

Связывание лигандов. Карманы связывания. Индуцированное соответствие

Задание 1. Изменения

Мне были даны две структуры одного и того же белка: форма, связанная с лигандом, и не связанная (см. Рис. 1). При взгляде на совмещенные друг с другом структуры этого белка бросается в глаза различие в положении петель, вероятно, они служат воротами фермента.

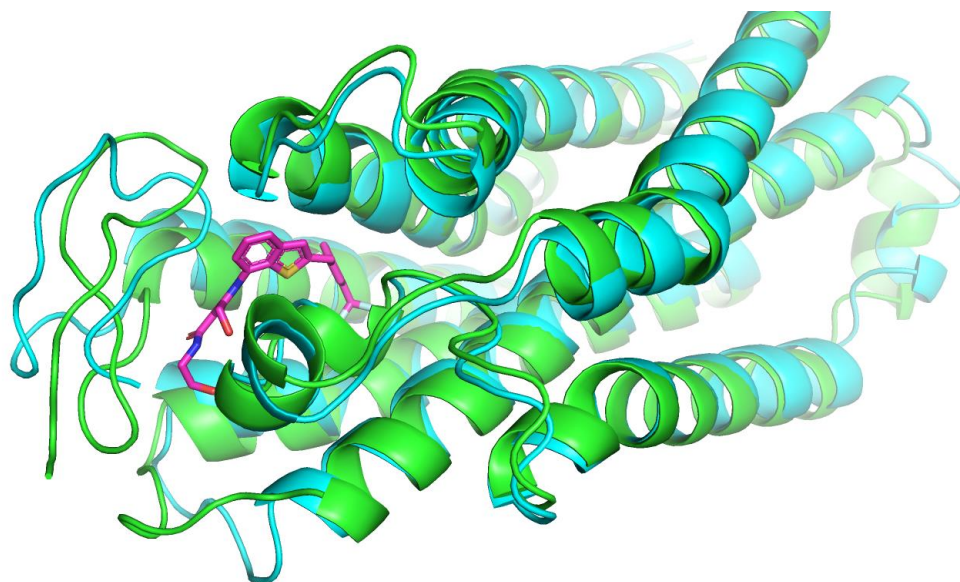


Рис. 1. Общий вид связанной (обозначена зеленым) и не связанной (обозначена голубым) с лигандом формы белка. Лиганд окрашен в розовый.

Чтобы изучить изменения, происходящие в кармане связывания, рассмотрела аминокислотные остатки на расстоянии 5 Å от лиганда. На Рис. 2 видно, что петля слева «закрывает» карман. Tyr-34 обеспечивает отгорождение лиганда от растворителя.

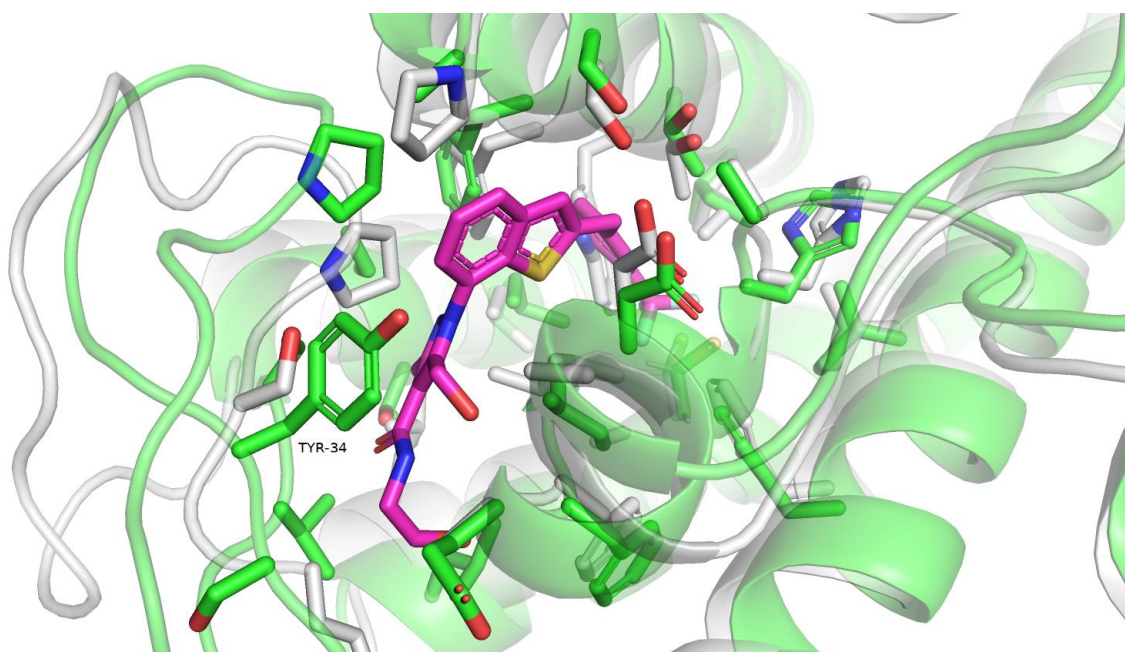


Рис. 2. Общий вид кармана связывания лиганда. Белый – не связанная с лигандом, зеленый – связанная с лигандом форма. Лиганд обозначен розовым

Кроме того, что Tyr-34 «отгораживает» карман связывания от растворителя, он еще и, возможно, взаимодействует с лигандом за счет π -катионного стекинга, сопряженного с внутримолекулярной водородной связью с лигандом (см. Рис. 3).

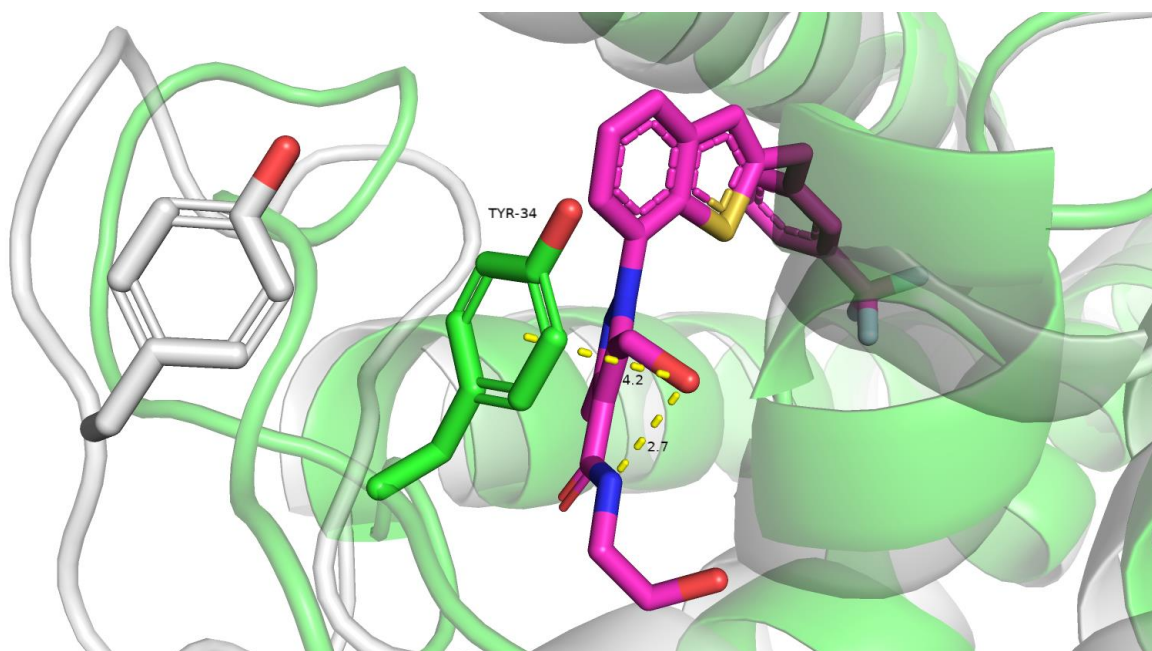


Рис. 3. π -катионный стекинг между лигандом и Tyr-34

Кроме этого, в связанной с лигандом форме белка стало более выгодным наличие T-стекинга между ароматическим кольцом лиганда, содержащим серу, и Phe-300 (см. Рис. 4).

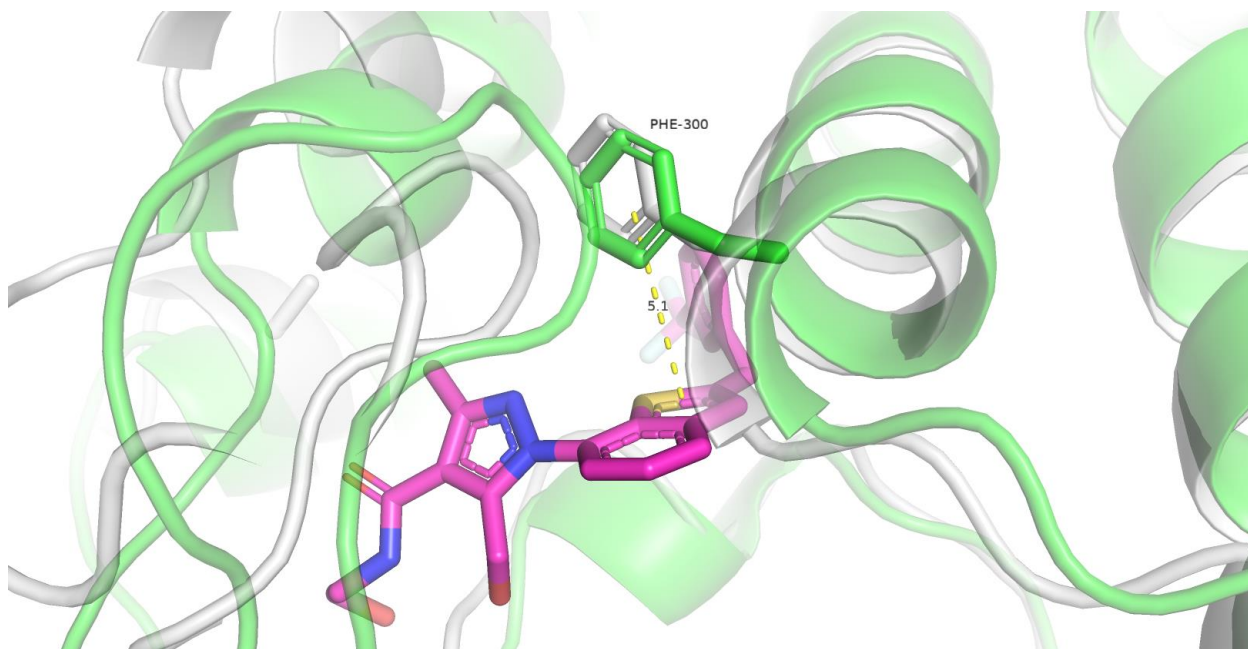


Рис. 4. T-стекинг между лигандом и Phe-300

В связанной с лигандом форме можно заметить водородную связь между кислородом лиганда и OH-группой Thr-44 (пусть и слабую). Левая α -спираль (см. Рис. 5) сдвинулась одним краем ближе к лиганду, тем самым немного «стянув» карман связывания.

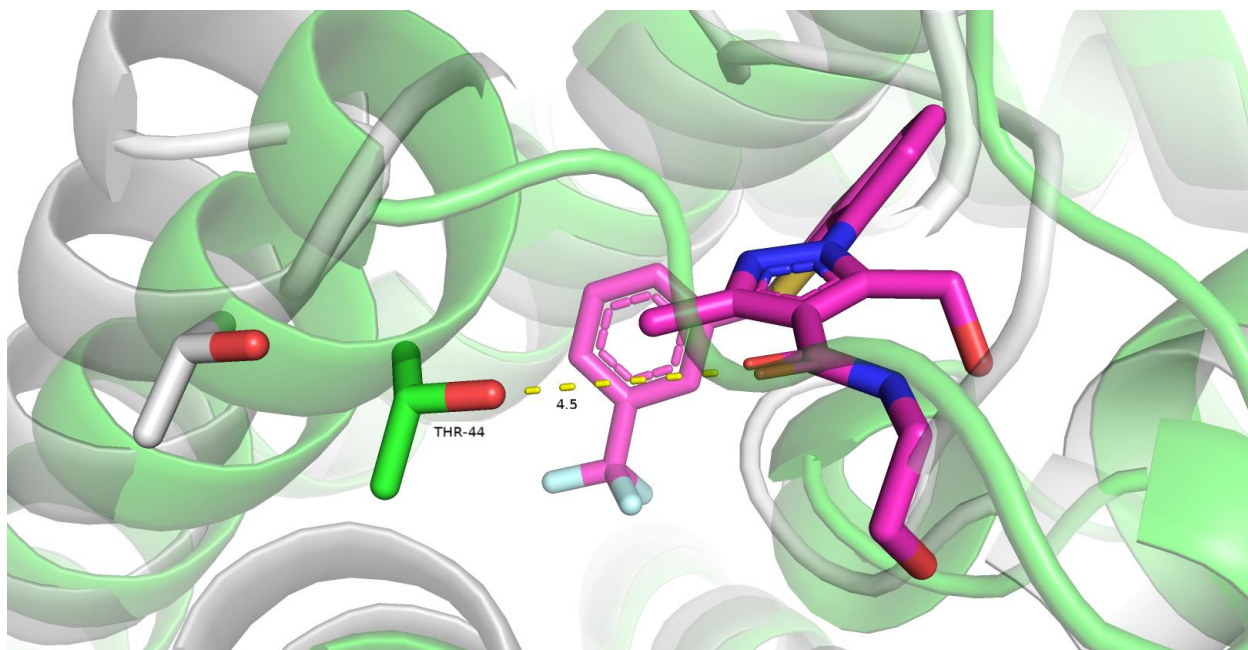


Рис. 5. Водородная связь между лигандом и Thr-44

Также можно заметить, что Trp-304 в несвязанном состоянии обращен в сторону кармана связывания, а в связанном состоянии, наоборот, обращен к поверхности белка (см. Рис. 6). Возможно, это необходимо для предотвращения неспецифического связывания с белком.

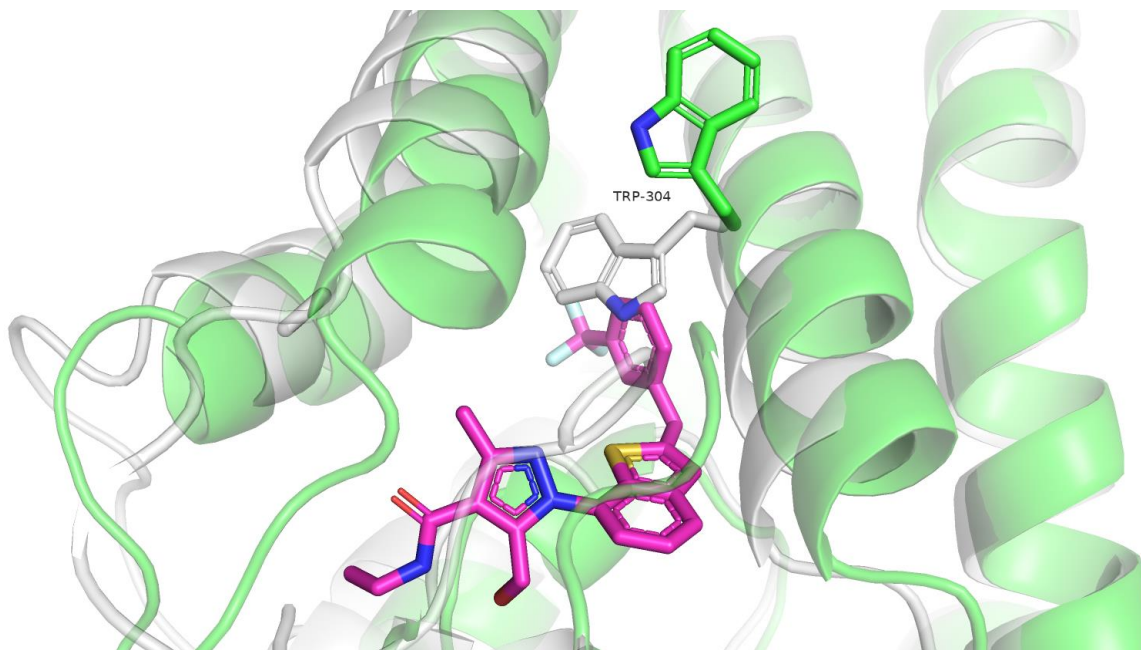


Рис. 6. Trp-304 в связанной с лигандом (зеленый) и в не связанной с лигандом (белый) форме. Лиганд обозначен розовым

В кармане связывания много алифатических остатков, это значит, что лиганд, вероятнее всего, стабилизируется также за счет гидрофобных взаимодействий.

С помощью веб-сервера POCASA получила информацию о карманах белка.

Табл. 1. Топ-5 самых объёмных карманов в свободной и связанной формах белка по версии POCASA. Жирным шрифтом обозначен карман связывания лиганда.

Free ID	Volume	Bound ID	Volume
103	642	90	687
483	203	388	277
197	155	34	232
44	142	571	99
300	125	672	75

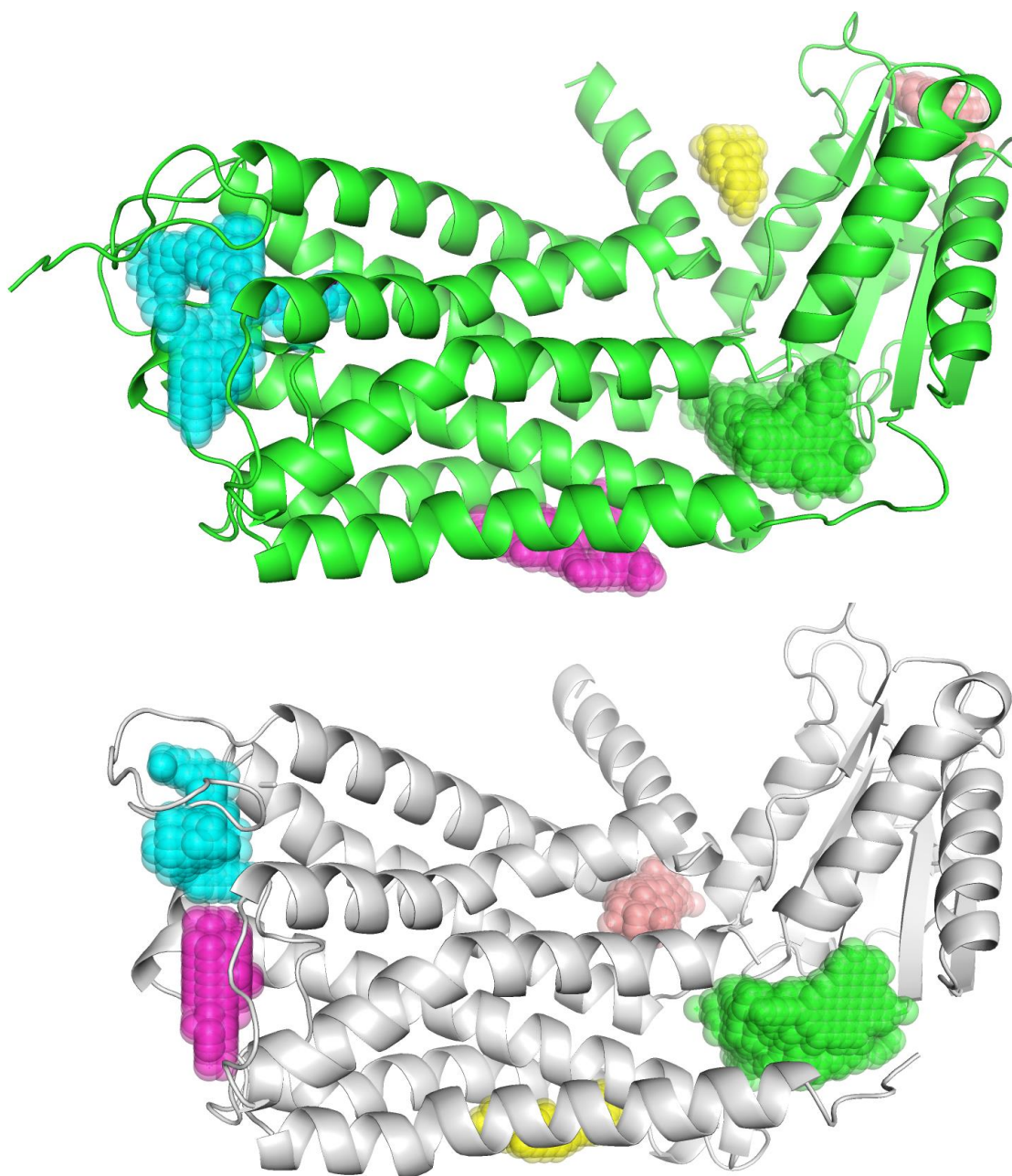


Рис. 7. Топ-5 самых объёмных карманов в свободной и связанной формах белка по версии POCASA. Зеленым обозначена связанная с лигандом форма белка (сверху), белым – не связанная (снизу)

На мой взгляд, веб-сервер действительно выдал самые объёмные карманы данного белка. Объём кармана связывания лиганда при подсчёте POCASA увеличен для связанной формы по сравнению со свободной. Скорее всего, это из-за того, что остаток Trp-304 в несвязанной форме преграждает путь к углублению в белке. Однако, если просто посмотреть на карман связывания, то он «стягивается» за счет сближения петли (см. Рис. 2) и α -спиралей (см. Рис. 6). Думаю, стягивание кармана происходит во время связывания лиганда.

Задание 2. Протонирование, подготовка к докингу

Протонирование не связанной с лигандом формы белка осуществлялось с помощью сервиса PDB2PQR, который использует программу PROPKA для предсказания рКа.

Затем вручную водороды были добавлены к лиганду. При взгляде на полученную структуру (см. Рис. 8) вопросов по соблюдению валентности атомов и к углам не возникло. Поэтому обе протонированные структуры – структура несвязанного белка и лиганда – были сохранены для дальнейшего использования в докинге.

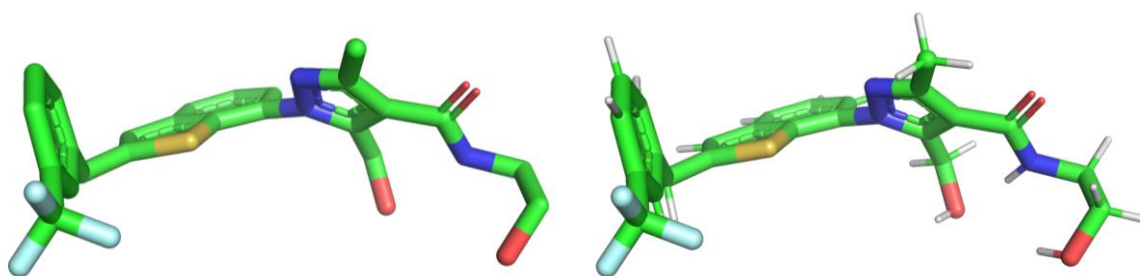


Рис. 8. Лиганд, данный в исходной модели связанного белка (слева), и протонированный лиганд (справа)

Задание 3. Докинг

Для генерации гипотез расположения лиганда воспользовалась программой Webina.

В выдаче ни одна из представленных девяти поз не похожа на ту, что была в модели структуры связанной формы белка (см. Рис. 9). Наверное, это связано с изменением положения Trp-304 (см. Рис. 6), это дало бы возможность лиганду «пройти» вглубь кармана. В трех из девяти выдач (см. Рис. 10), вероятно, лиганд ориентирован более-менее правильно, и при дальнейших изменениях в структуре белка лиганд принял бы позу, похожую на ту, которую мы видим в связанной форме белка.

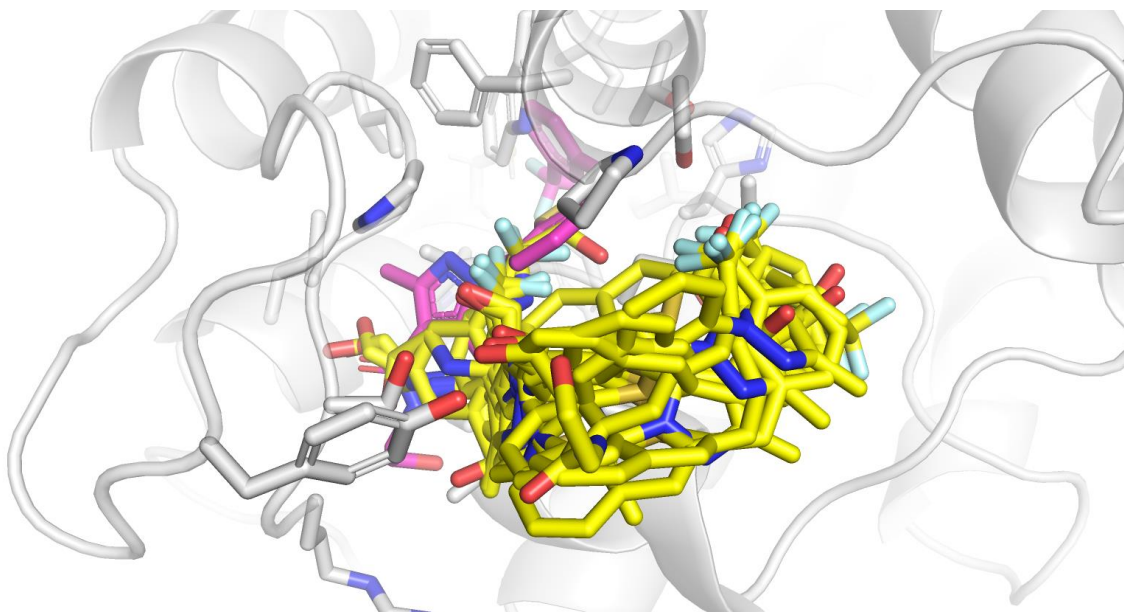


Рис. 9. Выдача Webina из девяти возможных поз лиганда (обозначены желтым)

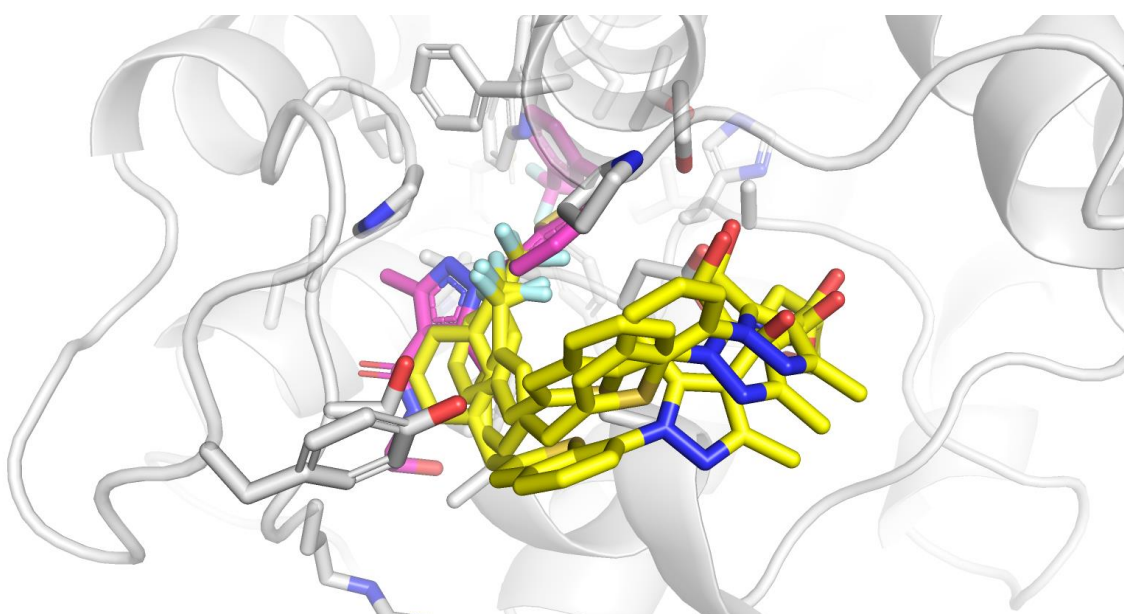


Рис. 10. 1, 4 и 9 возможные позы лиганда (обозначены желтым)

Для истинной позы и лучшей позы из выдачи построила визуализацию взаимодействий с помощью PoseView (см. Рис. 11, 12).

Так как лиганд в лучшей выдаче Webina все-таки не зашел в карман полностью, мы видим некоторые различия во взаимодействиях, которые посчитал PoseView. Однако есть один остаток, который присутствует в обеих выдачах PoseView – Asp-188. Если взглянуть на трехмерную структуру (см. Рис. 13), то действительно, взаимодействие этого остатка имеет право на существование (правда, геометрия для π -катионного стекинга между кислородом остатка и ароматическим кольцом лиганда не самая хорошая). Мне кажется, Asp-188 можно считать за «якорь» в процессе связывания лиганда с карманом связывания.

Похоже, что лиганд не может забраться вглубь кармана без изменения конформации, значит, имеет место индуцированное взаимодействие.

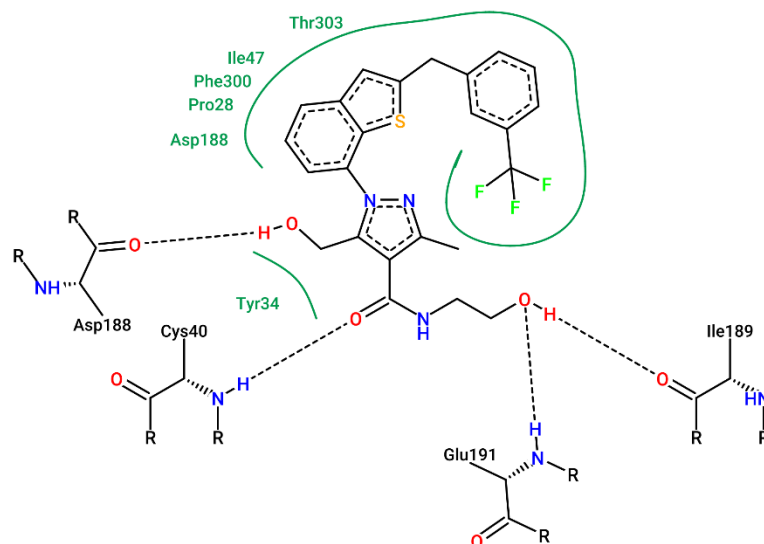


Рис. 11. Связанная форма белка при взаимодействии с лигандом

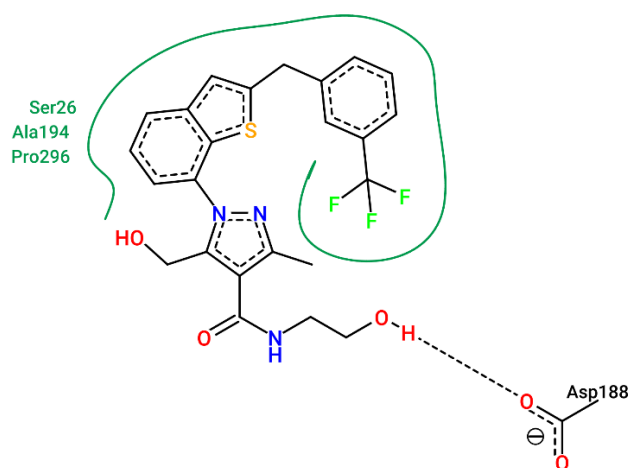


Рис. 12. Свободная форма белка при взаимодействии с лучшей позой

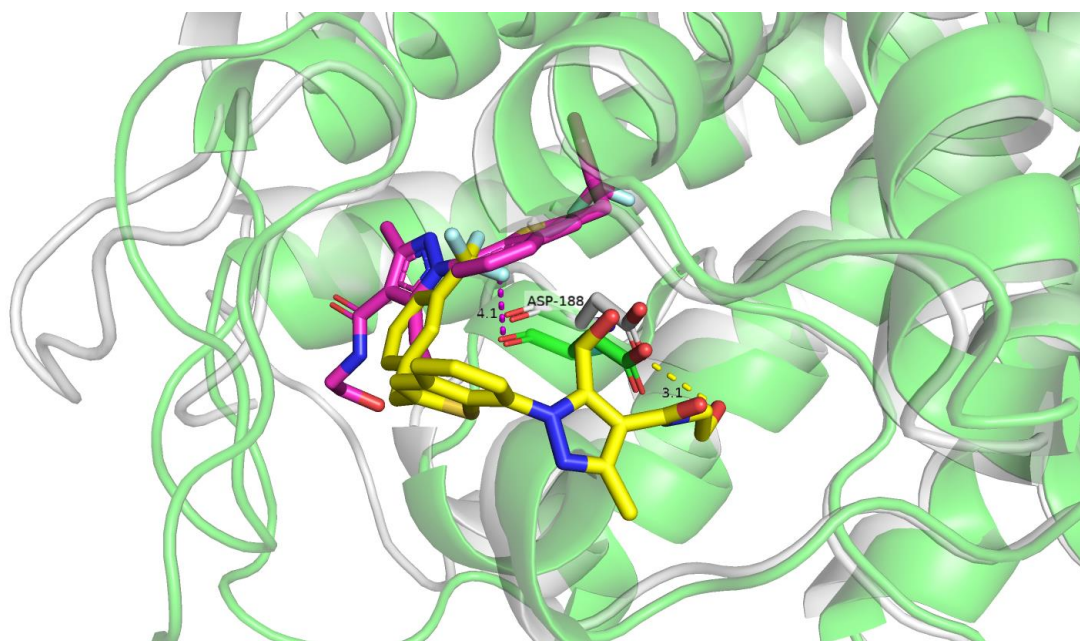


Рис. 13. Взаимодействия Asp-188 с лигандом в истинной структуре (зеленой) и с предсказанным лигандом в несвязанной структуре (белой)