

1. ЭП: хорошая и плохая расшифровки.

Мне было дано два PDB ID - 6XD5 и 6JN3, которые соответствуют кристаллографическим расшифровкам одного и того же белка - бета лактамазы КРС-2. Однако качество этих расшифровок сильно отличается. Моя задача - выяснить, какая структура обладает лучшим разрешением, изучив каждую с помощью mesh, другими словами мне предстоит оценить, в какой структуре больше значимых областей электронной плотности.

При открытии структуры в Rmol сразу бросаются в глаза следующие различия между структурами:

- 1) Белок 6JN3 представлен 4-мя одинаковыми глобулами бета лактамазы (Рис. 1 - справа, сверху). Возможно, изначально был получен кристалл из 4-х глобул. В такой структуре больше электронов, сигнал от которых сложнее детектировать. Это может плохо отразиться на качестве структуры. Для исследования качества выберу цепь А.

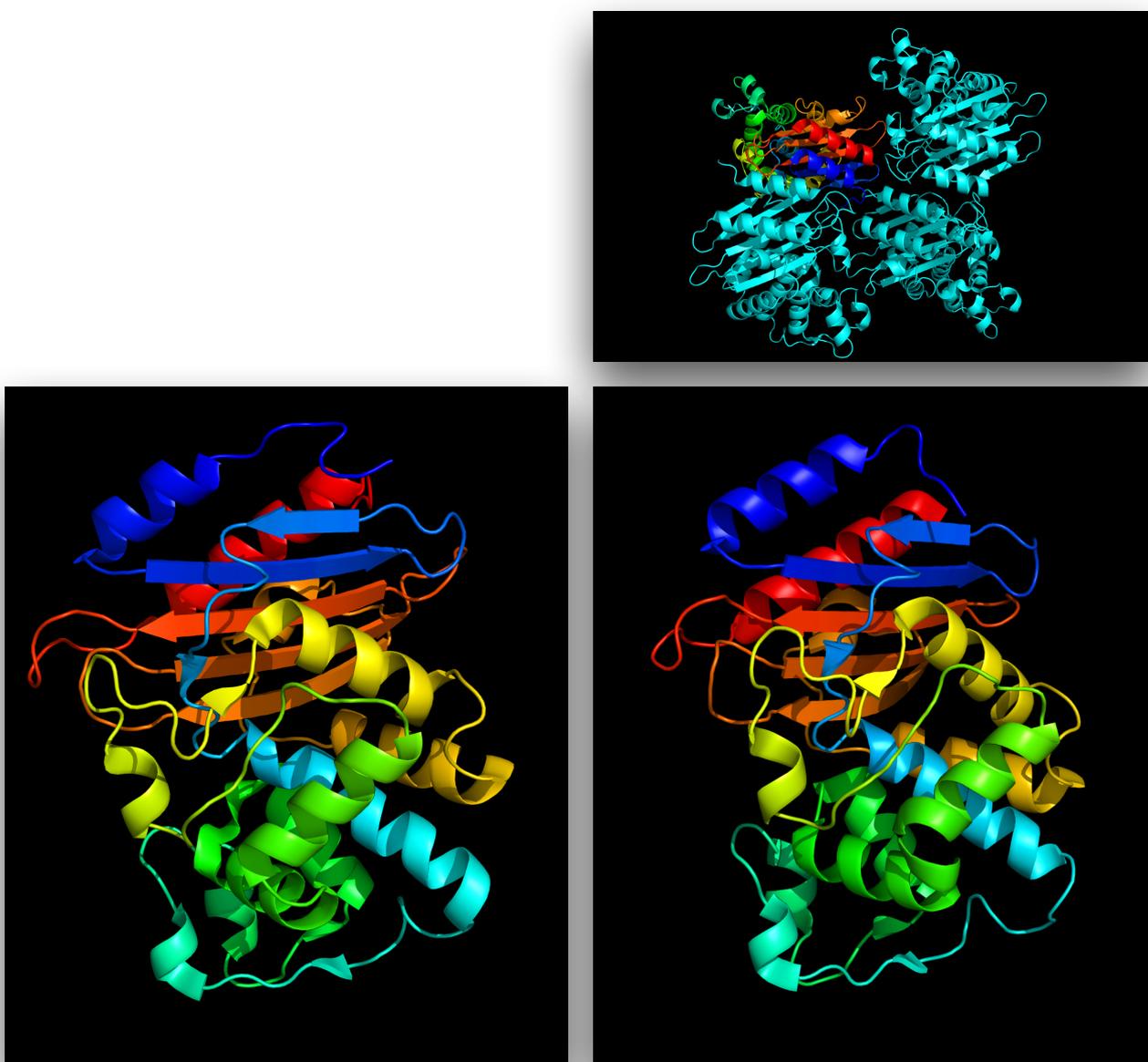


Рис.1 Слева: 6XD5, справа: 6JN3 (сверху - вся структура, снизу - цепь А)

2) Посмотрим теперь на последовательность обеих структур. (Рис. 2) Как С, так и N - конец 6XD5 длиннее, чем в 6JN3. Вероятно это также является следствием разного качества моделей.

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| /6XD5/A/A/1 | 6 | 11 | 16 | 21 | 26 | 31 | 256 | 261 | 266 | 271 | 276 | 281 | 286 | 291 | /B/ |
| /6JN3/A/A/25 | 31 | 36 | 41 | 46 | 51 | 56 | R | A | P | I | V | L | A | V | Y |
| | | | | | | | T | R | A | P | N | K | D | D | K |
| | | | | | | | H | S | E | A | V | I | A | A | A |
| | | | | | | | A | A | A | A | R | L | A | L | E |
| | | | | | | | G | V | N | G | Q | Q | Q | Q | Q |
| | | | | | | | Q | Q | D | D | F | G | G | S | I |
| | | | | | | | G | G | S | G | A | T | A | L | T |
| | | | | | | | N | T | N | L | V | A | E | P | F |
| | | | | | | | A | A | A | A | R | L | A | L | E |
| | | | | | | | G | G | S | I | G | V | Y | A | M |
| | | | | | | | D | T | G | S | G | A | T | V | - |

Рис.2 Слева: N- конец, справа - С-конец

Далее я визуализировала значимость электронной плотности остова (с помощью mesh) одних и тех же регион в двух структурах (Рис. 3). Был выбран регион 100-108 и уровень подрезки *sigma* равный 1, так как промежуточные значения между 1 и 2 не вносили изменений, а при выборе *sigma* 2 выделялась плотность электронов, не входящих в остов выбранного региона.

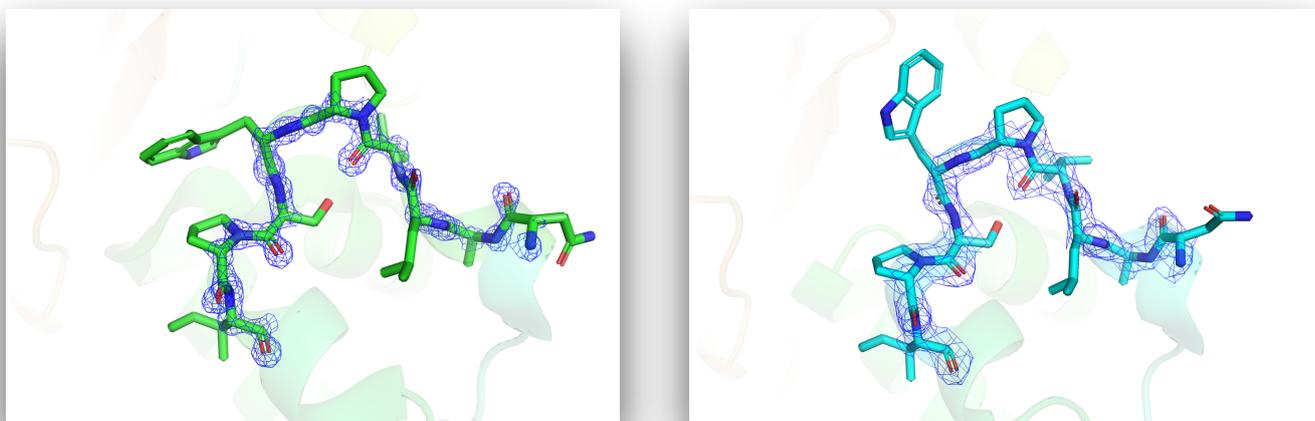


Рис. 3 Слева: 6XD5, resi 100-108, справа: 6JN3, resi 100-108

В структуре 6XD5 значимые области плотности точно «диктуют» положение атомов. Как следствие, плотность в 6XD5 хорошо согласуется с положением атомов остова. Однако, в структуре 6JN3 количество значимых областей плотности несколько выше, а их очертания угловатые. Таким образом, повышается число вариантов расположения атомов и снижается разрешение.

В связи с этим, можно сделать вывод, что структура 6XD5 имеет лучшее разрешение, что согласуется с данными со страницы PDB. Разрешение для 6XD5 составляет 1.20 Å, а для 6JN3 2.22 Å.

Задание 2. ЭП и положение в структуре.

Далее я визуализировала электронную плотность остова структуры 7bk2 на уровнях подрезки 1, 2 и 3. Чтобы избежать отображения плотности от соседей белка по ячейке я воспользовалась carve 1,5. (Рис. 4)

Заметим, что при переходе 1 -> 2 -> 3 какие-то регионы остова структуры первыми перестают быть покрытыми mesh'ем. Получается, значимость электронной плотности для них снижена. Это вряд ли обусловлено плохим качеством структуры так как в других областях значимая электронная плотность сохраняет хороший вид. Вероятно, это связано с размытостью электронной плотности подвижных частей белка. Данное предположение согласуется с значением В-фактора, по которому был покрашен остов структуры. В-фактор характеризует смещение атомов от их среднего положения в кристалле, которое обусловлено подвижностью.

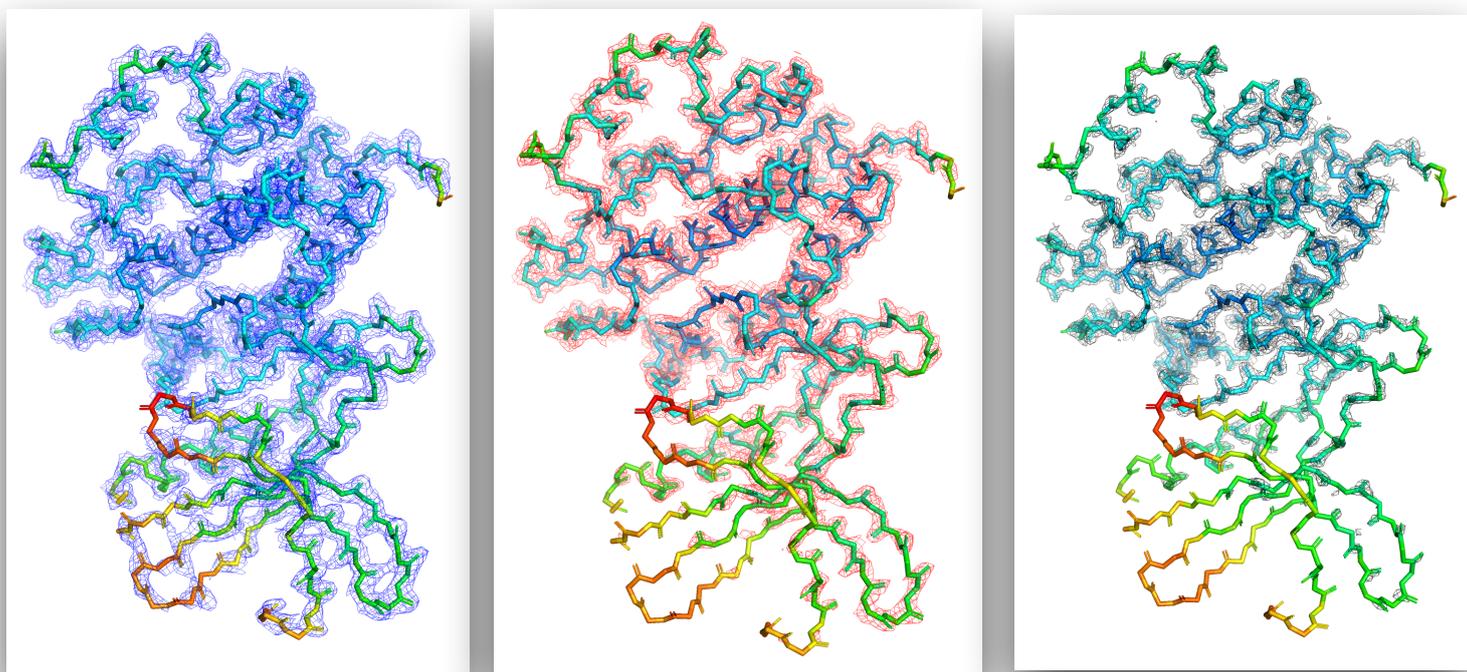


Рис. 4 Визуализация электронной плотности 7bk2, mesh слева направо: 1, 2, 3. Остов покрашен по значению В-фактора.

Задание 3. ЭП и типы атомов.

Как и в предыдущем задании я построила электронную плотность с разной значимостью. Но на этот раз я изобразила плотность вокруг лиганда белка структуры 7bk2 (Рис. 5). При увеличении уровня подрезки некоторые атомы лиганда «теряют» электронную плотность. Дальше всего плотность сохраняют атомы, входящие в ароматическую систему так как этим соединениям свойственна жесткость и неподвижность структуры. Также на уровне подрезки 3 плотность сохраняется около электроотрицательных атомов азота, находящихся рядом с п-системами и стягивающими на себя электронную плотность. Удивительно, что даже на уровне подрезки 1 не все атомы покрыты плотностью, в том числе электронная плотность не наблюдается рядом с электроотрицательным кислородом. Видимо, эти части лиганда подвержены значительным конформационным изменениям. Кроме того, они подвижны так как не взаимодействуют с белком.

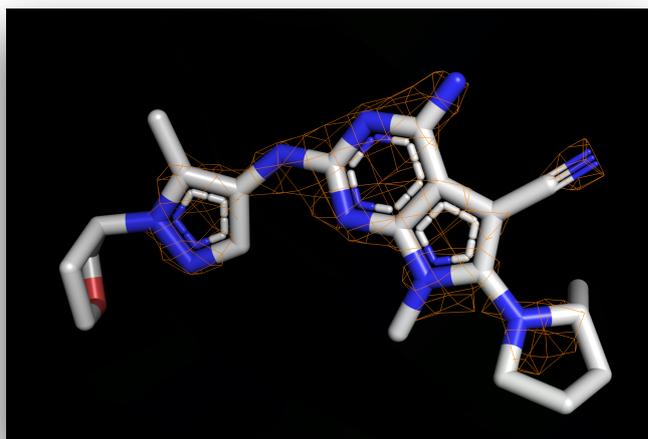
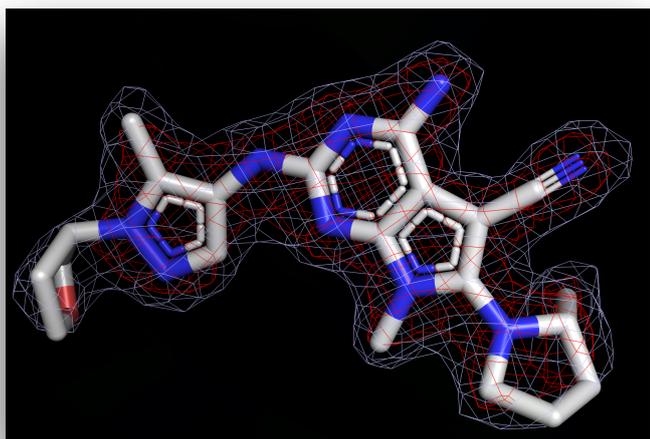


Рис. 5 Электронная плотность вокруг лиганда белка из структуры 7bk2. На рисунке слева сиреневым показана электронная плотность с значимостью 1, красным 2. На рисунке справа оранжевым показана электронная плотность с значимостью 3.