым) довольно хорошо согласуется с известной структурой катепсина К 1АТК (обозначенной зеленым).

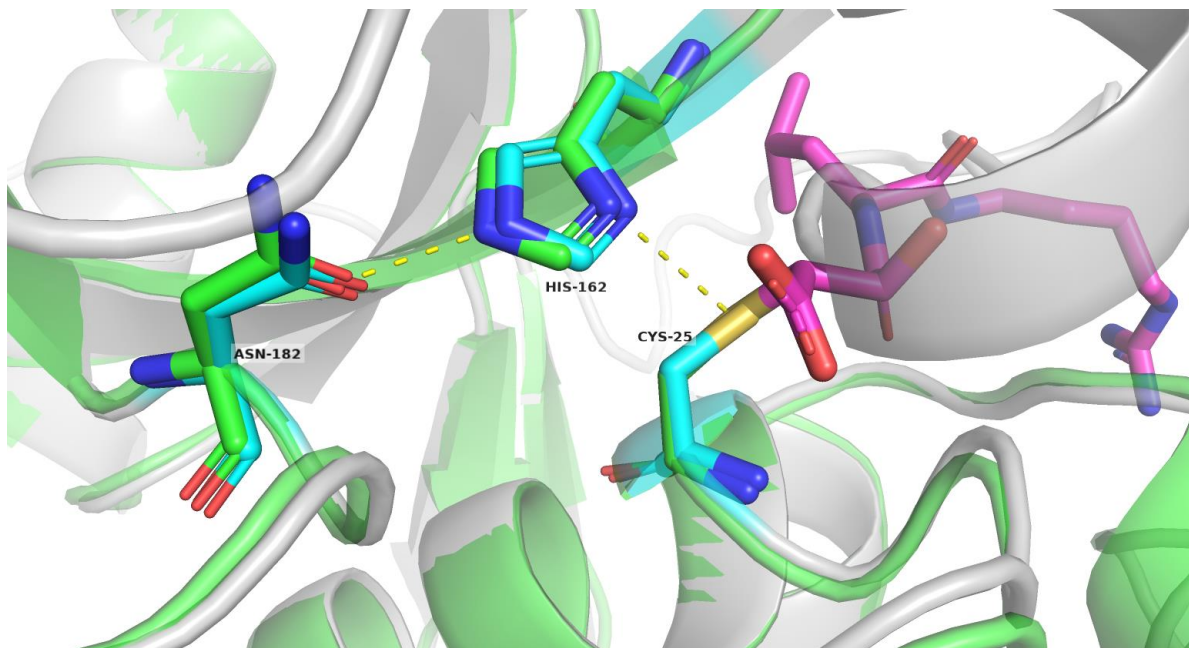


Рис. 2. Каталитическая триада катепсина К: Cys-25, His-162 и Asn-182 и ковалентно связанный ингибитор E-64. Предсказанная AlphaFold2 структура фермента окрашена серым, известная структура катепсина К 1АТК окрашена зеленым. Ингибитор E-64 обозначен розовым

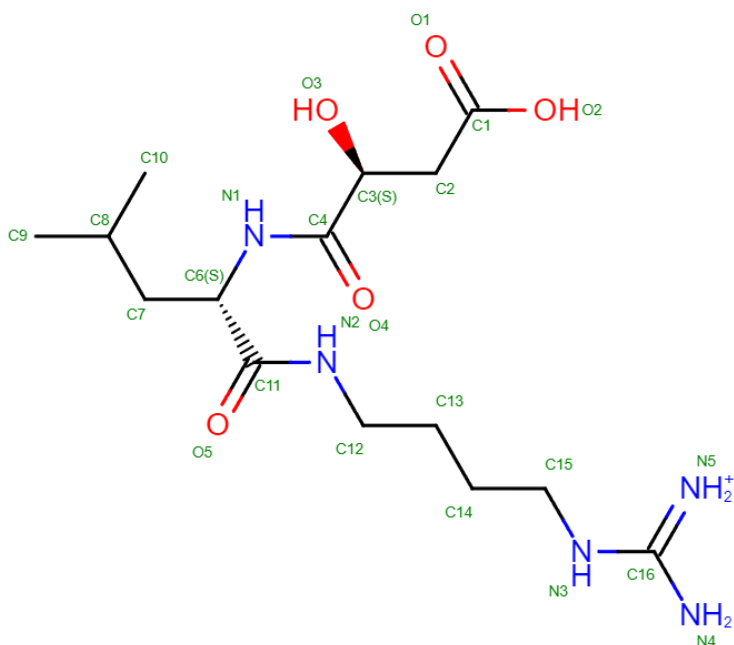


Рис. 3. Структура ингибитора E-64.

У предсказанной структуры также имеется метрика качества (см. Рис.4). По ней видно, что у предсказания довольно хорошее покрытие: даже для N-концевого участка нашлось свыше 1000 гомологичных последовательностей, и идентичность у этих последовательностей от 0.5 до 0.8.

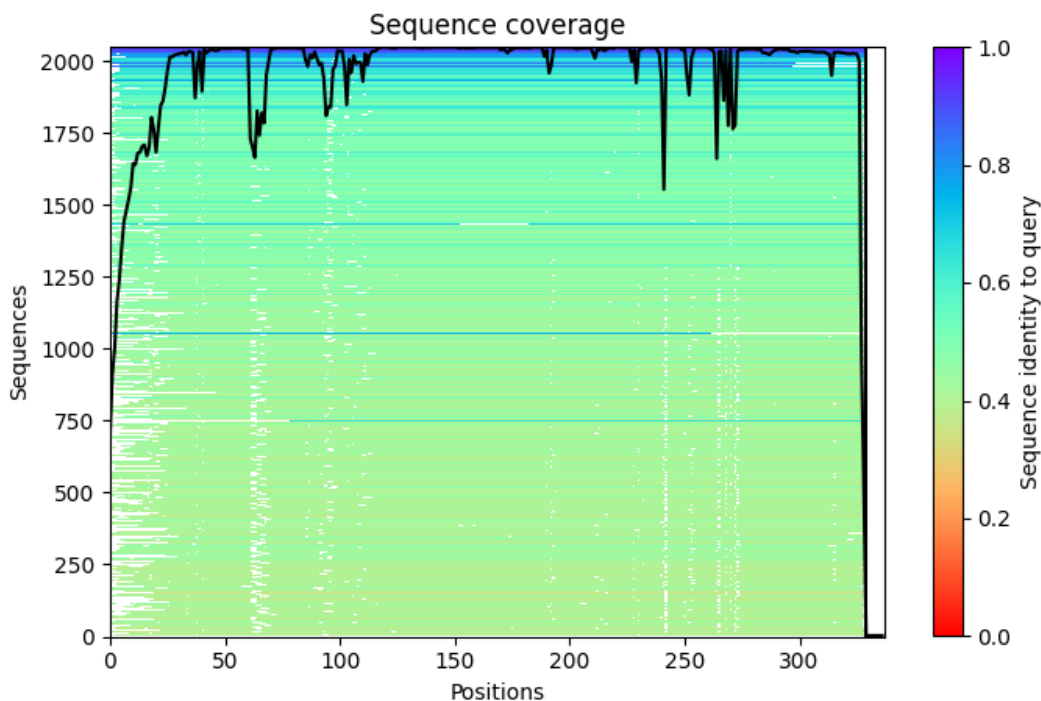


Рис. 4. Метрика качества предсказания AlphaFold2: покрытие последовательности

Последовательность зрелого фермента

Далее при работе с ColabFold я ввела в поле **query_sequence** последовательность катепсина К, начиная со 115 аминокислоты (в Uniprot с этой аминокислоты начинается последовательность зрелого фермента).

Предсказанная структура (обозначена желтым) тоже хорошо легла на структуру 1ATK (обозначена зеленым), RMSD = 0.364. Только теперь олигопептиду не мешались последовательности от пре-пропептида (сигнальная последовательность и пропептид), поэтому олигопептид расположился рядом с активным сайтом фермента (см. Рис. 5). Положение остатков активного центра практически не поменялось.

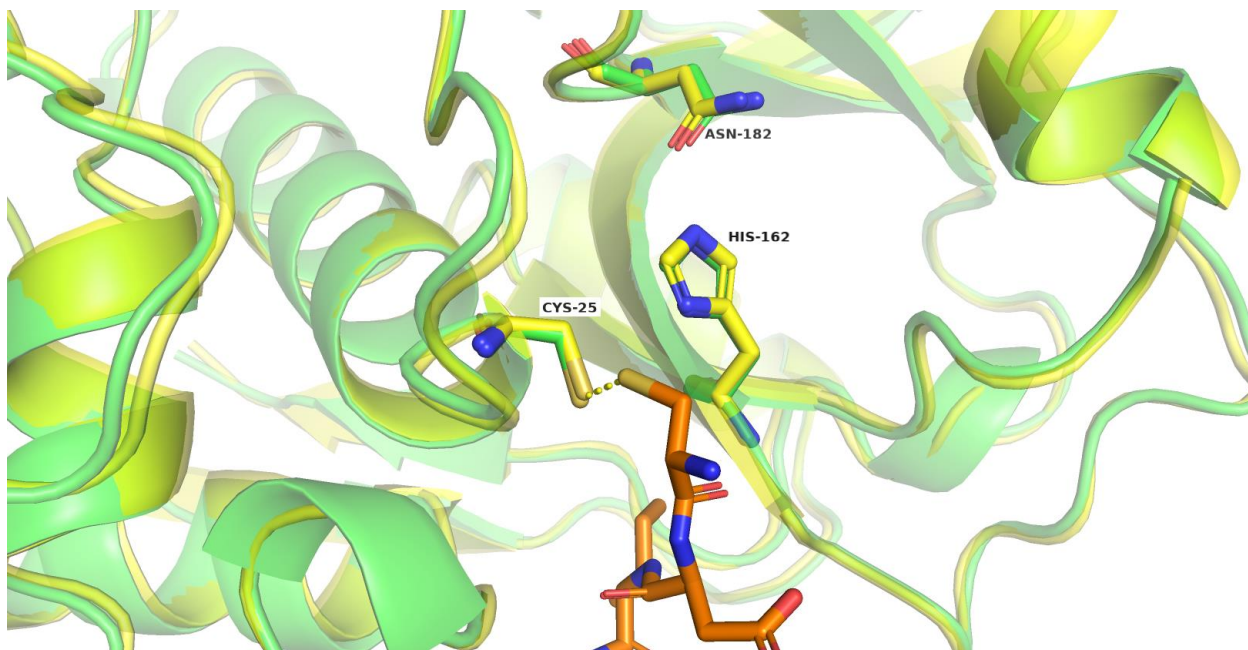


Рис. 5. Каталитическая триада катепсина К: Cys-25, His-162 и Asn-182 и олигопептидный субстрат CDILDVLD. Предсказанная AlphaFold2 структура фермента окрашена желтым, известная структура катепсина К 1ATK окрашена зеленым, субстрат CDILDVLD окрашен оранжевым

Заключение

Я полагаю, что предсказанная модель комплекса олигопептидного субстрата и пептидазы не дала полной картины связывания. Цистеин олигопептида получился связанным с цистеином активного центра фермента дисульфидным мостиком на расстоянии 2.7Å. Cys-25 активного центра не направлен к связи между Leu и Asp (P1-P1' в базе [субстратов для катепсина К](#)).

Пусть AlphaFold2 не удалось предсказать взаимодействие олигопептида и пептидазы, однако он очень хорошо смог предсказать структуру фермента, да и сам субстрат находится в приблизительно правильном месте. Скорее всего, для получения полной картины связывания лиганда с ферментом нужно знать структуру самого лиганда или сделать лиганд побольше, чтобы лучше предсказать его структуру. Также можно было бы подобрать несколько белков с уже известными аналогами субстрата.

Я бы не стала использовать AlphaFold2 в настоящем исследовании с целью предсказать модель связывания пептидазы с субстратом. Разве что, это поможет «прикинуть», какие могут быть взаимодействия у лиганда с ферментом.

Скачать архивы с предсказаниями

[Предсказание 1](#)

[Предсказание 2](#)

Источники

1. Zhao, Baoguang & Janson, Cheryl & Amegadzie, Bernard & D'Alessio, Karla & Griffin, Charles & Hanning, Charles & Jones, Christopher & Kurdyla, Jeff & McQueney, Michael & Qiu, Xiayang & Smith, Ward & Abdel-Meguid, Sherin. (1997). Crystal structure of human osteoclast cathepsin K complex with E-64. *Nature structural biology*. 4. 109-11. 10.1038/nsb0297-109.
2. DRESNER-POLLAK, R., STOCH, S. A., & ROSENBLATT, M. (2008). New Approaches to Osteoporosis Therapeutics. *Osteoporosis*, 1837–1895. doi:10.1016/b978-012370544-0.50082-3