

Общая информация

В данном практикуме мне была предоставлена структура обратимо фотопереключаемого флуоресцентного белка, разработанного в работе Christopher D. M. Hutchison. К обратимо фотопереключаемым флуоресцентным белкам относятся флуорофоры, у которых изменение спектральных характеристик связано с изомеризацией, а не фотохимической реакцией. Поэтому данные белки способны активироваться и деактивироваться более одного раза. Причем выданная мне структура соответствует цис-интермедиату при 200 Кельвинах, который предварительно был подвергнут отжигу при 290 Кельвинах. [1]

Задание 1

В данном задании было необходимо рассмотреть комбинацию альтлоков двух аминокислот в структуре 7QLL и предположить их наиболее вероятную комбинацию. Для этого загрузим структуру данного белка в PyMol и выберем интересующие нас аминокислоты. Также будем отображать участок самого белка рядом с данными аминокислотами. Каждая аминокислота имеет по два альтлока, поэтому всего может быть 4 комбинации. В начале было решено визуализировать окружение данных аминокислот, чтобы посмотреть на взаимодействия с другими аминокислотными остатками. Оказалось, что все остатки достаточно далеко от любого из альтлоков (Рис. 1).

Из этих вариантов невозможным я считаю тот, при котором аминокислотные остатки наиболее сближены (альтлок В аргинина и альтлок А глутамата), так как в данном случае кислород глутамата находится слишком близко с атомами аргинина (Рис. 2), а учитывая то, что длина ковалентной связи азот-кислород в среднем равна 1.3 ангстрема, а это очень близко к наблюдаемому расстоянию между атомами, и то, что данное изображение не показывает наличие водородов, можно говорить об абсолютной недопустимости данного расположения.

Наиболее вероятной комбинацией альтлоков я считаю комбинацию альтлока В аргинина и альтлока В глутамата (Рис. 3). Данное заключение было сделано исходя из того, что в таком положении аминокислоты могут образовать солевой мостик, критическое расстояние для которого составляет 4 ангстрема, что является критическим расстоянием для взаимодействий подобного рода.

Кроме перечисленных комбинаций существует еще две, которые не отвергаются мной, но и я не вижу причин говорить о том, что они наиболее вероятны (Рис. 4), поскольку в них нет ни критических пересечений, ни

стабилизирующих взаимодействий. Также упомянем то, что из файла со структурой можно видеть, что для каждой из аминокислот каждый из альтлоков имеет значение осцилляции равное 0.5.

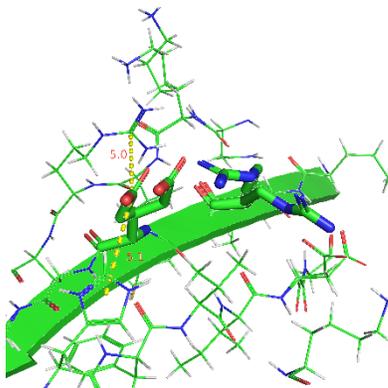


Рис. 1. Окружение рассматриваемых альтлоков (показаны самые близкие потенциальные “взаимодействия”)

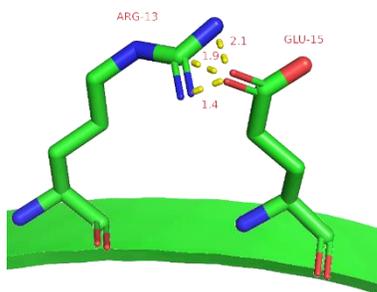


Рис. 2. Недопустимое расположение альтлоков (альтлок В аргинина и альтлок А глутамата)

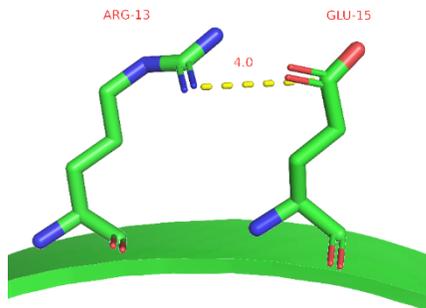


Рис. 3. Наилучшая комбинация альтлоков (альтлок В аргинина и альтлок В глутамата)

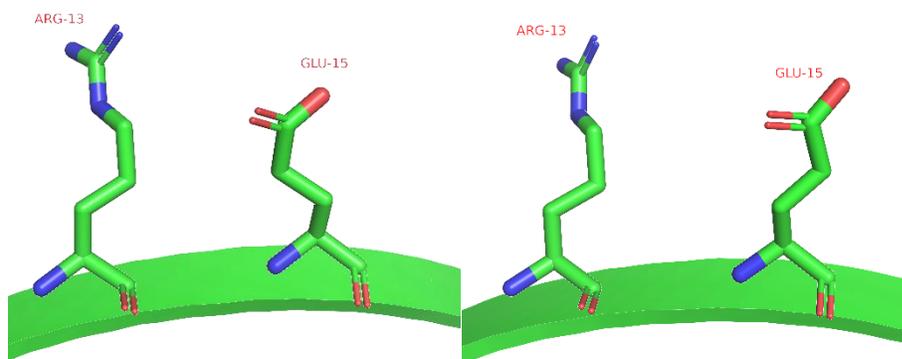


Рис. 4. Допустимые альтлоки

Задание 2

В следующем задании требовалось показать сначала остов белка, а также аминокислотные остатки в окраске по В-фактору. Заметим, что В-фактор отвечает за локализацию конкретного атома в конкретной координате. Поэтому при возрастании данного показателя увеличивается и область, где допустимо расположение атома, что уменьшает достоверность его положения. Как можно видеть на полученных изображениях (Рис. 5), В-фактор достаточно низок практически для всех атомов, кроме концевых участков. Данное наблюдение можно объяснить двумя фактами: во-первых, флуоресцентный белок представляет из себя жесткую структуру бочонка, а во-вторых, концевые аминокислоты в наименьшей степени участвуют в образовании данной структуры, поэтому они более свободно двигаются в среде.

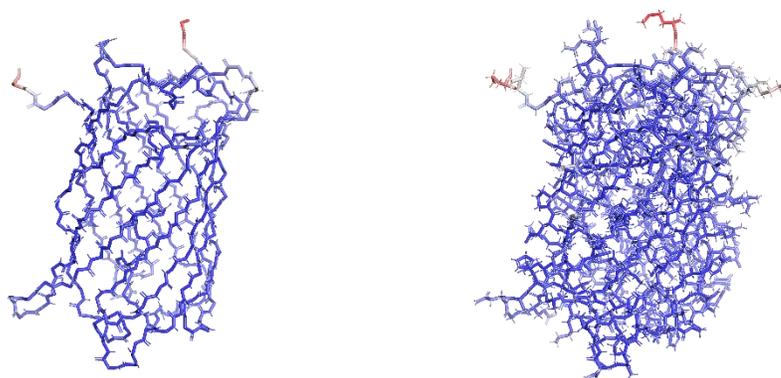


Рис. 5. Окраска белка по В-фактору (слева – только остов, справа – вместе с аминокислотными остатками)

Далее я решил анализировать электронную плотность сразу двух концевых аминокислот. Для этого я использовал три уровня подрезки: 1.0, 0.5 и 0.1. Как можно видеть на полученных изображениях, участки с наибольшим B-фактором хуже всего покрыты электронной плотностью даже при достаточно низком ограничении на z-score (Рис. 6).

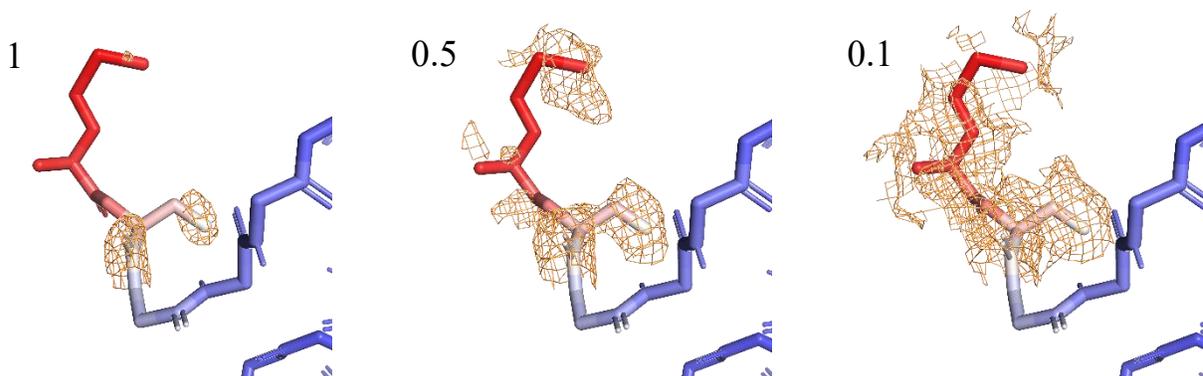


Рис. 6. Электронная плотность возле подвижного участка на разных уровнях подрезки (метки соответствуют уровням подрезки)

Задание 3

В данном задании необходимо показать строение кристалла белка, структура которого использовалась в предыдущих заданиях. Для этого я поставил порог построения в 25 ангстрем, а затем отобрал те молекулы, которые будут представлять элементарную единицу кристалла (Рис. 7). Изображение при пороге в 40 ангстрем подтверждает, что выбранная часть является элементарной единицей кристалла (Рис. 8).

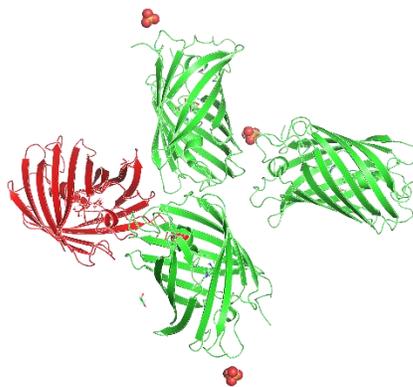


Рис. 7. Элементарная единица кристалла

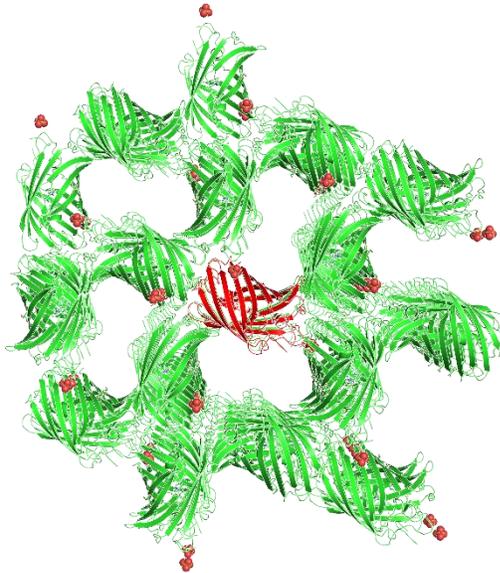


Рис. 8. Строение кристалла

Задание 4

В данном задании необходимо рассмотреть зоны взаимодействия белка с соседями по кристаллу. Для этого я сначала выделил аминокислоты, которые могут взаимодействовать между собой (Рис. 9). Далее для поиска контактов между двумя wybranными группами я воспользовался плагином, а затем рассмотрел каждую из зон контакта отдельно с учетом потенциальных взаимодействий.

Получилось несколько зон, внутри которых можно найти несколько взаимодействий (Рис. 10). Отметим, что плагин хорошо выполнил свою функцию, так как все найденные контакты достаточно достоверны и не было упущено каких-либо взаимодействий. Также интересно, что существуют контакты между лигандом из одной ячейки и белком из другой.

При этом все эти контакты сложно представить в живой системе, так как рассматривается флуоресцентный белок, который не должен образовывать комплексы из нескольких одинаковых молекул.

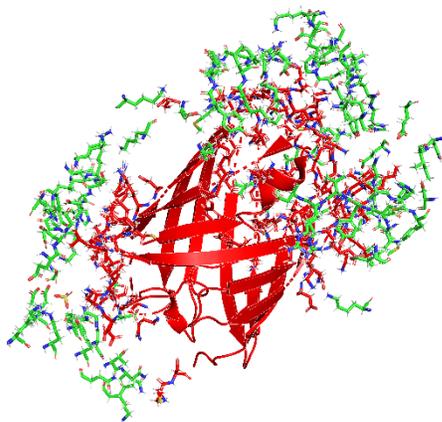


Рис. 9. Потенциально взаимодействующие аминокислоты

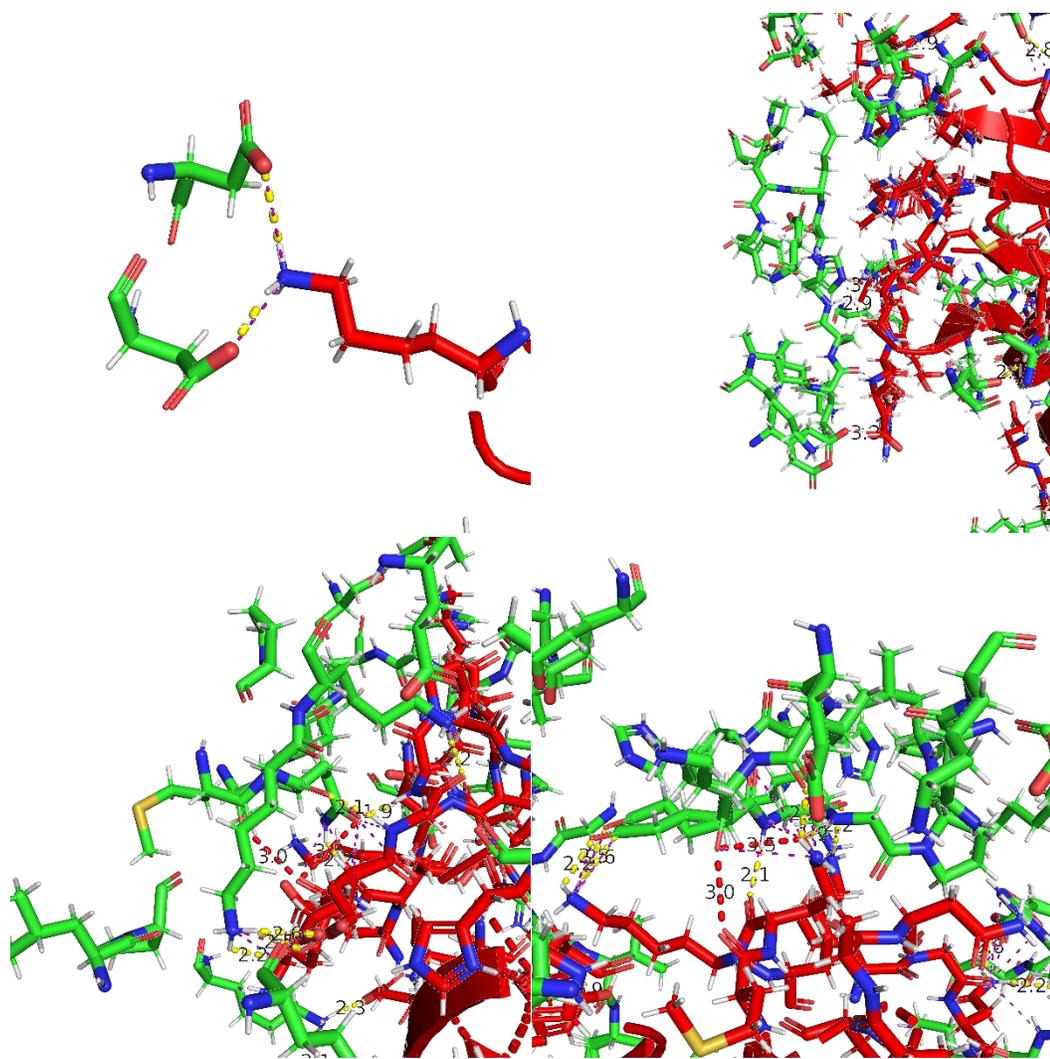


Рис. 10. Некоторые из зон контакта в кристалле

[Ссылка на PyMol-сессию с альтлоками](#)

[Ссылка на PyMol-сессию с покраской по В-фактору](#)

[Ссылка на PyMol-сессию с элементарной единицей кристалла](#)

[Ссылка на PyMol-сессию с кристаллом](#)

[Ссылка на PyMol-сессию с взаимодействиями в кристалле](#)

Использованная литература

[1] - Hutchison, C.D.M., Baxter, J.M., Fitzpatrick, A. et al. Optical control of ultrafast structural dynamics in a fluorescent protein. Nat. Chem. 15, 1607–1615 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41557-023-01275-1>