

Задание 1. Вводное

Для выполнения заданий мне выданы 2 модели белка убиквитина. Одна из которых была получена с помощью РСА, а другая ЯМР.

3OJ3 - кристаллическая структура A20 ZnF4 и убиквитина с разрешением 2,50 Å (получена РСА).

6K4I - частично неупорядоченная конформация убиквитина (Q41N вариант) с числом моделей 20 (получена ЯМР).

Чтобы понять разницу между моделями, я наслоила их друг на друга и сделала следующие изображения (Рис. 1, Рис. 2):

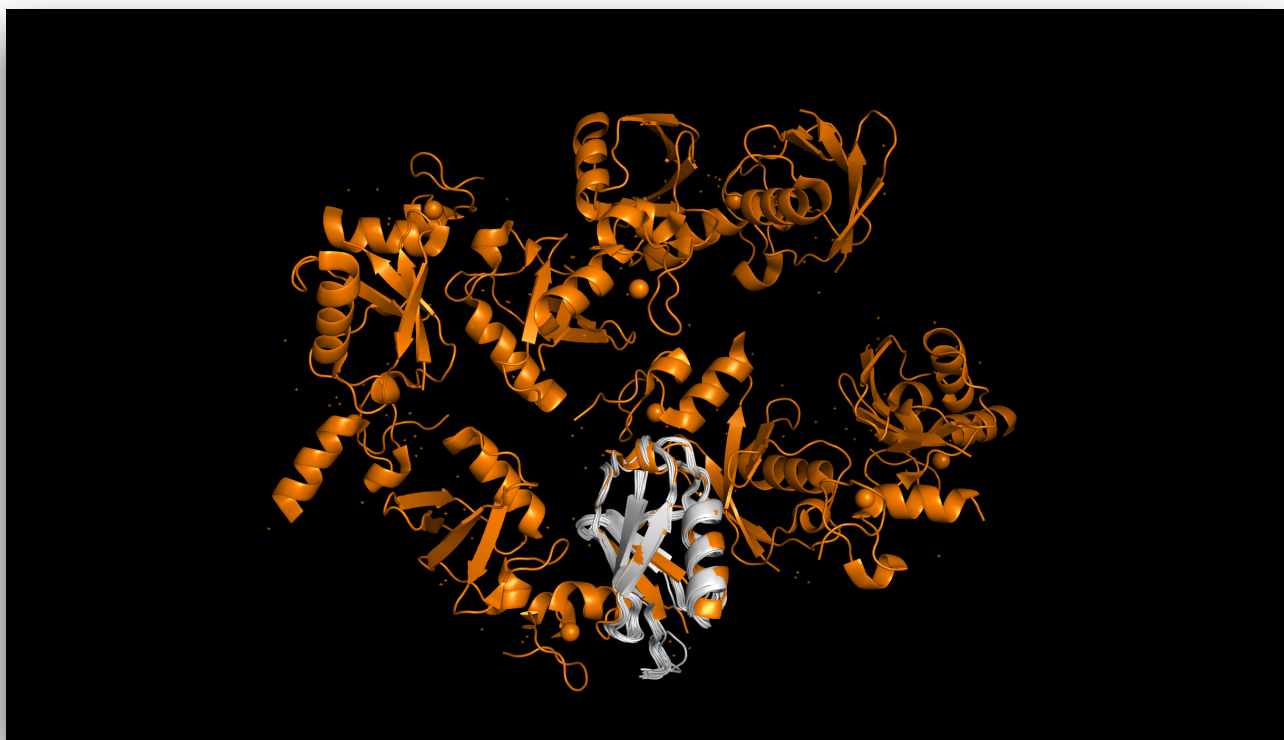


Рис. 1. Наложение структур (оранжевым покрашена - 3OJ3, серым - 6K4I)

Первым бросается в глаза то, что у структуры, полученной РСА, в ячейку кристалла попал олигомер белка. Конечно, для ЯМР-структуры такого не наблюдается так как никакого кристалла там нет. Кроме того, для РСА-структуры мы видим молекулы воды, которые отсутствуют в ЯМР - расшифровке так как для нее используют дейтерированную воду. На рисунках 4-6 в ЯМР структуре можно заметить водороды, однако для РСА они отсутствуют - разрешение недостаточное.



Рис. 2 Приближенное наложение структур (оранжевым покрашена - 3OJ3, серым - 6K4I). Здесь я убрала повторяющиеся части из структуры 3OJ3.

Видим, что наибольшее отклонение ЯМР структуры от PCA наблюдается на С-конце, где происходит расслоение бета-листов. Также структуры не похожи между собой в районах наибольшей подвижности белка - между альфа -спиралями и бета - листами.

Задание 2. RMSF

Запись в PDB, полученная методом ЯМР, представляет собой набор моделей из-за неполноты данных об ограничениях на расстояния и ковалентную связность, получаемых из эксперимента. Эта неполнота может быть следствием подвижности, но это не обязательно. Она также может быть вызвана шумом в данных и неидеальностью эксперимента. Проверим, какова истинная природа наличия набора моделей для ЯМР структуры, построив зависимость средних RMSF для остатков в модели ЯМР от средних B-факторов для остатков в модели PCA.

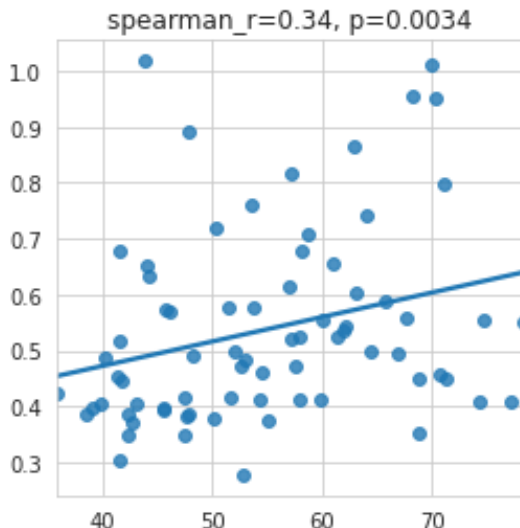


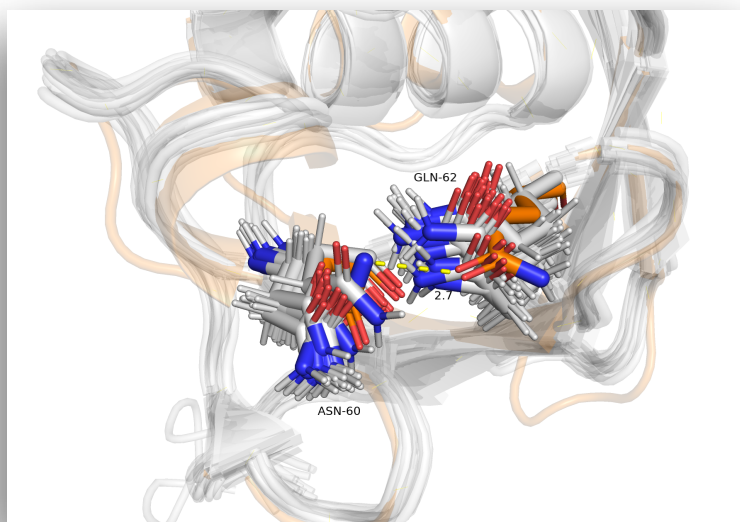
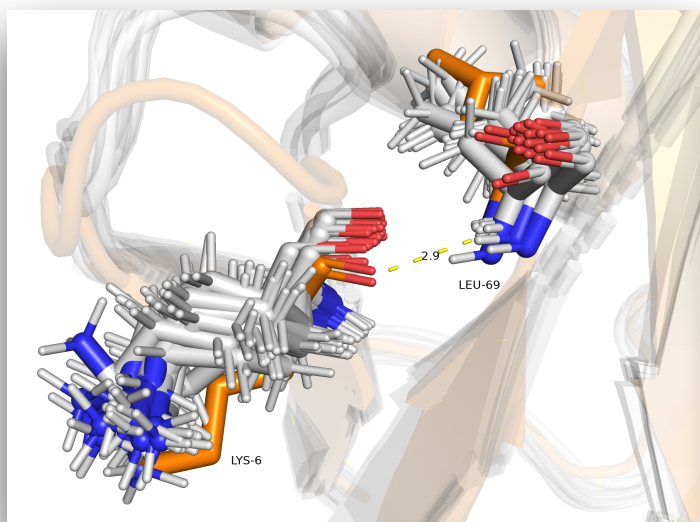
Рис. 3 График зависимость средних RMSF для остатков в модели ЯМР от средних B-факторов для остатков в модели PCA

Наблюдается совсем слабая линейная зависимость, коэффициент ранговой корреляции Спирмена равен 3,4. Значение совсем небольшое, хоть и значимое. Скорее всего, наличие ансамбля из 20 структур связано именно с неполнотой экспериментальных данных.

Задание 3.

По структуре, полученной методом PCA, я выбрала 3 водородные связи. По ним была заполнена следующая таблица:

Водородная связь	1	2	3
Положение	между атомами остова в ядре белка, в бета листе	между атомами боковых цепей с внешней стороны глобулы, в петле	Между атомами в петлях, выходящих на поверхность глобулы, в петле
Название и номер остатков	LYS 6, LEU 69	GLN 62, ASN 60	GLY 10, THR 7
Атомы, между которыми водородная связь	N, O	N, O	N, O
Расстояние в PCA	2.9	2.7	3.6
Процент моделей в ЯМР с водородной связью	100 %	0 %	100 %
Минимальное расстояние в ЯМР	3.0	5.2	3
Максимальное расстояние в ЯМР	3.6	7	3.3
Медианой расстояние в ЯМР	3.2	6.6	3.1



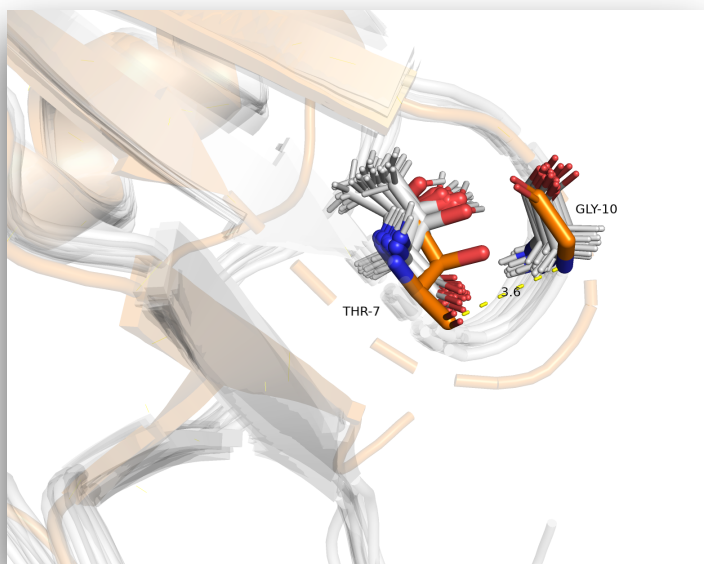


Рис. 4 -6 Водородные связи 1 (сверху, слева), 2 (сверху, справа) и 3 (снизу, слева)

Выводы:

Первая водородная связь расположена между атомами остатков остова, принадлежащих бета листу глобулы то есть между стабильными паттернами структуры. Неудивительно, что она присутствует на обоих вариантах расшифровки структуры. Третья водородная связь так же, как и первая видна на всех вариантах структуры из ЯМР несмотря на то, что она расположена между остатками в петле. Видимо, в данном случае принадлежность атомов к остову остатков играет более важную роль в стабилизации, чем положение относительно белковой глобула.

Водородная связь 2 отсутствует в ЯМР - структуре. Вероятно, это связано с тем, что этой связи нет в нативном состоянии белка. Мы наблюдаем ее только в кристалле.