

Практикум № 3. Альтернативные положения, В-фактор, кристалл

Иосиф Финкельберг

1 Введение

В этом практикуме мы будем работать со структурой фермента [Fe]-гидрогеназы метаногенной археи *Methanococcus aeolicus*. Этот фермент участвует в фиксации молекулярного водорода (см. рис 1). Детально механизм реакции не известен, однако полученная в 2019 году в работе [1] структура белка с разрешением 1.06 Å позволяет смоделировать реакцию. Структурно данная [Fe]-гидрогеназа представляет собой гомодимер, центр которого образуют С-концевые участки мономеров. Мы скачали из PDB структуру (6HAV), соответствующую мономеру фермента.

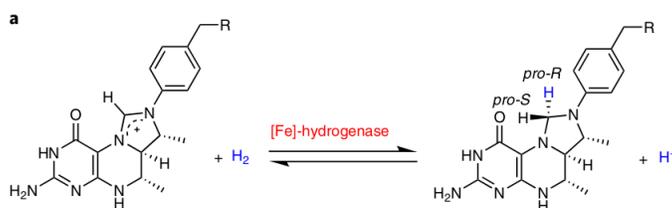


Рис. 1: Обратимое восстановление methenyl- H_4MPT^+ водородом, катализируемое [Fe]-гидрогеназой. Схема взята из статьи [1].

2 Задание 1. Альтернативные положения

В этом задании мы рассмотрели два возможных положения одного из остатков аргинина (ARG12, chain A). На рисунках 2 и 3 изображены водородные связи, которые может образовывать остаток ARG12 в альт-локах А и В, соответственно.

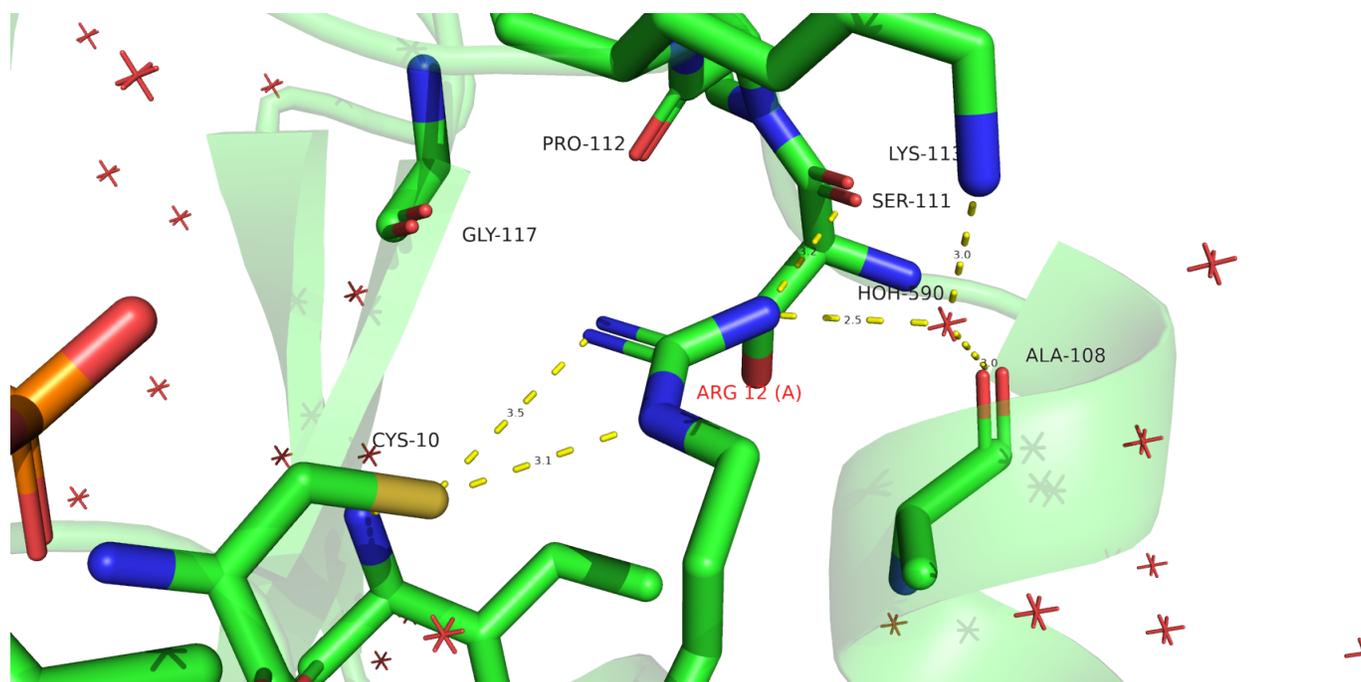


Рис. 2: Водородные связи, которые может образовывать ARG2 в альтлоке А (отметим, что атомы кислорода остатков Gly-117 и Pro-112 не лежат в плоскости гуанидиновой группы аргинина, и, следовательно, не могут образовывать с азотами гуанидиновой группы водородные связи).

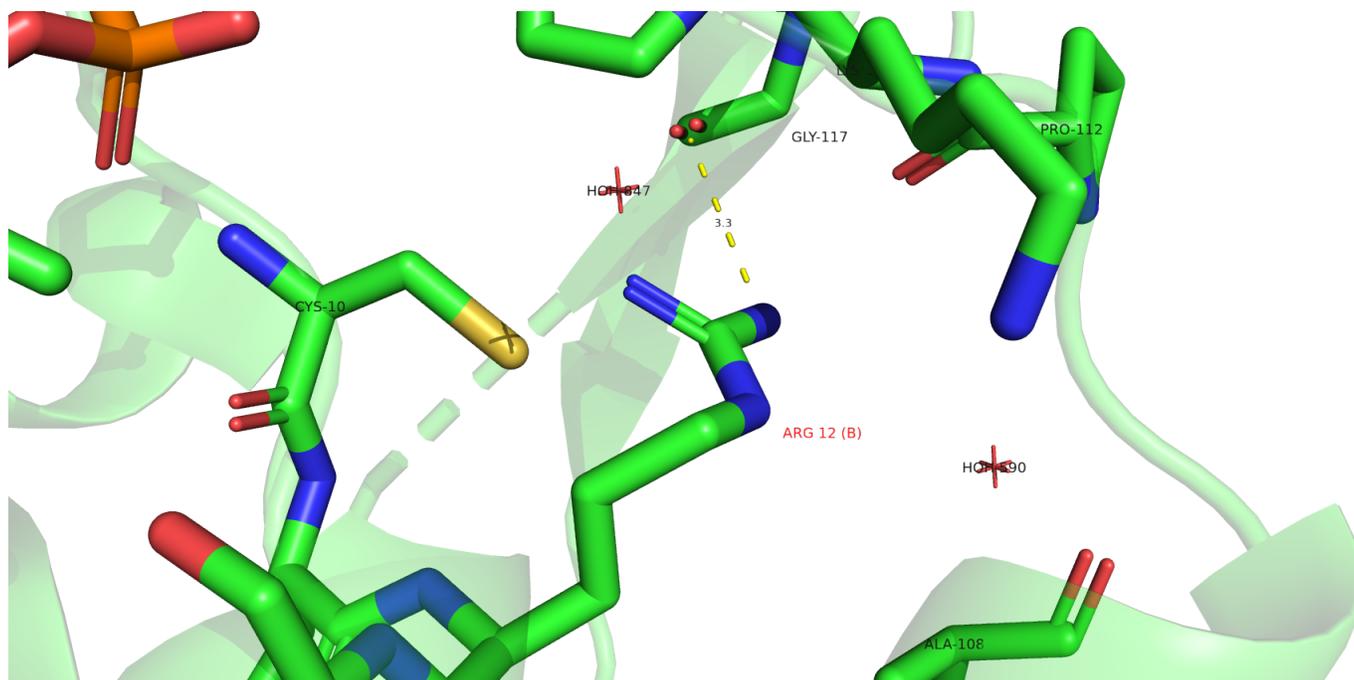


Рис. 3: Водородные связи, которые может образовывать ARG2 в альтлоке В. В плоскости гуанидиновой группы аргинина лежит лишь атом кислорода Gly-117.

Если судить по количеству возможных водородных связей, образуемых аргинином в каждом альтлоке, А-альтлок должен быть стабильнее (и, как разумно предположить, населеннее). Сверим теперь наше предсказание и данные PDB (см. рис 4)

1589	ATOM	82	N	N	.	ARG	A	1	12	?	2.691	22.335	17.324	1.00	11.19	?	12	ARG	A	N	1	
1590	ATOM	83	C	CA	.	A	ARG	A	1	12	?	2.057	22.666	16.051	0.65	11.72	?	12	ARG	A	CA	1
1591	ATOM	84	C	CA	.	B	ARG	A	1	12	?	2.069	22.675	16.043	0.35	11.97	?	12	ARG	A	CA	1
1592	ATOM	85	C	C	.	.	ARG	A	1	12	?	1.990	21.485	15.090	1.00	10.81	?	12	ARG	A	C	1

Рис. 4: Населенность альтлоков А и В остатка ARG12 согласно PDB файлу.

Качественно наши предсказания совпадают с данными PDB: населенность альт-лока А равняется 65%, В – 35%.

3 Задание 2. В-фактор

В-фактор (температурный фактор) атома, как правило, интерпретируют как меру локальной подвижности атома в молекуле вследствие температурных колебаний. Однако он может также отражать различие в (отно-

сительных) координатах атома в разных ячейках кристалла (см. [2], [3]). Таким образом, не всегда возможно отличить населенность (occuрансу) от больших значений В-фактора, так как эти величины очень сильно скоррелированы ([2]). Будем здесь для простоты воспринимать В-фактор просто как меру подвижности атома (чем больше В-фактор, тем больше подвижность) в кристалле.

Продолжим работать со структурой 6HAV. Раскрасим атомы модели по возрастанию значений В-фактора: от синего к красному (см. рис 5).

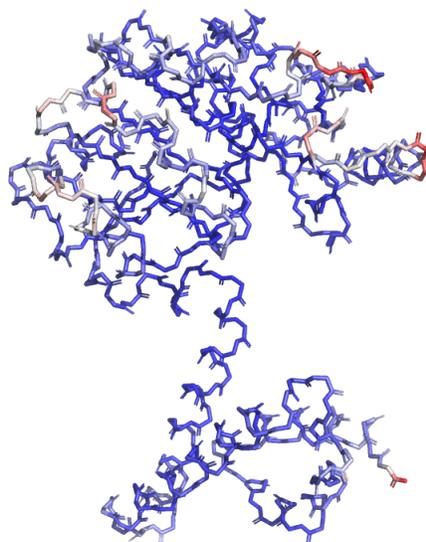


Рис. 5: В-факторы атомов 6HAV ("анфас"). Синими покрашены атомы с низким В-фактором, красным – с высоким. С-конец мономера на рисунке расположен снизу.

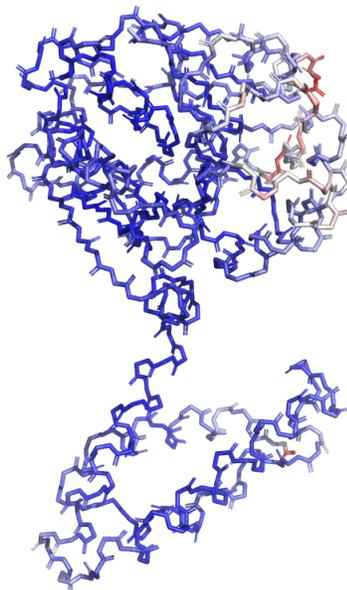


Рис. 6: В-факторы атомов 6HAV ("профиль"). Синими покрашены атомы с низким В-фактором, красным – с высоким. С-конец мономера на рисунке расположен снизу.

Напомним, что мы работаем с мономером белка. В природе белок существует в форме гомодимера, центр которого образуется С-концами соответствующих мономеров. На рисунке 5 С-конец располагается снизу. Можно заметить две особенности распределения значений В-фактора. Во-первых, ближе к центру (к воображаемой вертикальной оси на рисунке 5), В-фактор принимает меньшие значения (это соответствует тривиальным соображениям о том, что внешние части белка должны быть, как правило, более гибкими-подвижными, чем внутренние, которые определяют его жесткую структуру). Во-вторых, подвижные части белка (т.е. части с большими значениями В-фактора) достаточно хорошо группируются в пространстве в одну область, которая в основном представлена верхней (т.е. N-концевой) частью мономера (эта область хорошо видна справа на рисунке 6). Оказывается, эта подвижная область окружает сайт связывания кофактора фермента (FeGP) и его субстрата (methenyl- H_4MPT^+) (см. рис. 7).

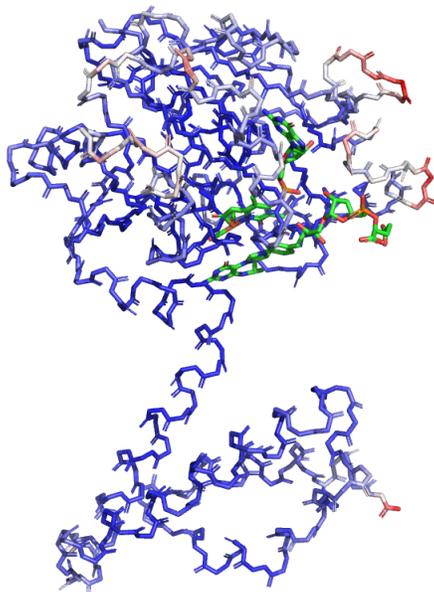


Рис. 7: Подвижная часть фермента окружает сайт связывания фермента с субстратом и кофактором.

Это вполне соответствует гипотетической схеме работы фермента: активный центр белка бывает в открытом и закрытом состояниях ([1]), и, наверное, окружающие активный центр структуры выступают в роли ворот.

Далее в практикуме требовалось сравнить поведение электронной плотности (на разных уровнях подрезки) и значение В-фактора для подвижных остатков. Впрочем, качественно результат такого сравнения очевидным образом предсказуем. Высоким значениям В-фактора не могут соответствовать области электронной плотности с высоким уровнем подрезки σ . Иными словами, значения В-фактора будут отрицательно скоррелированы с вероятностной плотностью нахождения электронов (действительно, чем подвижнее участок молекулы, тем меньше вероятностная плотность нахождения этого участка в какой-то конкретной фиксированной позиции). В нашем случае это правило совершенно подтверждается: мы видим, что остатки с наибольшими значениями В-фактора не окружены ЭП (см. рис. 8).

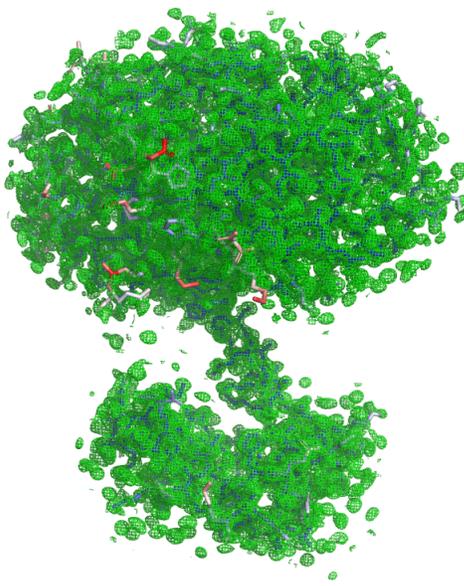


Рис. 8: Аминокислотные остатки, атомы которых имеют высокий В-фактор не вписываются в области электронной плотности в независимости от выбранного уровня значимости σ (на рисунке изображен контур электронной плотности (показан зеленым) для $\sigma = 1$).

Кроме того, мы видим, что при повышении уровня подрезки меньше остатков оказываются описанными ЭП. Причем, в целом мы наблюдаем закономерность, что чем выше уровень подрезки тем меньшие значения В-фактора должны иметь остатки белка, чтобы оказаться внутри ЭП (см. рис. 9, 10). Эта закономерность соответствует описанным выше рассуждениям о возможной корреляции между В-фактором и подвижностью.

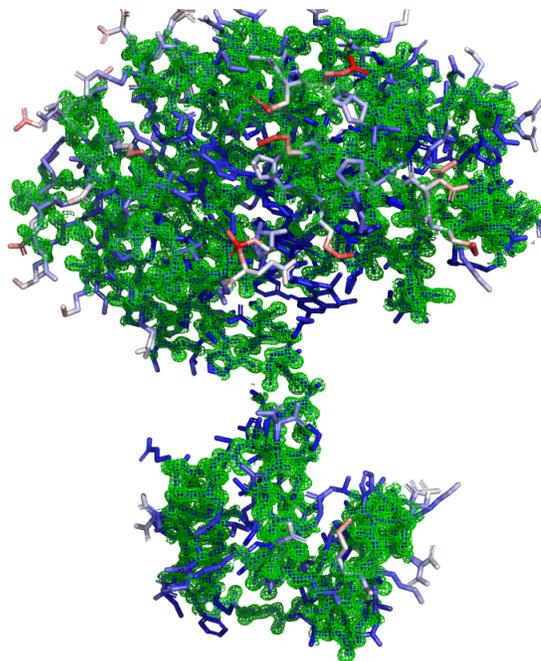


Рис. 9: Аминокислотные остатки, атомы которых имеют высокий B-фактор не вписываются в области электронной плотности в независимости от выбранного уровня значимости σ (на рисунке изображен контур электронной плотности (показан зеленым) для $\sigma = 2$).

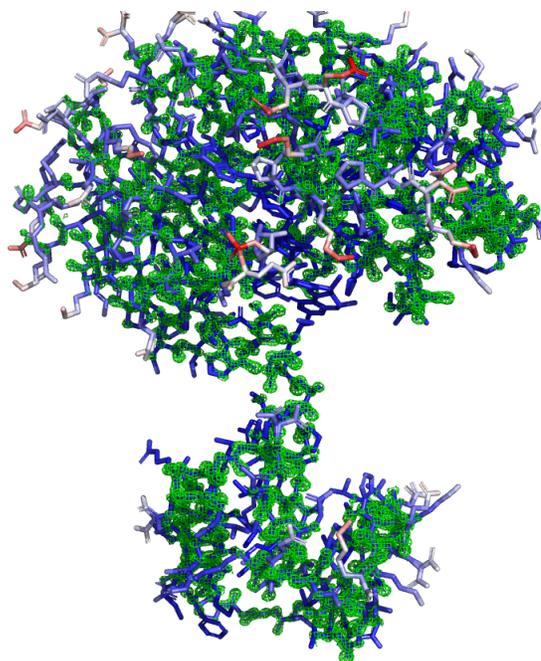


Рис. 10: Аминокислотные остатки, атомы которых имеют высокий B-фактор не вписываются в области электронной плотности в независимости от выбираемого уровня значимости σ (на рисунке изображен контур электронной плотности (показан зеленым) для $\sigma = 3$).

4 Задание 3. Соседи

Посмотрим на соседние молекулы в кристалле, а также, наконец, на то, как белок выглядит в своей нативной гомодимерной форме (см. рис. 9).

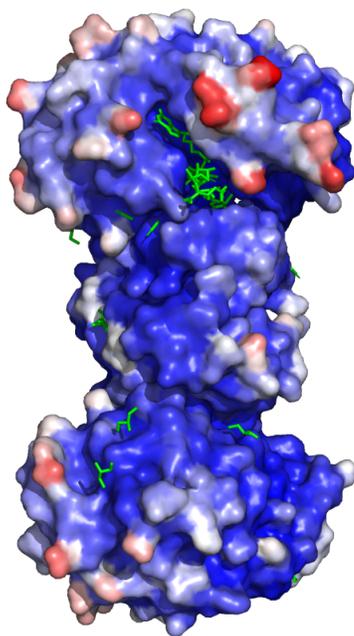


Рис. 11: Гомодимер [Fe]-гидрогеназы. Поверхность покрашена по значениям В-фактора (синим – низкие значения, красным – высокие). Зеленым цветом показаны молекулы кофактора и субстрата. Хорошо виден карман с активным центром и ворота, его окружающие (имеют высокую подвижность).

Видим, что благодаря димеризации в ферменте образуется карман, с активным центром внутри (в этом кармане располагаются кофактор и субстрат). Вокруг кармана имеется подвижная область, которая, как можно предположить, играет роль ворот в активный центр.

Теперь рассмотрим нескольких соседей гомодимера по кристаллу (см. рис 10, 11, 12).

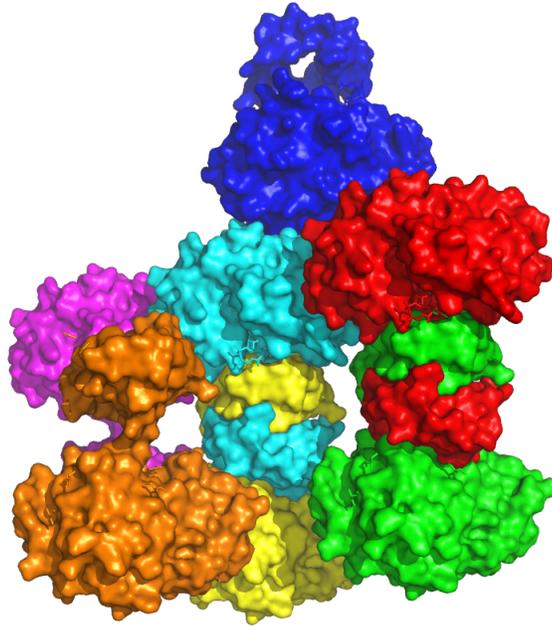


Рис. 12: Соседи гомодимера по кристаллу ("вид сбоку, анфас"). Каждый мономер покрашен в свой цвет. Чтобы не загромождать рисунок показаны не все соседи, у некоторых белков показан лишь один мономер.

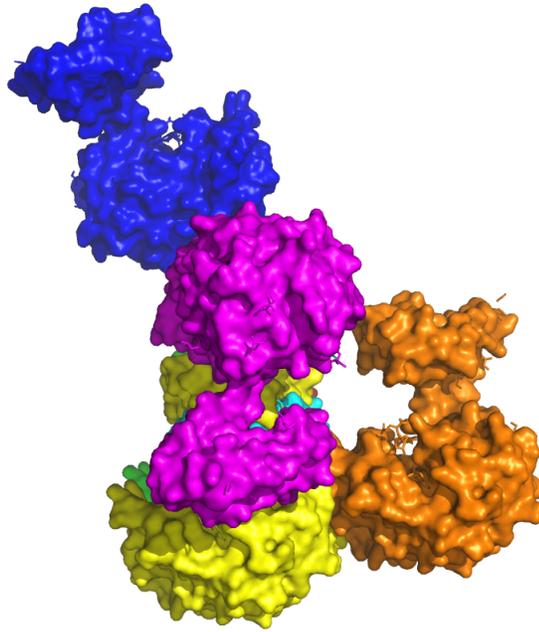


Рис. 13: Соседи гомодимера по кристаллу ("вид сбоку, профиль"). Каждый мономер покрашен в свой цвет. Чтобы не загромождать рисунок показаны не все соседи, у некоторых белков показан лишь один мономер.

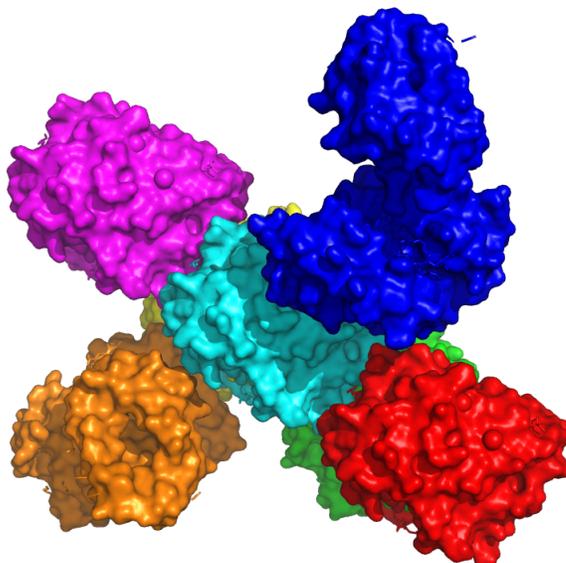


Рис. 14: Соседи гомодимера по кристаллу ("вид сверху"). Каждый мономер покрашен в свой цвет. Чтобы не загромождать рисунок показаны не все соседи, у некоторых белков показан лишь один мономер.

По показанным проекциям однозначно восстанавливается строение кристалла. В ячейке кристалла находится димер. У каждого димера в кристалле имеется 6 непосредственных соседей.

5 Сессии PyMol

https://kodomo.fbb.msu.ru/~osyafinkelberg/term7/prac3/FBB_bioinformatics_Zlobin_prac3.pdf

https://kodomo.fbb.msu.ru/~osyafinkelberg/term7/prac3/session_0.pse

https://kodomo.fbb.msu.ru/~osyafinkelberg/term7/prac3/session_1.pse

https://kodomo.fbb.msu.ru/~osyafinkelberg/term7/prac3/session_2.pse

https://kodomo.fbb.msu.ru/~osyafinkelberg/term7/prac3/session_3.pse

6 ССЫЛКИ

[1] Huang et al. 'The atomic-resolution crystal structure of activated [Fe]-hydrogenase', nature catalysis 2019

[2] Trueblood et al. 'Atomic displacement parameter nomenclature', 1996
([link](#))

[3] [What is B-factor?](#)