

Практикум 6.

Задание 1.

В этом задании рассматриваются водородные связи в белке металло-β-лактаме 1 – ферменте, защищающим бактерии от β-лактамных антибиотиков [1].

Рассмотренные водородные связи перечислены в табл. 1 и изображены на рис. 1-3 (для структуры, разрешенной методом рентгено-структурного анализа).

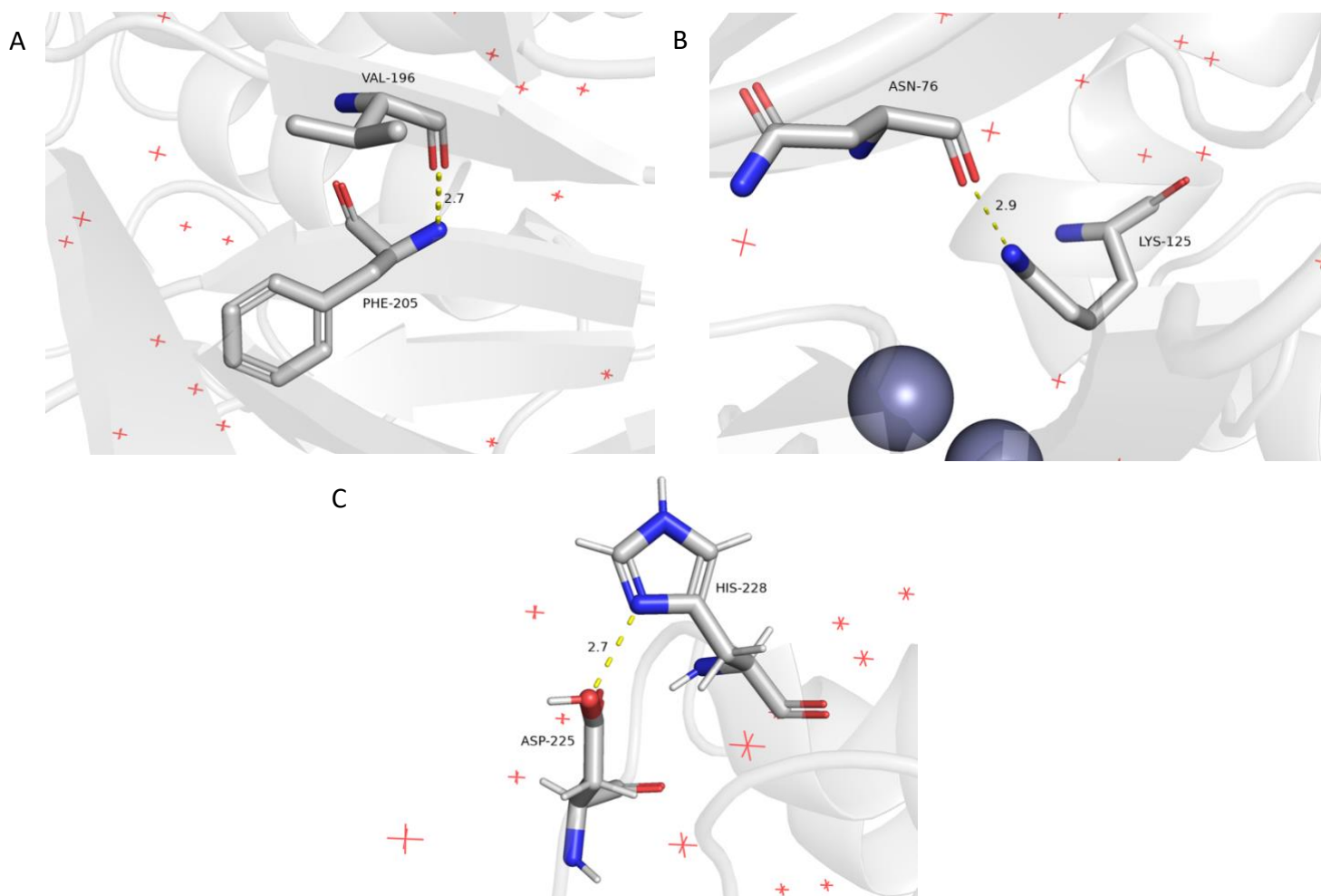


Рис. 1 Водородные связи в структуре 6XBF (желтый пунктир), локализованные в разных местах белка. А - между атомами остова в бета-листе внутри глобулы, В – между боковыми цепями внутри глобулы и С – между боковыми цепями на поверхности глобулы

Аминокислоты и атомы	Локализация связи	Длина связи между донором и акцептором в РСА, Å	Число моделей ЯМР, в которых есть водородная связь	Длина связи в ЯМР, Å		
				Min	Median	Max
Val-196 – Phe-205 O -- N	Между атомами остова в бета-листе, внутри глобулы	2,7	56 (100%)	2,7	2,8	2,9
Asn-76 – Lys-125 O -- NZ	Между боковыми цепями, внутри глобулы	2,9	47 (84%)	2,6	2,85	4,1
Asp-225 – His-228 OD2 – ND1	Между боковыми цепями, на поверхности глобулы	2,7	39 (70%)	2,7	3,05	4,2

Табл. 1 Выбранные водородные связи и их характеристики

При разрешении структуры методом ядерно-магнитного резонанса получается множество моделей, некоторые из которых (самые удачные) авторы структуры указывают в PDB - это позволяет отследить динамику движения остатков в молекуле. В связи с этим может происходить изменение связей в белковой глобуле, что и было рассмотрено в этом задании. Во всех рассмотренных случаях длина водородной связи менялась не сильно. Видимо, положение остатков в ферменте довольно стабильно и сам эксперимент ЯМР выполнен довольно точно.

Однако все же можно отследить некоторую зависимость наличия связи и разности их длин в моделях. При удалении от центра белковой глобулы подвижность атомов увеличивается. Эта зависимость также была рассмотрена в предыдущих практикумах и может быть подтверждена B-фактором атомов (это мы изучим в задании 2 данного практикума). Также положение атомов остова более стабильно, чем положение радикалов.

[PyMol сессия для задания 1:](#)

https://kodomofbb.msu.ru/~nr.burmistrova/term7/pr6/pr6_1_Burmistrova.pse

Задание 2.

Предположим, что повышенная подвижность остатков на поверхности глобулы обусловлена именно динамикой молекулы. Мерой подвижности является RMSF, по которым аналитически вычисляются значения B-факторов.

RMSF строились по ЯМР модели без учета лигандов, а B-факторы – по структуре PCA (остатки 43-269 цепи A).

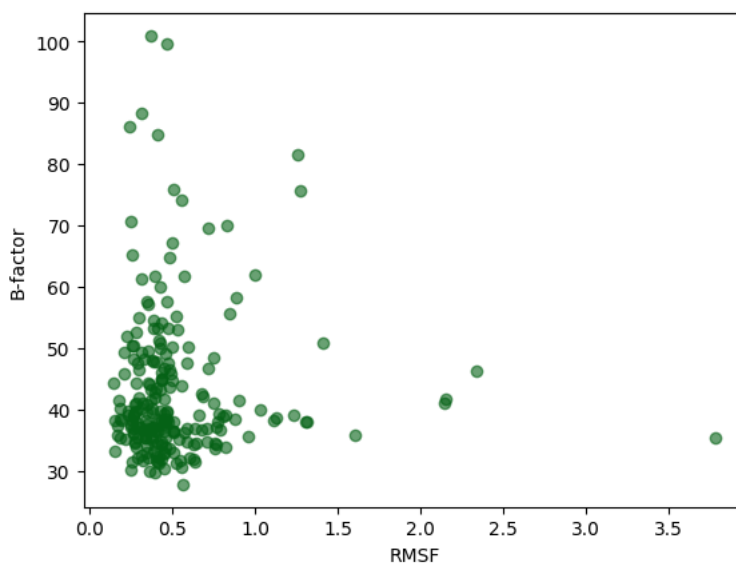


Рис. 2 График зависимости B-фактора от RMSF структуры

Судя по графику, с возрастанием RMSF значение B-фактора не увеличивается. Действительно, коэффициент корреляции Пирсона равен 0,022, что совсем незначительно больше 0 – корреляции между параметрами не наблюдается (p -value = 0,74). По-видимому, изменения водородных связей в рассмотренной структуре обусловлены не динамикой белка, а недочетами самого метода ЯМР, хотя эти недочеты не так значительны. В целом, это лишь примерное сравнение этих показателей. Возможно, у меня хватит сил рассмотреть более точное приближение в 3 задании.

Литература:

- 1) Mulligan VK, Workman S, Sun T, Rettie S, Li X, Worrall LJ, Craven TW, King DT, Hosseinzadeh P, Watkins AM, Renfrew PD, Guffy S, Labonte JW, Moretti R, Bonneau R, Strynadka NCJ, Baker D. Computationally designed peptide macrocycle inhibitors of New Delhi metallo- β -lactamase 1. Proc Natl Acad Sci U S A. 2021 Mar 23;118(12):e2012800118. doi: 10.1073/pnas.2012800118. PMID: 33723038; PMCID: PMC8000195.