

Практикум № 2. PyMol: электронная плотность (ЭП)

Иосиф Финкельберг

1 Задание 1. ЭП: хорошая и плохая расшифровки.

Металло-бета-лактамаза VIM-1 (Uniprot:Q9XAY4) – это белок патогенной для человека бактерии, Синегнойной палочки (*Pseudomonas aeruginosa*). Он относится к семейству **бета-лактамаз**, – ферментов, обеспечивающих устойчивость к бета-лактамам антибиотикам (к ним принадлежит, например, пенициллин). Синегнойная палочка является одним из лидирующих по скорости обретения устойчивости к антибиотикам патогенным микроорганизмом [1]. Поэтому, разумеется, важным является изучение белков, обеспечивающих Синегнойной палочке эту устойчивость.

Здесь мы будем работать с двумя разными структурами (7AFY, 5N5I) VIM-1 металло-бета-лактамазы, скачанными из PDB. Обе структуры были получены с помощью рентгено-структурного анализа (РСА) в лаборатории Jim Spence’a в бристольском университете ([2], [3]).

Сперва попробуем сравнить две структуры из PDB: 7AFY, 5N5I. Для этого откроем обе структуры в одной PyMol сессии и выравняем их с помощью команды align. Видим, что сами структуры практически идентичны. N-конец в обеих структурах неупорядочен, С-конец представляет собой альфа-спираль. В структурах есть лишь небольшое несоответствие, касающееся концевых участков белка (см. Рис. 1,2): 7AFY включает 2 N-концевые аминокислоты, не вошедшие в состав 5N5I. С С-конца, напротив, в 5N5I структуре имеется серин, который не попал в состав 7AFY. При этом, концы обеих структур (особенно N-конец) несколько укорочены по сравнению с последовательностью, указанной в Uniprot (см. Рис. 2).

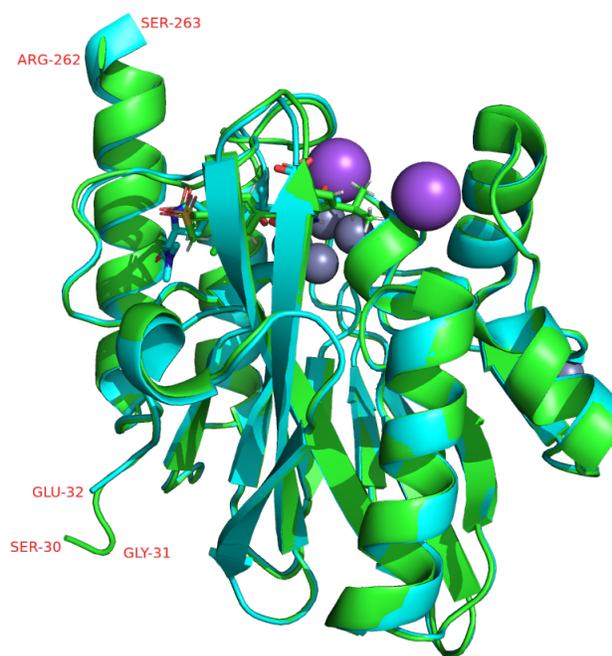


Рис. 1: Выравненные структуры 7AFY (показана салатным цветом) и 5N5I (показана голубым цветом)

```

      10      20      30      40      50
MLKVISSLLV YMTASVMAVA SPLAHSGEPS GEYPTVNEIP VGEVRLYQIA
      60      70      80      90     100
DGVWSHIATQ SFDGAVYPSN GLIVRDGDEL LLIDTAWGAK NTAALLAEIE
      110     120     130     140     150
KQIGLPVTRA VSTHFHDDR VGGVDVLAAG VATYASPSTR RLAEAEAGNEI
      160     170     180     190     200
PTHSLEGLSS SGDAVRFQPV ELFYPGAAHS TDNLVYVPS ANVLYGGCAV
      210     220     230     240     250
HELSSTSAGN VADADLAERP TSVERIQKHY PEAEVVIPGH GLPGGLDLLQ
      260
HTANVVKANK NRSVAE

```

Рис. 2: Последовательность VIM-1 бета-металло-лактамазы *Pseudomonas aeruginosa* (взята из *Uniprot*).

Основные отличия заключаются не между структурами самих белков, но между их окружением. В модели 5N5I имеются три атома цинка и лиганд LMP. В модели 7AFY белок взаимодействует с двумя атомами цинка и двумя натриями; лиганд здесь RBW. Кроме того, в модель 7AFY входит на

порядок большее число молекул воды (см. Рис. 3 и 4).

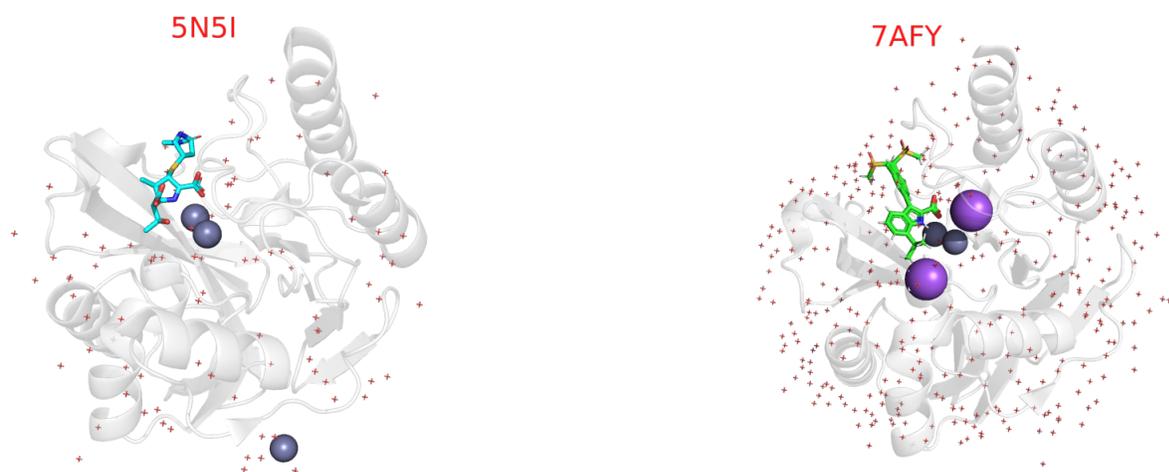


Рис. 3: Сравнения окружений структур 7AFY и 5N5I .

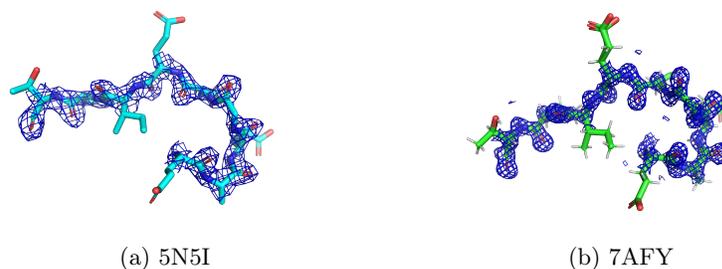


Рис. 5: Карты электронных плотностей для случайно выбранных 8 подряд идущих остатков: сравнение разрешения моделей 5N5I и 7AFY. Электронную плотность мы изобразили только вокруг остова белка.

2 Задание 2. ЭП и положение в структуре.

Здесь мы работали с новой структурой: [7dp1](#). Это полученная с помощью РСА в сентября этого года модель мутантной FMN и NADPH-зависимой нитроредуктазы NfnB из альфапротеобактерии рода *Sphingopyxis*. Ее разрешение равняется 2.0 ангстремам.

Мы рассмотрели остов этого белка и нарисовали контурные линии ("уровни подрезки") для $\sigma = 1, 2, 3$, пользуясь командой `isomesh` (здесь под σ мы подразумеваем стандартное отклонение вероятностной электронной плотности от ее среднего значения). Соответствующие изображения представлены на рисунках 7,8,9.

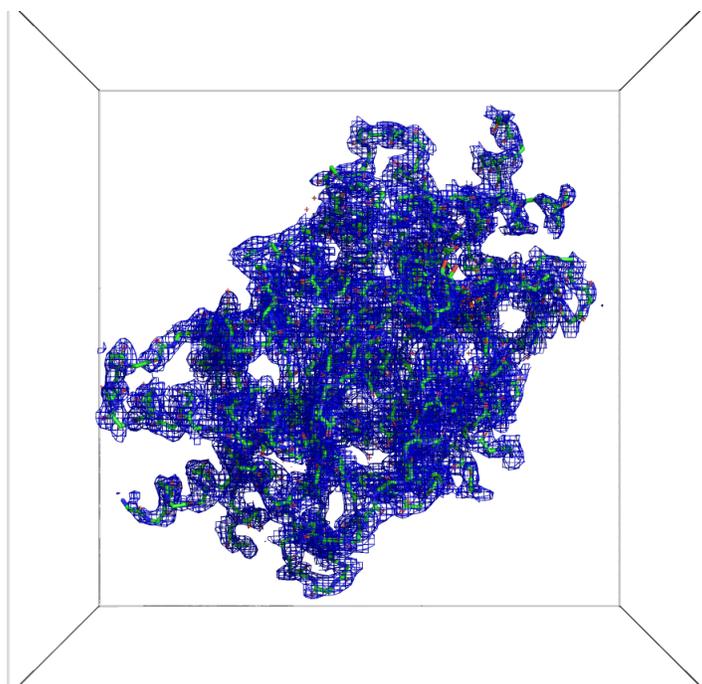


Рис. 6: Остов структуры 7dp1. Показана контурная линия электронной плотности уровня $\sigma = 1$.

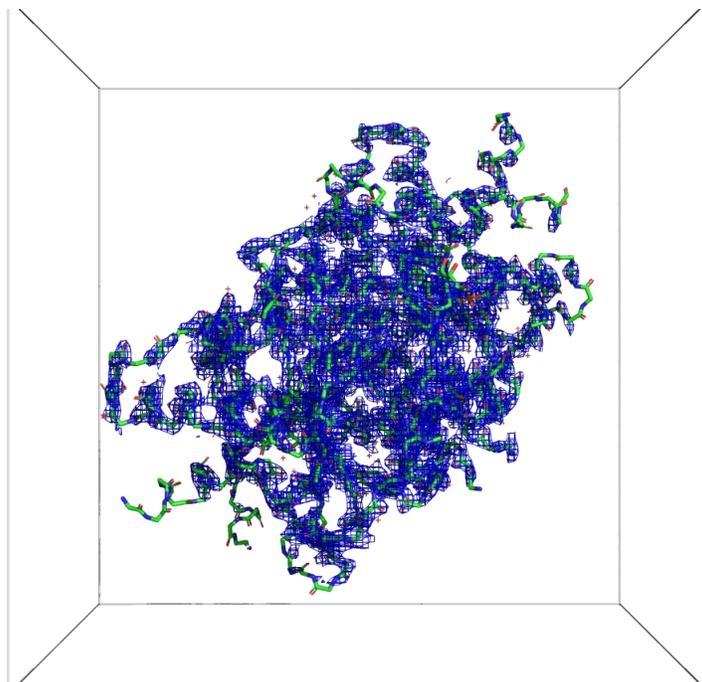


Рис. 7: Остов структуры 7dp1. Показана контурная линия электронной плотности уровня $\sigma = 2$.

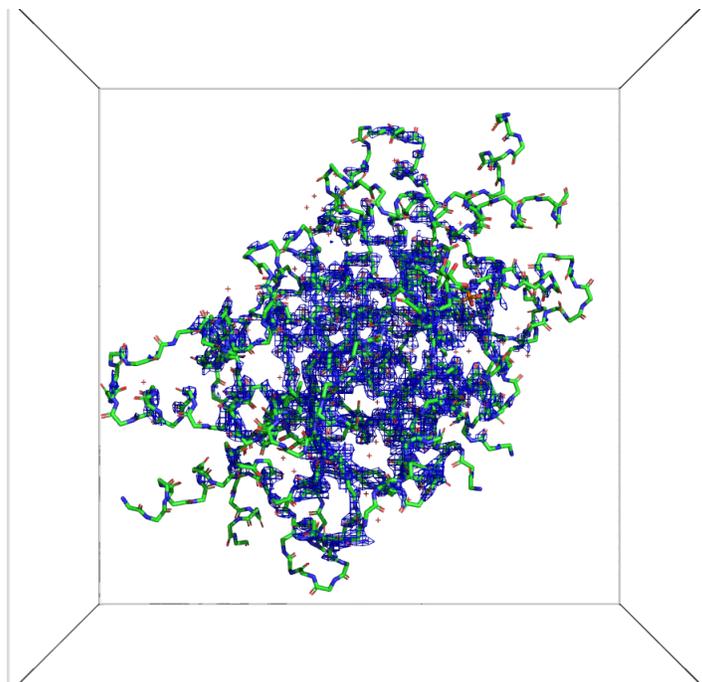


Рис. 8: Остов структуры 7dp1. Показана контурная линия электронной плотности уровня $\sigma = 3$.

Видно, что при некоторые участки остова лежат в областях с электронной плотностью с низким уровнем σ . Иначе говоря, электронная плотность в этих областях 'размыта'. Это может говорить о подвижности данных областей белка (которая помешала точному определению координат атомов белка с помощью РСА).

3 Задание 3. ЭП и типы атомов.

Здесь мы рассмотрим снова структуру из предыдущего задания: 7dp1. В этой модели имеются две молекулы лиганда – флавин мононуклеотида (FMN) (см. Рис 10).

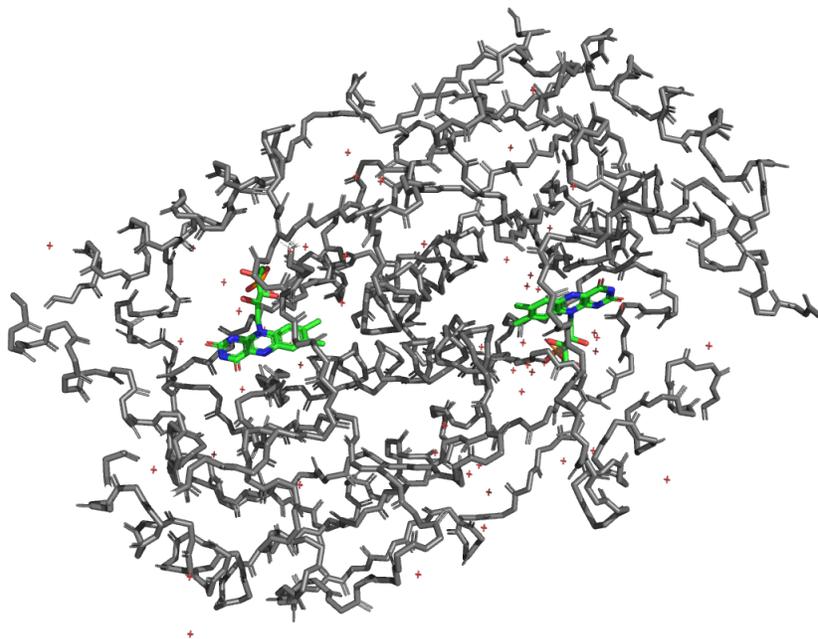


Рис. 9: Остов структуры 7dp1. Раскрашены две молекулы лиганда – флавиномононуклеотида.

Поскольку молекула данного белка является гомодимером, мы ограничились рассмотрением одной из двух молекул лиганда (связанной с субъединицей А). Мы снова нарисовали электронные плотности на уровнях $\sigma = 1, 2, 3$

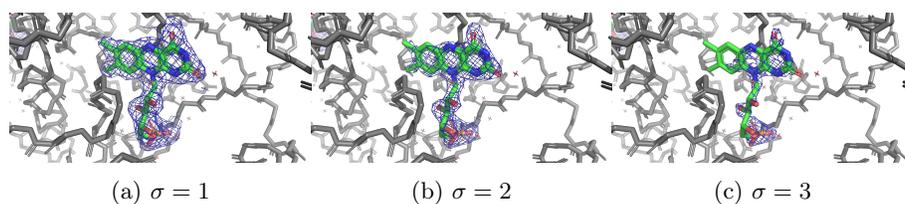


Рис. 10: Карты электронных плотностей для FMN-лиганда в структуре 7dp1. Показаны разные уровни контуров σ .

Видно, что на уровне $\sigma = 1$ все атомы окружены электронным облаком, однако с повышением уровня электронное облако остается лишь вокруг фосфо-группы FMN и двух из трех колец. Можно предположить, что именно эти участки FMN вступают во взаимодействие с белком, и, следовательно, являются более закрепленными, чем остальные.

4 Сессии PyMol

https://kodomo.fbb.msu.ru/~osyafinkelberg/term7/prac2/FBB_bioinformatics_Zlobin_prac2.pdf

https://kodomo.fbb.msu.ru/~osyafinkelberg/term7/prac2/finkelberg_prac2_session0.pse

https://kodomo.fbb.msu.ru/~osyafinkelberg/term7/prac2/finkelberg_prac2_session1.pse

https://kodomo.fbb.msu.ru/~osyafinkelberg/term7/prac2/finkelberg_prac2_session2.pse

https://kodomo.fbb.msu.ru/~osyafinkelberg/term7/prac2/finkelberg_prac2_session3.pse

https://kodomo.fbb.msu.ru/~osyafinkelberg/term7/prac2/finkelberg_prac2_session4.pse

5 ССЫЛКИ

[1] Gailiene et al., 'The peculiarities of *Pseudomonas aeruginosa* resistance to antibiotics and prevalence of serogroups ', 2007

[2] Salimraj et al., 'Crystal structures of VIM-1 complexes explain active site heterogeneity in VIM-class metallo-beta-lactamases'

[3] Schofield et al., to be published (see in **PDB**)