

МОДЕЛИРОВАНИЕ КОНФОРМАЦИОННЫХ ПЕРЕХОДОВ цАМФ-СВЯЗЫВАЮЩИХ ДОМЕНОВ ПРОТЕИНКИНАЗЫ A Iα (ПКА Iα)

О.Н. Рогачева¹, Е.В. Савватеева-Попова², Б.Ф. Щеголев²

¹*ИЭФБ РАН, С.Петербург, ²ИФ РАН, С.Петербург*

ПКА Iα - важный клеточный фермент, участвующий во множестве сигнальных путей, регулируемых циклическим 3',5'-аденозинмонофосфатом (цАМФ). В неактивном состоянии каталитическая (С) субъединица ПКА Iα образует комплекс со своей регуляторной (R) субъединицей, несущей два цАМФ-связывающих домена (А и В). Оба названных домена изменяют свою конформацию при связывании цАМФ, вследствие чего R субъединица теряет сродство к С субъединице, и ПКА Iα приобретает каталитическую активность. Знание того, каким образом связывание цАМФ приводит к масштабным конформационным изменениям доменов, важно как для решения биологических задач, так и для понимания общих принципов функционирования белков. Однако механизм данного процесса до сих пор не исследован.

Моделирование конформационных переходов доменов проводилось с помощью программы NAMD2.7 методами равновесной и неравновесной молекулярной динамики, при этом внешние силы накладывались заданием ограничений на положения исследуемых групп атомов, в том числе в рамках метода TMD (Targeted Molecular Dynamic). Время моделирования полного конформационного перехода для каждого из доменов варьировало от 6 до 40 нс.

Показано, что, несмотря на высокую степень гомологичности, А и В домены имеют схожий, но не идентичный механизм активации. Выделены аминокислотные остатки, играющие ключевую роль в изменении конформаций А и В доменов, и объяснены их функции, причем определяющая функция ряда аминокислотных остатков (для В домена - F374, G358, P359, C360, I363, L364, I253, L328, N367, I368; для А домена – I204, L135, I232, L233) впервые отмечена в настоящем исследовании. В результате предложены детальные поэтапные механизмы, объясняющие функционирование цАМФ-связывающих доменов ПКА Iα.

Работа поддержана грантом РФФИ 09-04-01208, ФЦНП НК-541 (3) и грантом правительства Санкт-Петербурга для студентов и аспирантов 2010 г.