

# Практикум 5. Дизайн.

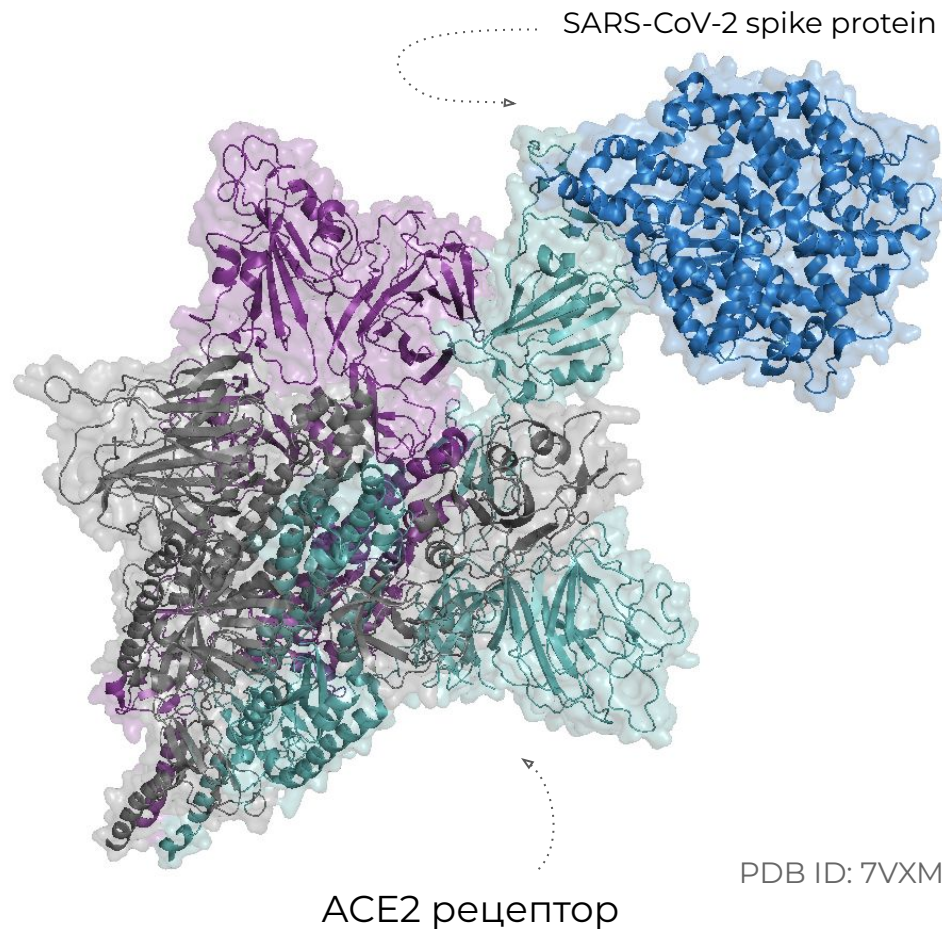
Гаркуль Лидия, 4 курс ФББ

# Введение

Для практикума была выбрана структура спайк белка SARS-CoV-2 в комплексе с LCB1 (PDB ID: **7JZU**). Вирус проникает в клетки человека путем взаимодействия с клеточным ACE2 рецептором.

Авторы статьи моделировали небольшие стабильные белки, способные ингибировать данное взаимодействие [1]. Для проверки лучших моделей, с помощью ЭМ получали структуры комплексов с вирусным спайк белком.

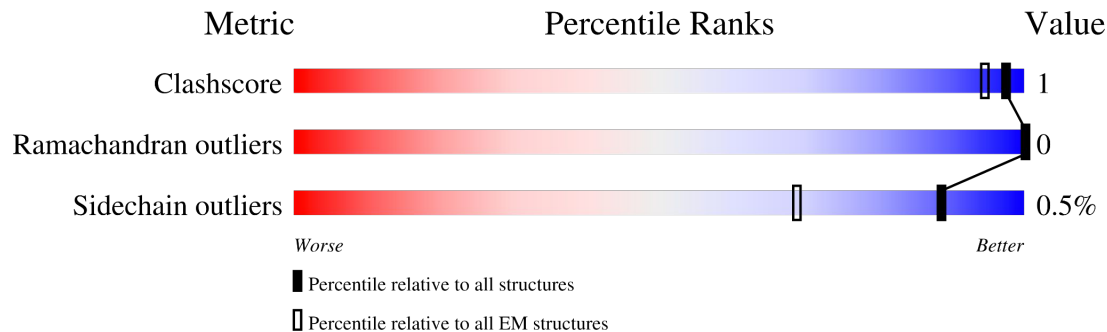
LCB1 - один из таких синтетических белков.



# Введение

Цель данного практикума - стартуя с пары "таргет" (спайк белок) – "остовная структура байндера" (LCB1), предложить сиквенс для интерфейса взаимодействия байндера с таргетом.

Далее сравнить получившуюся структуру с изначальной.



Разрешение структуры LCB1: 3.10 Å.  
Характеристики качества модели достаточно хороши .

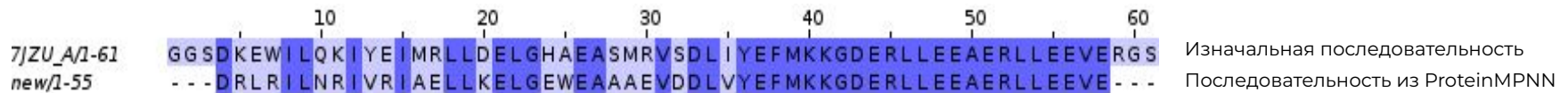
# ProteinMPNN

Небелковая часть структуры была подана в программу ProteinMPNN. В качестве неизменяемой части был указан спайк белок, в качестве конструкции для дизайна - LCB1. При этом было добавлено условие о сохранении части белка, выполняющей функцию поддержания стабильной структуры (not (within 10 of chain B)).

Далее будем рассматривать последовательность с лучшим score:

DRLRILNRIVRIAELLKELGEWEAAAEVDDLVEFMKKGDERLLEEAERLLEEVE

Выравнивание с изначальной последовательностью байндера:

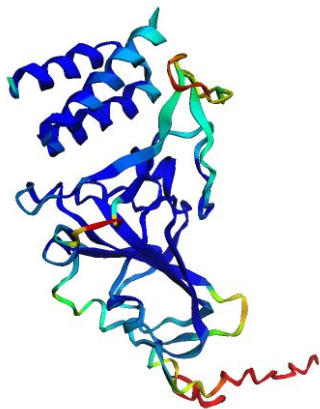


Видно, что некоторые замены не синонимичны. Наверное, это не очень хороший знак. Посмотрим насколько изменилась структура и взаимодействия между таргетом и байндером.

# AlphaFold2

В AlphaFold2 на запуск был подан RBD домен спайк белка с синтетической последовательностью белка, полученной в предыдущих шагах.

Последовательность домена была получена из последовательности PDB записи с помощью InterPro.



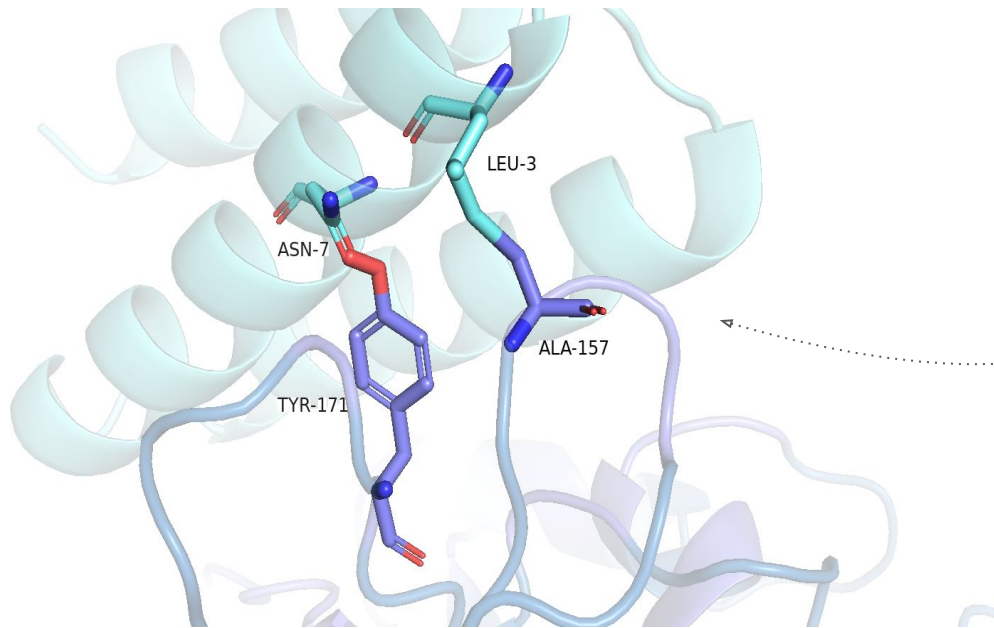
Для начала посмотрим на раскраску по pLDDT: в структуре далеких участков от сайта связывания AlphaFold2 не уверен. Но при этом около сайта связывания pLDDT >80, поэтому рассматривать взаимодействия имеет смысл.

pLDDT: ■ Very low (<50) ■ Low (60) ■ OK (70) ■ Confident (80) ■ Very high (>90)

# Ковалентные взаимодействия

Рассматривать будем предсказание с лучшим скором (rank1).

— байндер  
— таргет

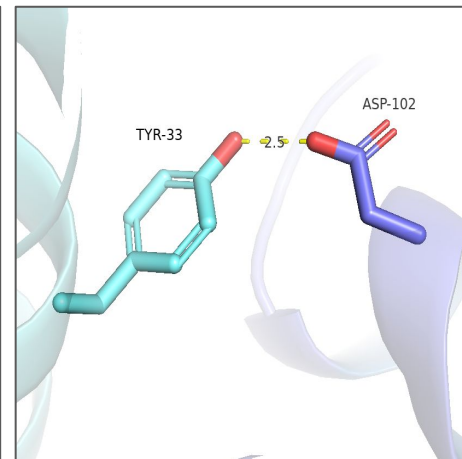
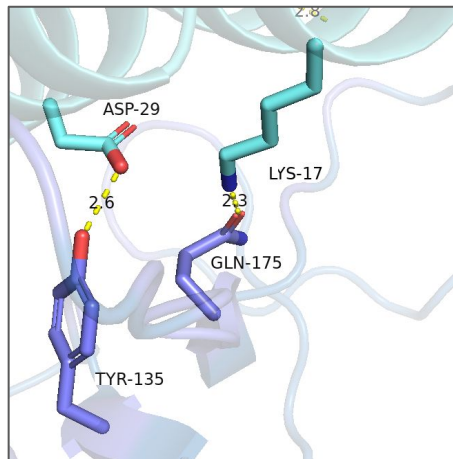
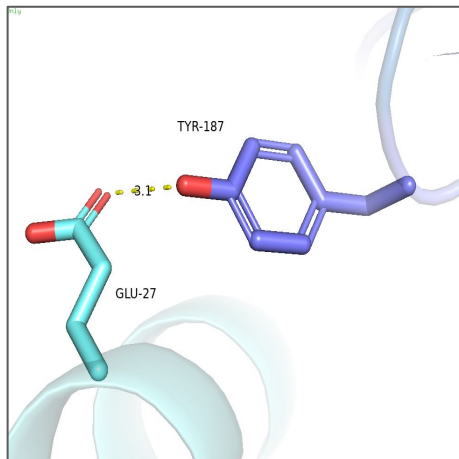
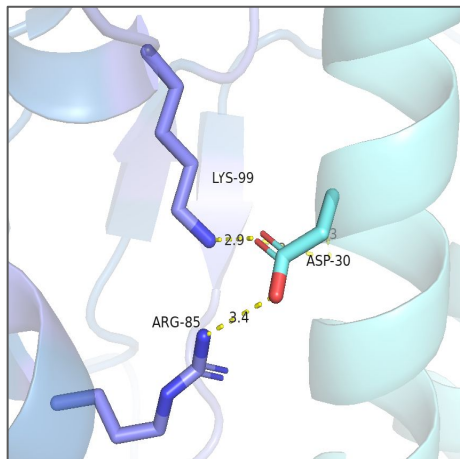


Во-первых, почему-то AlphaFold2 выдал два ковалентных взаимодействия между ASN-7 байндера и TYR-171 таргета, и LEU-3 байнера и ALA-157 таргета. С учетом того, что последовательности подавались через двоеточие, такого произойти не должно было.

# Водородные связи

— байндер  
— таргет

Водородных связей в сайте связывания не очень много. Всего 8 взаимодействий.



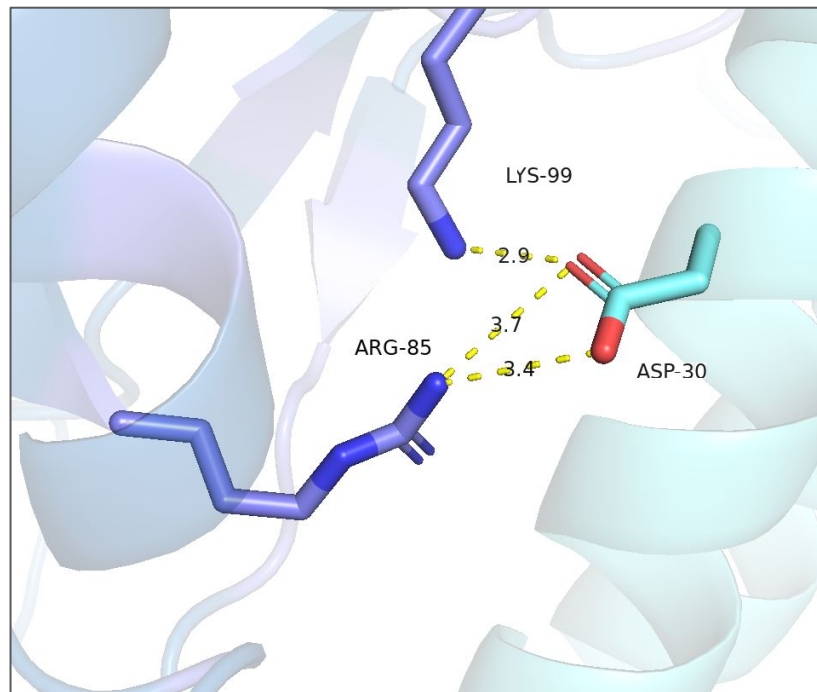


# Солевые мостики

Солевых мостика было  
найдено два.

Пи-взаимодействий в сайте  
связывания не обнаружено.

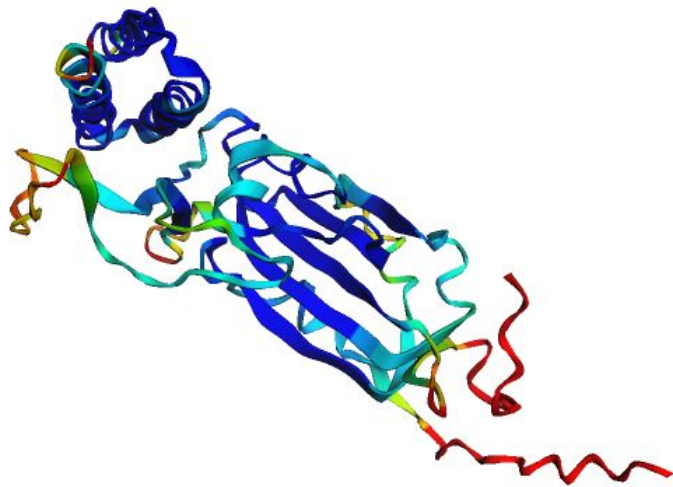
— байндер  
— таргет





# AlphaFold2: изначальный байндер

Поставим положительный контроль: запустим AlphaFold с изначальным байндером и доменом PBD.

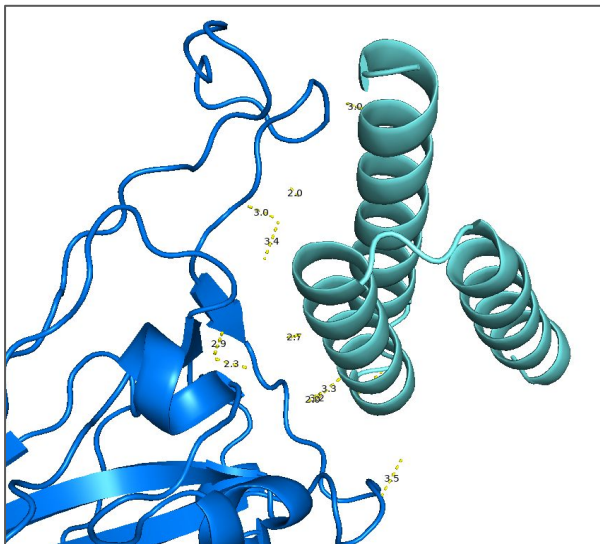


В данном случае около сайта связывания AlphaFold2 менее уверен в предсказании.

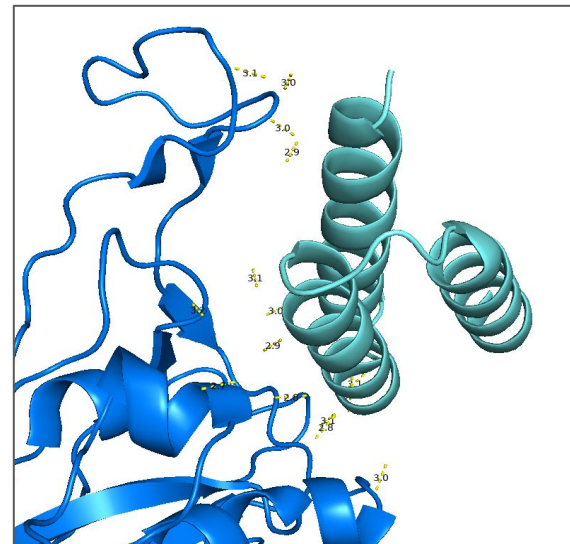
pLDDT: ■ Very low (<50) ■ Low (60) ■ OK (70) ■ Confident (80) ■ Very high (>90)

# Изначальный байндер: водородные связи

В предсказании AlphaFold2 байндер расположен примерно в том же месте, что и в изначальной PDB записи. При этом количество и расположение водородных связей изменилось. Было 15, стало 12 (такое количество связей находит PyMol)

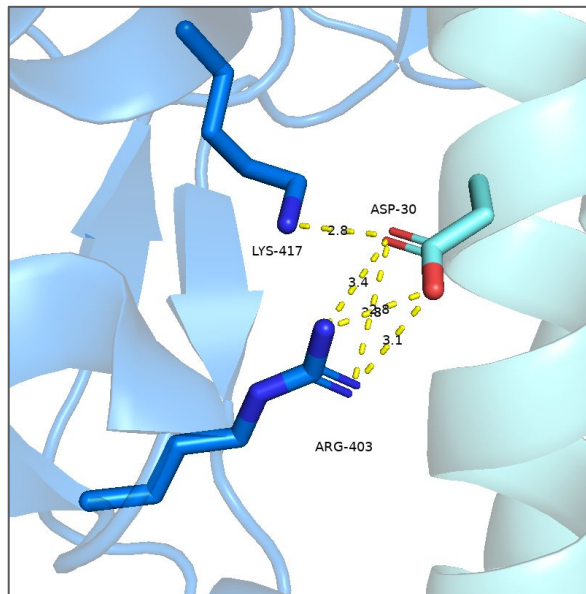


Структура из AlphaFold2



Из структуры 7JZU

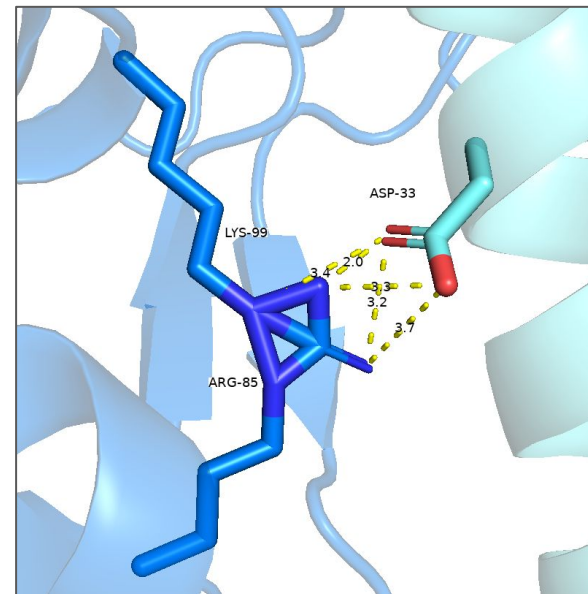
# Изначальный байндер: солевые мостики



Из структуры 7JZU

Солевой мостик в 7JZU всего один.

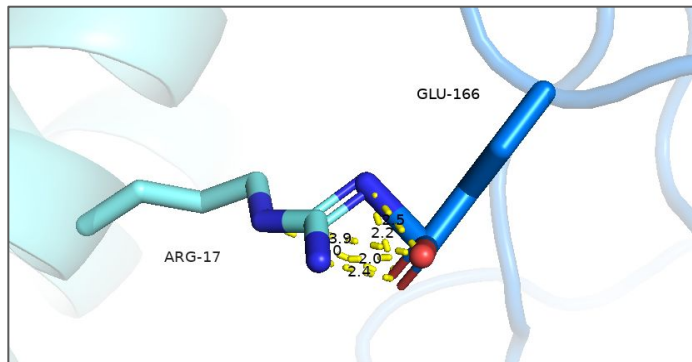
Этот же солевой мостик воспроизводится в предсказании AlphaFold2. Правда при этом с лизином происходит что-то странное. Нумерация остатков немного другая тк в AlphaFold2 подавался только домен таргета, а не вся структура.



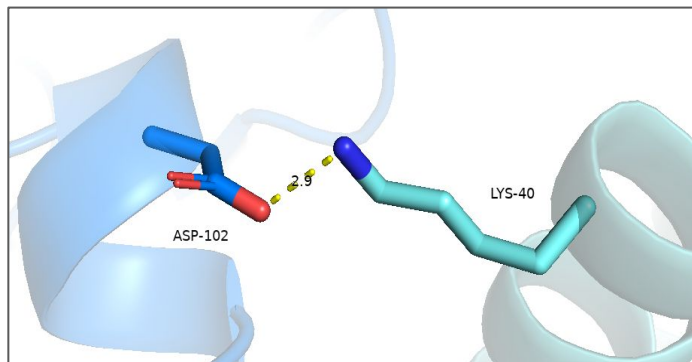
Из предсказания AlphaFold2

Такой же солевой мостик возникает с байндером из ProteinMPNN!!

# Изначальный байндер: солевые мостики



Помимо этого, дополнительно в структуре, предсказанной AlphaFold2, возникает что-то похожее на солевой мостик, но странное



И еще один солевой мостик, которого не было в изначальной PDB записи.

Пи-взаимодействий в сайте связывания нет как в изначальной структуре, так и в предсказанной.

# Выводы

- ProteinMPNN предложил более плохой белковый ингибитор. AlphaFold2 расположил его в правильном (том же что и изначально в PDB записи) месте. При этом возникали непонятные ковалентные взаимодействия между белками.
- При запуске AlphaFold2 с изначальным байндером возникали некоторые ошибки - меньше водородных связей, непонятные взаимодействия между остатками, новые солевые мостики.

ProteinMPNN не справился с задачей. AlphaFold2 выдает что-то похожее на правду, но все равно с ошибками.

# Литература и ссылки

[1] - De novo design of picomolar SARS-CoV-2 miniprotein inhibitors. Cao, L., Baker, D.(2020) Science 370: 426-431

- Ссылка на PyMol сессию 7JZU: [7JZU.pse](#)
- Ссылка на PyMol сессию предсказания AlphaFold2 с байндером из ProteinMPNN: [hw\\_5\\_alpha\\_new.pse](#)
- Ссылка на PyMol сессию предсказания AlphaFold2 с изначальным байндером: [hw\\_5\\_alpha\\_initial.pse](#)