

Vizualizace prostorových struktur

Experimentálně změřené struktury je možné nalézt v databasi PDB (protein databank), kterou najdete na adrese www.pdb.org. V současnosti zde naleznete téměř 100 000 struktur. My se podíváme na prostorovou strukturu komplexu Abelsonovy proteinkinasy s protinádorovým léčivem Imatinib. Tato sloučenina byla vyvinuta firmou Novartis a kolem roku 2000 uvedena na trh pod názvem Glivec nebo Gleevec pro léčbu chronické myeloidní leukemie. Když do vyhledávače na stránce PDB zadáte název této sloučeniny (Imatinib), nalezne vám 32 struktur, ve kterých je navázán Imatinib, nebo s touto sloučeninou souvisí nějak jinak. Z nich vyberte prostorovou strukturu 1IEP. Struktury v PDB mají (zatím, dokud nedojdou) čtyřmístný kód, kde první znak je číslo a další tři jsou čísla nebo písmena.

Záznam struktury 1IEP (*Crystal structures of the kinase domain of c-Abl in complex with the small molecule inhibitors PD173955 and imatinib (STI-571)*) obsahuje odkaz na článek přes databasi Pubmed. Přes ni se můžete dostat na originální článek v časopise *Cancer Research*. Tento článek rovněž prezentuje strukturu stejného enzymu s jiným inhibitorem s kódem 1M52. Zajímat nás bude i položka Molecular description. Ta obsahuje schema doménové struktury proteinu, odkaz na sekvenci v databasi UniProt, místa pro vazbu ligandů, posttranslační modifikace a hlavně informaci jaká část proteinu je studována ve struktuře 1IEP.

Další položka *Structure validation* obsahuje schematické zobrazení kvality prostorové struktury. Význam veličin *Rfree* nebo co jsou to *Ramachandran outliers* se můžete dozvědět v předmětu Strukturní biologie.

Položka *Source* nám říká, že se jedná o protein z myši a že byl rekombinantně exprimován v hmyzích buňkách *Spodoptera frugiperda*, patrně v linii Sf9.

Následuje seznam neproteinových ligandů a modifikací struktury. Kromě chloridového iontu je pro nás důležitý právě Imatinib. Najetím myši na levý obrázek se vám zobrazí jeho chemická struktura. Najetím na pravý obrázek se vám zobrazí rezidua s kterými Imatinib interaguje. Na položku *3D view* se dívat nebudeme, protože obsahuje různé prohlížeče struktur, vesměs v Javě, a ty my používat nebudeme, protože použijeme UCSF Chimera.

Důležitější položka je *Sequence*, kde se můžeme dostat k sekvenci proteinu. Je nutné dát pozor na to, že při měření prostorové struktury proteinu pomocí strukturní krystalografie se může stát, že některé části struktury nejsou v mapách elektronových hustot čitelné. Tato rezidua jsou v záznamu sekvence, ale nejsou v prostorové struktuře. Položka *Annotations* obsahuje odkazy na nástroje pro identifikaci strukturních domén proteinu. Položka *Seq. similarity* vám ukáže, že existuje dalších osm struktur se stejnou sekvencí, 23 s více než 95% identitou v aminokyselinové sekvenci (tedy mutanti nebo různé druhy) a 1 295 struktur s více než 30% identitou (tedy různé proteinkinasy).

Položka *3D similarity* umožňuje nalézt proteinu s podobnou prostorovou strukturou bez ohledu na podobnost sekvencí. K tomuto tématu se dostaneme později.

Položka *Methods* nám sděluje, že krystal proteinu byl získán metodou visící kapky (hanging drop) a že difrakční záznamy byly získány na synchrotronu CHESS, konkrétně CHESS beamline F1.

PDB soubor si můžete stáhnout do počítače kliknutím na link *Download files* a *PDB File (text)*.

Soubor si nejprve můžeme ukázat v nějakém textovém editoru, např. Wordpadu . Význam jednotlivých řádku závisí na jejich počátku. Například řádky začínající REMARK představují poznámku, obvykle různé informace o dané struktuře. Řádky začínající ATOM představují jednotlivé atomy systému. Struktury získané strukturní krystalografií obvykle neobsahují vodíkové atomy. U každého atom nalezneme jeho číslo, typ, typ residua, řetězec, číslo residua a Kartézské souřadnice, případně další položky.

Soubor si nyní otevřeme v programu UCSF Chimera. Zobrazí se nám struktura, s kterou můžeme rotovat pomocí levého tlačítka, zoomovat pomocí pravého tlačítka a točením kolečka myši a posouvat držením kolečkem myši. Nejprve skryjeme řetězec B. V menu zadejte *Select > Chain > B*. Poté zadejte *Actions > Atoms/Bonds > Hide* a *Actions > Ribbons > Hide*. Ve struktuře je vidět Imatinib s okolními residui. Pokud bychom chtěli skrýt chloridový aniont, pak jej vyberte pomocí *Select > Residue > CL* a skryjte jej způsobem popsaným výše.

Pomocí Chimery je možné na sebe strukturně fitovat dva proteiny. Pro tento účel si stáhněte druhou strukturu publikovanou spolu s IIEP, tedy 1M52. Otevřete si i tuto druhou strukturu a skryjte její řetězec B. Pak je možné obě struktury nafitovat postupem *Tools > Structure Comparison > MatchMaker*. Vyberte třetí možnost v položce *Chain Pairing*. Jako *Reference chain* vyberte IIEP chain A a jako *Chain(s) to match* vyberte 1M52 chain A. Poté spusťte fitování. Nyní můžete porovnat struktury obou vazebných míst. Obrázek struktury je možné uložit jako obrázek v menu *File > Save Image* a dále postupovat intuitivně.