

Практикум 3

ссылки на сессии:

https://kodomo.fbb.msu.ru/~kmd/term7/hw3_1.pse

https://kodomo.fbb.msu.ru/~kmd/term7/hw3_2.pse

https://kodomo.fbb.msu.ru/~kmd/term7/hw3_3.pse

Задание 1.

Для этой работы был предоставлен PDB ID 6NNR. Это белок, являющийся тимидилатсинтазой, которая продуцирует единственный внутриклеточный источник тимидина *de novo*. Также он является общей мишенью для антибиотиков и противораковых препаратов [1].

В первом задании (вариант В) было необходимо рассмотреть два альт-лока 10 остатка лизина в В цепи структуры.

Для обеих альтернативных конформаций существуют стабилизирующие их связи. В случае альт-лока А ими являются солевой мостик с остатком глутамата 14 и водородная связь с молекулой воды. В случае альт-лока В – водородные связи с остатком гистидина 32 и молекулами воды.

По данным из PDB файла альт-лок А встречается реже (0.31), чем альт-лок В (0.69). Мне кажется это не очень логичным, т. к. солевой мостик, образующийся при взаимодействии альт-лока А с остатком глутамата является более прочной связью, чем водородные связи, которые образует альт-лок В. Также есть вероятность, что гистидин 32, который может взаимодействовать с альт-локом В, положительно заряжен, тогда этой водородной связи не образуется. Также в окружении альт-лока В нет отрицательно заряженного остатка, который бы уравнивал положительный заряд лизина, что делает данный альт-лок менее вероятным. Таким образом альт-лок А является более вероятной конформацией.

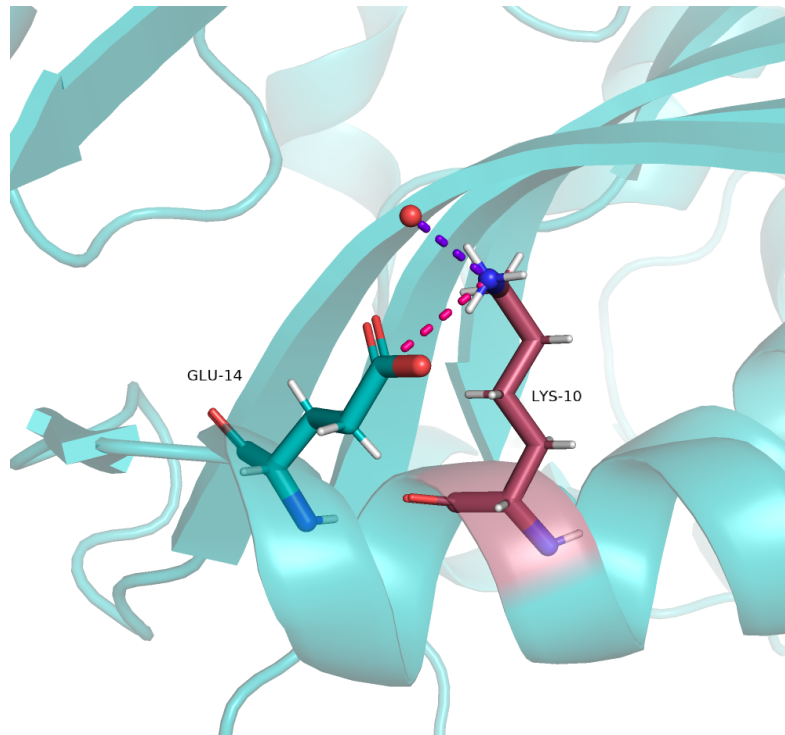


Рис. 1. Альт-лок А и его взаимодействия с окружением.

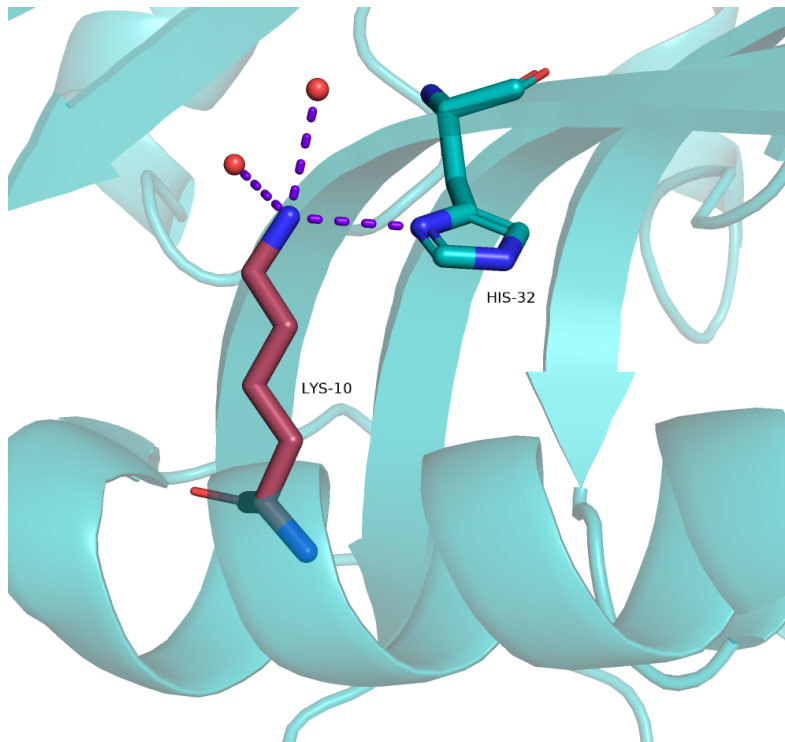


Рис. 2. Альт-лок В и его взаимодействие с окружением.

Задание 2.

Дальнейшие действия проводились с этой же структурой. Была проведена окраска остова структуры по В фактору, который указывает на

точность определения местоположения каждого атома. При большом В факторе пространство, в котором данный атом может находиться также является большим. Данный показатель демонстрирует степень подвижности атомов. Чем ближе к краю структуры, тем больше становится В фактор. Самые большие его значения (красная окраска) показаны для неструктурированных выпетливающих участков, которые действительно являются наиболее подвижными участками в структуре. Также при рассмотрении окраски структуры остова с боковыми радикалами, можно заметить, что концевые атомы боковых радикалов имеют более высокий В фактор. Это закономерно, т. к. они обладают большей подвижностью, по сравнению с атомами остова.

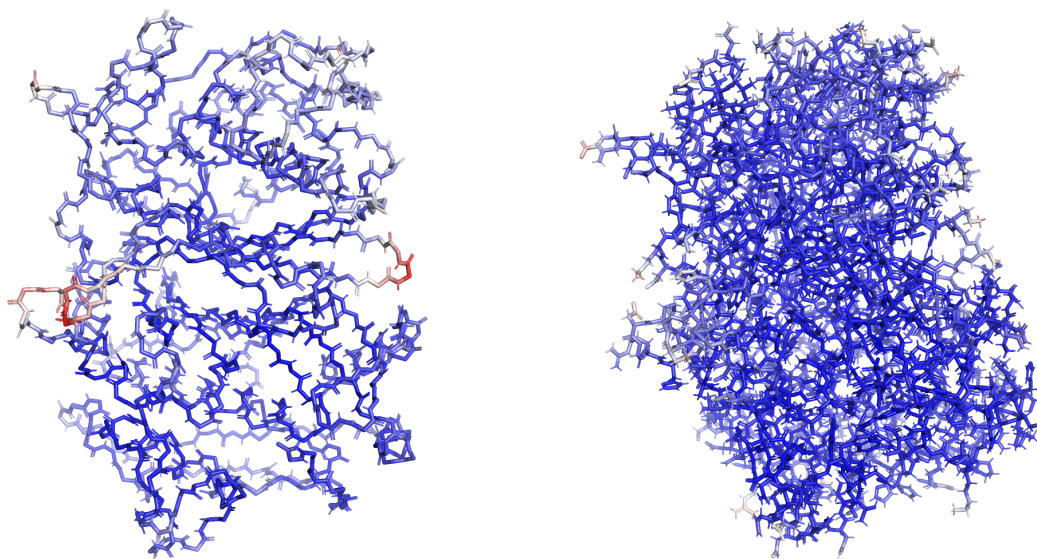


Рис. 3. Структура 6NNR, покрашенная по В фактору. Слева – только остов структуры, справа – остов и боковые радикалы.

Далее был отдельно рассмотрен остаток глутамата 86, заметно изменяющий свою окраску к концу. Так как данный остаток имеет достаточно длинный боковой радикал и располагается на поверхности молекулы, он обладает большой подвижностью. Данные выводы подтверждаются распределением электронной плотности на данном остатке, что продемонстрировано на рисунках ниже. Низкое покрытие электронной плотностью указывает на более низкую вероятность нахождения атома в данной точке пространства, что является следствием его подвижности.

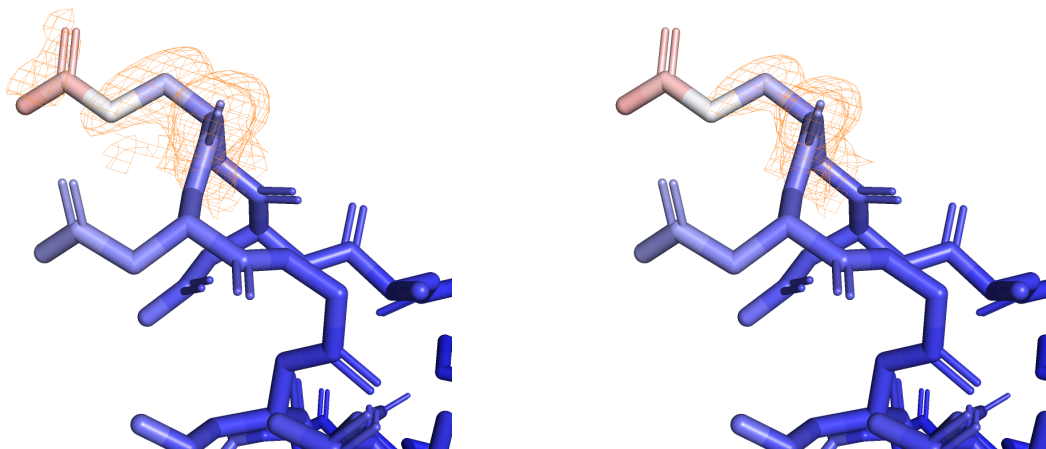


Рис. 4. Визуализация В фактора и электронной плотности для глутамата 86.
Слева – уровень подрезки 0,5, справа – 1,5.

Задание 3.

Далее была рассмотрена кристаллическая решетка белка и его ближайшее окружение. Кристаллическая решетка была рассмотрена на расстоянии 50 Å от исходной структуры. Далее было рассмотрено ближайшее окружение на расстоянии 4 Å от исходной структуры. Видно, что структура взаимодействует с 8-ю другими структурами в кристаллической решетке.

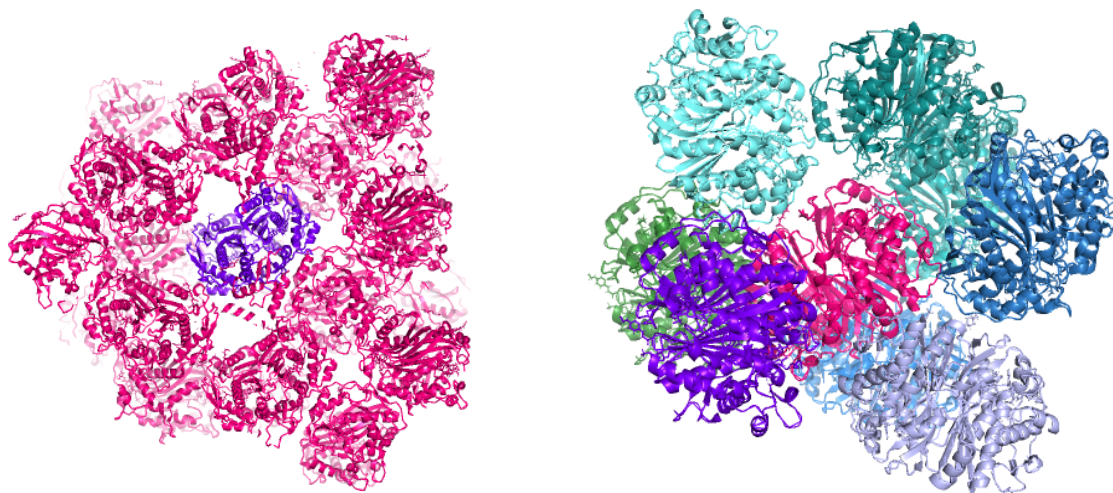


Рис. 5. Организация кристалла белка. Слева – общий вид, справа – ближайшее окружение.

Список литературы:

1. Wang, Z., Sapienza, P.J., Abeysinghe, T., Luzum, C., Lee, A.L., Finer-Moore, J.S., Stroud, R.M., Kohen, A., Mg²⁺ Binds to the Surface of Thymidylate Synthase and Affects Hydride Transfer at the Interior Active Site, (2013) J Am Chem Soc 135: 7583-7592