

Практикум 3

Задание 1. Альтернативные положения.

Вариант задания: А.

Мне была дана структура галактозооксидазы гриба *Fusarium graminearum* (для продукции самого белка в данном случае использовалась *E.coli*). Нужно сопоставить между собой альтернативные положения двух остатков: Cys18 и Cys27.

В задании было сказано, что для каждого из этих остатков в файле PDB есть два варианта. На всякий случай проверили: действительно, в файле PDB эти цистеины представлены в виде двух альтернативных положений: ACYS и BCYS.

```
ATOM 122 N ACYS A 18 -17.909 -24.138 -7.474 0.70 23.62 N
ANISOU 122 N ACYS A 18 3782 3035 2156 1112 1100 -344 N
ATOM 123 N BCYS A 18 -17.936 -24.131 -7.474 0.30 23.60 N
ANISOU 123 N BCYS A 18 3781 3033 2154 1111 1099 -344 N
ATOM 124 CA ACYS A 18 -18.038 -22.681 -7.406 0.70 25.34 C
ANISOU 124 CA ACYS A 18 3955 3299 2373 1062 1100 -308 C
ATOM 125 CA BCYS A 18 -18.136 -22.692 -7.378 0.30 24.31 C
ANISOU 125 CA BCYS A 18 3829 3165 2243 1059 1095 -310 C
ATOM 126 C ACYS A 18 -18.506 -22.149 -8.755 0.70 23.41 C
ANISOU 126 C ACYS A 18 3781 3060 2053 1037 1109 -316 C
ATOM 127 C BCYS A 18 -18.504 -22.143 -8.745 0.30 24.39 C
ANISOU 127 C BCYS A 18 3904 3184 2178 1037 1109 -316 C
ATOM 128 O ACYS A 18 -18.276 -22.791 -9.781 0.70 26.04 O
ANISOU 128 O ACYS A 18 4171 3383 2340 1066 1138 -343 O
ATOM 129 O BCYS A 18 -18.198 -22.763 -9.764 0.30 25.27 O
ANISOU 129 O BCYS A 18 4068 3289 2245 1067 1142 -341 O
ATOM 130 CB ACYS A 18 -16.703 -22.037 -7.021 0.70 33.70 C
ANISOU 130 CB ACYS A 18 4905 4425 3475 1074 1156 -272 C
ATOM 131 CB BCYS A 18 -16.881 -22.006 -6.850 0.30 28.89 C
ANISOU 131 CB BCYS A 18 4296 3810 2870 1068 1144 -271 C
ATOM 132 SG ACYS A 18 -16.077 -22.487 -5.380 0.70 24.58 S
ANISOU 132 SG ACYS A 18 3655 3277 2409 1102 1141 -256 S
ATOM 133 SG BCYS A 18 -15.472 -22.172 -7.951 0.30 46.04 S
ANISOU 133 SG BCYS A 18 6449 6030 5016 1112 1234 -272 S
```

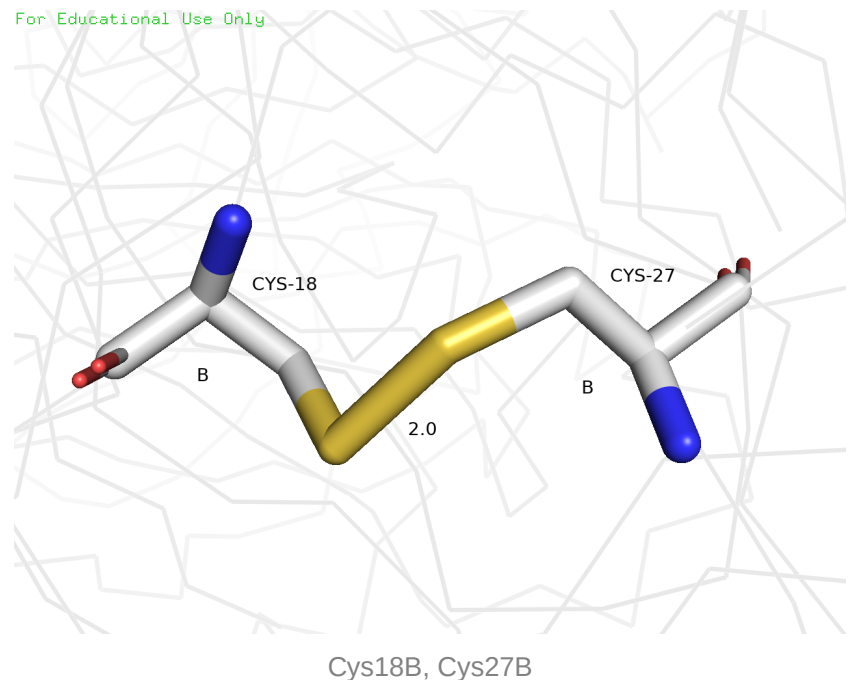
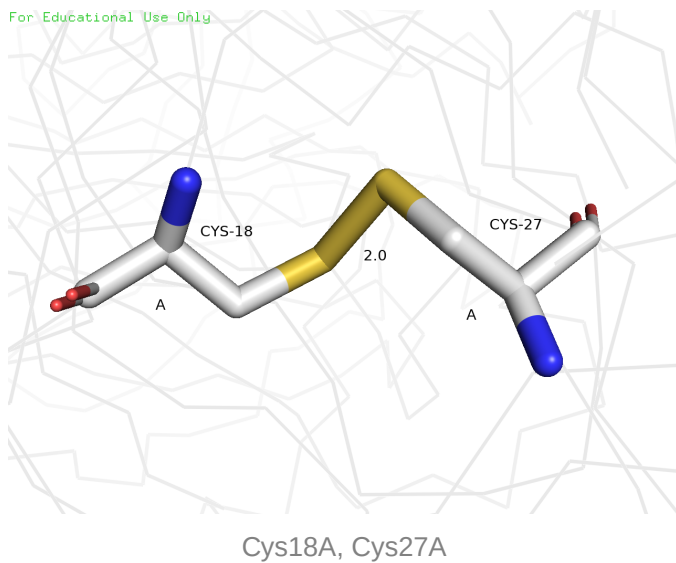
Атомы Cys18 в PDB.

```
ATOM 189 N ACYS A 27 -11.671 -23.678 -6.180 0.70 25.99 N
ANISOU 189 N ACYS A 27 3652 3593 2632 1263 1341 -247 N
ATOM 190 N BCYS A 27 -11.681 -23.683 -6.165 0.30 28.29 N
ANISOU 190 N BCYS A 27 3943 3883 2924 1263 1340 -247 N
ATOM 191 CA ACYS A 27 -12.747 -23.882 -5.230 0.70 29.06 C
ANISOU 191 CA ACYS A 27 4069 3929 3043 1242 1267 -249 C
ATOM 192 CA BCYS A 27 -12.742 -23.879 -5.180 0.30 28.07 C
ANISOU 192 CA BCYS A 27 3942 3804 2920 1242 1266 -248 C
ATOM 193 C ACYS A 27 -12.303 -24.631 -3.967 0.70 26.87 C
ANISOU 193 C ACYS A 27 3736 3645 2828 1283 1243 -243 C
ATOM 194 C BCYS A 27 -12.246 -24.596 -3.934 0.30 26.25 C
ANISOU 194 C BCYS A 27 3650 3570 2752 1283 1244 -241 C
ATOM 195 O ACYS A 27 -12.672 -24.259 -2.857 0.70 25.98 O
ANISOU 195 O ACYS A 27 3582 3532 2757 1256 1197 -225 O
ATOM 196 O BCYS A 27 -12.530 -24.179 -2.812 0.30 24.95 O
ANISOU 196 O BCYS A 27 3438 3411 2632 1256 1201 -221 O
ATOM 197 CB ACYS A 27 -13.875 -24.637 -5.924 0.70 29.39 C
ANISOU 197 CB ACYS A 27 4239 3897 3032 1243 1236 -286 C
ATOM 198 CB BCYS A 27 -13.900 -24.679 -5.779 0.30 29.11 C
ANISOU 198 CB BCYS A 27 4200 3858 3001 1243 1231 -285 C
ATOM 199 SG ACYS A 27 -15.472 -24.419 -5.180 0.70 26.63 S
ANISOU 199 SG ACYS A 27 3939 3492 2688 1188 1151 -289 S
ATOM 200 SG BCYS A 27 -14.772 -23.891 -7.135 0.30 38.38 S
ANISOU 200 SG BCYS A 27 5458 5026 4097 1192 1234 -295 S
```

Атомы Cys27 в PDB.

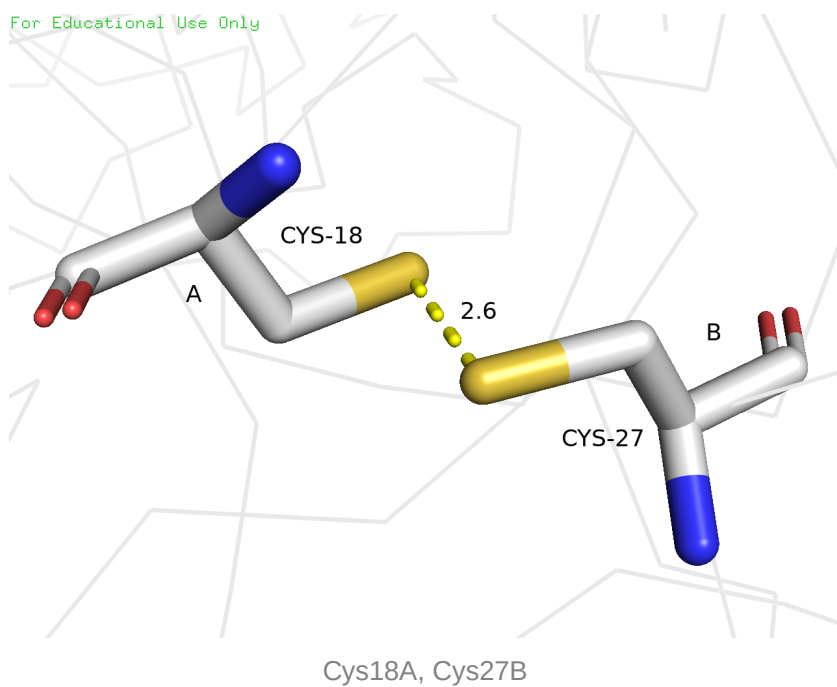
И по дальнейшей визуализации, и по записям PDB видно, что положение углеродного атома цистеинового радикала более-менее постоянно, в то время как главное различие положений определяется положением атома серы.

Для цистеинов Cys18 и Cys27 была размечена непосредственная связь, если оба этих остатка находятся в одноименных альтернативных положениях (пересекаются Cys18A и Cys27A и Cys18B и Cys27B).



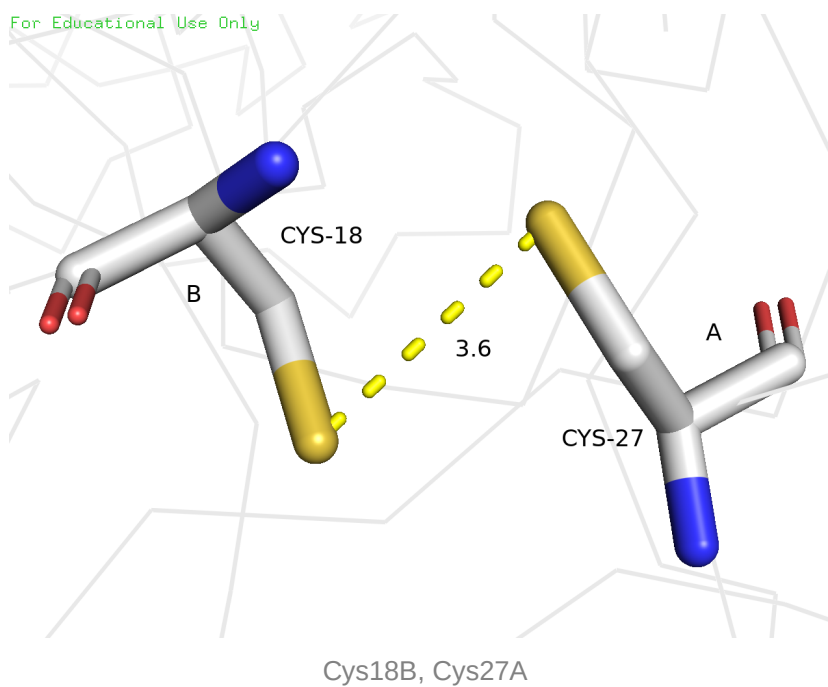
Для разноименных альтернативных положений наименьшее из двух вариантов расстояние - 2.6 Å, что довольно далеко друг от друга для формирования дисульфидной связи (здесь приводится информация о том, что типичная длина дисульфидной связи между двумя цистеинами 2.04 Å, тут для определения наличия дисульфидной связи использовали порог в 2.3 Å). Однако, 3.6 Å для дисульфидной связи совсем никуда не годится.

For Educational Use Only



Cys18A, Cys27B

For Educational Use Only



Cys18B, Cys27A

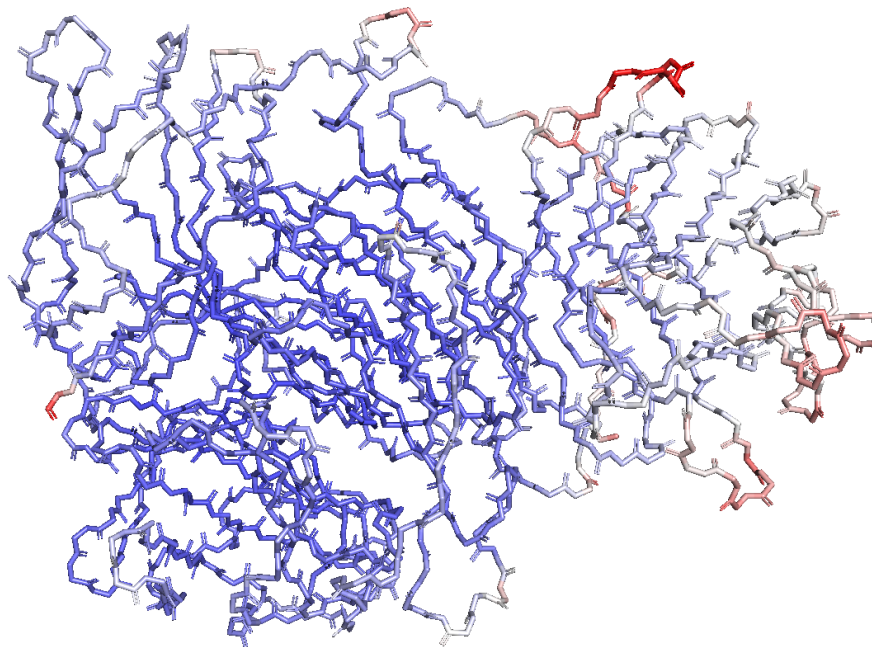
Радикалов аминокислот вокруг немного. На обозримом расстоянии от рассматриваемых цистеинов находится остаток Trp39. Азот индольного кольца триптофана не взаимодействует с рассматриваемыми аминокислотами.

В целом, расстояния для цистеинов одноименных альтернативных положений были измерены как равные (в точности до десятых). Расстояние между цистеинами в разноименных альтернативных положениях превышает порог на длину дисульфидной связи. В связи с этим из 4х вариантов я в одинаковой степени верю в пары Cys18A-Cys27A и Cys18B-Cys27B.

Задание 2. В-фактор.

Если записи об альтернативных положениях, рассмотренных в предыдущих заданиях, отражают разнообразие точно определенных положений, то В-фактор (фактор Дебая-Уоллера) - это параметр, характеризующий то, как влияют тепловые колебания кристалла на рассеяние (чем больше колебаний, тем меньше рассеяние). Его величина не постоянна для разных положений в молекуле и определена для каждого атома, и с помощью этого параметра можно узнать, какие участки белка наиболее подвижны.

For Educational Use Only

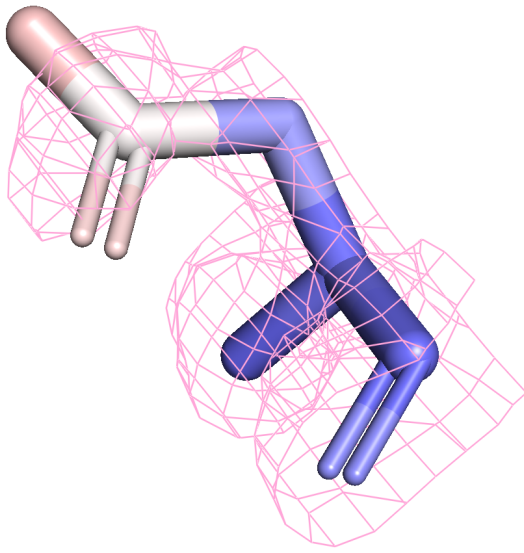


Остов белка, покрашенный по градиенту в зависимости от величины В-фактора (синий - низкое значение, красный - высокое значение).

Видно, что с N конца (расположен справа) белок структурирован меньше, чем с С-конца, и, следовательно, более подвижен. Особенно высоки значения В-фактора для последовательности аминокислот 91-96 (на картинке она окрашена в ярко-красный цвет). Этот петлевой фрагмент далеко отстоит от остальных аминокислот и, видимо, минимально связан взаимодействиями с ними.

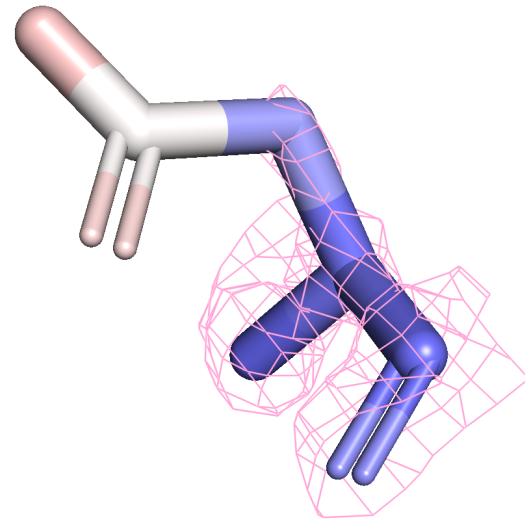
Затем мы изобразили все атомы в градиенте по В-фактору и выбрали один из аминокислотных остатков, чье значение В-фактора было тем больше, чем дальше от остова, - Asp216. Он находится на внешней стороне белковой глобулы и, как мы видим, о положении его аминокислотного остатка можем говорить с меньшей уверенностью. Это отражается на размытии полученной электронной плотности. При подрезке 1 она не определена для кислородов, а на уровне подрезки 2 - для всей карбоксильной группы.

For Educational Use Only



Asp216, подрезка = 1

For Educational Use Only



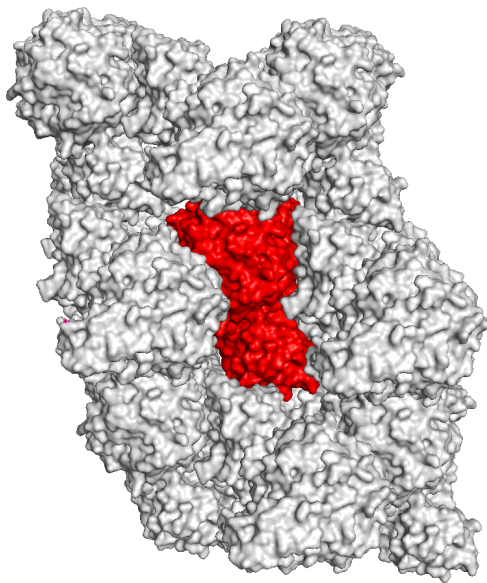
Asp216, подрезка = 2

Задание 3. Соседи.

Рассматриваемая в этом практикуме структура является частью кристалла. Для того, чтобы это продемонстрировать, покажем структуры в радиусе 5Å от нашей молекулы.

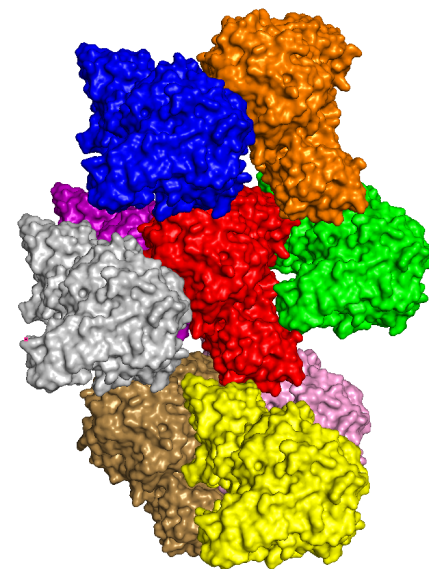
Непосредственно взаимодействуют с нашей молекулой 8 соседей.

For Educational Use Only



Соседи молекулы в радиусе 5Å (красным показана рассматриваемая в практикуме молекула)

For Educational Use Only



Взаимодействующие с молекулой соседи (красным показана рассматриваемая в практикуме молекула)