

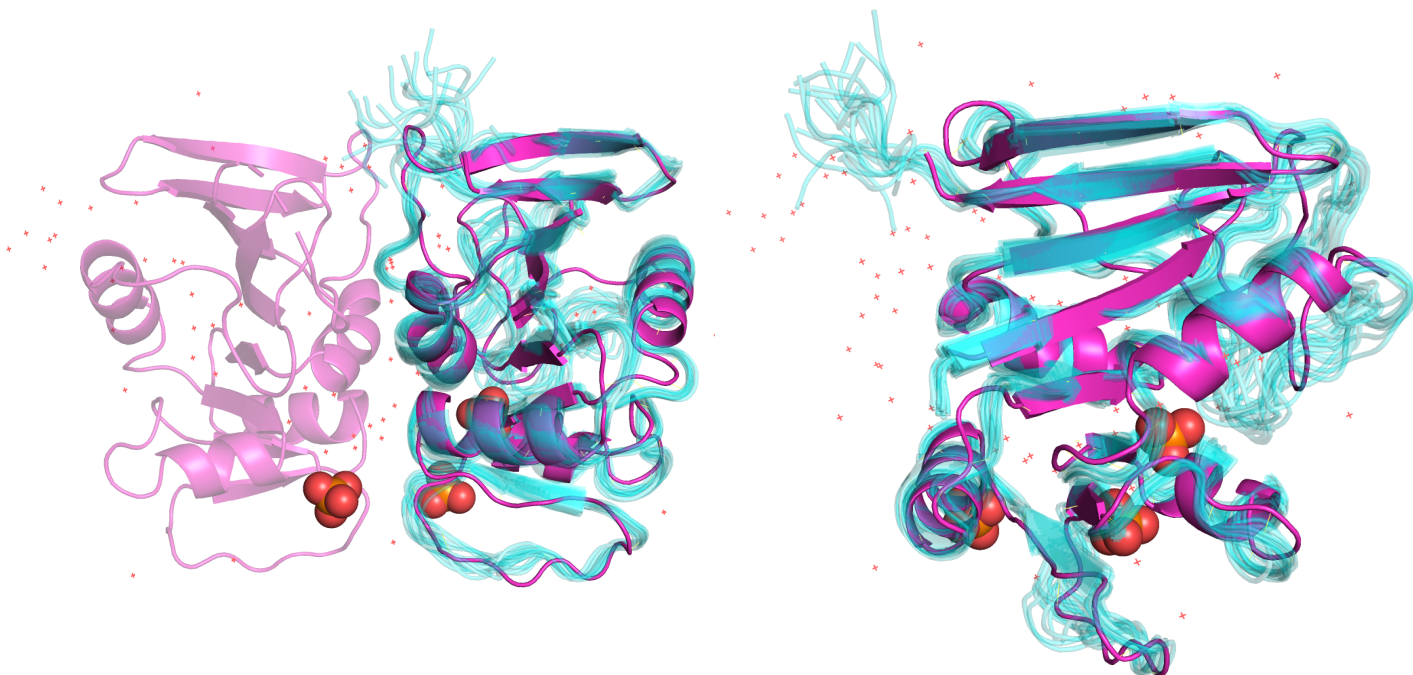
# Практикум 4

## Задание 1

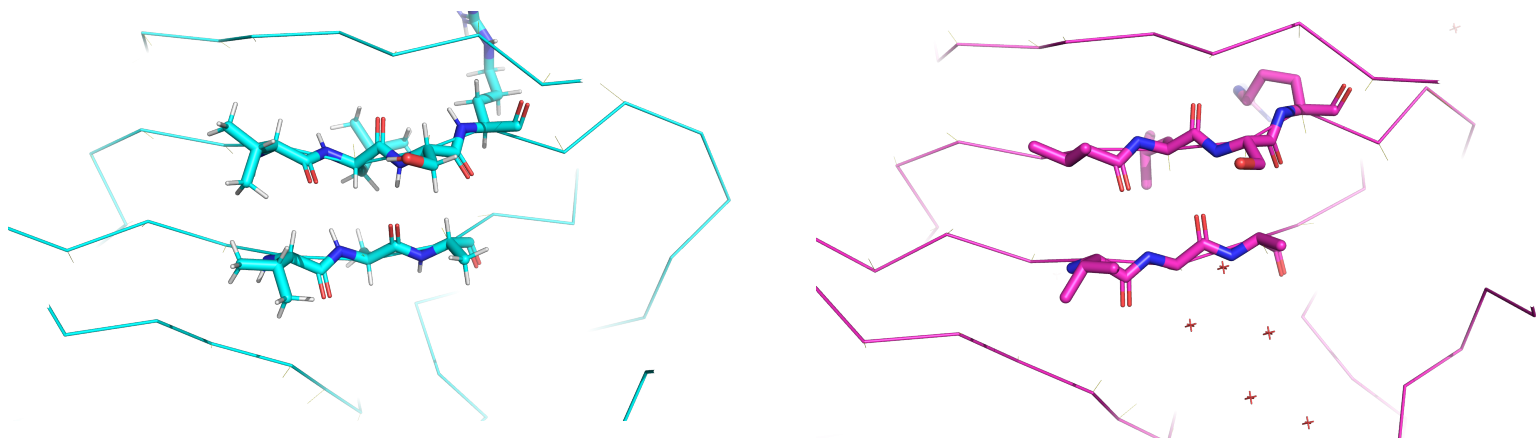
В этом задании мне досталось две структуры дигидрофолатредуктазы 1. Первая (1VDR) получена методом PCA и имеет разрешение 2.55 ангстрем, вторая (2JYB) — методом ЯМР и представлена 20ю моделями. На картинках ниже сразу видны различия между моделями.

Так PCA модель (розовая) представлена 2мя молекулами белка, находящимися в кристаллографической ячейке, а ЯМР (голубая) модель набором моделей. Еще сразу заметно, что на концах у розовой модели отсутствуют заметные куски последовательности — видимо их не удалось вписать в электронную плотность из-за большой подвижности (все концевые остатки застыли в кристалле в разных положениях) или плохого разрешения. Наиболее хорошо структуры совпадают в альфа-спиралях, хуже — в бета-лисах, совсем плохо — в петлях вдали от ядра белка. Такое ухудшение может объясняться тем, что в ряду спираль-лист-петля происходит увеличение степеней свободы остатков и становится сложнее восстановить их положение по неполным данным ЯМР эксперимента (так как возникает большое количество равновозможных по энергии положений), а в кристалле такие остатки хуже стабилизированы, что может размывать полученную электронную плотность.

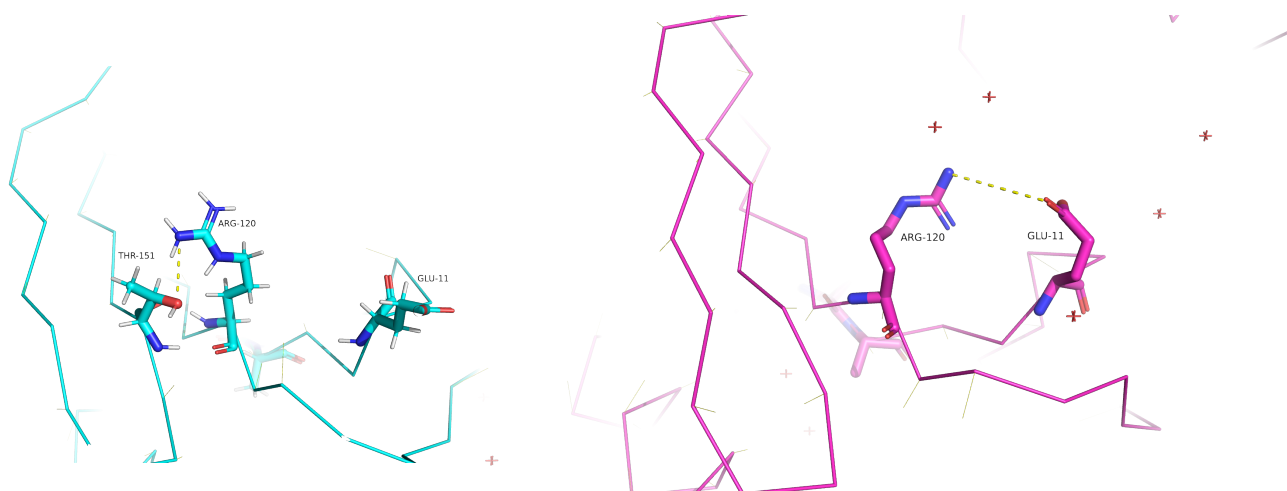
Все несвязанные атомы (вода и фосфат) происходят из PCA структуры (так как в растворе для ЯМР используется тяжелая вода которая не детектируется в эксперименте).



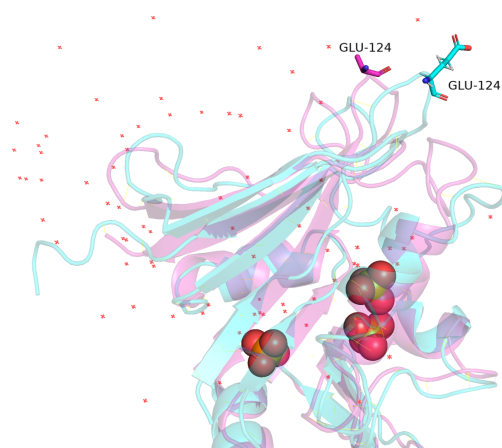
При ближайшем рассмотрении выявляется еще больше различий. В ЯМР структуре присутствуют водороды, тогда как в РСА структуре их положения могут быть только вычислены PyMol или же будут видны при субатомном разрешении. При сравнении двух бета-листов становится видно что в ЯМР модели белковая цепь располагается более хаотично, и углы связей довольно заметно различаются.



Здесь же я заметил, что аргинины справа смотрят в двух структурах в разные стороны и стабилизированы в двух структурах разными остатками, что по-видимому связано со сложностью в правильного восстановления углов в ЯМР.



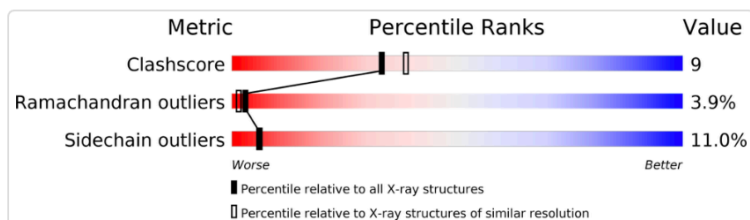
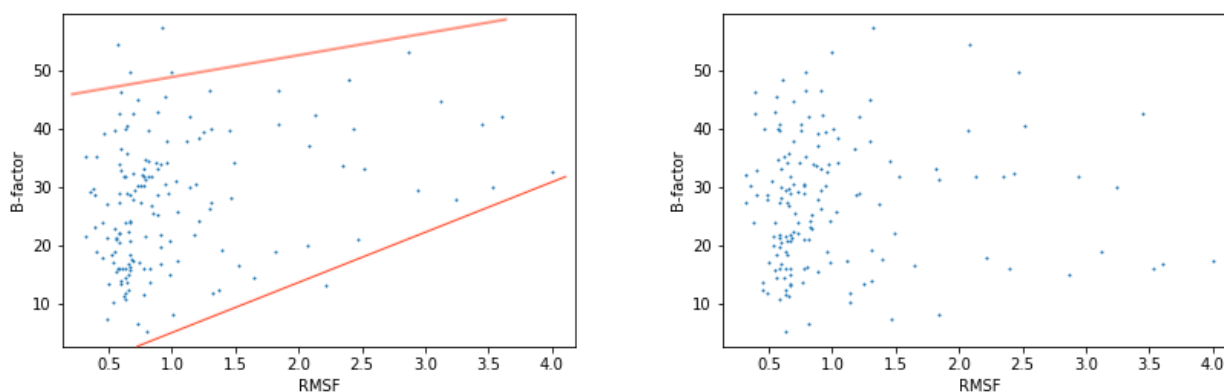
Наконец, в РСА структуре некоторые остатки не полностью вписаны в электронную плотность, так как для некоторых атомов ее не удалось получить и авторы решили не выдумывать положение



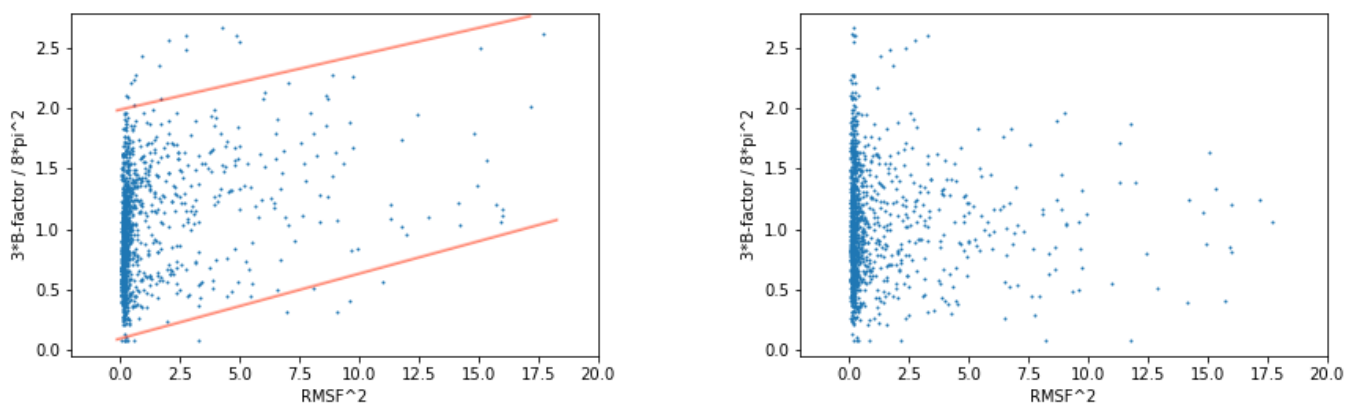
## Задание 2

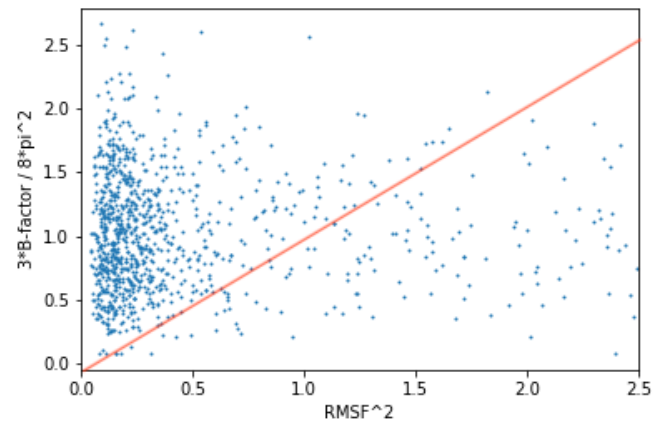
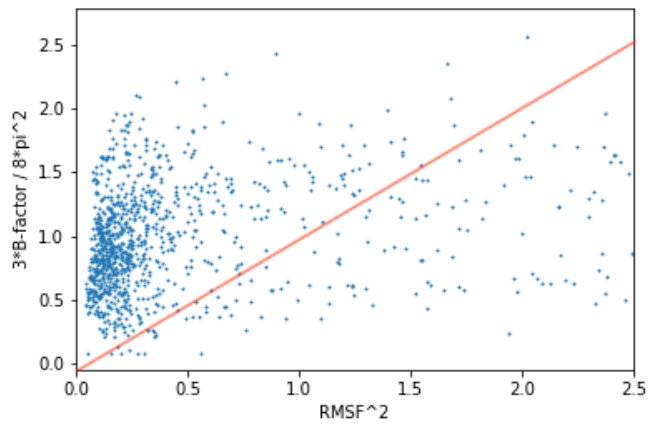
В этом задании надо было посмотреть как отличается B-фактор остатков в зависимости от их подвижности, которая выражена в RMSF.

Слева — график зависимости B-фактора от RMSF, а справа тот же график но соответствующие значения для остатков перемешаны в случайном порядке. Видно, что на первом графике прослеживается некий тренд — большой RMSF однозначно говорит о высоком B-факторе, однако высокий B-фактор встречается и у остатков с низким RMSF. Так что скорее всего в данном случае B-фактор говорит скорее не о большой подвижности остатка, а о качестве полученной электронной плотности. Это подтверждается, если взглянуть на отчет об PCA структуре 1VDR.



Далее я попытался восстановить B-факторы отдельных атомов по значению RMSF (пришлось удалить несколько остатков с концов). На графике слева опять виден некоторый тренд по сравнению с рандомным(справа), но это даже близко не похоже на явную линейную зависимость. Опять же, учитывая большое количество атомов с высоким B-фактором низким RMSF, можно сказать о том, что B-факторы атомов PCA структуры объясняются не их подвижностью, а плохим качеством эксперимента. (Весь код выложен в директорию с отчетом)



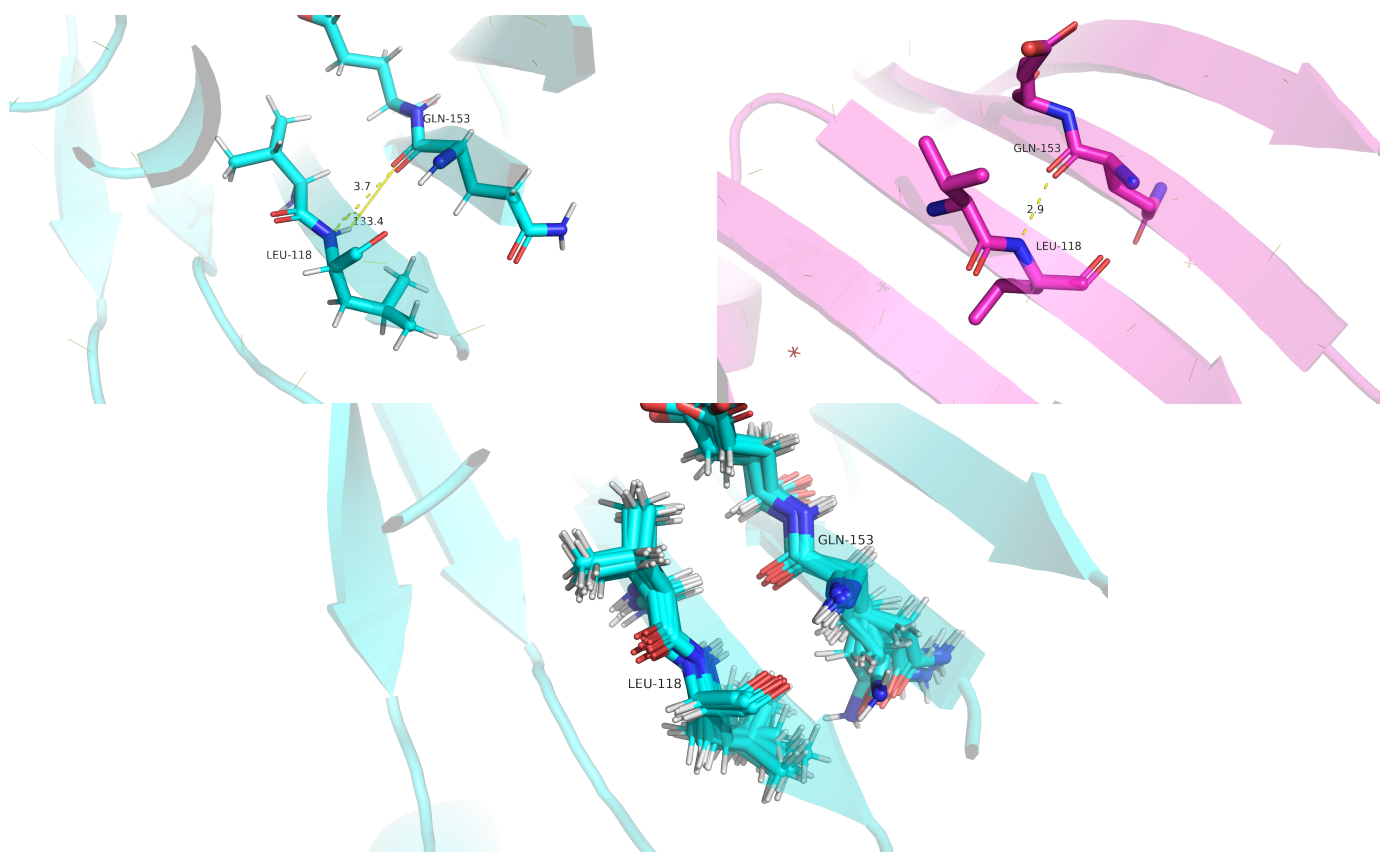


Можно приблизить этот же график и сравнить с прямой  $y=x$ . Видно что в отличии от случайного точки в среднем находятся ближе к прямой, но все равно не формируют четкую зависимость

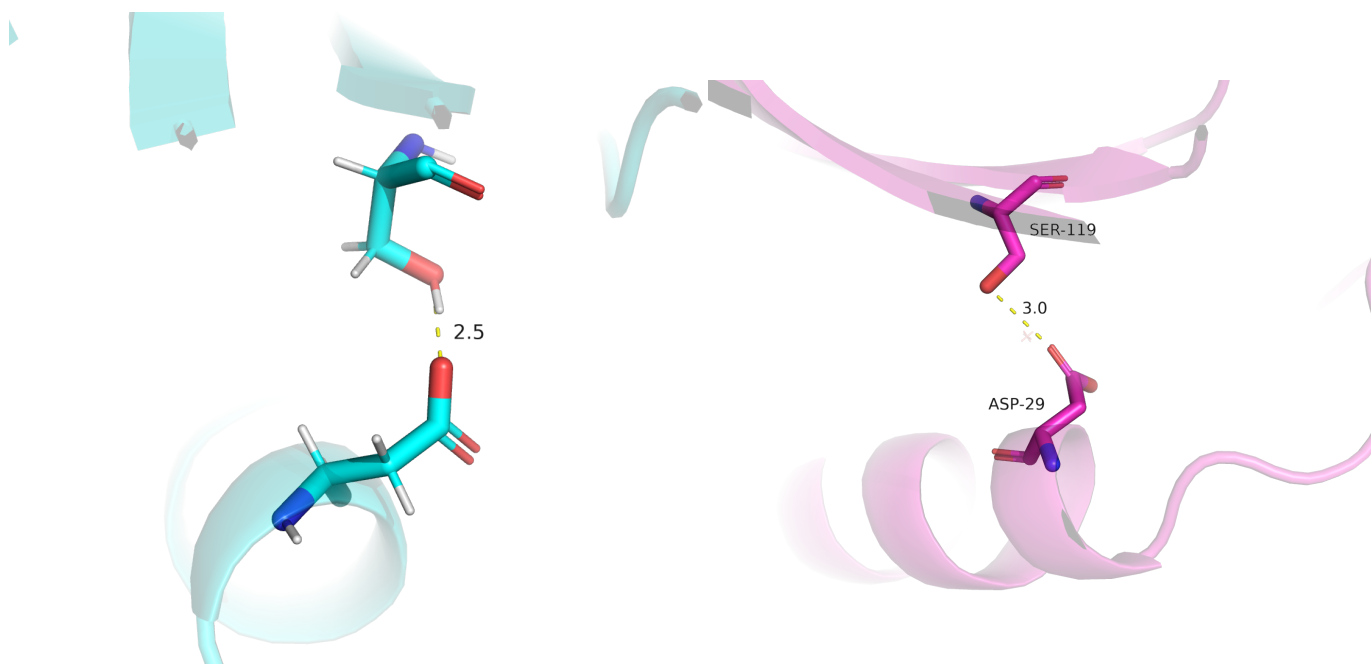
### Задание 3

В этом задании я сравнивал водородные связи в различных местах белка.

Первая водородная связь — в бета-листе в центре белка. Видно что на PCA (розовая) структуре она явно присутствует (направление азота и расстояние до акцептора подходящие). А вот на ЯМР структуре водород направлен в сторону от кислорода и никак не может образовывать водородную связь. Такое положение сохраняется для всех конформаций ЯМР.

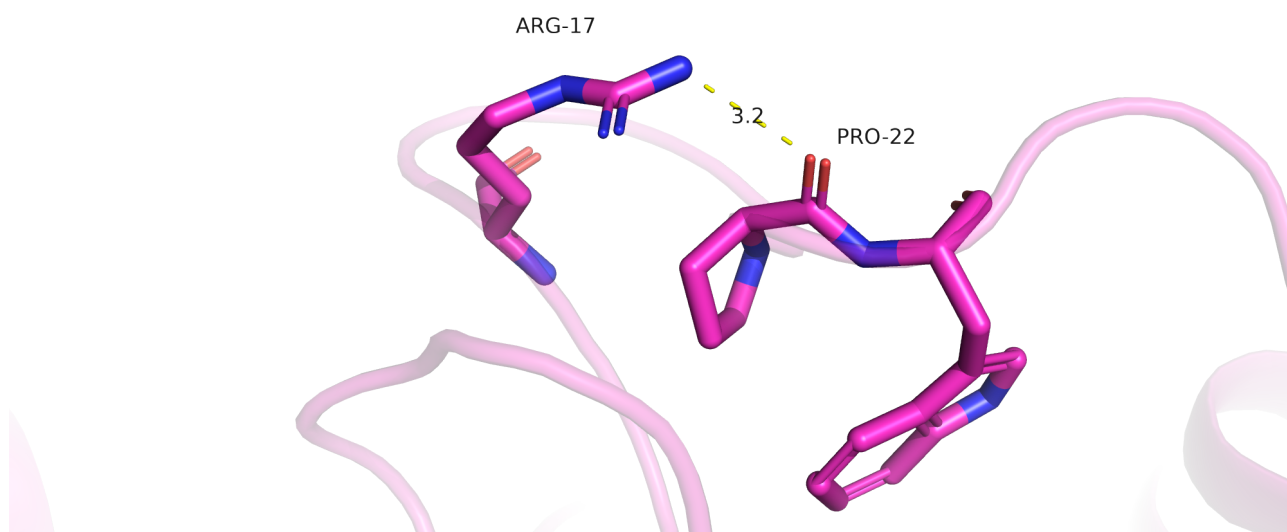


Вторая водородная связь — между боковыми цепями SER-119 из бета-листа и ASP-29 из альфа-спирали. В некоторой части ЯМР структур (5) эта водородная связь также присутствовала



Наконец третья связь между боковой цепью ARG-17 и PRO-22 в петле на поверхности глобулы. Ни в одной структуре ЯМР эта связь не сохранилась.

Далее представлена сравнительная таблица.



Номер связи	Расстояние в PCA	Процент присутствия в ЯМР	Минимальное расстояние в ЯМР, А	Максимальное расстояние в ЯМР, А	Медианное расстояние в ЯМР, А
1	2.9	0	3.49	3.93	3.72
2	3.0	25 %	2.57	6.05	4.17
3	3.2	0	6.23	18.32	9.37

На мой взгляд во всех этих случаях свои причины расхождения между PCA и ЯМР структурами.

В первом случае, мне кажется, произошла или ошибка автора PCA структуры, который вписывал остов в плохую электронную плотность и решил что там должна быть водородная связь, или же не получилось правильно восстановить углы связей в ЯМР структуре. Но так как в ЯМР структуре значение Ramachandran outliers 2,3%, а в PCA — 3,9% я больше склонен доверять ЯМР. Хотя однозначно сказать существует ли эта связь в физиологических условиях нельзя.

Во втором случае я считаю, что можно говорить о наличии этой связи в нормальных условиях, так как она присутствует в значительном проценте ЯМР структур, а ее отсутствие в некоторых из них можно объяснить подвижностью белка.

В третьем случае я уверен, что в условиях клетки эта связь не существует, и возникла на PCA структуре только благодаря кристаллизации.