

Практикум 3. Альтернативные положения, В-фактор, кристалл.

Николай Николаев

Задание 1

В рамках практикума анализировали структуру [7P8B \(6YM6\)](#) (биологическая сборка 1 – везде, кроме задания 3) УТН-домен-содержащего белка 1 человека, связывающего N⁶-метиладенин в составе мРНК и реализующего эффекты данной эпитранскриптомной модификации.

Остаток Arg450 имеет в структуре два альтернативных положения, при этом положение А имеет населённость 0.67, а остаток В – 0.33. На Рис. 1 показаны оба альтернативных положения и образуемые ими взаимодействия. Из него видно, что, скорее всего, причина большей населённости положения А в том, что в этом положении, в отличие от положения В, гуанидиновая группа способна донировать водородную связь молекуле воды, через другие две молекулы воды связанной с остовными карбонилами Trp447 и Ser497. В положении В расстояние от кислорода воды до ϵ -азота аргинина – 3.7 Å, слишком большое для образования водородной связи. Атом же азота, уже связанный с двумя молекулами воды, неспособен образовать больше водородных связей.

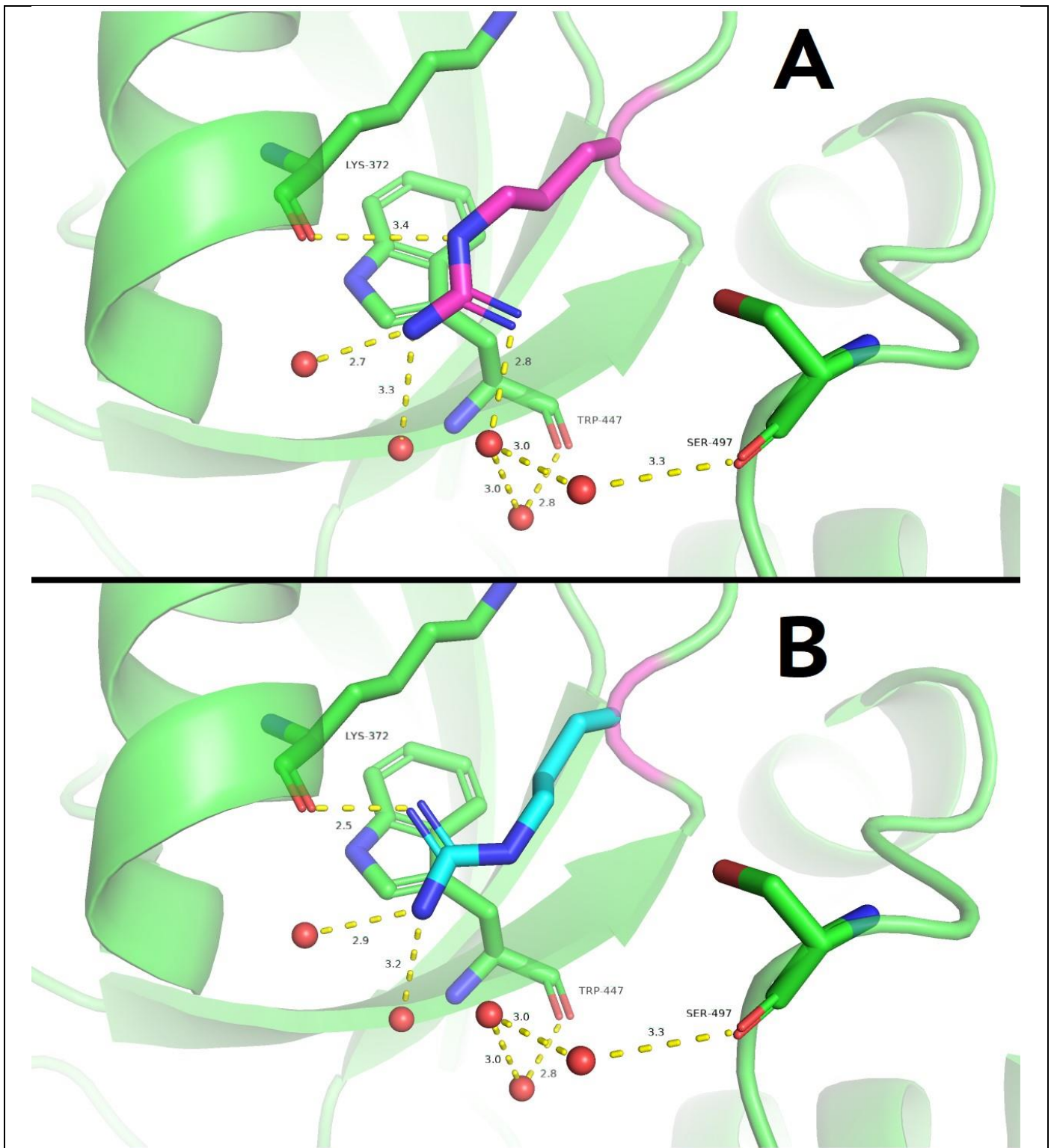
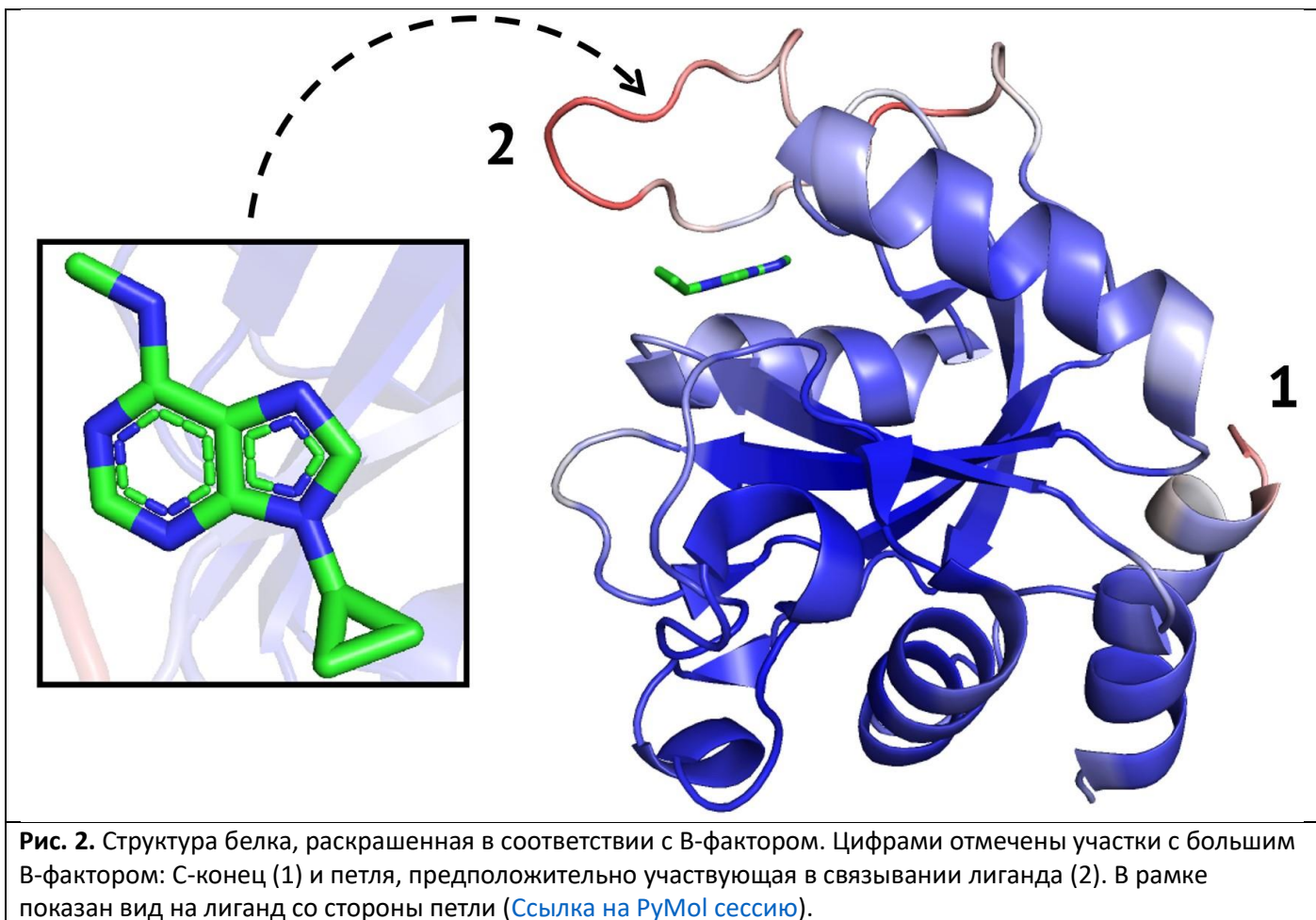


Рис. 1. Альтернативные положения Arg450. Оба образуют водородные связи с двумя молекулами воды (взаимодействия которых с другими молекулами воды и аминокислотными остатками не показаны) и кислородом Lys372, но положение А также образует водородную связь с третьей молекулой воды, что дополнительно стабилизирует его ([Ссылка на PyMol-сессию](#)).

Задание 2.1

На Рис. 2 показан белок, раскрашенный в соответствии с величиной В-фактора. Наибольший В-фактор имеют красные участки остова. Можно особенно выделить 2 таких участка: С-конец белка (отмечен на рисунке цифрой 1), лежащий на поверхности глобулы и, скорее всего, не выполняющий никакой важной функции в белке, и петлю, также лежащую на поверхности глобулы (отмечена на рисунке цифрой 2) и накрывающую собой лиганд в его сайте связывания. Скорее всего, подвижность этой петли критически важна для способности белка связываться с N⁶-метиладенином.



Задание 2.2

Заметное повышение B-фактора к концу бокового радикала можно наблюдать у остатка His427, который входит в состав вышеупомянутой подвижной петли, находится на поверхности белка и направлен в раствор. Его раскраска по B-фактору, а также карты электронной плотности представлены на Рис. 3. Почти наверняка данный радикал не занимает в кристалле стабильного положения, причём наиболее далёкие от остова атомы боковой цепи могут располагаться в наиболее объёмной области пространства, и от этого их электронная плотность выглядит в экспериментальных данных наиболее «размазанной». Эту «размазанность» хорошо видно на картах электронной плотности: уже на уровне подрезки 2 не наблюдается никакой электронной плотности от бокового радикала His427, причём в первую очередь плотность «пропадает» с крайнего углерода гистидина (см. Рис. 3, С).

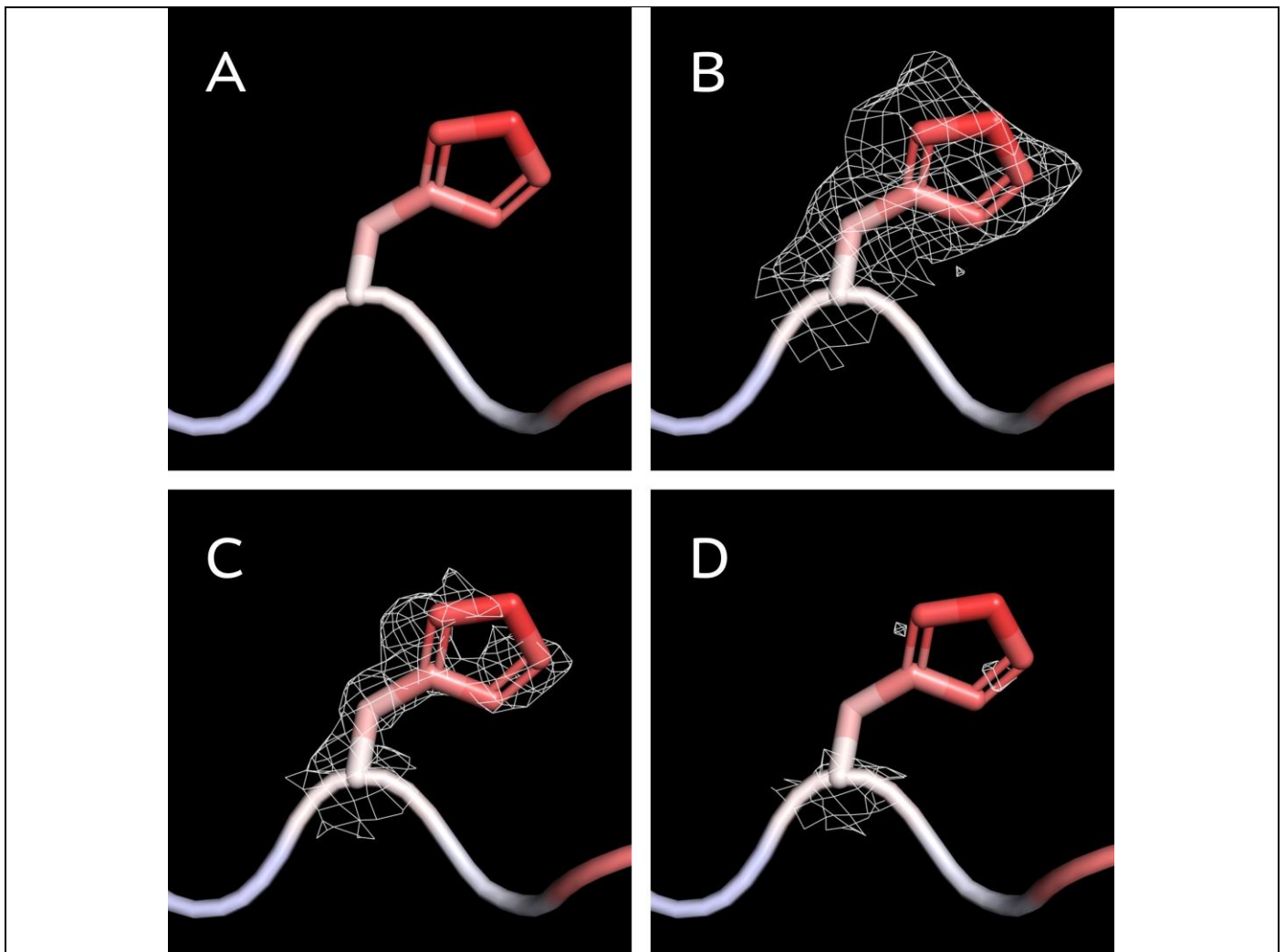


Рис. 3. His427 с покраской атомов радикала по B-фактору (A) и картой электронной плотности на уровнях подрезки 0.5 (B; carve = 1.7), 1 (C; carve = 1.5) и 1.5 (D; carve = 1.5) ([Ссылка на PyMol-сессию](#)).

Задание 3.1

Кристаллическая ячейка данной структуры имеет форму почти идеального параллелепипеда и содержит 2 молекулы белка в различных конформациях. На Рис. 4 представлена восстановленная структура кристалла в двух ориентациях.

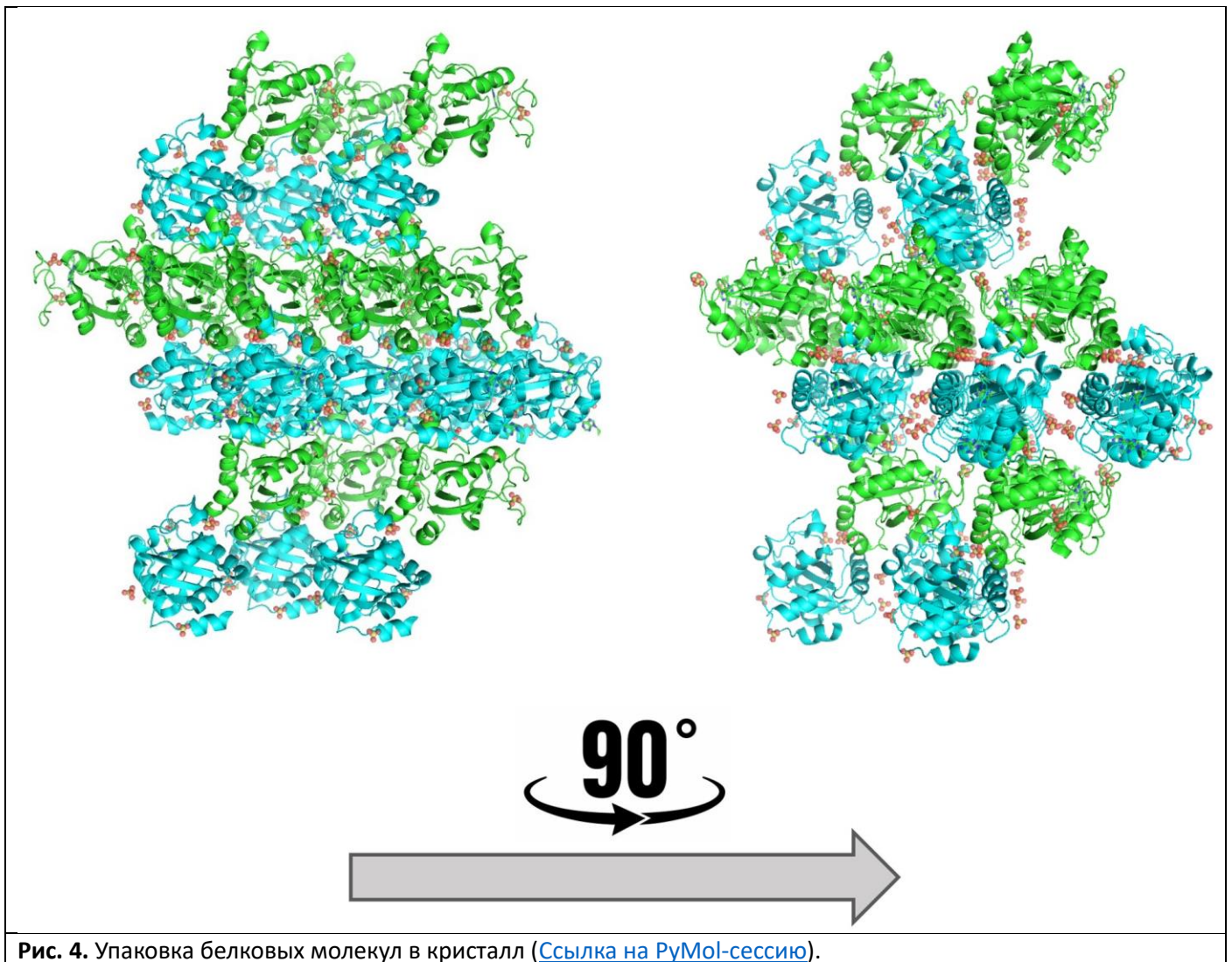


Рис. 4. Упаковка белковых молекул в кристалл ([Ссылка на PyMol-сессию](#)).

Задание 3.2

Молекула белка в кристалле контактирует с десятью другими (см. Рис. 5). Если представить, что молекула, соответствующая Биологической сборке 1 (зелёная), «смотрит» в сторону своего соседа по кристаллографической ячейке (циановая), то слева, справа, снизу и сверху она контактирует с четырьмя парами молекул, каждая из которых содержит по одной молекуле каждой конформации. Сзади же имеется контакт с одной молекулой, соответствующей Биологической сборке 2. Таким образом, молекула контактирует с 4 молекулами, соответствующими Биологической сборке 1 (на рисунке покрашены в красный, розовый, оранжевый и пурпурный) и с 6 молекулами, соответствующими Биологической сборке 2 (на рисунке покрашены в оттенки синего, серебристый или сиреневый).

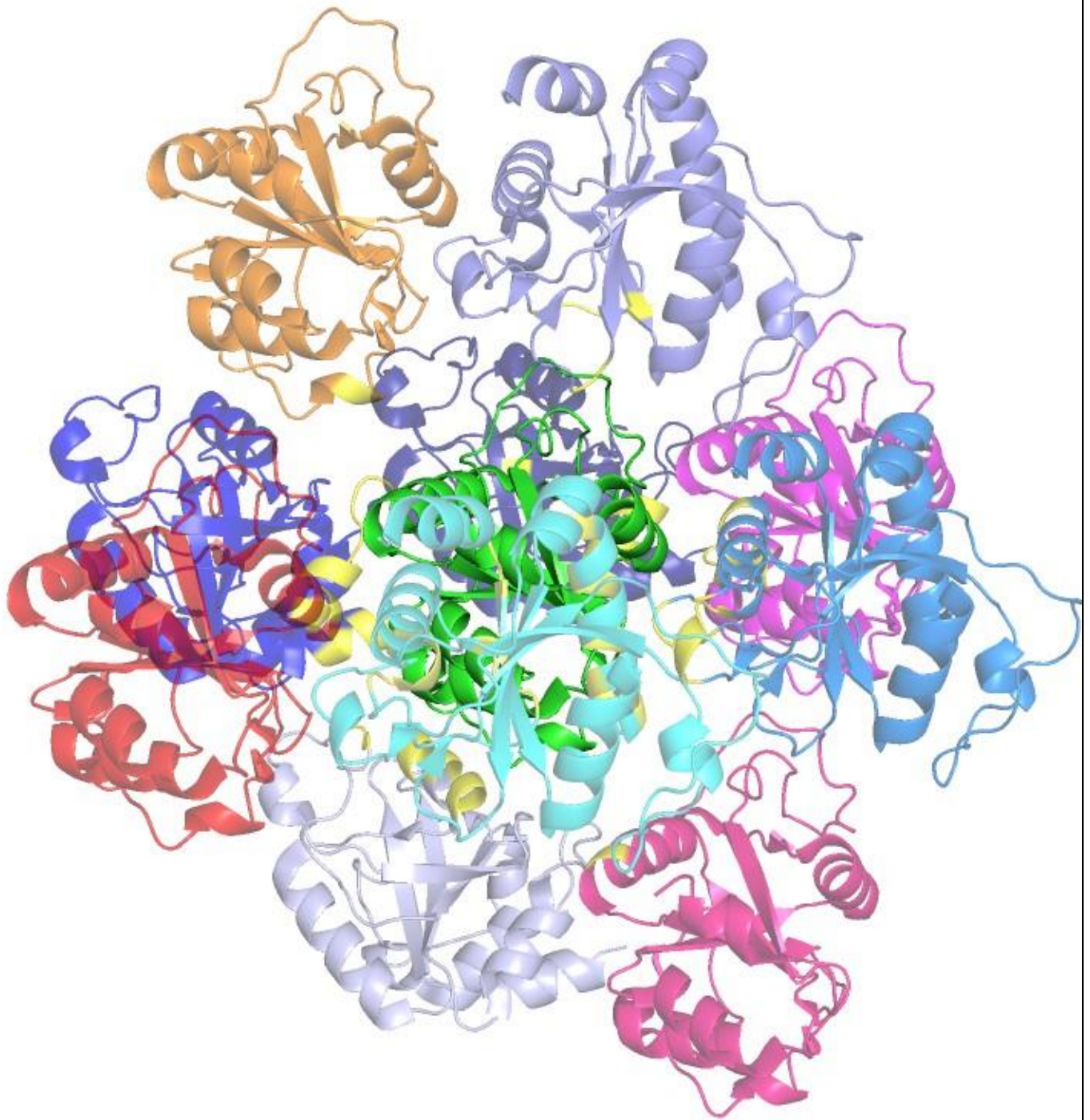


Рис. 5. Контакты молекулы белка (зелёной) с соседями по кристаллу. За «контакт» считалось сближение атомов хотя бы на 6 ангстрем. Контактующие участки соседей покрашены в жёлтый ([Ссылка на PyMol-сессию](#)).