

Prody 2. ЯМР vs РСА

Задание 1. Вводное

В данном задании я сравнивала структуры альфа-литической протеазы, выделенной из миксобактерии *Lysobacter*. Первая структура (PDB ID 5WOT) получена методом ЯМР и представлена 10 моделями. Вторая была получена с помощью РСА (PDB ID 2H5C), ее разрешение 0,82 А.

Голубым цветом обозначена ЯМР-структура, розовым – РСА-структура. Для РСА характерно наличие несвязанных молекул – вода и сульфатов. Таких молекул не наблюдается в ЯМР, поскольку для ЯМР-эксперимента используется не детектируемая тяжелая вода. (рис.1)

В обеих структурах хорошо совпадает положение альфа-спиралей и бета-листов в центре белка. Не так хорошо накладываются бета-листы на периферии и петли в центре, хуже накладываются петли на периферии. Эти явления связаны с тем, что возникает больше степеней свободы, во-первых, для остатков на периферии по сравнению с ядром молекулы, во-вторых, в петлях по сравнению с альфа-спиралями и бета-листами. В кристалле с увеличением подвижности остатков размывается их электронная плотность. В ЯМР участки с большой подвижностью также сложнее восстановить, поскольку возникают возможные положения с близким энергетическим профилем.

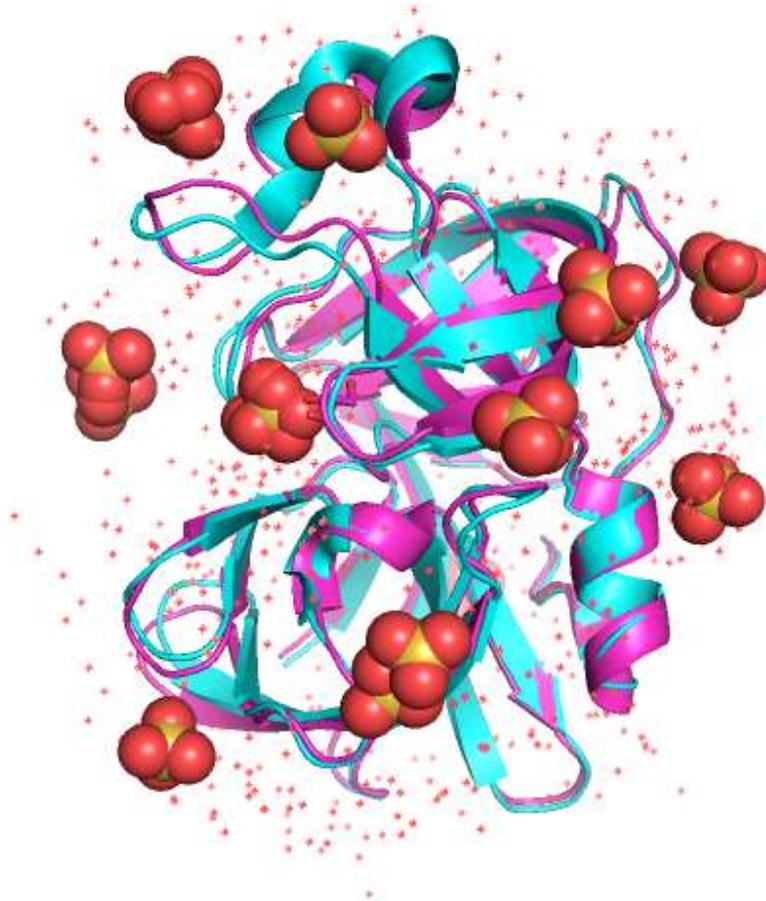


Рис.1. Наложенные ЯМР (голубая) и РСА (розовая) структуры альфа-литической протеазы.

При более близком рассмотрении видно, что в обеих структурах есть атомы водорода. Это говорит о высоком разрешении РСА структуры – 0,82А. При загрузке электронной плотности для нее видны участки плотности вокруг атомов водорода.

Кроме того, видно, что для тех петель, что показались не сильно совпадающими, положения отдельных остатков практически идентично, что продемонстрировано на рис. 2а,б.

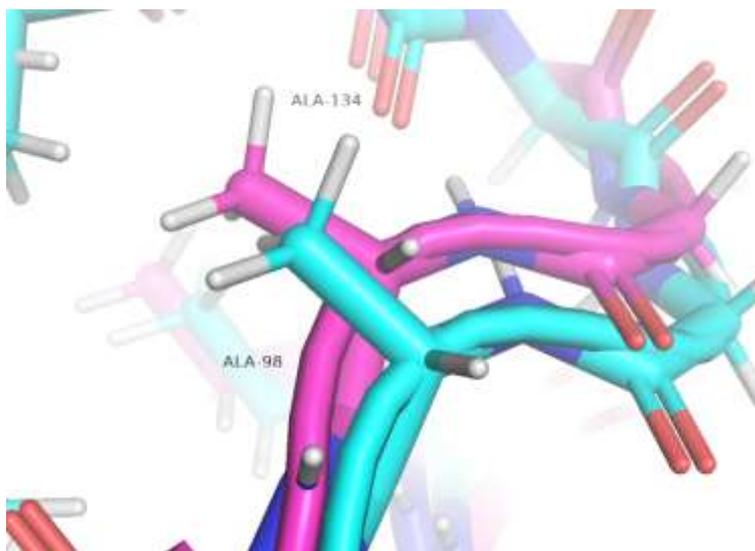


Рис.2а. Фрагмент петель в PCA (розовым) и ЯМР (голубым) структурах.

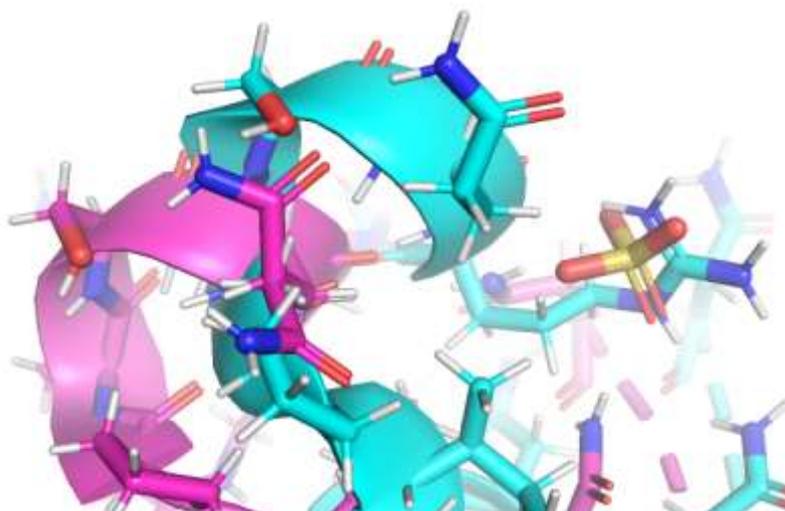


Рис.2б. Фрагмент петель в PCA (розовым) и ЯМР (голубым) структурах.

Задание 2. RMSF

Параметр RMSF может служить мерой подвижности участков молекулы, полученной с помощью ЯМР. Задача заключалась в том, чтобы прикинуть, в какой мере ансамбль моделей в ЯМР отражает подвижность остатков белка. Для этого средние RMSF остатков сравнивались с соответствующими средними B-факторами остатков PCA-модели. На графике 1 представлена эта зависимость в виде scatter-plot. Хорошо заметен тренд к увеличению параметра RMSF с увеличением B-фактора. Это говорит о том, что оба эти параметра могут использоваться для оценки меры подвижности остатков при условии качества проведения экспериментов (как PCA, так и ЯМР).

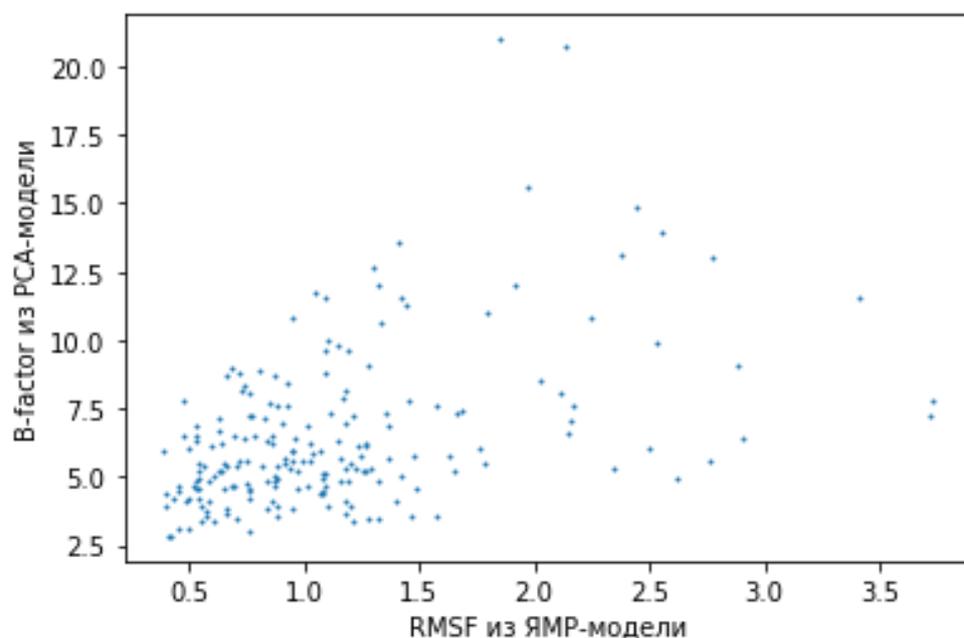


График 1. Зависимость средних B-факторов остатков из PCA-модели от средних RMSF для тех же остатков из ЯМР-модели.

Задание 3. Водородные связи

В данном задании нужно было рассмотреть разные виды водородных связей. Информация собрана в таблице 1.

На рис. За и б показана водородная связь остова в альфа-спирали между лейцинами для структур PCA и ЯМР. Участок альфа-спирали идеально совпадает для обеих моделей, и водородная связь близкой длины между лейцинами сохраняется и в кристалле, и во всех молекулах ансамбля в ЯМР.

Водородная связь боковых цепей в ядре белка была рассмотрена на примере связи между гистидином и серином, которая есть в PCA-структуре, но не обнаруживается ни в одной из ЯМР-моделей. (рис. Зв и г). В ЯМР структурах расстояние между этими остатками слишком большое. Вероятно, петли, на которых располагаются эти остатки, достаточно подвижны в растворе.

В петле на поверхности белка была найдена водородная связь между серином и глутамином (рис.Зд, е). Несмотря на то, что эти остатки находятся на периферической петле, связь между ними воспроизводится и в кристалле, и во всех моделях ЯМР. Это может говорить о качестве экспериментов как ЯМР, так и PCA.

Таблица 1. Данные об остатках, образующих водородные связи.

Номера остатков связи в PCA-модели (в ЯМР-модели)	Расстояние в PCA-модели	% ЯМР-моделей, содержащих связь	Минимальное расстояние в ЯМР	Максимальное расстояние в ЯМР	Медианное значение расстояния в ЯМР
LEU-235 и LEU-231 (LEU-184 и LEU-	2,2 А	100%	1,8 А	2,4 А	2,0 А

188)					
HIS 57 и SER 195 (HIS 36 и SER 143)	2,3 А	0	4,8 А	7,4 А	6,0 А
SER-222 и GLN-223 (SER-175 и GLN-176)	2,4 А	100%	2,2 А	3,0 А	2,4 А

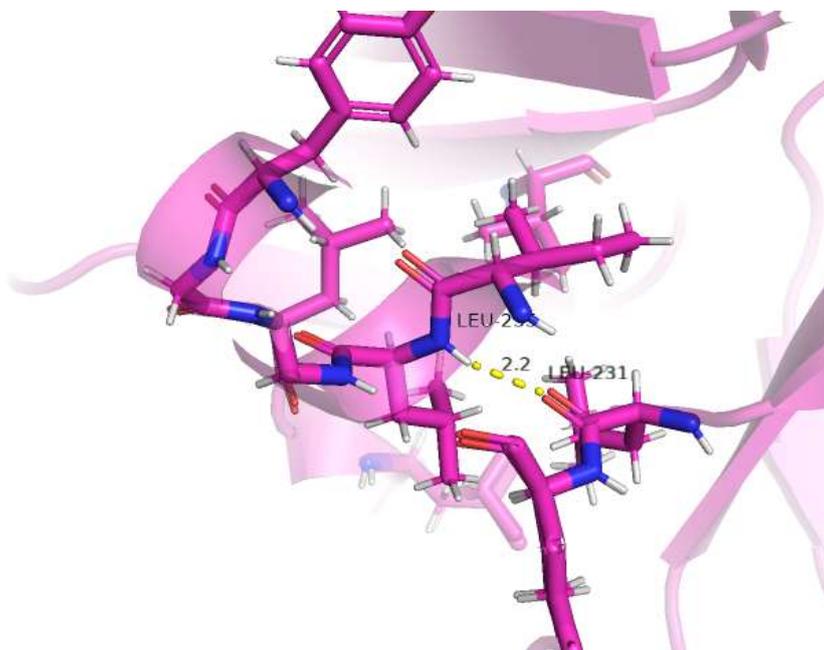


Рис.3а. Водородная связь в остане между лейцинами, РСА-модель.

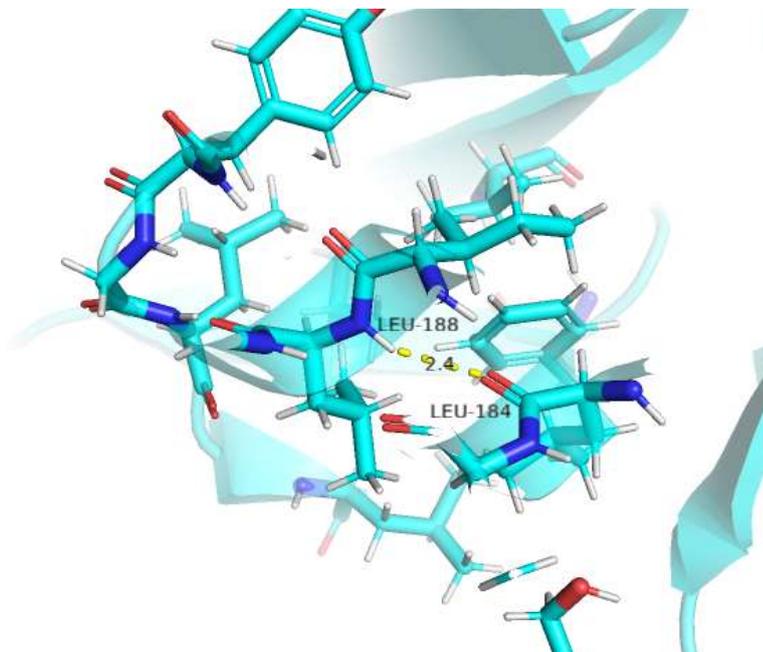


Рис.3б. Водородная связь в остане между лейцинами, ЯМР-модель (одна из структур ансамбля).

1

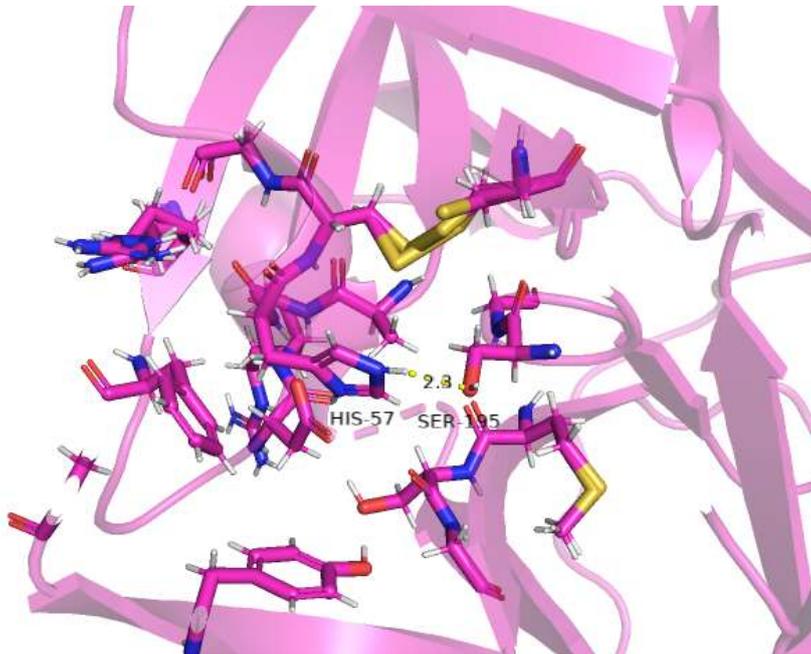


Рис.3в. Водородная связь боковых групп между гистидином и серином, PCA.

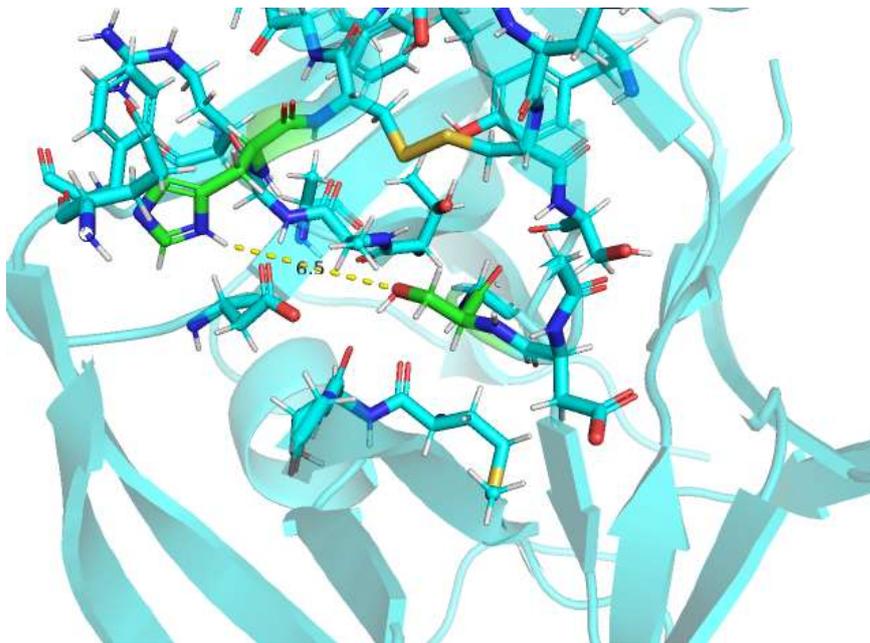


Рис. 3г. Те же гистидин и серин в ЯМР-моделях не образуют водородной связи.

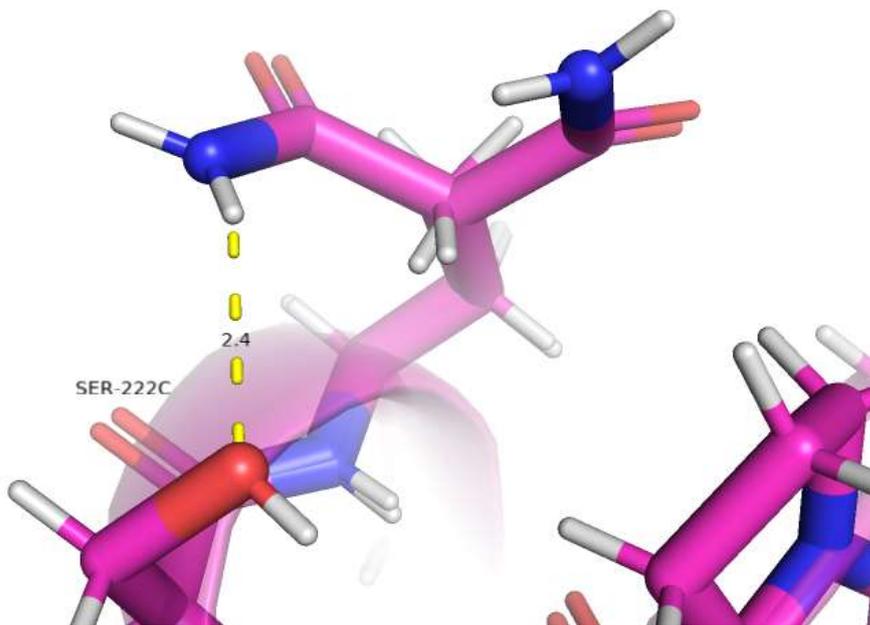


Рис.3д. Водородная связь между серином и глутамином, PCA.

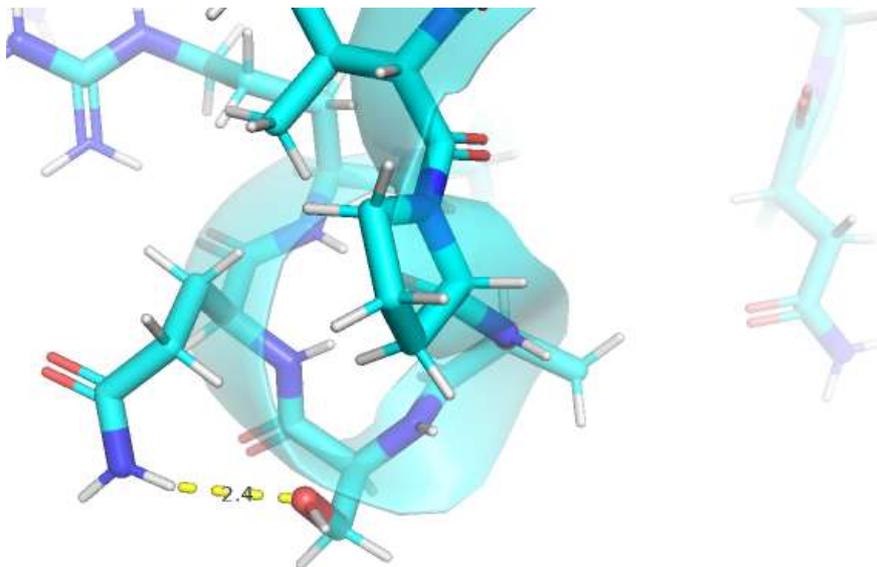


Рис. 3е. Водородная связь между серином и глутамином, одна из ЯМР структур.