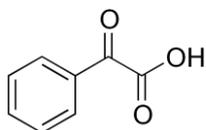


# Практикум 1. Pymol

## Введение

Для выполнения данного практикума использовали структуру с PDB ID 3SG0. Прежде чем перейти к описанию взаимодействий белок-лиганд, скажем пару слов про исследуемый объект. Данная структура принадлежит внеклеточному лиганд-связывающему рецептору из *Rhodospseudomonas palustris* (strain NaA2), ген RPB\_4630, который специфичен к ароматическим продуктам распада лигнина, таким как фенил-глиоксилат. Именно с ним и закристаллизован белок.



← фенил-глиоксилат

Рецептор связывает фенил-глиоксилат, а затем передает на ABC-транспортёры, которые осуществляют неспецифичный АТФ-зависимый транспорт низкомолекулярных соединений через клеточную мембрану. Предполагается, что продукты разложения лигнина, такие как фенил-глиоксилат, могут служить не только источником углерода, но и сигнальными молекулами, участвующие в т.н. quorum sensing [1]. Короче, объект для исследования интересный.

## Связывание фенил-глиоксилата рецептором

Карман связывания с лигандом и возможными взаимодействиями показан на рисунке 1. Поскольку сама по себе молекула лиганда (зеленая) состоит из двух частей: ароматического кольца и полярного заряженного заместителя, – карман связывания содержит как полярные заряженные аминокислоты для связи с заместителем, так и гидрофобные остатки вблизи бензольного кольца лиганда. Различия типов остатков в кармане связывания отражает цветовая схема: углероды ароматических остатков окрашены в бирюзовый, алифатических в серый, а части, образующие полярные контакты – сиреневые.

Заместитель лиганда образует в общей сложности 1 солевой мостик (покрашен сиреневым) и 6 водородных связей (желтые), 5 из которых приходится на кислороды карбоксильной группы. В образовании полярных контактов участвуют боковые группы аргинина-195, треонина-96, а также атомы остова треонина-96 и аланина-118. Последний также вносит вклад в образование гидрофобной части кармана своей боковой группой. Скорее всего, связывание заместителя может происходить и по-другому: карбоксильная группа может быть направлена к остатку аргинина, а карбонильный кислород – к треонину и аланину. По крайней мере, именно такая структура была получена при связывании похожего лиганда, но с удлиненной на 1 атом углеродной цепью заместителя [1].

Ароматическая часть лиганда фиксируется гидрофобными взаимодействиями с остатками алифатических аминокислот лейцина-40, аланина-220, валина-137 и уже упомянутого аланина-118, а также с ароматикой: гистидинами 244 и 307, тирозином-168 и фенилаланином-304. Последний помимо образования гидрофобного кармана потенциально связан с лигандом с помощью Т-стэкинга (показано красным).

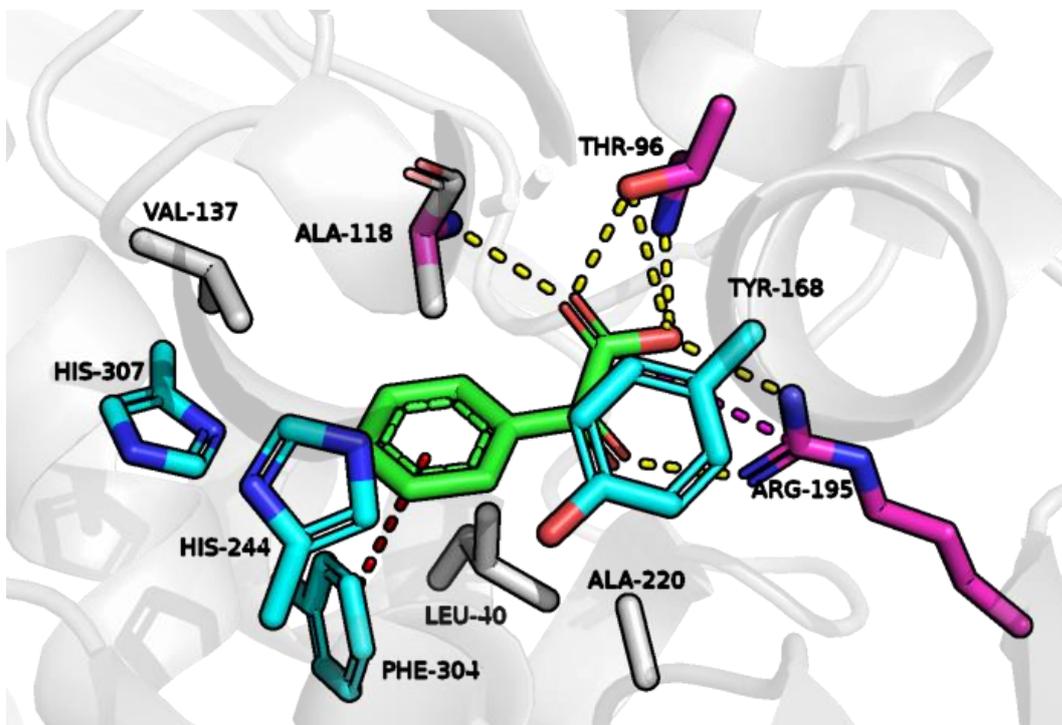


Рисунок 1 Карман связывания лиганда и потенциальные взаимодействия с ним (PDB ID 3SG0).

### Возможная роль ароматических остатков в транспортировке лиганда в карман связывания

Интересно, что ароматики вокруг лиганда довольно много, а специфичные для ароматики контакты с лигандом образует только фенилаланин-304. Есть ли какая-то особая функциональная роль у остальных ароматических остатков? Я предположил, что они могут участвовать в протаскивании лиганда из раствора в карман связывания. Но для того чтобы это подтвердить, надо понять, с какой вообще стороны лиганд попадает в карман. Этот вопрос сам по себе непростой, потому что карман находится глубоко внутри белка и снаружи не просматривается. Следовательно, либо конформация белка сильно меняется при связывании лиганда (с открытой на закрытую), либо существует туннель, по которому лиганд достигает кармана. Первый вариант по одной данной структуре ни подтвердить, ни опровергнуть не получится, зато можно проверить возможность второго. Для этого искали туннели от лиганда к поверхности белка с помощью плагина CAVER [2]. Всего было найдено 6 туннелей, 4 из которых начинаются одинаково. Положение наиболее широкого из найденных туннелей (он же 1 из 4 одинаково начинающихся) относительно лиганда и гистидинов показано на рисунке 2. Видно, что гистидин-307, гистидин-244 и тирозин-168 последовательно могут образовывать стэкинг с лигандом по мере его прохождения в карман, до того как он будет зафиксирован полярными контактами заместителя.

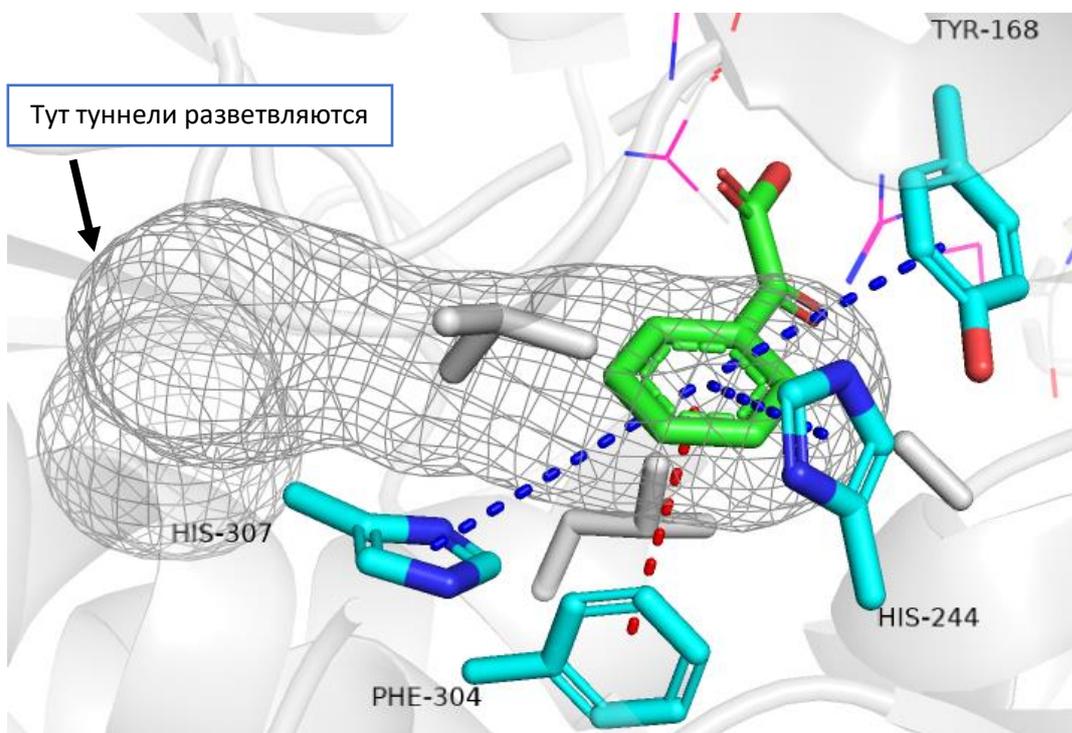


Рисунок 2 Возможный путь лиганда в карман и участие ароматики в направлении лиганда по этому пути. Синим показаны гипотетические стэкинг-взаимодействия при движении лиганда внутри туннеля.

Таким образом, изначальное предположение о роли этих остатков вполне может оказаться верным, т.к 2 туннеля, которые не проходят мимо ароматических остатков, слишком узкие для нашего лиганда (хотя конечно мб при прохождении конформация другая).

#### Ссылки на сессии рунol:

1. [Карман связывания](#)
2. [Туннель и три ароматических остатка](#)

#### Использованная литература:

1. Tan, K., Chang, C., Cuff, M., Osipiuk, J., Landorf, E., Mack, J. C., Zerbs, S., Joachimiak, A., and Collart, F. R. (2013) Structural and functional characterization of solute binding proteins for aromatic compounds derived from lignin: p-Coumaric acid and related aromatic acids, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, **81**, 1709-1726, doi: 10.1002/prot.24305.
2. Damborský, J., Petřek, M., Banáš, P., and Otyepka, M. (2007) Identification of tunnels in proteins, nucleic acids, inorganic materials and molecular ensembles, *Biotechnology Journal*, **2**, 62-67, doi: 10.1002/biot.200600208.