

Практикум 5

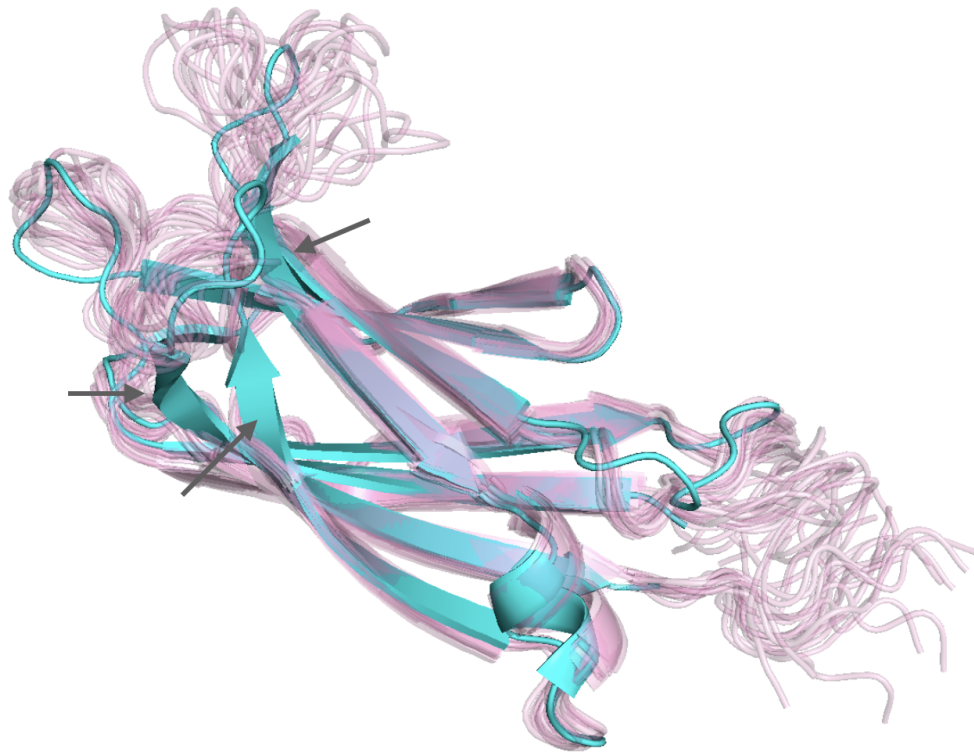
Задание 1. Введение

PDB ID: ЯМР - 7KRB, РСА - 4IHB

В данном практикуме предлагается рассмотреть структуры, соответствующие домену С2А белка дисферлина, полученные методами ЯМР и РСА.

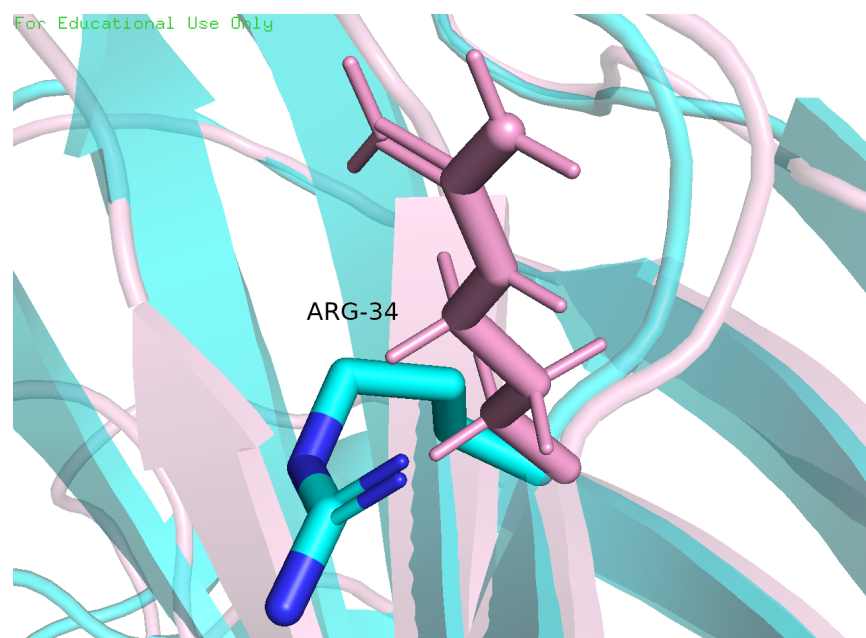
Разрешение РСА: 2.04 Å.

Число моделей ЯМР: 20.



Различия моделей, полученных методами ЯМР (розовый) и РСА (голубой). Макро-уровень. Стрелками показаны различия во вторичных структурах.

На неструктурированных участках у модели, полученной методом ЯМР, сходимость меньше, потому что из-за подвижности точность определения позиции атомов хуже. В связи с этим мы видим вариабельность и несовпадения между моделями, полученными ЯМР и РСА, в этих местах. Структурированные участки определены значительно более точно, однако, как видно на изображении, протяженность нескольких бета-слоев у модели ЯМР меньше, чем у РСА (показано стрелками).



Различия моделей, полученных методами ЯМР (розовый) и РСА (голубой). Микро-уровень.

Основное различие моделей на микро-уровне - наличие атомов водорода в модели, полученной ЯМР. Аминокислотная последовательность, для которой определена модель ЯМР, короче, чем для РСА (ЯМР: 138 остатков, РСА: 183 остатка). Протяженный участок, отвечающий за это различие, находится на С-конце белка.

В структурированных участках соответствующие друг другу остатки легко сопоставимы, однако, подавляющее большинство остатков имеют разные отклоняющиеся положения боковых радикалов аминокислот между моделями ЯМР и РСА. На картинке приведен пример - Arg34. Создается впечатление, что аргинин в модели, полученной ЯМР, находится в более естественной конформации.

Задание 2. RMSF

RMSF (root mean square fluctuation) аналогично RMSD, но если RMSD позволяет определить среднеквадратичное отклонение для всей структуры, то RMSF позволяет определить среднеквадратичное отклонение для отдельного атома.

$$RMSF_i = \left[\frac{1}{T} \sum_{t_j=1}^T |\mathbf{r}_i(t_j) - \mathbf{r}_i^{\text{ref}}|^2 \right]^{1/2}$$

Более того, RMSF связаны с величиной B-фактора уравнением:

$$RMSF_i^2 = \frac{3B_i}{8\pi^2}$$

А если постараться, то можно связать RMSF и RMSD:

$$\langle RMSD^2 \rangle^{1/2} = \sqrt{\frac{2N_s}{N_s - 1}} \langle RMSF^2 \rangle^{1/2}$$

Оценим взаимосвязь между RMSF, определенным для ЯМР структуры, и B-факторами, определенными для ЯМР структуры, с помощью python-пакета prody. Значения RMSF и B-факторов усредняем по остаткам.

На основании выравнивания последовательностей выбираем остатки, имеющиеся в обеих моделях.

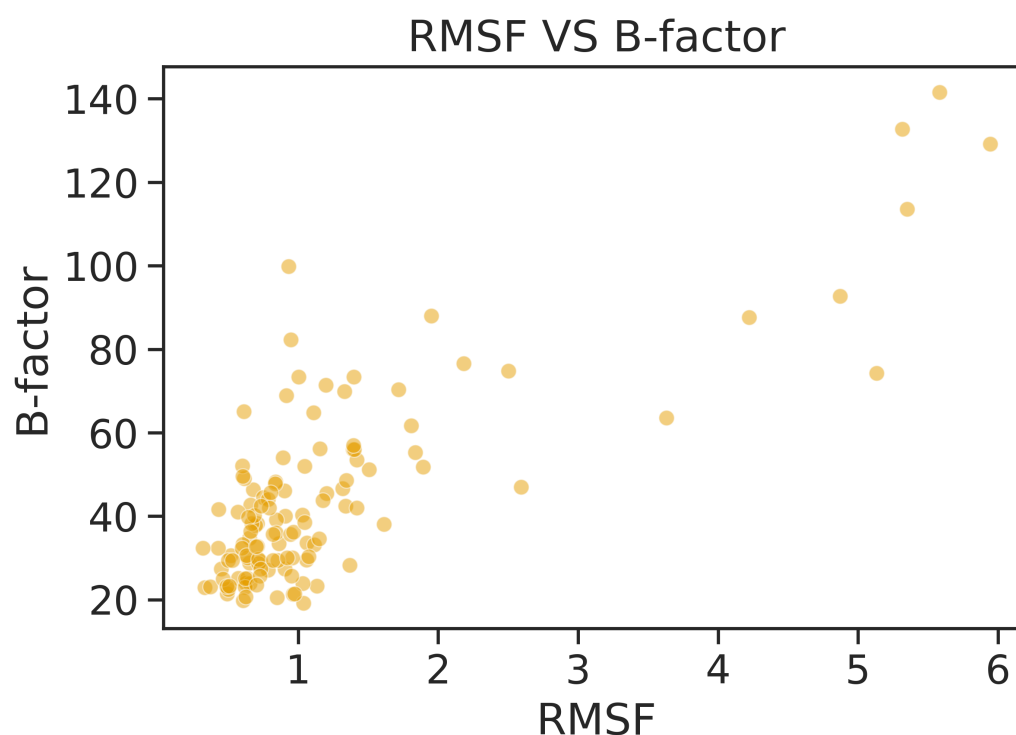
```

/nmr      1   6   11  16  21  26  31  36  41  46  51  56  61  66  71  76  81  86  91  96  101 106 111 116 121 126
-----MLRVFILYAENVHTPDTDISDAYCSAVFAGVKKRTKVIKNSVNPVWNEGFWDLKGIPLDQGSSELHVVKDHEMGRNRF LGAEKVPLREVLATPSLSASFNAPLLDTKKQPTGASLVLQVSYTPLPGA
/rsa     -4   1   6   11  16  21  26  31  36  41  46  51  56  61  66  71  76  81  86  91  96  101 106 111 116 121  /
          GSPEFMLRVFILYAENVHTPDTDISDAYCSAVFAGVKKRTKVIKNSVNPVWNEGFWDLKGIPLDQGSSELHVVKDHEMGRNRF LGAEKVPLREVLATPSLSASFNAPLLDTKKQPTGASLVLQVSYTAAAS-
  
```

Выравнивание последовательностей из rmutol.

Выбираем подпоследовательности с 1 по 124 остаток включительно.

Видная положительная зависимость, корреляция Пирсона: 0.7972.

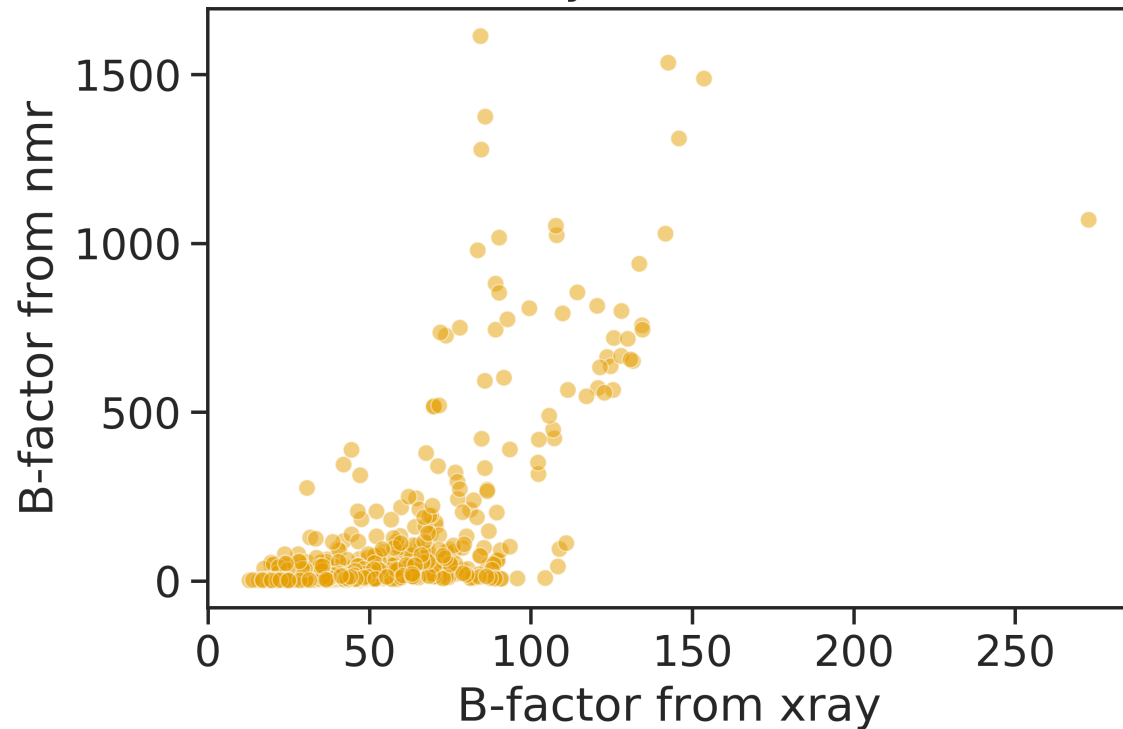


Сравним значения B-фактора для атомов из модели PCA и B-факторы, которые можно получить из уравнения (ниже) по значениям RMSF из ЯМР модели.

$$RMSF_i^2 = \frac{3B_i}{8\pi^2}$$

Для этого нужно отобрать только те атомы, которые присутствуют в соответствующих остатках обеих моделей, то есть, убрать водороды из модели ЯМР. (Надо убирать атомы, название которых начинается с H).

Comparison between B-factors obtained by different methods



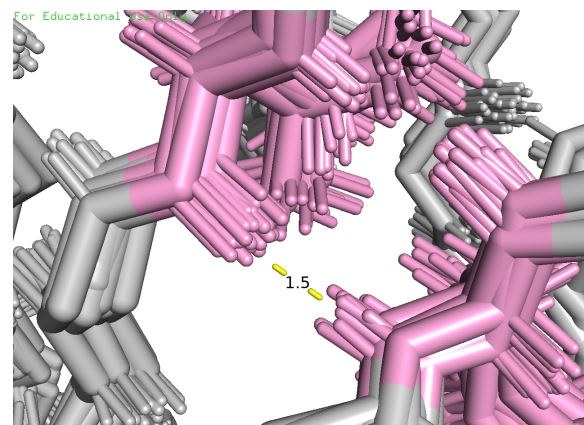
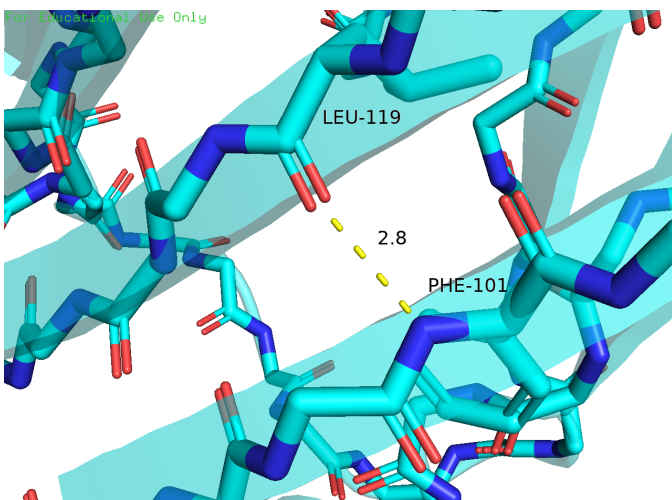
Видно, что численное соответствие совсем невелико. Корреляция, однако, есть: 0.6887 (корреляция Пирсона). Сходимость конформеров не описывает динамику, а характеризует качество определения структуры. Видим зависимость В-факторов из РСА от В-факторов "из" ЯМР, однако, в районе 0 по оси ОУ, отвечающей ЯМР, много нулей, не зависящих от значения В-фактора из РСА. Эти нули соответствуют хорошему качеству определения положения атомов. Видимо, некоторые атомы, для которых рассеяние в кристалле мало (соответствует высоким значениям В-фактора), могут быть хорошо определены при помощи ЯМР.

Задание 3.

Предлагается сравнить водородные связи в моделях, полученных ЯМР и РСА.

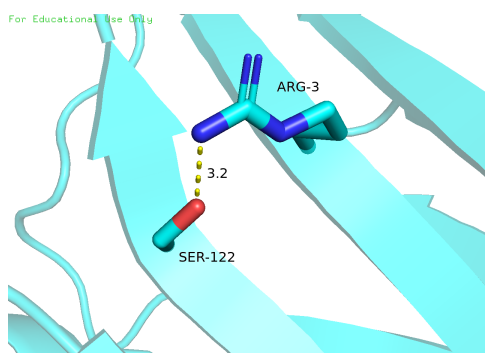
Для каждого примера картинка справа - изображение водородной связи для модели, полученной РСА, картинка слева - конформеры из ЯМР.

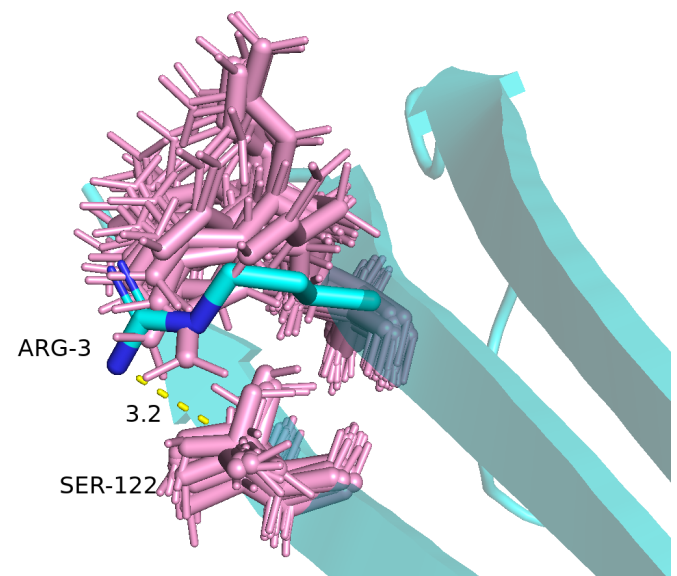
- Водородная связь между атомами остова в ядре белка



Выбрала водородную связь между атомами остова в ядре белка, удерживающую рядом антипараллельные бета-листы. Видно, что конформеры из ЯМР в этом месте довольно хорошо сходятся.

- Водородная связь боковых цепей в ядре белка

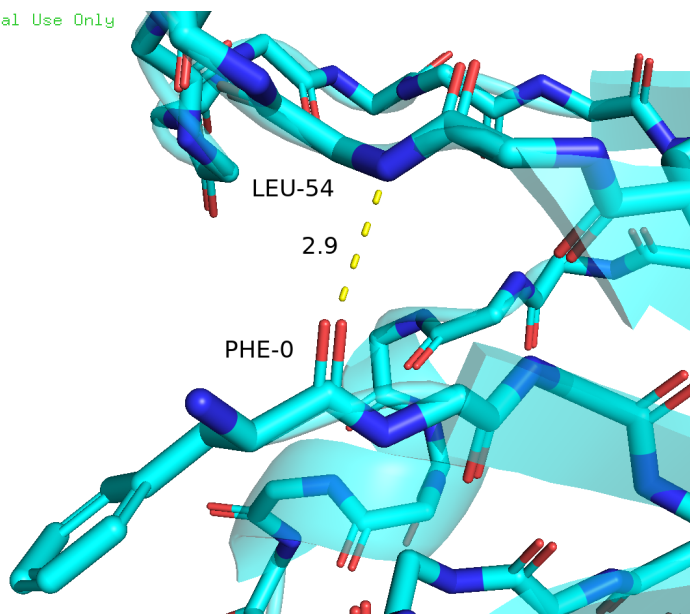




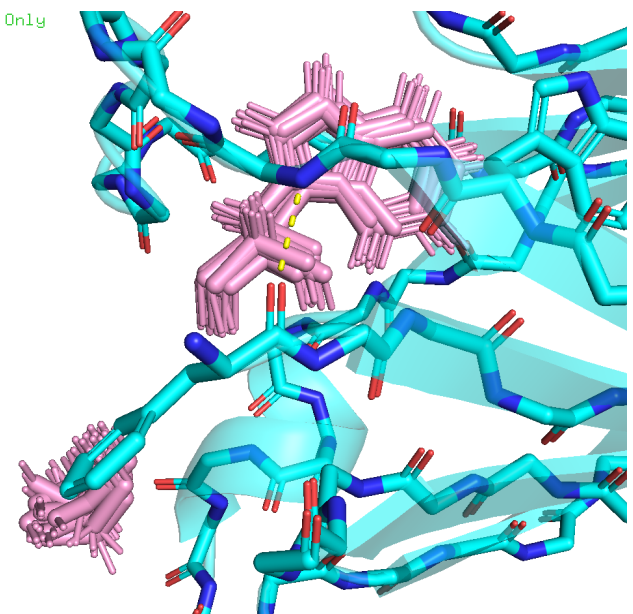
Анализируемая мной субъединица белка довольно мала, поэтому найти водородные связи между боковыми цепями, находящимися ближе к центру белка, мне не удалось (там все забито "молекулярным тетрисом"). Из-за того, что найденные мной остатки экспонированы наружу, они более подвижны, чем если бы они находились в ядре белка. Однако, из подсчетов (таблица ниже) видно, что остатки двигаются "синхронно": длина связи более-менее сохраняется между конформерами.

- Водородная связь в петлях, выходящих на поверхность глобулы

For Educational Use Only



For Educational Use Only



Довольно ожидаемо (в том числе из первого рисунка практикума) положение остатков петель сильно различается для моделей, полученных при помощи PCA и ЯМР. Таким образом те остатки, которые предположительно могли бы образовывать водородную связь согласно модели из PCA, по информации из модели из ЯМР находятся настолько далеко друг от друга, что о формировании водородной связи не может идти и речи.

В таблице приведена базовая статистика по параметрам связи между конформерами.

Атомы, образующие связь	Длина связи в модели PCA	Процент конформеров, содержащих связь	Минимальная длина	Максимальная длина	Медианная длина
PHE101(N), LEU119(O)	2.8	100% (20)	2.683	2.809	2.729
ARG3(NH1 2), SER112(O)	2.9	100% (20)	2.686	3.157	2.835
PHE0(O), LEU54(N)	3.2	0% (0)	28.247	33.913	32.007