

Практикум № 5.ProDy-2. ЯМР vs PCA

1 Вводное

Login ЯМР PCA sofyagdk26 6TТА 6ХВЕ
PCA - 6ХВЕ, 1.80 Å ЯМР - 6TТА, 4 models

Рассматриваемый белок - NDM1 - New Delhi metallo-beta-lactamase - белок, расщепляющий -лактамноое кольцо антибиотиков семейства бета-лактамов. К этому классу антибиотиков относится, в частности пенициллин. Антибиотики этого класса мешают образованию "сшивок" между цепочками мурина, связываясь с белком, который эту реакцию проводит. Таким образом останавливается синтез клеточной стенки грам-положительных бактерий. Поэтому антидиотики этого типа обладают очень широкой специфичностью.

А вот белок NMD-1, обнаруженный впервые в 2009 году, расщепляя такие антибиотики делает бактерий резистентными ко всему классу веществ.

В обеих работах, для которых были получены структуры, исследовались возможные ингибиторы белка. В случае 6TТА - флавоноид кверцитин, у 6ХВЕ - пептидный циклический ингибитор.

Понятно, что этими ингибиторы в активном центре модели конечно же, будут отличаться (рис. 2). Также, интересным образом, в случае 6ХВЕ в активном центре 3 атома цинка, в 6TТА - 2.

Разными веществами в активном центре, скорее всего, объясняется и немного разная конформация боковой цепи, показанная на рис.1, b. - эта петля как раз прикрывает активный центр и поэтому понятно, что она может отличаться в двух моделях.

Также было замечено, что в PCA-структуре выделена небольшая альфа-петля в глубине белка. Правда скорее всего, спираль эта поддерживается 1-2 связями и может ее решили просто не размечать на ЯМР-структуре.

В ямр-структуре не размечены молекулы воды, что тоже логично - ведь ямр-эксперимент проводится в растворе и определить точно расположение воды почти невозможно - только, наверное, если есть какая-нибудь очень прочная связь с белком.

Как и ожидалось, в ЯМР-структуре отмечены все водороды, что видно на рисунках 3 и 4.

Структуры

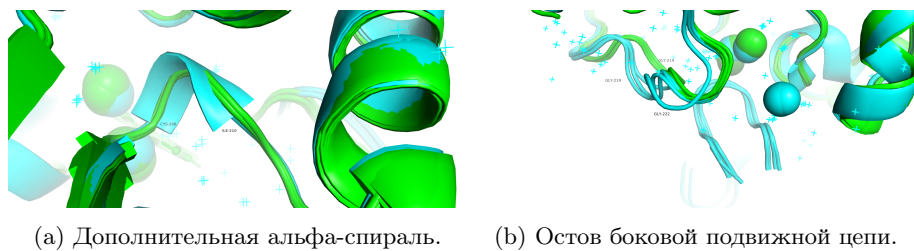


Рис. 1: Отличия в общем строении структур. Зеленым показана структура 6ТГА, полученная ЯМР, светло-синим - 6ХВА, полученная РСА.



Рис. 2: Отличия в активном кармане структур. Темным показаны лиганды, пептидный ингибитор, сферами - атомы цинка.

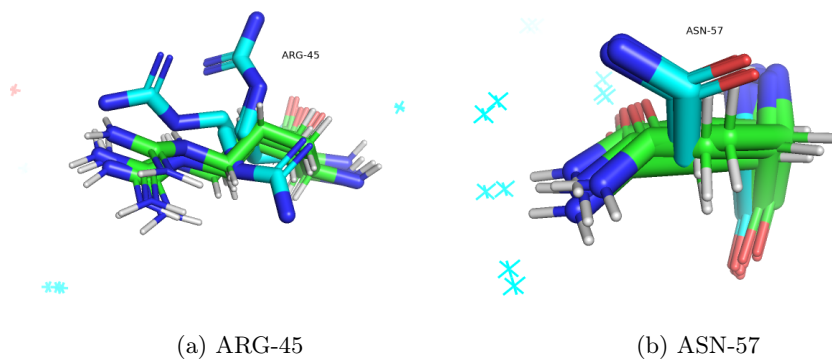


Рис. 3: Отличия в остатках. Зеленым показана структура 6ТГА, полученная ЯМР, светло-синим - 6ХВА, полученная РСА.

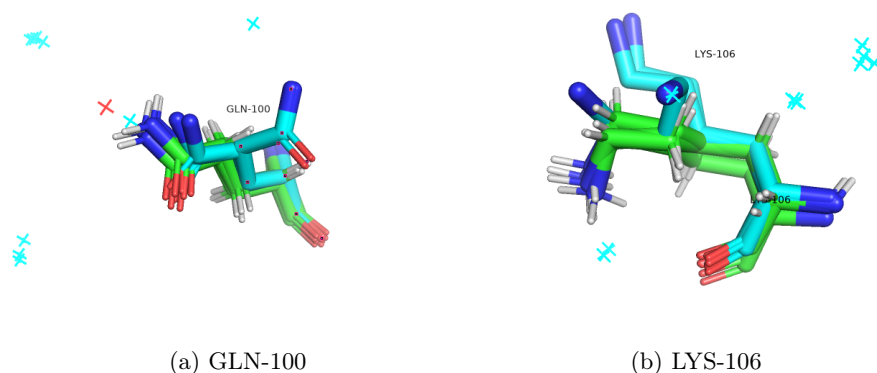


Рис. 4: Отличия в остатках. Зеленым показана структура бТТА, полученная ЯМР, светло-синим - бХВА, полученная РСА.

Также есть отличия в некоторых остатках. Часть из них приведена на рис 3-4. Иногда (GLN-100) в ЯМР-эксперименте определено одно положение боковой цепи, а в РСА-эксперименте обнаруживается дополнительное положение. В случае ASN-57 боковые цепи в двух экспериментах находятся просто в двух разных положениях. Хочется заметить, что в основном такие отличия заметны снаружи белка, где боковые цепи выставлены в раствор и подвижны, в глубине глобулы остатки по большей части хорошо совпадают.

2 RMSF

В данном задании нам предлагалось построить зависимость среднего значения RMSF остатков от среднего значения Beta-фактора. При этом как мы знаем, бэ́та-фа́ктор - это мера подвижности атомов - то есть того, насколько смазана их электронная плотность. RMSF - это среднее по времени отклонение атомов моделей от референсной модели. То есть, если ансамбль моделей отражает разные состояния белковой молекулы во времени, то RMSF тоже будет являться мерой подвижности атомов. Действительно, если какой-то атом подвижен, то в разных моделях мы можем увидеть его в разных состояниях и из-за этого его отклонение от "среднего" положения, которое, как мы думаем, отражено в референсной модели, будет большим. На таком уровне мы по крайней мере ожидаем увидеть положительную корреляцию между двумя величинами.

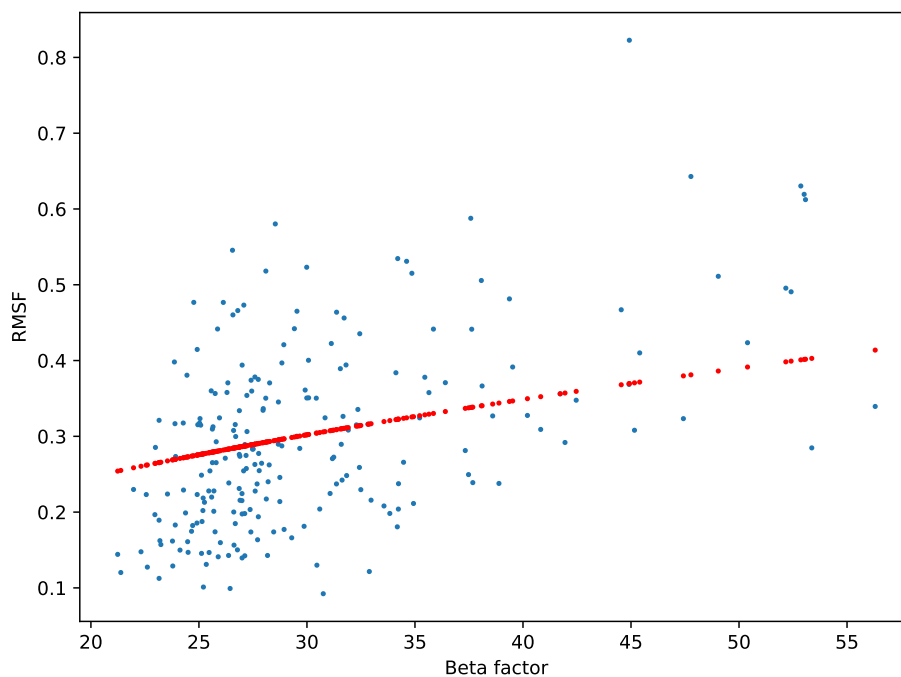


Рис. 5: Аппроксимация зависимости среднего RMSF от среднего бета-фактора для каждого остатка

На графике красная прямая - аппроксимация зависимости с помощью команд

```
def betafit(beta, C):
    return np.sqrt(beta*C/np.pi/np.pi)
Copt, pcov = scipy.optimize.curve_fit(betafit, b, r)
```

То есть я немного заглянула в доп задание, где сказано, что формула зависимости выглядит как

$$RMSF_i = \sqrt{\frac{3B_i}{8\pi^2}}$$

Но питон мне подгонял выражение

$$RMSF_i = \sqrt{\frac{C * B_i}{\pi^2}}$$

При этом константа C получилась равной 0.03 (с пи-вэлью $2.10742097e-06$), что на порядок меньше $3/8 = 0.375$. Также заметно, что и аппроксимация в

среднем плохая, в том смысле что очень шумная. Значения RMSF больше похожи на облако и сложно выделить какой-то тренд. Я не знаю, какие средние значения RMSF для белков, но рискну предположить, что значения 0.1 - 0.5 на самом деле очень малы. То есть те 4 модели, которые есть в ЯМР структурах, очень мало отличаются между собой и от референса. И даже если нужный тренд в данных есть, то изза шума, возникающего изза очень низких значений RMSF, выделить его трудно.

Ну на самом деле, если посмотреть на рисунки из прошлого задания, то мы заметим, что сходимость четырех моделей крайне высокая - все вторичные структуры очень хорошо накладываются и даже отдельные остатки одинаково расположены в пространстве, даже с меньшей вариабельностью, чем в структуре PCA. Я также сделала аппроксимацию для отдельных атомов, но для них в целом те же выводы (константа: 0.0227 с p-value= 3.0003919e-07, чему, впрочем, доверять не следует:).

Итого, кажется, в случае структуры БТТА отдельные модели отражают разные, хотя и очень хорошо сходящиеся решения эксперимента, а не различные состояния молекулы в разные моменты времени.

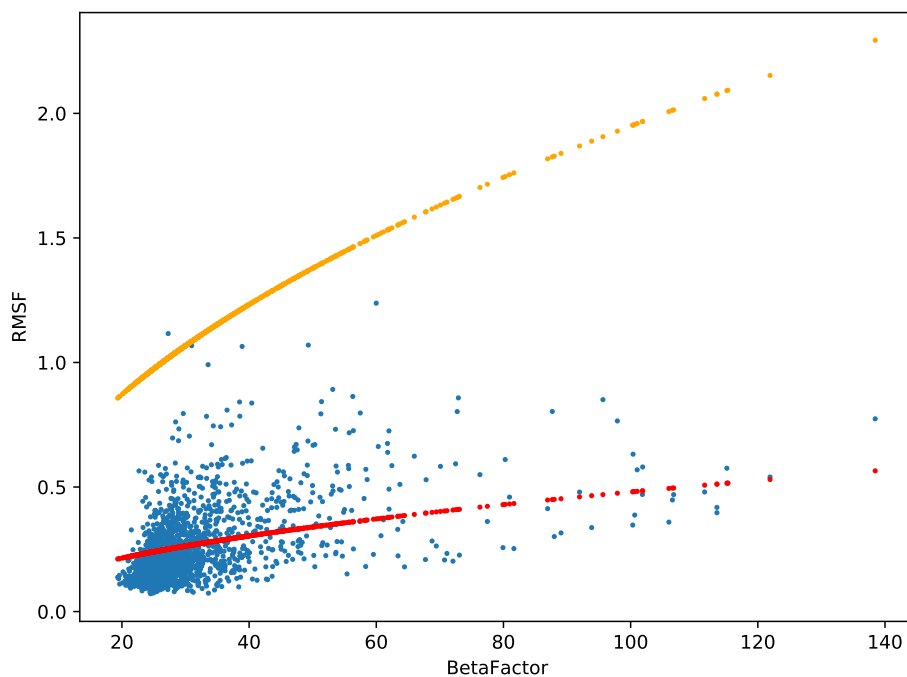


Рис. 6: Аппроксимация зависимости среднего RMSF от среднего бэга-фактора для каждого атома. Красная кривая - $curve_fit(0.023)$, - ..

3 Завершающее

№	Остаток 1 (донор)	Атом 1	Остаток 2 (акцептор)	Атом 2	
1	PHE-236	N остова	SER-232	O остова	альфа-с
2	THR-119	-OH группы	ASP-90	C=O группы - OD2	между боковы
3	GLN-107	N	GLN-108	C=O группы - OD1	с

№	Dist, PCA	min ЯМР	max ЯМР	median	%
1	3.1	3.1	3.2	3.15	4 - 100%
2	3.0	2.8	3.8	3.1	3 - 75%
3	Dist, PCA	2.7	3.3	28.5	4 - 100%

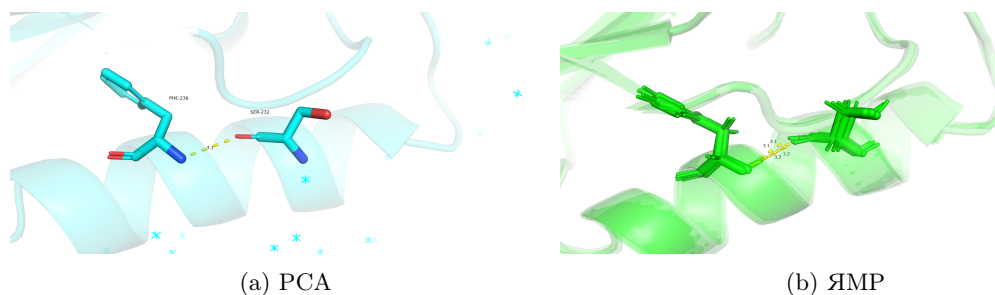


Рис. 7: Водородная связь внутри белка - между остовом в альфа-спирали

Для первой водородной связи все вполне ожидаемо - она есть во всех 4х ЯМР-моделях, и расстояния во всех моделях примерно одинаковые. оно и понятно - это место в белке жестко зафиксировано.

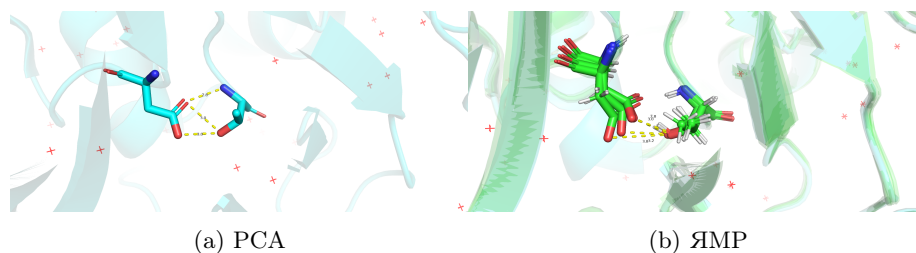


Рис. 8: Водородная связь внутри белка - между боковыми остатками. Остатки - THR-119 и ASP-90 (прошу прощения что забыла подписать)

Тут ситуация интереснее. Я думаю, что водородных связей тут может быть три разных. Акцептором водорода могли бы одновременно выступать какой ибудь из O атомов карбоксильной группы, в зависимости от того на какой из них в данный момент водород. При этом может быть водородная связь с азотом остова. Взяв одну, самую близкую к зрителю водородную связь, оказалось, что в одной из структур ЯМР она не сохраняется - расстояние 3.8 ангстрем. Однако, интересно, что водородная связь все еще возможна с другим O-атомом карбоксильной группы. В целом кажется, что разброс значений расстояний для ЯМР больше, и эта область либо более подвижна, либо чуть менее очевидным образом разрешима.

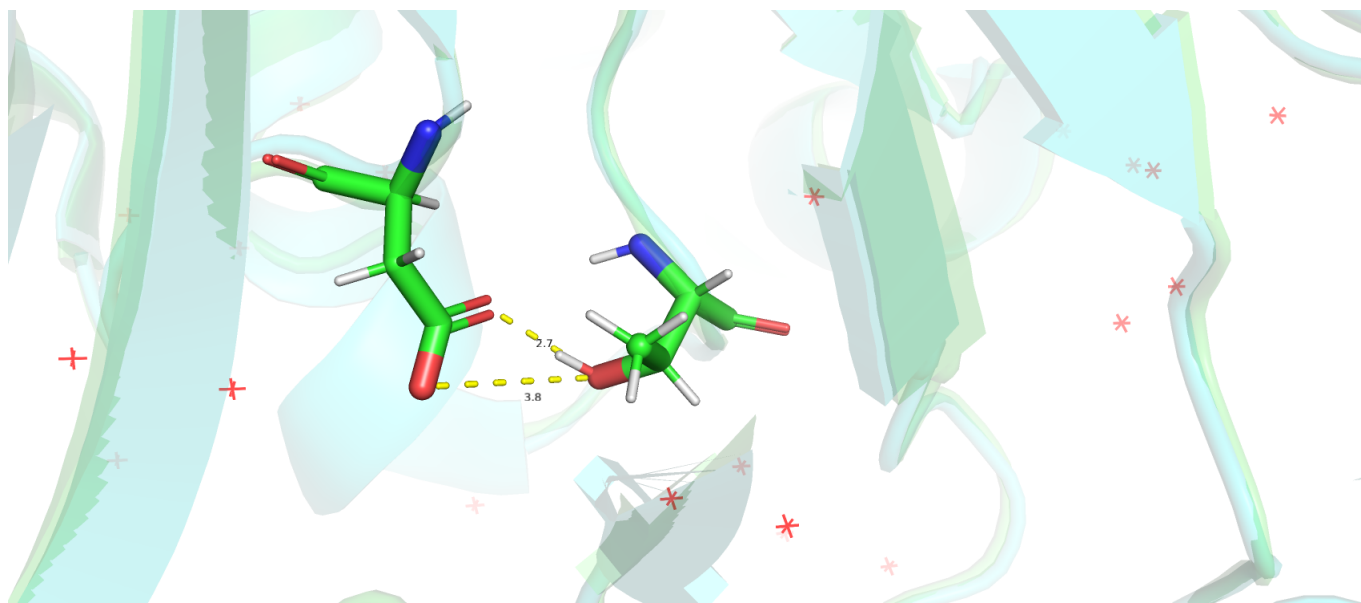


Рис. 9

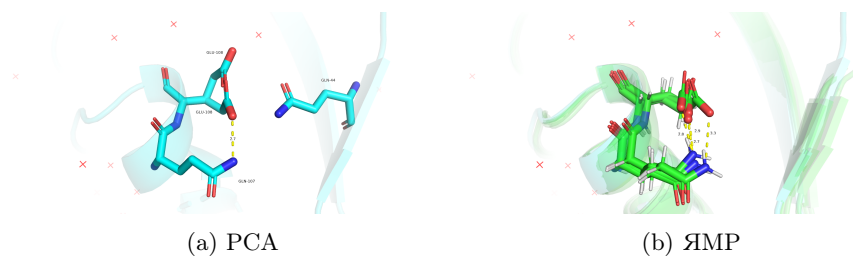


Рис. 10: Водородная связь снаружи белка - между боковыми остатками

Интересная картина для водородной связи на поверхности белка. Она есть во всех ЯМР-структурах, хотя можно было бы ожидать, что на поверхности связи подвижны и в ЯМР эксперименте мы эту подвижность могли бы увидеть. Но тут - не так. Интересно, что тут есть альт-локи для GLU-108, и кажется, что два разных альтлока связываются с разными остатками. Возможно, что это результат кристаллизации, что мы видим два возможных варианта для PCA-эксперимента - может, в этой области молекулы белка слипаются между собой и мы видим чуть-чуть необычную, не "нативную" картину (если конечно, мы верим в ЯМР).