

Практикум 7.
Связывание лигандов.
Карманы связывания.

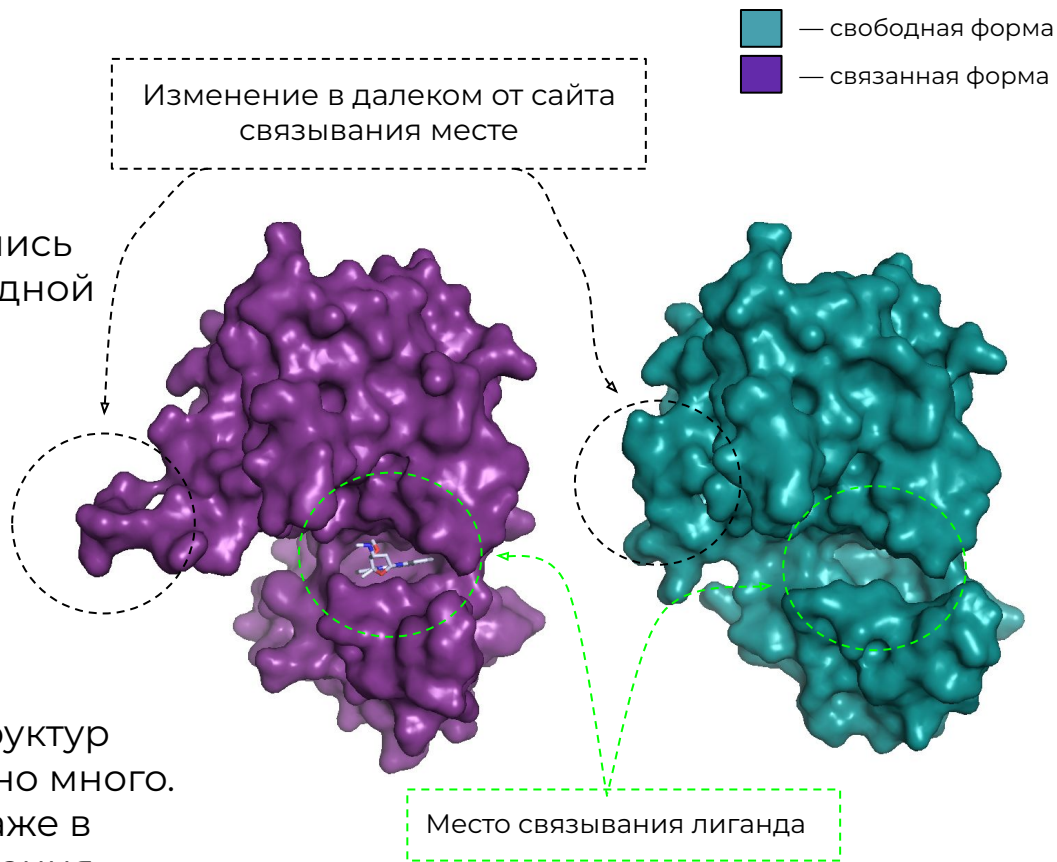
Гаркуль Лидия, 4 курс ФББ

Введение

В данном практикуме рассматривались структурные различия между свободной и связанной с лигандом формами некоторого белка. Для выполнения задания был выбран вариант 50.

Для начала рассмотрим подробнее структуры свободной и связанной формы белка в PyMol.

При отображении поверхностей структур сразу видно, что различий достаточно много. Причем изменения наблюдаются даже в достаточно далеких от места связывания частях.

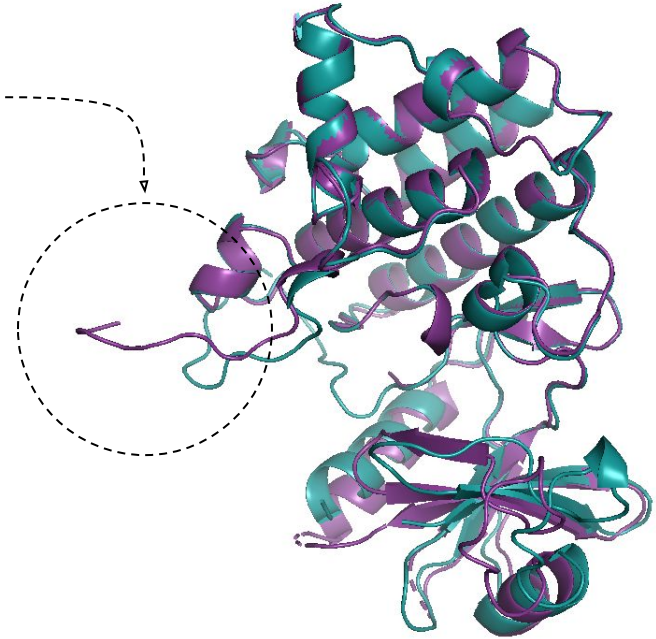


■ — свободная форма
■ — связанная форма

Анализ с помощью PyMol

Отмеченное на прошлом слайде сильное различие в отдаленном участке структуры, является, по всей видимости, некой нерегулярной частью. Поэтому скорее всего данное изменение не связано с присутствием лиганда.

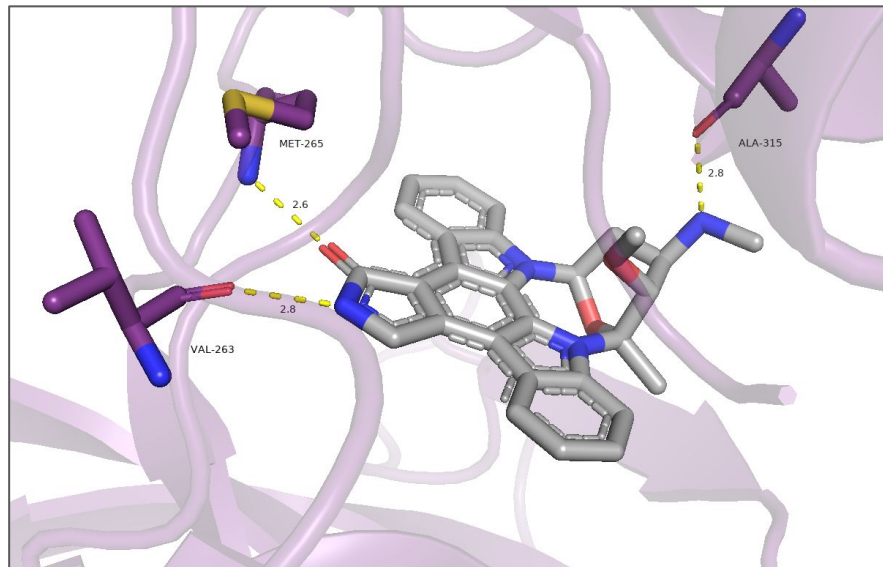
Более подробно рассмотрим изменения непосредственно вблизи сайта связывания.



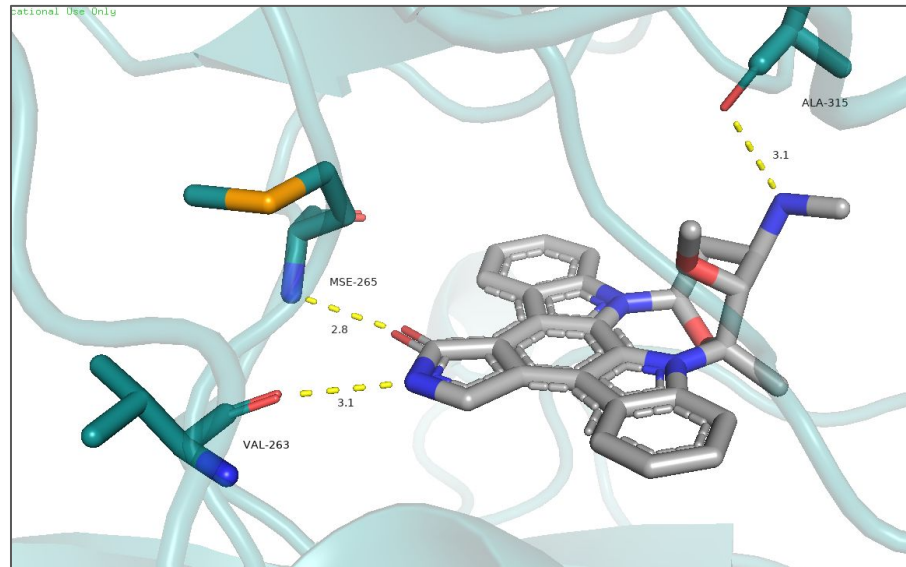
Наложение двух структур с помощью PyMol

Анализ с помощью PyMol

— свободная форма
— связанная форма



Водородные связи в связанной форме белка.



Свободная форма. Расстояния между остатками, которые образуют водородные связи в связанной форме, и лигандом.

В связанной форме лиганд образует три водородные связи с аминокислотными остатками белка: VAL263, MET265, ALA315. Расстояния между лигандом и остатками VAL263 и ALA315 в несвязанной форме равны 3.1 Å. Скорее всего эти две водородные связи исчезают в несвязанной форме.

Стоит отметить, что в структуре свободной формы вместо метионина стоит селенометионин. Думаю, эта замена связана с необходимостью решения фазовой проблемы, а не с биологической модификацией данного остатка в свободной форме

Анализ с помощью PyMol

— свободная форма
— связанная форма

Также наблюдаются изменения во вторичной структуре вблизи сайта связывания.

Видно, что β -структура свободной формы белка состоит из 3 β -нитей, а связанная состоит из 4 β -нитей.

Т.е. связанная форма имеет более регулярную структуру, что вероятно обусловлено необходимостью в правильной ориентации и связывании лиганда.

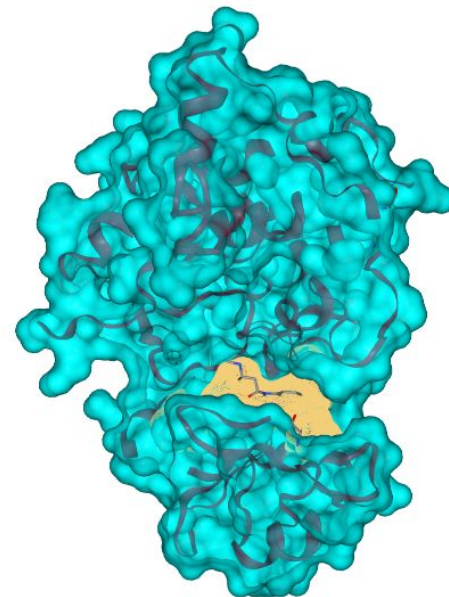
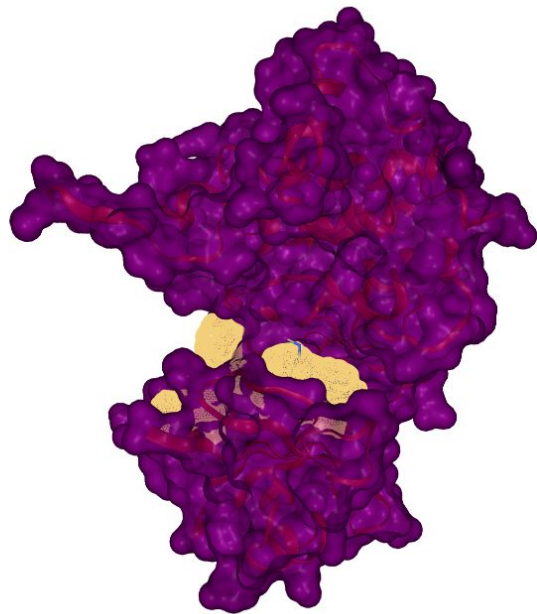
ProteinsPlus

— свободная форма
— связанная форма

Далее воспользуемся программой ProteinPlus для поиска карманов связывания с лигандом.

Для связанной формы было найдено 11 потенциальных карманов, для свободной формы - 9. В обоих случаях наибольший предсказанный карман связывания располагался истинном месте связывания. Объем найденного кармана в связанной форме - **975.74 Å³**, в свободной - **782.66 Å³**. Объем при связывании лиганда в данном случае увеличивается. Хотя стягивание кармана обычно характерно для связанных форм тк это увеличивает силу и специфичность связывания с лигандом/субстратом.

Еще стоит отметить, что ProteinsPlus отображал селенометионин в структуре свободной формы в виде sticks, хотя все остальные а.о. в виде cartoons. Возможно ProteinsPlus не очень хорошо воспринимает селенометионин (?).

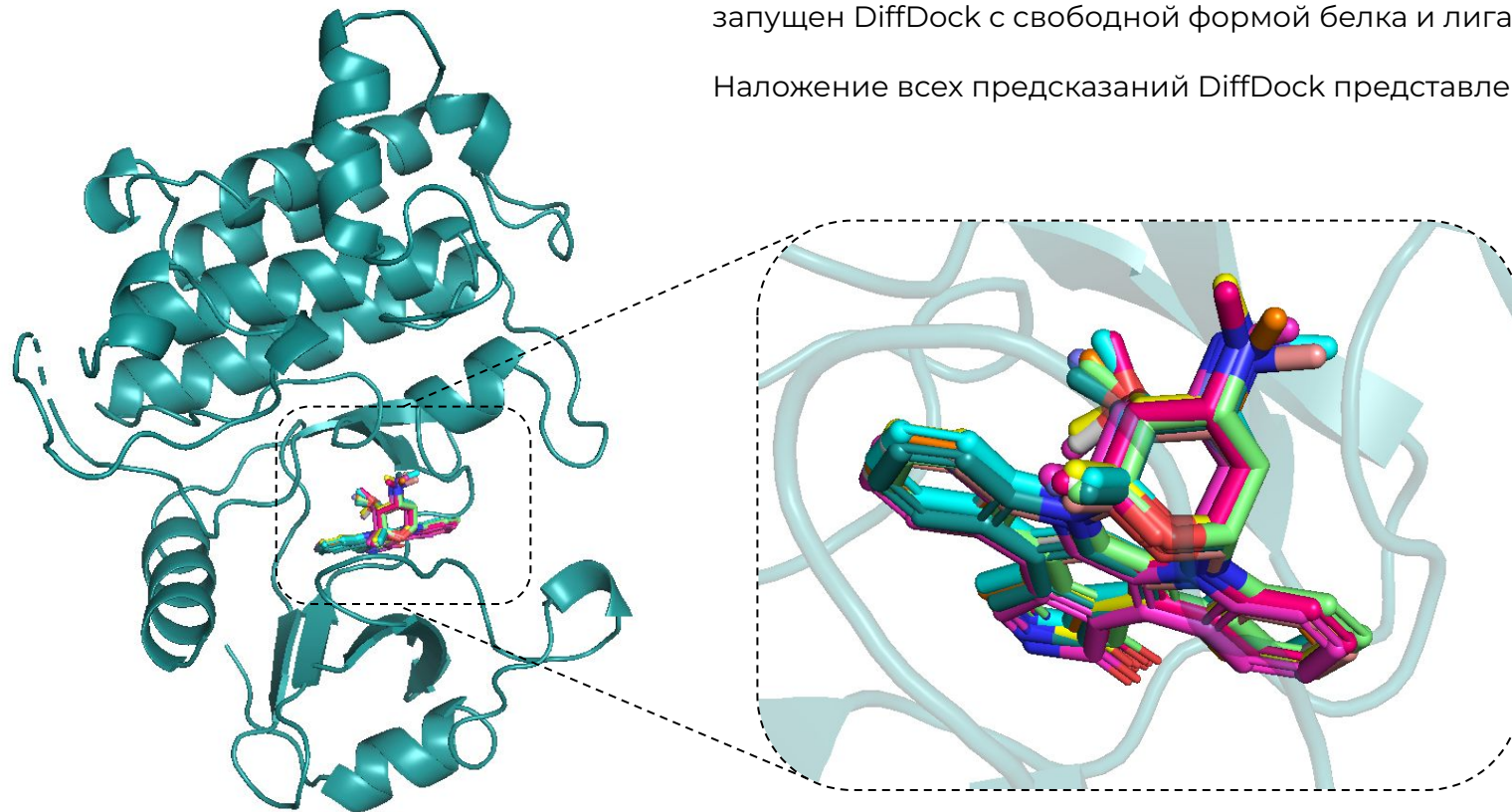


DiffDock

■ — свободная форма



Далее для имитации ранних стадий связывания с лигандом, был запущен DiffDock с свободной формой белка и лигандом.

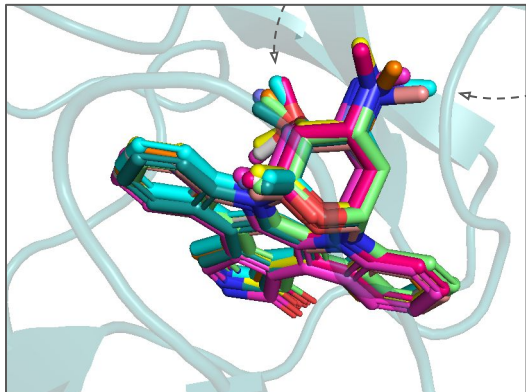
Наложение всех предсказаний DiffDock представлено ниже.



DiffDock

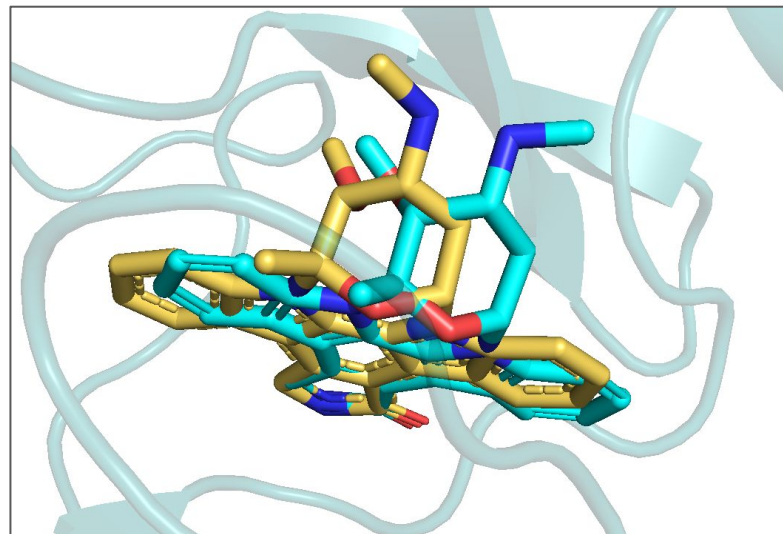
Эти группы меняют направление

-  — лучшее предсказание положения лиганда
-  — истинное положение лиганда



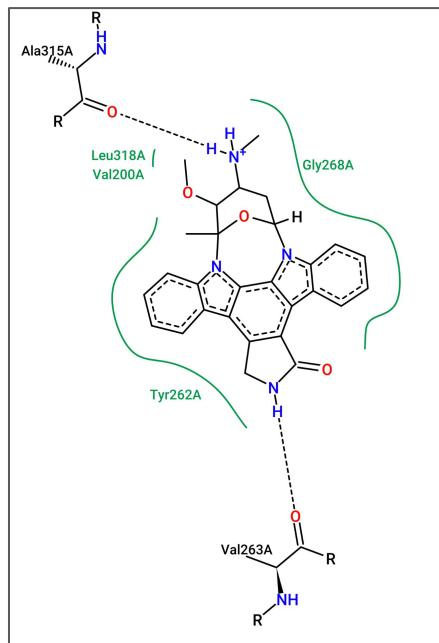
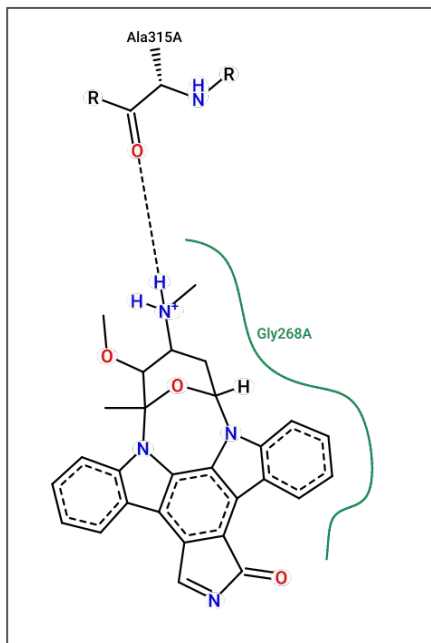
В целом видно, что ориентация всех предсказаний примерна одинакова - различается только направление двух групп.

Лучшее предсказание относительно белка располагается там же, где и находился лиганд из связанной формы.
Опять же, отличие только в положении двух групп.



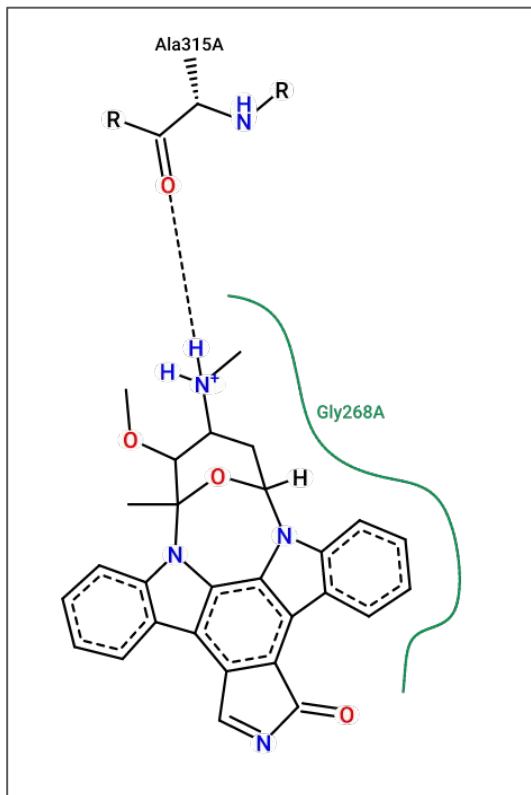
PoseView

Далее с помощью PoseView были построены визуализации взаимодействий для истинного положения лиганда и предсказанного в свободной форме белка.



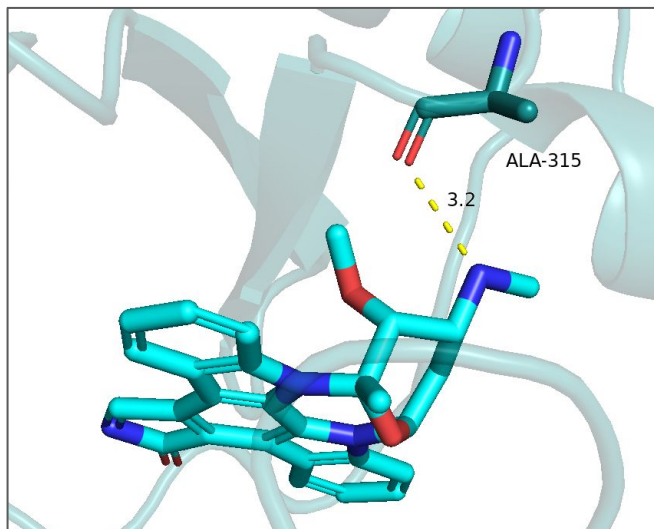
1. Видно, что и там и там присутствует водородная связь с ALA 315 (она же наблюдается в связанной форме белка). Поэтому можно предположить, что данное взаимодействие является “якорным” в процессе связывания с лигандом.
2. До этого по положению лиганда, и сейчас по карте взаимодействий видно, что в целом предсказанный лиганд ложится примерно в то положение, в котором присутствует в связанной форме белка. Видимо, в данном случае не присутствует эффект индуцированного соответствия. Значит, наблюдаемые в связанной форме изменения в конформации белка происходят после связывания с лигандом.

PoseView. Дополнительное задание.



PoseView для результатов докинга

На первый взгляд, PoseView выдает верные взаимодействия. Но предсказанная водородная связь имеет длину 3.2 Å. Наверное, на такой длине водородная связь уже не будет образовываться.



Визуализация PyMol для результатов докинга

При этом других взаимодействий PyMol тоже не находит.

Список литературы и ссылки

- Ссылка на первую сессию PyMol: [prak7.pse](#)
- Ссылка на вторую сессию PyMol: [prak7_1.pse](#)