

Электронная плотность

Задание 1. ЭП: хорошая и плохая расшифровки

Фактор XIa (FXIa) – фактор свертывания крови (плазменный предшественник тромбопластина). Данный фактор продуцируется в печени. FXIa представляет собой протеазу, активирующуюся фактором Хагемана (FXIIa) из белка-предшественника – фактора XI. Полную схему свертывания крови можно увидеть на Рис. 1 [1].

Гемофилия С является наследственной недостаточностью данного фактора свертывания [1].

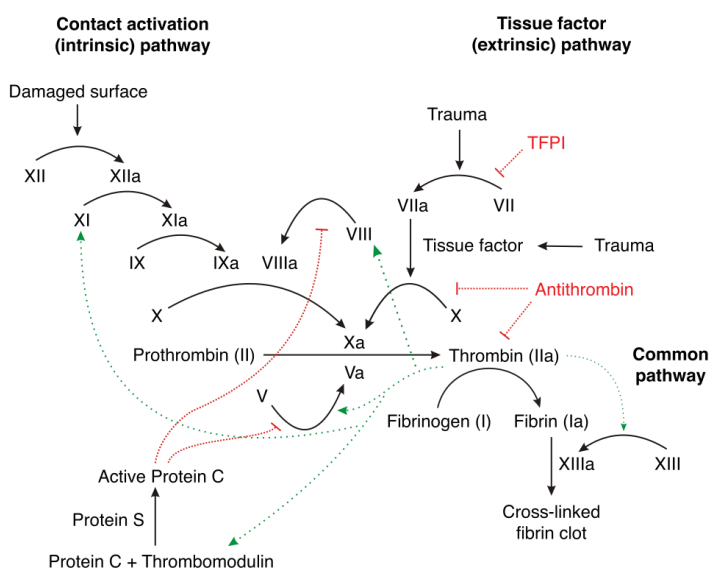


Рис. 1. Схема свертывания крови

У данного фактора существует две (может, и больше) расшифровки электронной плотности – 7MBO и 1XXD.

При взгляде на структуры 7MBO и 1XXD в виде PDB-файлов, сразу бросается в глаза наличие лигандов в 7MBO. К тому же, в структуре 7MBO в отображении sticks видны водороды, в отличие от структуры 1XXD. Это намекает на то, что у 7MBO разрешение достаточно высокое, ведь водороды могут быть видны при разрешении меньше 1 Å.

Если посмотреть на рисунок ниже (Рис. 2), можно заметить, что отображающая электронную плотность сетка лучше покрывает молекулу 7MBO: во-первых, она мельче и выглядит более гладкой, во-вторых, она отображает все атомы белка. В свою очередь, сетка электронной плотности у структуры 1XXD на том же уровне подрезки, что у 7MBO, покрывает не все атомы белка.

На страницах в базе данных RCSB белка видно, что у структуры [7MBO](#) действительно разрешение оказалось хорошим (0.92 Å), а у структуры [1XXD](#) – плохим (2.91 Å).

Таким образом, по внешнему виду структуры и по сетке, отображающей электронную плотность, можно предположить, насколько высоким разрешением обладает данная расшифровка структуры, а значит, насколько точно проинтерпретирована данная структура.

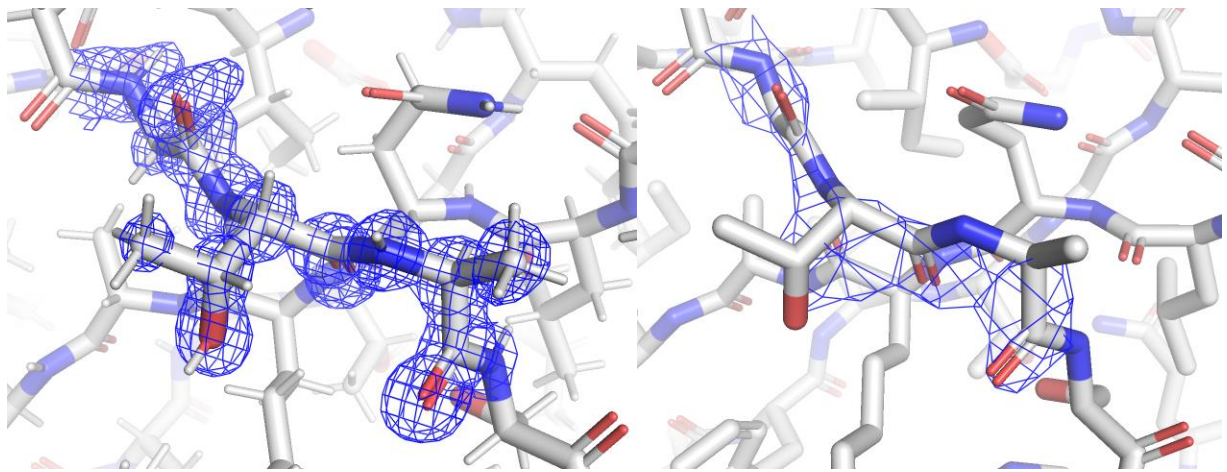


Рис. 2. Участок из трех аминокислот в структурах белков 7MBO (слева) и 1XXD (справа). Карта электронной плотности анализируется с помощью mesh (точнее, isomesh). Уровень подрезки = 1.8, carve = 1.5

Отмечу, что 1XXD представлен в виде тетрамера, а 7MBO – в виде мономера. Возможно, это оказало влияние на разрешение, ведь маленькие белки легче кристаллизовать. У тетрамера (со структурой 1XXD) в данном случае оказалась большая подвижность, чем у мономера (7MBO), поэтому в сигналах по электронной плотности оказалось больше шума. Соответственно, карта электронной плотности получилась с не очень хорошим разрешением.

Задание 2. ЭП и положение в структуре

EPB41L3 (erythrocyte membrane protein band 4.1 like 3) – мембранный белок эритроцита. Это опухолевый супрессор, который подавляет пролиферацию клетки и способствует апоптозу. Данный белок регулирует активность протеин аргинин N-метилтрансферазы (включая PRMT3 и PRMT5) [2]. А PRMTs диметилируют белки, связанные с регуляцией транскрипции [3].

Локализуется белок EPB41L3 в цитоплазме, в цитоскелете и в плазматической мембране [2]. Имеет кристаллографическую расшифровку [5RYR](#).

На Рис. 3 изображены участки белков с сеткой электронной плотности на уровнях подрезки 1, 2 и 3. Данные уровни означают ограничение в каждой ячейке по z-score плотности. Чем больше этот z-score в точке пространства, тем больше в данной точке уровень сигнала превышает уровень шума и тем более «плотной» мы считаем данную точку. Во всех точках внутри сетки z-score больше уровня подрезки.

Стоит отметить, что при повышении уровня подрезки на концах белка «исчезает» сетка электронной плотности. Это значит, что на концах белка более «шумный» сигнал. Это происходит, возможно, из-за высокой подвижности данных участков белка. Ближе к центру белок намного менее подвижен, поэтому мы получаем более четкий сигнал.

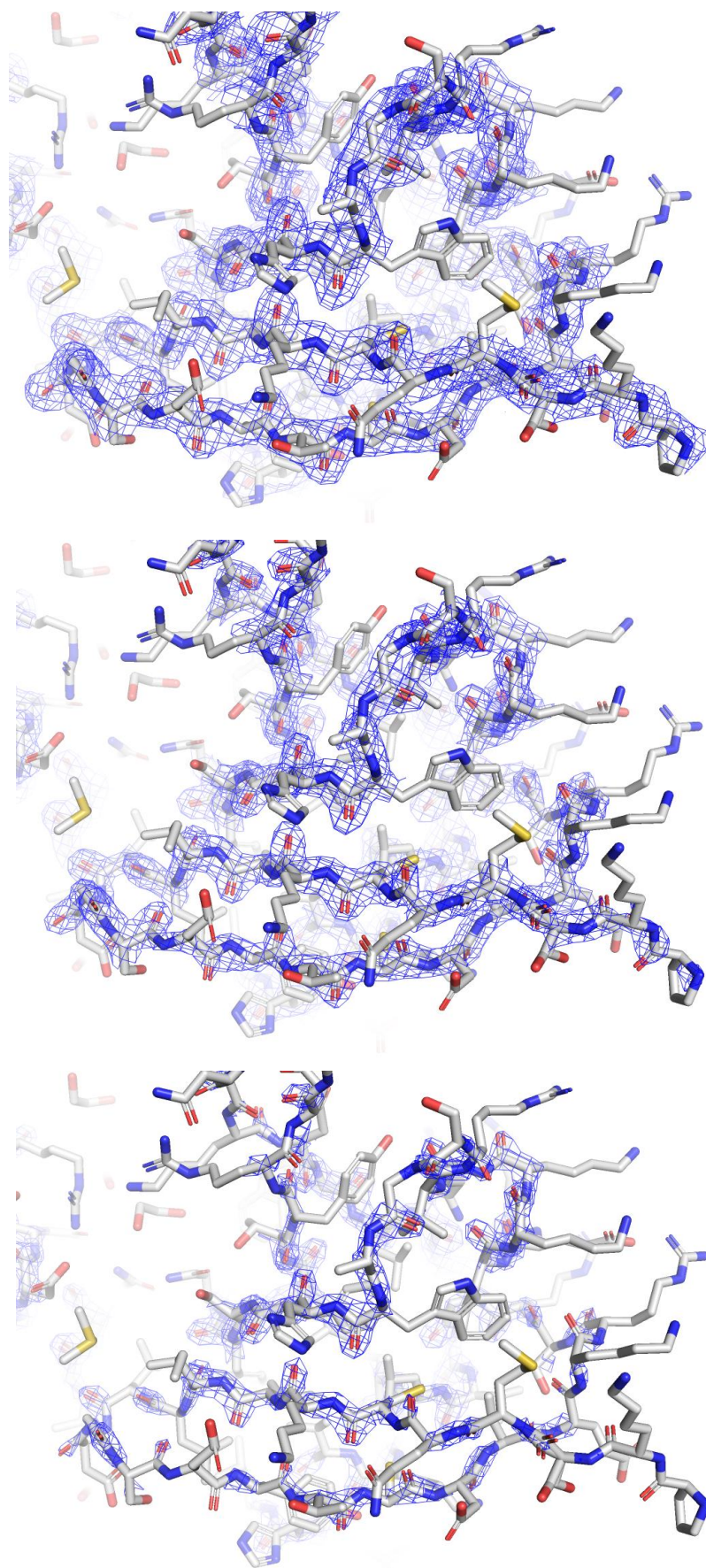


Рис. 3. Визуализация электронной плотности участка белка EPV41L3 с различными уровнями подрезки. Сверху вниз: подрезка уровня 1, 2 и 3, соответственно. Carve = 1.5

Задание 3. ЭП и типы атомов

В расшифровке 5RYR белка EPB41L3 присутствует три лиганда: WGP (N,N-диметил-N²-фенилглицинамид), DMS (диметилсульфоксид) и EDO (1,2-этандиол). Их структуры приведены на картинке ниже (Рис. 4).

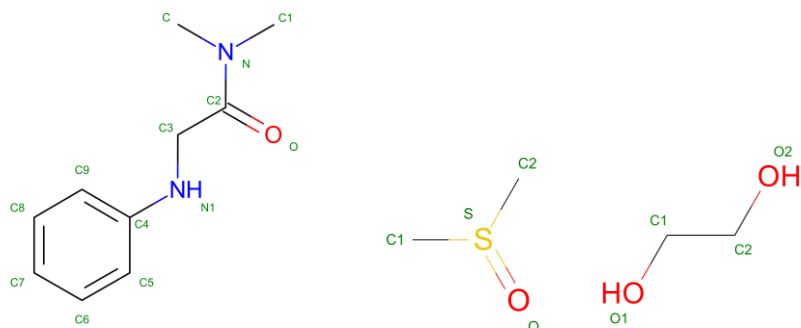


Рис. 4. Лиганды в структуре 5RYR белка EPB41L3. Слева направо: WGP, DMS, EDO.

На Рис. 5 и 6 видно, что сетка электронной плотности покрывает не все атомы, а только наиболее электроотрицательные и те, у которых больше электронов. С повышением уровня подрезки до 2 электронная плотность отображается только в области π-электронов ароматического кольца и атома азота N (см. Рис. 4) у WGP и в области атома серы у DMS. На уровне подрезки 3 облако электронной плотности и вовсе исчезает.

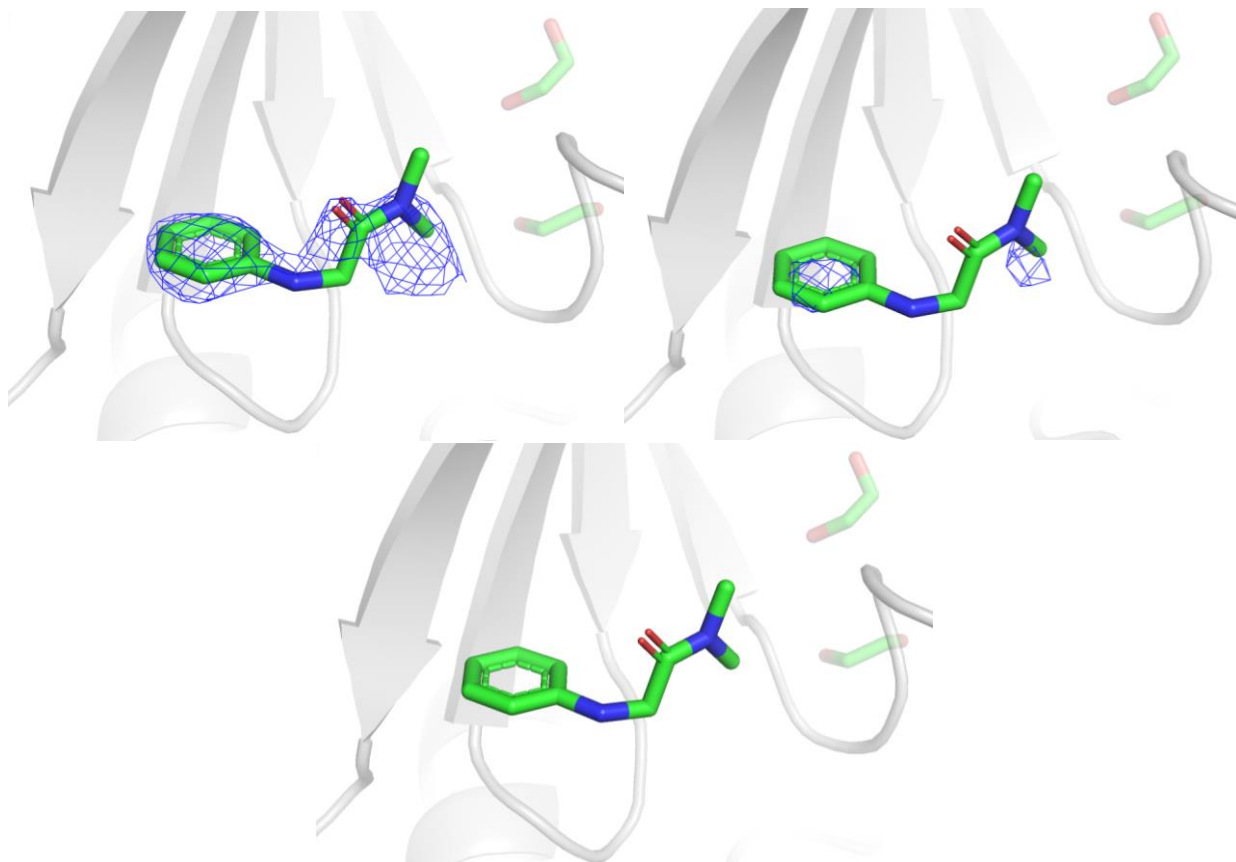


Рис. 5. Визуализация электронной плотности лиганда WGP с различными уровнями подрезки. Слева подрезка уровня 1, справа - уровня 2 и снизу – уровня 3. Carve = 2

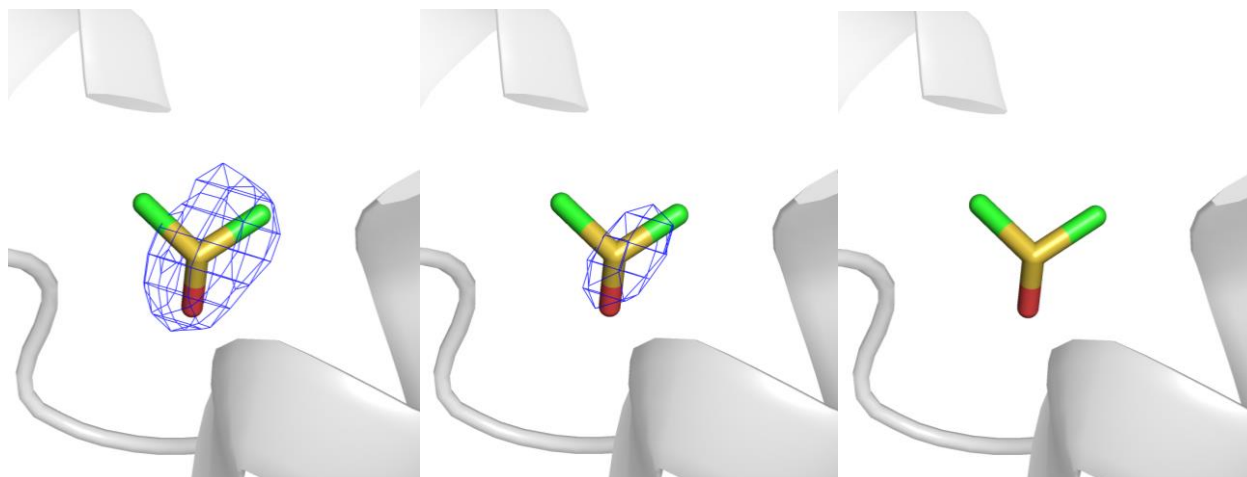


Рис. 6. Визуализация электронной плотности лиганда DMS с различными уровнями подрезки. Слева направо: подрезка уровня 1, 2 и 3, соответственно. Carve = 1.5

В случае с лигандом EDO (см. Рис. 7) на уровне подрезки 1 электронная плотность покрывает все атомы, при этом она смещена к кислородам (напоминает в целом гантельку). С уровнем подрезки 2 и более сетка электронной плотности перестает отображаться.



Рис. 7. Визуализация электронной плотности лиганда EDO с различными уровнями подрезки. Слева направо: подрезка уровня 1, 2 и 3, соответственно. Carve = 1.5

Таким образом, получились изображения электронной плотности, которая может не покрывать все атомы и сохраняется в лучшем случае до 2го уровня подрезки у наиболее электроотрицательных атомов, у атомов с наибольшим числом электронов на внешней орбитали и у π -электронов ароматики.

Такое отображение электронной плотности могло получиться из-за не очень высокого разрешения (1.87 Å) и из-за большой подвижности лигандов. Полагаю, самый подвижный лиганд в структуре 5RYR – EDO.

Источники:

1. https://ru.wikipedia.org/wiki/Фактор_свёртывания_крови_XI - о белке со структурами 7MBO и 1XXD
2. <https://www.uniprot.org/uniprot/Q9Y2J2> - о белке со структурой 5RYR
3. https://en.wikipedia.org/wiki/Protein_arginine_methyltransferase_5 - о PRMT5