

Задание 1. Альтернативные положения

Кристаллы, находящиеся в отдельных ячейках, могут отличаться между собой конформацией химических групп. Если встречаемость альтернативных конформаций сопоставима, то на расшифровке будет различим сигнал от каждой из них. Их можно будет увидеть и изучить.

Для исследования альтернативных положений мне был дан белок 6EYP, в котором предстояло рассмотреть альт-локи ARG167 (AARG и BARG) в F-цепи.

Для каждого альт-лока я получила изображение (Рис. 1), на котором показала стабилизирующие эту конформацию взаимодействия.

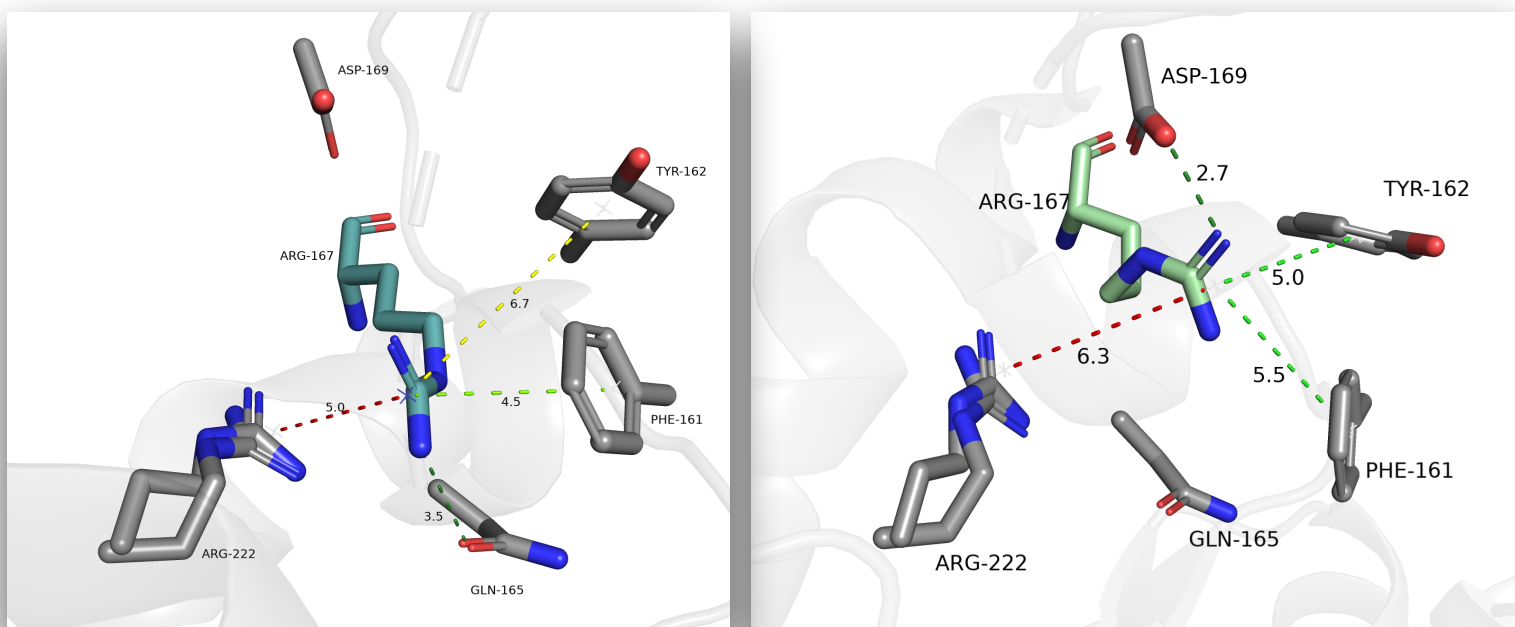


Рис. 1 Слева - AARG, справа - BARG. Зеленым изображены связи, благоприятствующие данному положению остатка (это водородные связи и пи-катионные взаимодействия), красным показано расстояние между отталкивающими зарядами, желтым - расстояние до остатка, взаимодействия с которым не произойдет из-за удаленности

Сравним изображения между собой. В первом случае (Рис. 1, Слева - AARG) остаток образует слабую водородную связь с глутамином. Также конформация стабилизирована пи-катионным взаимодействием с фенилаланином. Однако тирозин находится слишком далеко для образования этого типа связи. Кроме того, расстояние между положительными зарядами аргининов может препятствовать данному положению остатка.

Теперь обратимся ко второму изображению (Рис. 2, Справа - BARG). Здесь также присутствует водородная связь. На этот раз взаимодействие достаточно сильное так как расстояние между электроотрицательными атомами составляет всего 2.7 ангстрем и неподеленная пара от кислорода смотрит точно по направлению к водороду азота. Вероятно, при таком положении аргинина также будет присутствовать 2 пи-катионные связи с

тирозином и фенилаланином. Более того, расстояние между отталкивающимися зарядами аргинина увеличено по сравнению с первым положением.

Таким образом, алыт-лок BARG кажется мне более стабильным.

Однако моя гипотеза не согласуется, с данными по населенности, взятыми из pdb файла структуры (Таблица. 1). Отличие между долей AARG и BARG невелико, то есть они присутствуют почти в равных соотношениях, но тем не менее, судя по этим данным, AARG можно встретить чаще.

АТОМ 11799	CA	AARG	0.58
АТОМ 11803	CB	AARG	0.58
АТОМ 11805	CG	AARG	0.58
АТОМ 11807	CD	AARG	0.58
АТОМ 11809	NE	AARG	0.58
АТОМ 11811	CZ	AARG	0.58
АТОМ 11813	NH1	AARG	0.58
АТОМ 11815	NH2	AARG	0.58
АТОМ 11800	CA	BARG	0.42
АТОМ 11804	CB	BARG	0.42
АТОМ 11806	CG	BARG	0.42
АТОМ 11808	CD	BARG	0.42
АТОМ 11810	NE	BARG	0.42
АТОМ 11812	CZ	BARG	0.42
АТОМ 11814	NH1	BARG	0.42
АТОМ 11816	NH2	BARG	0.42

Таблица 1. Данные по населенности атомов AARG и BARG. (Значения населенности записаны в последней колонке - 0.58 для атомов AARG и 0.42 для BARG)

Задание 2. В-фактор

В-фактор это еще один дополнительный параметр, с помощью которого можно оценить размытость электронной плотности атомов, возникающей в результате неопределенности его точного положения в задаче интерпретации электронной плотности. Такая неопределенность может быть следствием большой термической подвижности данного атома, остатка, петли белка.

В отличие от алыт-локов, когда мы знаем какие конкретно конформации характерны для атомов/остатков/петель, при высоком значении В-фактора мы лишь с некоторой точностью можем указать на одну.

Для изучения В-фактора я использовала тот же PDB ID - 6EYP. На рисунке 2 показан остов белка в стержневой модели (sticks). Атомы структуры покрашены по В-фактору:

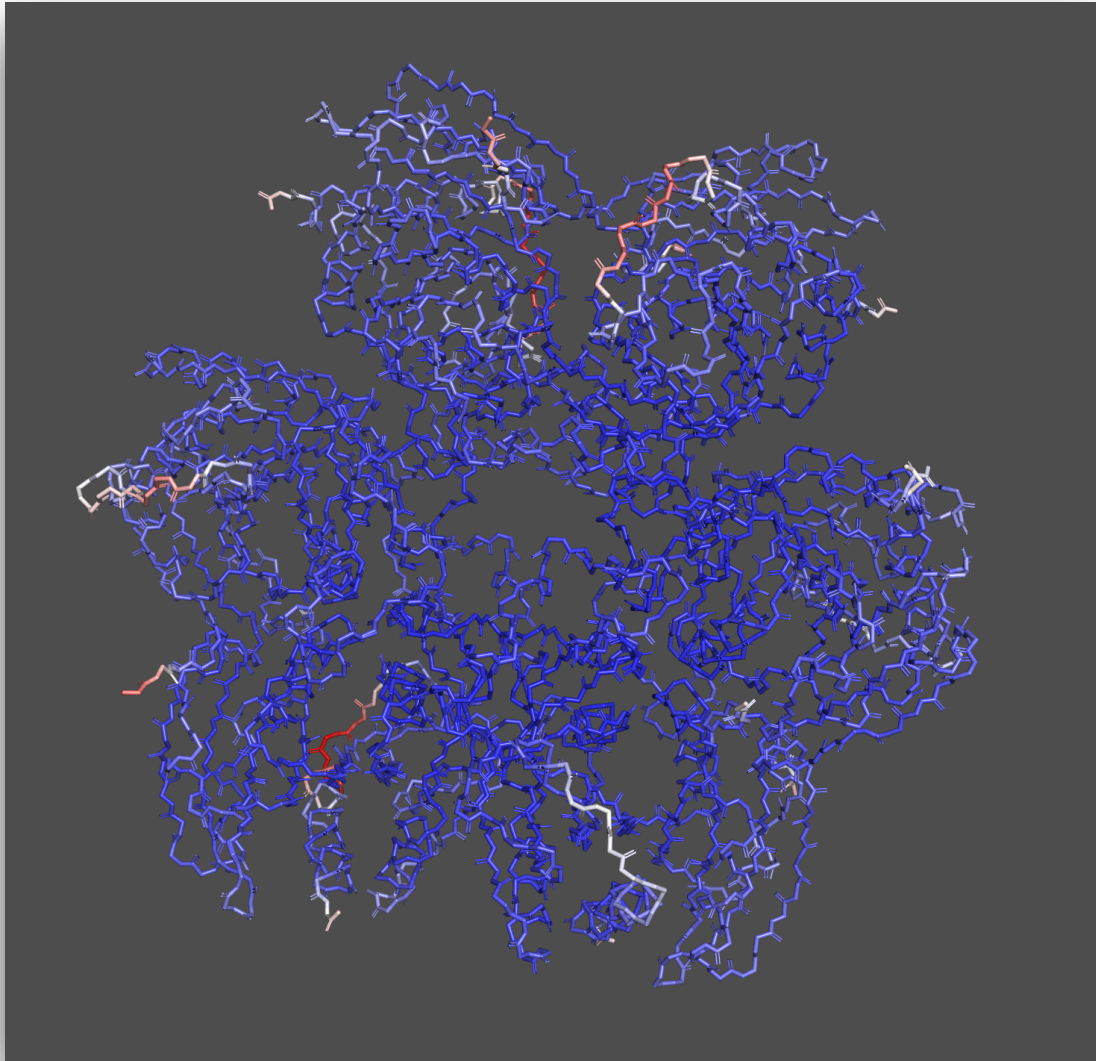


Рис. 2 Стержневая модель остова 6EYP, покрашенная по B-фактору.

Атомы с низким B-фактором покрашены синим, атомы с высоким – красным. При этом наблюдается связь положения участка белка относительно всей глобулы с B-факторами атомов этого участка. Большее значение фактора мы наблюдаем у частей остова, ближе расположенных к поверхности белка. Вероятно, это обусловлено слабой стабилизацией этих участков. Самое низкое значение B-фактора характерно для внутренних участков структуры, где точное положение обеспечивается за счет их контактов друг с другом.

Далее я вернула отображение sticks для боковых цепей и покрасила все атомы структуры по B-фактору. После я нашла два остатка, атомы боковых радикалов которых краснеют к его окончанию. То есть для этих остатков возрастает размытость электронной плотности, а также мы не можем точно сказать, какое положение занимают соответствующие атомы в пространстве. На рисунке 3 я изобразила электронную плотность на разных уровнях подрезки.

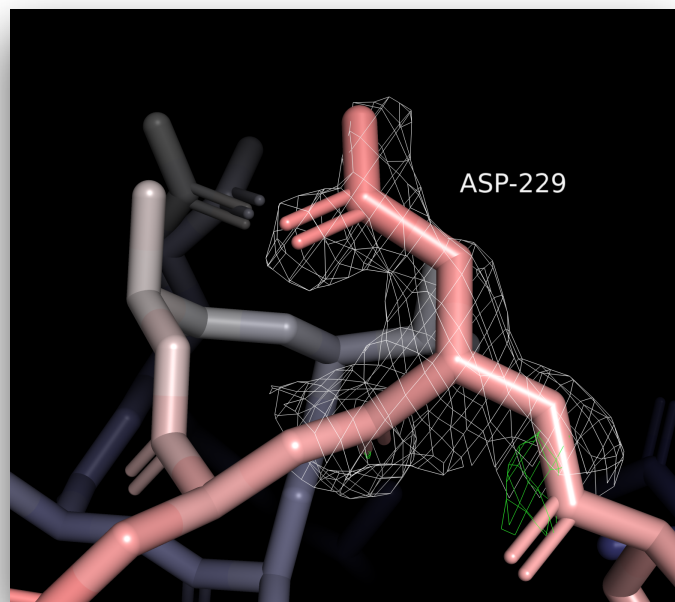
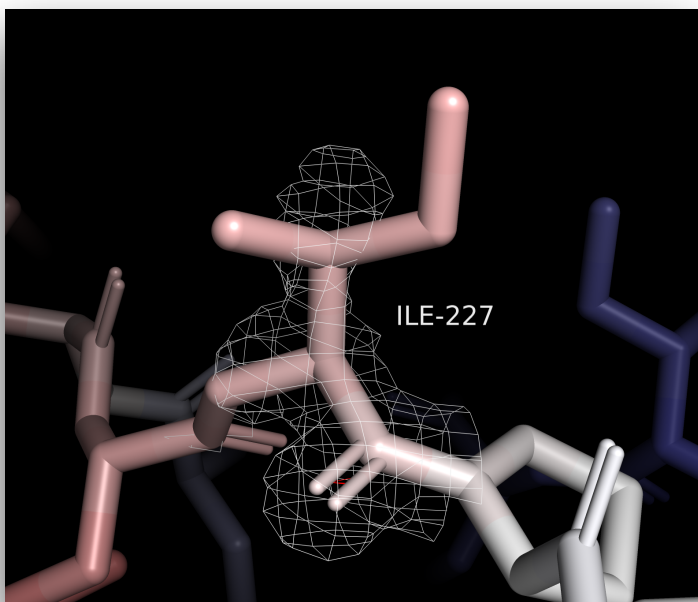


Рис. 3 Остатки, атомы боковых радикалов которых краснеют к его окончанию. Вокруг остатков белым изображена электронная плотность на уровне подрезки 1, зеленым - на уровне подрезки 2, оранжевым - 3. Однако электронной плотности с значимостью 3 ($mesh = 3$) не наблюдается.

Из рисунка 3 видно, что более подвижные части, то есть части с высоким B-фактором, хуже покрыты электронной плотностью. Это заметно даже на уровне подрезки 1. Раз электронная плотность размыта в пространстве (на что указывает высокое значение B-фактора), то и вокруг атомов не будет наблюдаться высоких значений электронной плотности относительно шума.

Задание 3. Соседи

В данном задании я проиллюстрировала часть регулярной структуры кристалла вокруг моего белка (Рис. 4).

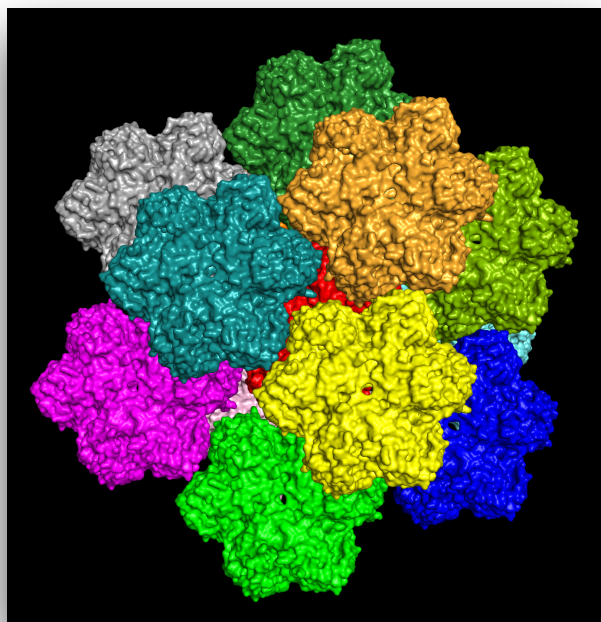
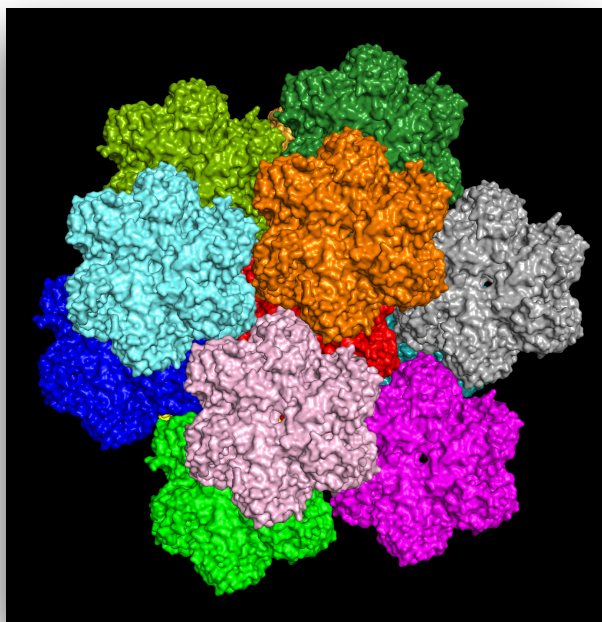


Рис. 4 Часть регулярной структуры кристалла. Исходная структура окрашена в красный. Слева и справа изображены противоположные стороны кристалла.

В качестве отсечки по расстоянию я выбрала значение 5 ангстрем. Эта отсечка позволяла увидеть все соседние молекулы, соприкасающиеся с исходной. Если посчитать, то выясняется, что исходных белок контактирует с 12 аналогичными структурами: 3 сверху с каждой стороны и 6 по бокам.