

# МЕТОД РАСПОЗНАВАНИЯ НЕКОРРЕКТНО СВЕРНУТЫХ МОДЕЛЕЙ $\alpha$ -СПИРАЛЬНЫХ ТРАНСМЕМБРАННЫХ ДОМЕНОВ БЕЛКОВ

Новоселецкий В. Н., Чугунов А. О., Ефремов Р. Г.

(Россия, Москва)

*Интегральные мембранные белки (МБ) — объекты исключительной важности, однако структуру интересующего МБ не всегда можно получить с помощью экспериментальных методов. Выход состоит в использовании молекулярного моделирования для предсказания пространственной структуры МБ, но его основным ограничением является низкое качество получаемых моделей. Мы представляем новый метод оценки качества упаковки  $\alpha$ -спиральных сегментов в трансмембранных (ТМ) доменах МБ. Показано, что метод даёт возможность выявить в наборах теоретических моделей те, которые наиболее близки к нативной структуре.*

**Введение.** Функционирование МБ зависит в основном от трансмембранного (ТМ) домена, поскольку именно в нем зачастую связывается лиганд, и происходят конформационные превращения, влекущие за собой внутриклеточный ответ. Информация о строении и функции ТМ домена крайне важна для фармацевтических разработок. Однако современные экспериментальные методы часто не могут помочь в определении структуры МБ из-за трудностей, связанных с очисткой и кристаллизацией белков [1].

Для предсказания пространственной структуры МБ широко используется молекулярное моделирование, но вопрос о качестве полученной модели остается открытым. Поскольку ТМ домен подавляющего большинства эукариотических МБ представлен пучком  $\alpha$ -спиралей, то мы сосредоточили усилия на оценке качества

моделей именно  $\alpha$ -спиральных МБ.

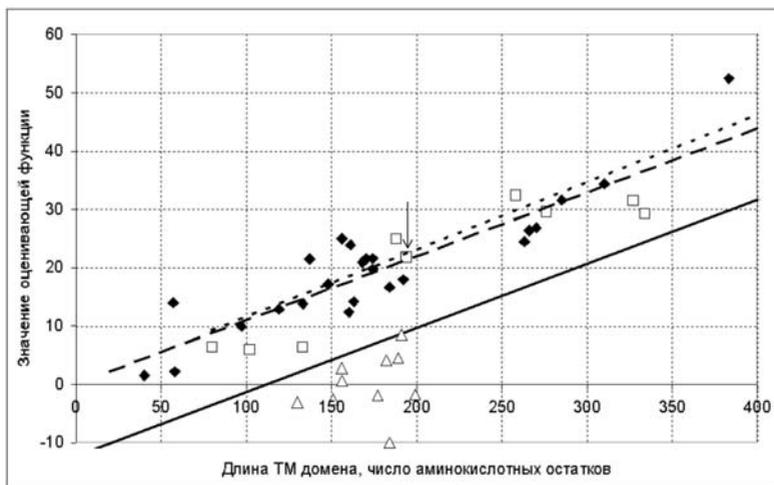
Метод оценки качества упаковки  $\alpha$ -спиральных ТМ доменов МБ был нами описан ранее [2]. В настоящей работе мы применили разработанный метод к оптимизации моделей «низкого разрешения», в которых изначально известна только укладка белкового остова, а боковые цепи достраиваются с использованием конформационных библиотек.

**Результаты и обсуждение.** Предлагаемый метод аналогичен хорошо известному методу профилей трехмерного окружения Айзенберга [3], успешно применяемому для оценки качества структуры глобулярных белков. Однако предварительные исследования показали неприменимость метода [3] к МБ [2].

Под качеством окружения остатка мы понимаем соответствующие физико-химические свойства остатка и его окружения, т.е. гидрофобному остатку свойственно находиться в гидрофобном окружении, и наоборот. Ранее [2] мы ввели аддитивную величину  $S_i$ , отражающую качество окружения каждого остатка в структуре. Оценивающую функцию  $S$  для структуры можно вычислить как сумму  $S_i$  по всем остаткам в ТМ домене. При разработке метода использовали три набора структур МБ: обучающий набор (для параметризации), тестовый набор и набор из моделей зрительного родопсина, построенных до определения его кристаллографической структуры (КС). На рис. 1. представлена зависимость величины  $S$  от длины ТМ домена ( $L$ ) для структур обучающего и тестового наборов и компьютерных моделей зрительного родопсина. Прослеживается выраженное сходство зависимостей  $S(L)$  для обучающего и тестового наборов, что говорит о высокой самосогласованности метода. В то же время модели родопсина получают низкие значения  $S$  по сравнению с кристаллографической структурой, что говорит о селективности метода и его способности выделять «правильную» структуру среди неправильных.

Можно показать (неопубликованные результаты), что в координатах  $S \times L$  можно провести прямую, являющуюся «пограничной» между областями «правильных» и неправильных структур

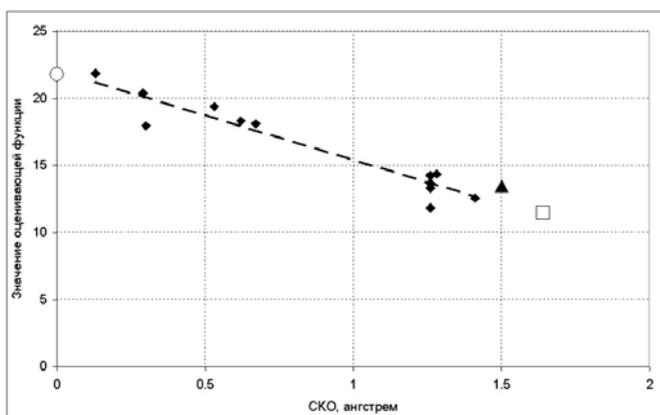
(рис. 1). Хорошо видно, что модели зрительного родопсина находятся вне области «правильных» структур.



**Рис. 1.** Значения оценивающей функции в зависимости от длины ТМ домена. Черные ромбы – структуры обучающего набора, белые квадраты – структуры тестового набора, прерывистая и пунктирная прямые проведены методом наименьших квадратов через точки первого и второго наборов и начало координат, соответственно. Стрелкой отмечена кристаллографическая структура зрительного родопсина [4], белыми треугольниками – его модели. Сплошная прямая – нижняя граница диапазона  $S$  для «правильных» структур

Чтобы установить связь значений  $S$  со значениями среднеквадратичного отклонения (СКО) от кристаллографической структуры при оптимизации моделей «низкого разрешения», был построен ряд моделей бычьего родопсина с конформацией белкового остова, идентичной таковой в КС, и искусственно достроенными боковыми цепями. Для этого использовали следующую процедуру. (1) Из кристаллографической структуры родопсина удаляли атомы боковых цепей, оставляя только остов белка. (2) Боковые цепи встраивали обратно с помощью программы SwissPDB Viewer [5]. (3) Полученную «реконструированную» мо-

дель подвергали процедуре минимизации потенциальной энергии с применением набора геометрических ограничений, полученных на основании анализа нативной пространственной структуры. Эта процедура была произведена с помощью опции *Template\_Force* программы Discover [6]. При этом сохранялись промежуточные структуры, использованные для изучения зависимости  $S$  от СКО. В течение всей процедуры основная цепь белка оставалась фиксированной, т.е. её конформация была идентична таковой в кристаллографической структуре.



**Рис. 2.** Значения оценивающей функции в зависимости от СКО от кристаллографической структуры. Белый круг – КС зрительного родопсина. Белый квадрат – его «реконструированная» модель. Черный треугольник – она же после минимизации потенциальной энергии. Черные ромбы – промежуточные структуры. Прямая проведена методом наименьших квадратов через точки промежуточных структур

Оказалось (рис. 2), что промежуточные структуры более или менее равномерно «заселяют» диапазон СКО  $0 \div 2 \text{ \AA}$  от кристаллографической структуры, и по мере их приближения к КС значение СКО уменьшается, а  $S$  монотонно увеличивается, причем эти величины оказываются сильно антикоррелированы (коэффициент  $\approx -0.9$ ). Это делает возможным выбор моделей, самых близких к нативной структуре, только по значению функции оценки.

**Выводы.** Предлагаемый метод оценки качества упаковки ТМ сегментов мембранных белков позволяет определить совместимость окружения аминокислотного остатка с его физико-химическими свойствами, исходя из анализа окружений остатков в наборе структур МБ высокого разрешения. Продемонстрирована эффективность метода при выборе моделей, наиболее близких к нативной структуре.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты 05-04-49283-а, 06-04-49194-а) и Федерального агентства РФ по науке и инновациям (Государственный контракт 02.467.11.3003 от 20.04.2005, грант «Ведущие научные школы» № 4728.2006.4).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Torres J., Stevens T.J., Samsó M. Membrane proteins: the ‘Wild West’ of structural biology // *Trends Biochem. Sci.* 2003. Vol. 28. P. 137–144.
2. Чугунов А.О., Новоселецкий В.Н., Арсеньев А.С., Ефремов Р.Г. Новый метод оценки качества упаковки трансмембранных  $\alpha$ -спиральных доменов в белках // *Биохимия.* 2007. Т. 72 вып. 3 стр. 358–367.
3. Bowie J.U., Lüthy R., Eisenberg D. A method to identify protein sequences that fold into a known three-dimensional structure // *Science.* 1991. Vol. 253. P. 164–170.
4. Palczewski K., Kumasaka T., Hori T., Behnke C.A., Motoshima H., Fox B.A., Le Trong I., Teller D.C., Okada T., Stenkamp R.E., Yamamoto, M., Miyano M. Crystal structure of rhodopsin: A G protein-coupled receptor // *Science.* 2000. Vol. 289. P. 739–745.
5. Guex, N., Peitsch, M.C. SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: An environment for comparative protein modeling // *Electrophoresis.* 1997. Vol. 18. P. 2714–2723.
6. InsightII, Release 2000, Accelrys, San Diego, CA, 2002.

## **A METHOD TO RECOGNIZE UNCORRECTLY FOLDED MODELS OF $\alpha$ -HELICAL TRANSMEMBRANE PROTEIN DOMAINS**

**Novoseletsky V. N., Chugunov A. O., Efremov R. G.**

(Russia, Moscow)

*Integral membrane proteins (MP) are objects of exceptional importance, but experimental methods often fail to establish their spatial structures. To solve the problem, one can use computational modeling techniques, however the low quality of the MP models constructed in silico is a major shortcoming of these methods. Here we present a novel method for assessment of packing quality for transmembrane domains of  $\alpha$ -helical MPs. It is demonstrated that the method allows identification of native-like conformations among a large set of theoretical ‘decoy’ structures.*