

# Структура и функция

## Введение

Ras homolog family member A (UniProt ID - [M3WU80](#)) – член семейства малых Rho ГТФаз, который переключается между неактивным ГДФ-связанным и активным ГТФ-связанным состояниями и действует как молекулярный «переключатель» в каскаде передачи сигнала (см. Рис. 1). Способствует реорганизации актинового цитоскелета и регулирует форму клетки, ее прикрепление и подвижность. Оверэкспрессия RHOA (гена, кодирующего изучаемый мной белок) связана с делением опухолевых клеток и метастазами [1].

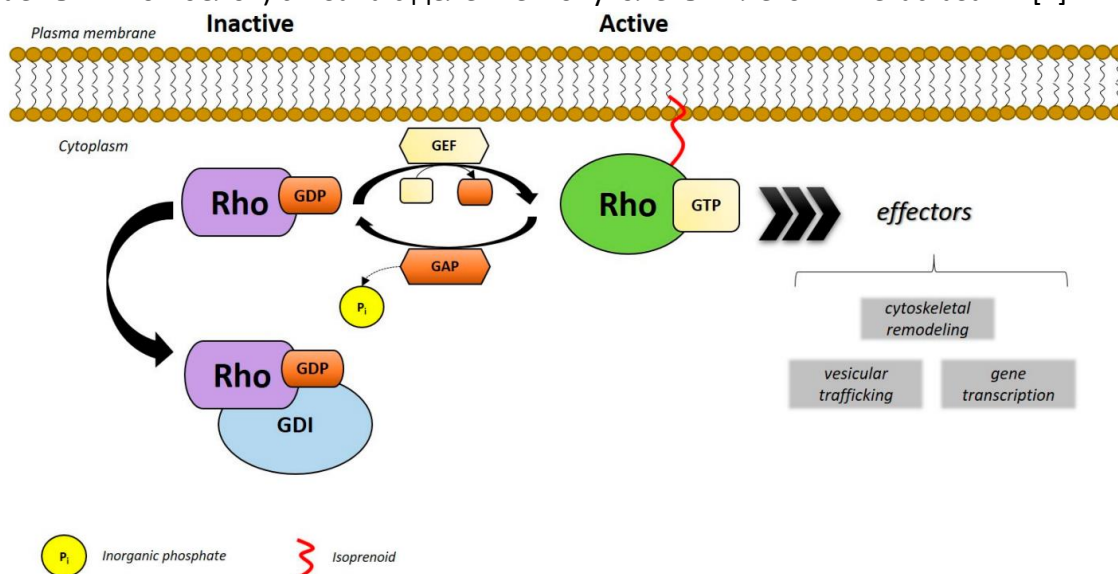


Рис. 1. Схема участия Rho ГТФазы в клеточных процессах

Изучаемый мной белок был выделен из кошки, и модели структуры для него не нашлось. Поэтому по [сиквенсу](#), представленному на UniProt, я искала в BLAST ортологи, имеющие rdb-структуру. Нашлось 100 хитов, около десятка было со 100% покрытием и 100% идентичностью, в основном, все эти белки были человеческие. Я выбрала один такой [белок](#), был той же длины, что и изучаемый мной фермент, и модель структуры которого имела хорошее разрешение (1.75 Å). Эта модель ([6R3V](#)) представлена в виде комплекса RhoA, связанного с ГДФ, фосфатом и RhoGAP.

В данном практикуме мне предстоит рассмотреть влияние на фермент трех мутаций: C85V, D80N и K120W, в полученной структуре остатки сдвинуты на 2 позиции влево.

## Мутация C85V

Остаток цистеина расположен на границе с зоной гидрофобного ядра рядом с участком связывания ГДФ (см. Рис. 2). Связан с аспарагином 117 слабой водородной связью (см. Рис. 3). Предположительно, замена цистеина на валин в области, богатой гидрофобными остатками, не повлечет за собой существенных изменений.

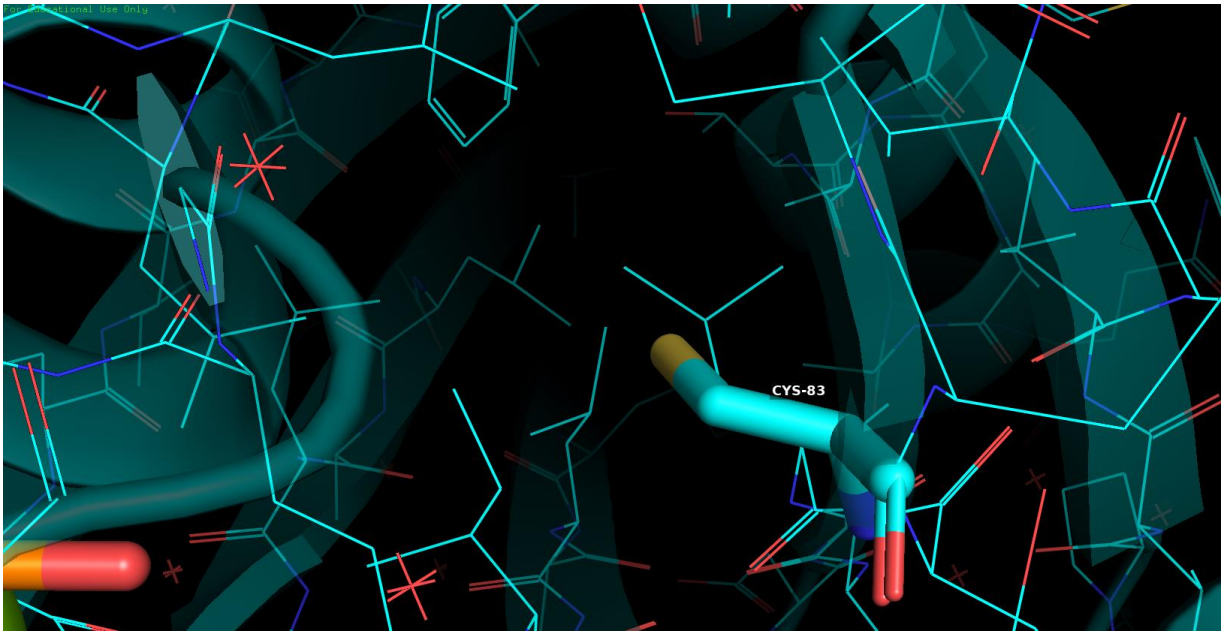


Рис. 2. Cys-83, расположенный рядом с гидрофобным участком

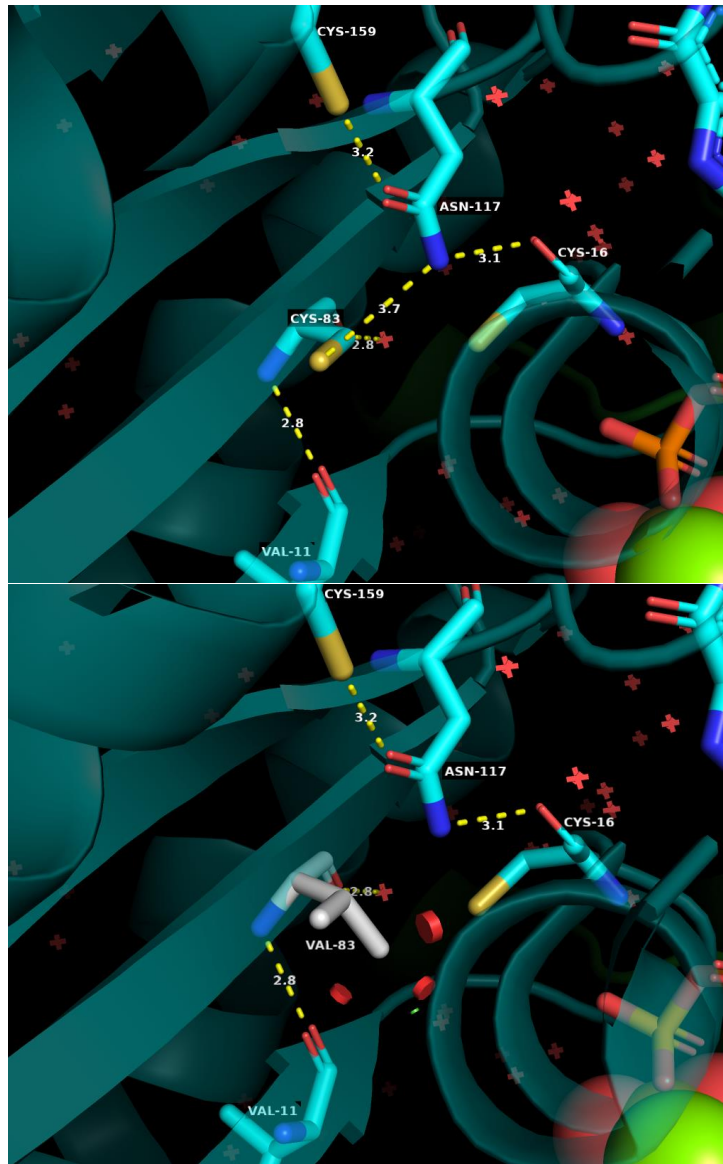


Рис. 3. Модель замены C83V

Особых стерических затруднений эта замена не вызовет, если судить по strain=14.04, представленность ротamera в природных структурах 51.6%. При этой замене потеряется одна водородная связь, но не думаю, что такая потеря существенна. Можно судить, что данная замена является нейтральной.

### **Мутация D80N**

Остаток аспарагиновой кислоты находится на поверхности белка и взаимодействует, разве что, с водой слабыми водородными связями (см. Рис. 4).

При замене аспарагиновой кислоты на аспарагин существенных изменений в структуре не происходит: strain 14.36, это говорит о том, что остаток спокойно релаксирует, представленность ротamera в природных структурах 5.8%. При замене D78N мы потеряем одну слабую водородную связь с водой и получим слабую водородную связь с соседним  $\beta$ -листом. Из всего перечисленного следует, что данная замена нейтральная.

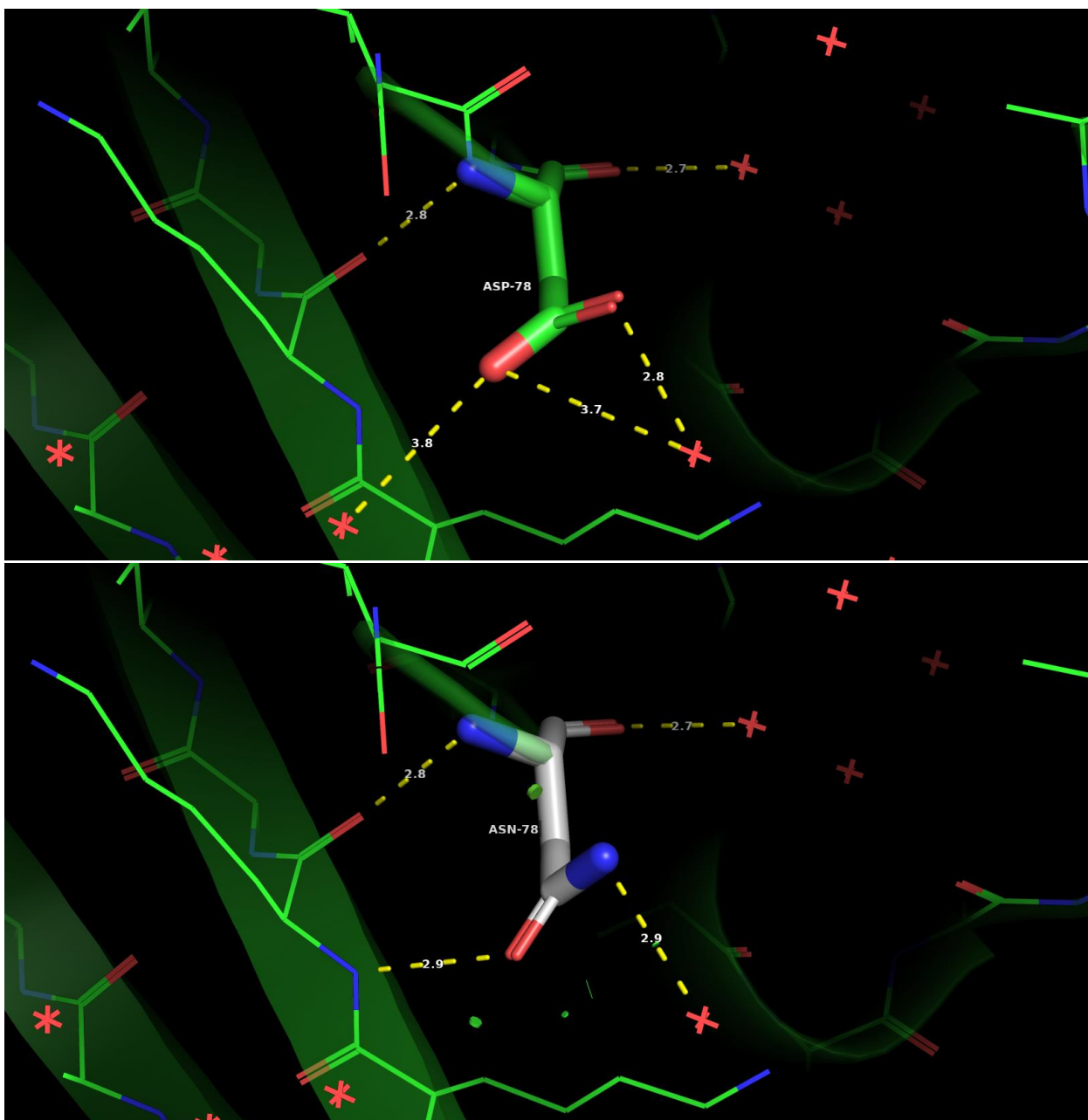


Рис. 4. Модель замены D80N

### Мутация K120W

Остаток лизина находится вблизи участка связывания с ГДФ, однако с молекулой лиганда он не взаимодействует. Лизин образует водородные связи с окружающими аминокислотами (см. Рис. 5) и с водой. Скорее всего, замена лизина на триптофан может вызвать стерические затруднения.

Как показывает модель с заменой (см. Рис. 6), Ван-дер-Ваальсово перекрытие остатка окружением оказывается слишком большим ( $\text{strain}=41.59$ ). Это значит, что ГДФ не сможет разместиться на таком участке без компенсаторных изменений конформации окружения.

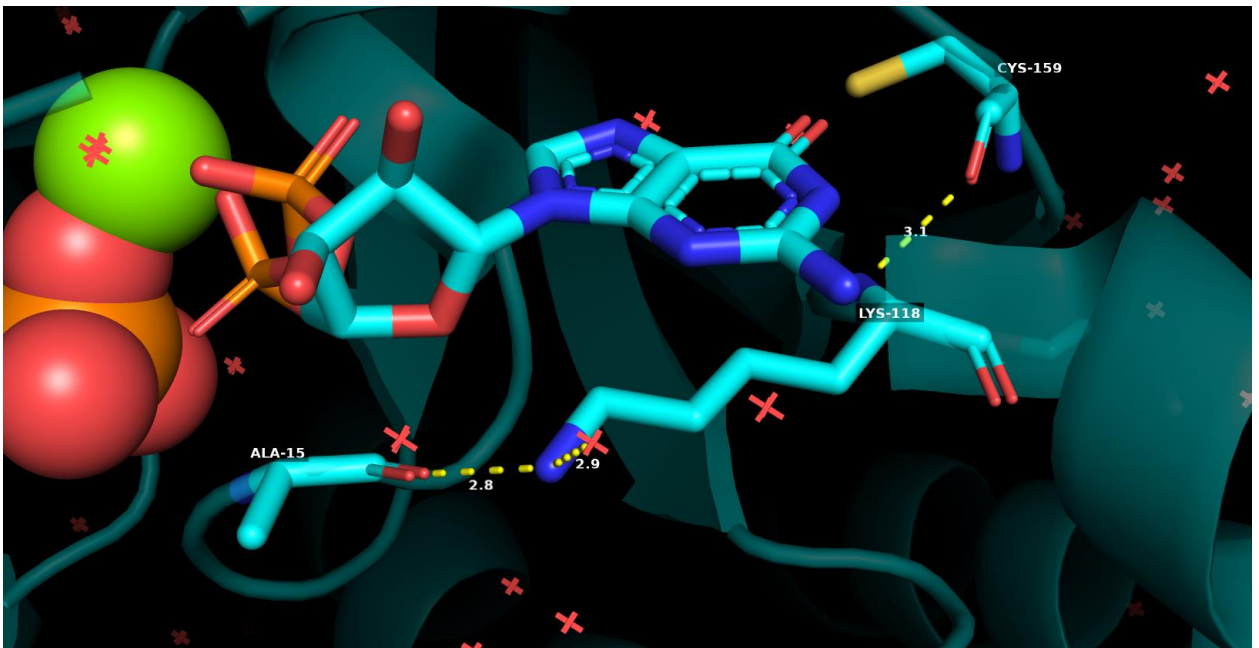


Рис. 5. Структура фермента до мутации

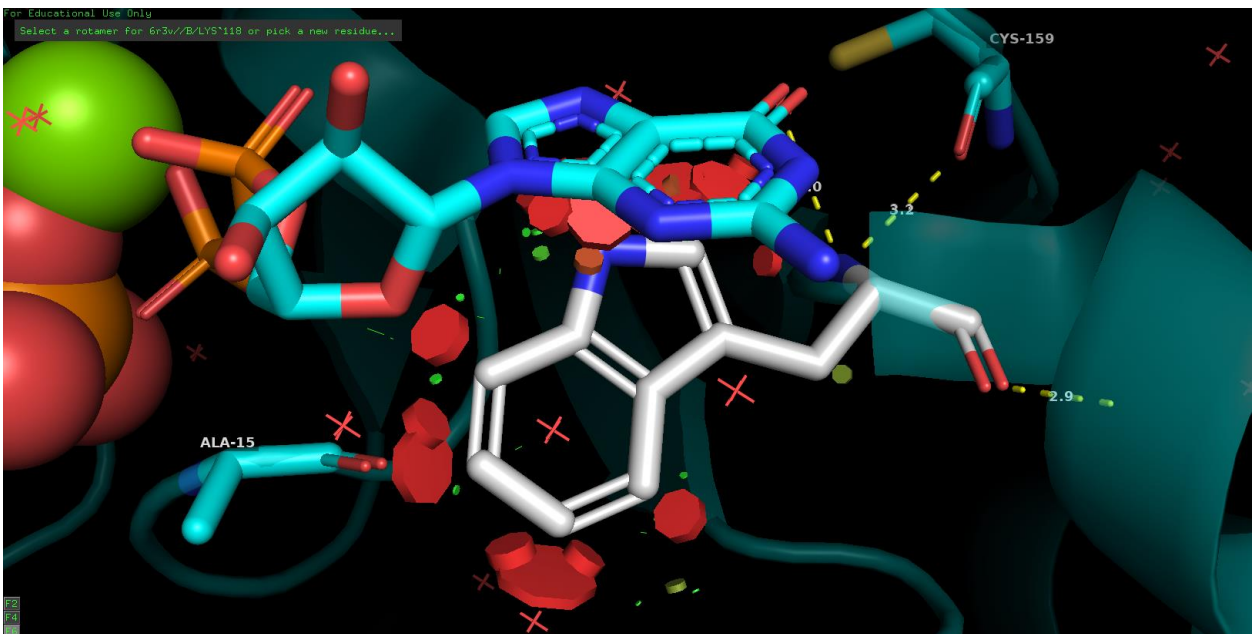


Рис. 6. Структура фермента после замены лизина на триптофан (использован только инструмент Mutagenesis)

После использования инструмента Sculpting, позволяющего релаксировать структуру без серьезных ее изменений, все равно возникло подозрение, что мутированный остаток не смог отрелаксировать – принял конформацию с неестественными углами, кольца остатка искривились (см. Рис. 7). Хотя остаток не играл существенной роли в связывании с субстратом (в литературе про Lys-120 тоже ничего нет), можно заключить, что мутация K120W скорее фатальна, чем нейтральна.

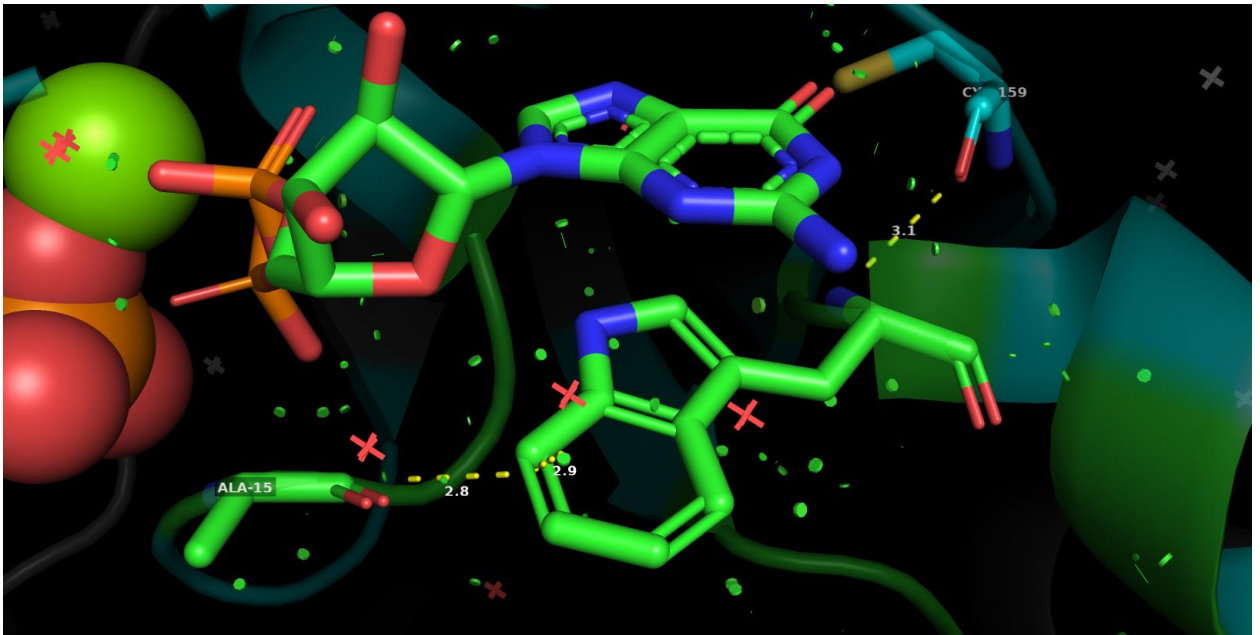


Рис. 7. Модель замены K120W с учетом релаксации (использован инструмент Sculpting)

## Источники

1. Gómez del Pulgar, Teresa & Lacal, Juan. (2011). RHOA (ras homolog gene family, member A). Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology. 10.4267/2042/38415.
2. Pradhan, Rashmita & Ngo, Phuong & Martínez-Sánchez, Luz & Neurath, Markus & López Posadas, Rocío. (2021). Rho GTPases as Key Molecular Players within Intestinal Mucosa and GI Diseases. Cells. 10. 66. 10.3390/cells10010066.