

## ProDy-2. ЯМР vs PCA

### Задание 1. Вводное

[6LVT](#) представляет собой модель структуры holo ACP (acyl-carrier protein), полученную методом ЯМР. Число моделей: 20.

[6LVU](#) – кристаллографическая расшифровка структуры apo ACP, получена методом PCA. Разрешение 2.29 Å.

Белок, представленный в виде двух моделей, участвует в биосинтезе жирных кислот. Он синтезируется в неактивной форме - apo ACP. Holo-ACP-синтаза присоединяет 4'-фосфопантетеиновый (4'-PP) фрагмент с Ac-CoA к консервативному остатку серина, превращая apo-форму ACP в голо-форму (с активной ацильной группой) [1].

На Рис. 1. показаны обе модели: PCA- и ЯМР-модель, наложенные командой super. В PCA-модели 6LVU присутствуют две копии комплекса, образующие ассиметричную единицу кристалла. ЯМР-модели не требуют кристаллизации, поэтому в модели 6LVT представлена только одна копия.

Серо-голубые шары не что иное, как дейтерированная вода, которая используется в ЯМР, чтобы детектировать только протоны белка. Красные звездочки – обычные молекулы воды, принадлежащие PCA-модели.

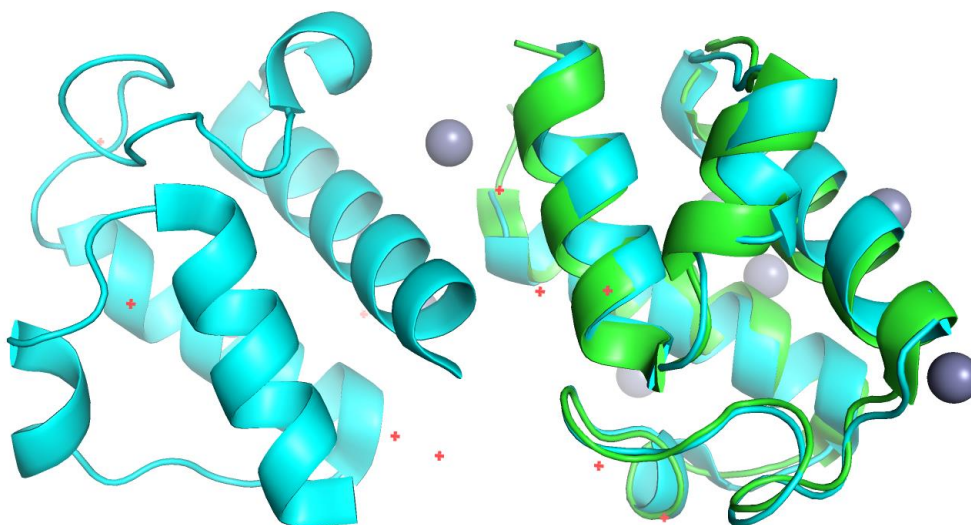


Рис. 1. Общий вид структур моделей, наложенных друг на друга при помощи команды super. PCA-модель 6LVU окрашена в голубой, ЯМР-модель 6LVT окрашена в зеленый.

Как можно заметить, между структурами, определенными разными методами, есть некоторые различия. Стабильные участки белковых молекул, представленные  $\alpha$ -спиралями, хорошо сопоставимы. Однако некоторые неструктурированные участки у двух моделей несколько различаются.

На N-конце PCA-модели отсутствует несколько остатков (см. Рис. 2), что мне показалось странным, ведь ACP синтезируется в виде apo-формы, претерпевает посттрансляционные модификации (включая удаление N-концевого участка метионина), а затем в процессе

синтеза жирных кислот превращается в голо-форму. Информации по этому поводу я не нашла.

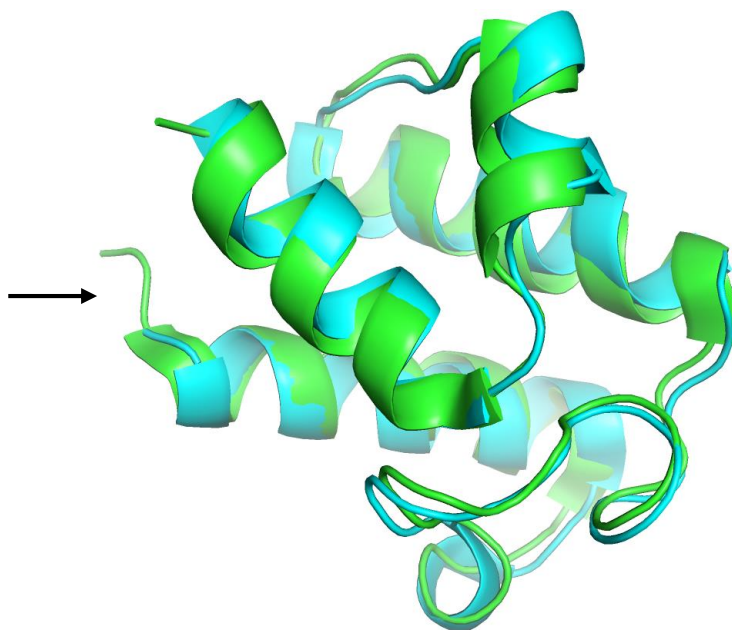


Рис. 2. Наложение PCA-модели (голубой) и ЯМР-модели (зеленый). Стрелкой указан N-конец

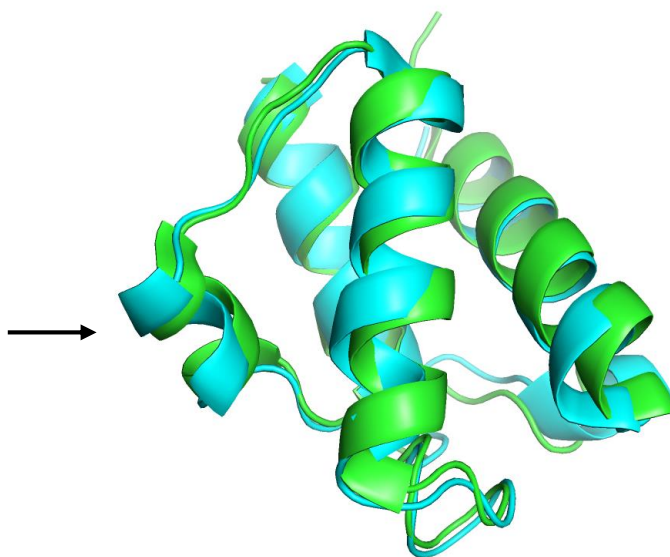


Рис. 3. Наложение PCA-модели (голубой) и ЯМР-модели (зеленый). Стрелкой указана  $\alpha$ -спираль III

Чтобы разместить внутри гидрофобного кармана 4'-фосфопантетеиновый (4'-PP) фрагмент,  $\alpha$ -спираль III выпячивается (см. Рис. 3). На изображении видно, что апо-форма (не связанная с 4'-PP), представленная PCA-моделью, менее структурирована в этой области, а значит, более подвижна. Голо-форма белка, представленная ЯМР-моделью, ковалентно связана с 4'-PP фрагментом, и белок в области  $\alpha$ -спирали III менее подвижен и, соответственно, более структурирован.

Аналогично можно рассуждать и об участке на N-конце белка в области остатка серина-40. Этот остаток ковалентно связывается с 4'-PP фрагментом, что делает белок в данном участке менее подвижным. Поэтому на ЯМР-модели (см. Рис. 4) на участке рядом с серином-40  $\alpha$ -спираль более протяженная, чем на PCA-модели.

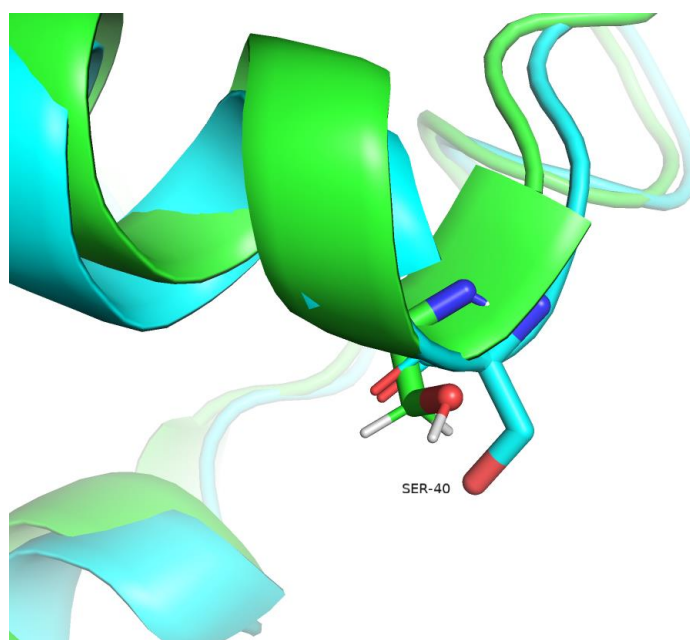


Рис. 4. Остаток серина-40 в одной из ЯМР-моделей и в PCA-модели

Отмечу еще, что из различий на уровне остатков можно назвать присутствие водородов на ЯМР-структуре, потому что в эксперименте снимают протонные спектры. В PCA-модели разрешение слишком низкое для того, чтобы в ней были различимы водороды (см. Рис. 4).

## Задание 2. RMSF

RMSF (Root Mean Square Fluctuation) – мера сходимости конформаций для ансамбля ЯМР. Необходимо проверить, в какой степени она может быть использована в качестве интерпретации подвижности остатков, и как она соответствует В-фактору PCA-модели.

Я построила график зависимости среднего В-фактора остатка в структуре PCA от RMSF в модели ЯМР (см. Рис. 5). Сопоставлялись остатки 3-80 ЯМР-структуры и остатки 1-78 цепи А PCA-структуры. Похоже, что есть тренд повышения RMSF с повышением В-фактора. Для надежности перепроверила, все ли остатки в структурах совпадают.

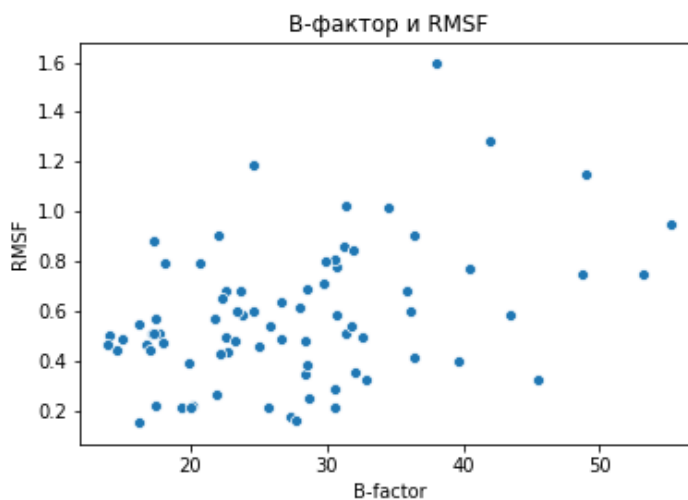


Рис. 5. Зависимость среднего В-фактора остатка в структуре PCA от RMSF в модели ЯМР

Также посчитала коэффициент корреляции Спирмана. Он оказался равен 0.331 при значении P-value 0.003. Это может говорить нам, что существует положительная монотонная зависимость между B-фактором и RMSF. Значит, данный ансамбль ЯМР-моделей можно принимать за отражение подвижности белка.

### Задание 3. Водородные связи

Выбрала три водородные связи в PCA-модели:

1. Между атомами остова в ядре белка (см. Рис. 6)

Водородная связь между остовным атомом O остатка Val-11 и N остатка Ile-15. Эти два остатка расположены в  $\alpha$ -спирали в ядре белка. Судя по представленности данной водородной связи во всех наборах ЯМР-модели (см. Табл. 1) и по ее положению в  $\alpha$ -спирали внутри белковой глобулы, эта связь в белке стабильна.

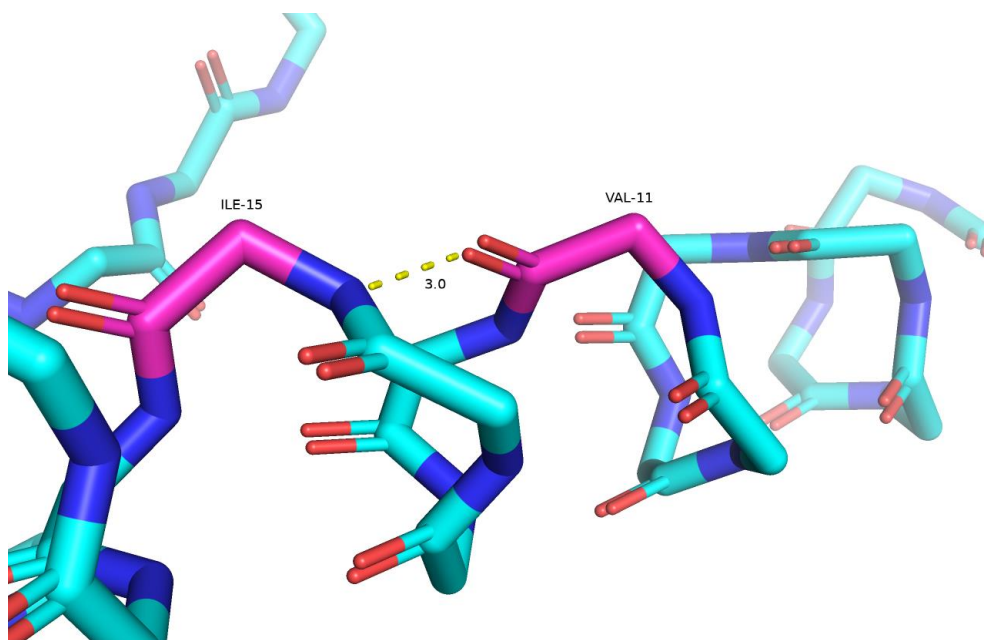


Рис. 6. Водородная связь между остовным O Val-11 и остовным N Ile-15

2. Между атомами боковых цепей в ядре белка (см. Рис. 7)

К сожалению, прямо в ядре белка не удалось найти водородных связей между атомами боковых цепей, поскольку ядро белка гидрофобно. Пришлось искать Н-связи ближе к поверхности белка. Нашлась связь между радикальными N-атомами Arg-4 и атомом O Ser-74. Эти остатки находятся на соседних  $\alpha$ -спиралях ближе к поверхности белка.

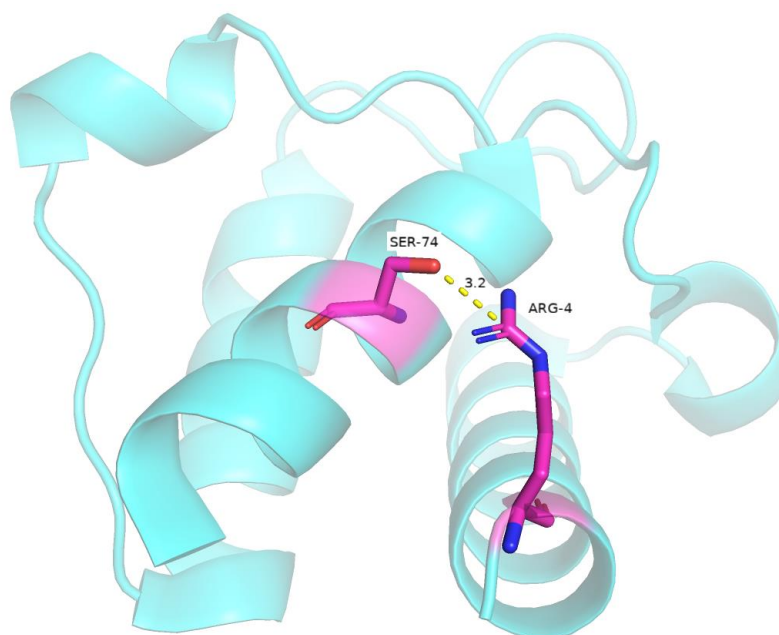


Рис. 7. Н-связь между атомом О бокового радикала Ser-74 и радикальными атомами N Arg-4

Помечу, что длина данной водородной связи для модели PCA высчитывалась, как минимальное расстояние от радикального О-атома Ser-74 до радикального N-атома Arg-4. Оно равно 2.7 Å (см. Табл.1)

Данная Н-связь представлена всего в 1 из 20 наборов ЯМР-структур (см. Табл. 1), поэтому можно считать ее нестабильной. Это может быть из-за того, что атомы боковых радикалов, образующие Н-связь, находятся близко к поверхности белка.

### 3. Между атомами в петлях, выходящих на поверхность глобулы (см. Рис. 8)

Нашла Н-связь между остовным атомом N остатка Gly-37 и остовным О остатка Ile-33. Остатки расположены в петле, выходящей на поверхность белка.

Данная Н-связь представлена во всех 20 наборах ЯМР-структур (см. Табл. 1), похоже, что она стабильна, даже несмотря на то, что находится на поверхности белка.

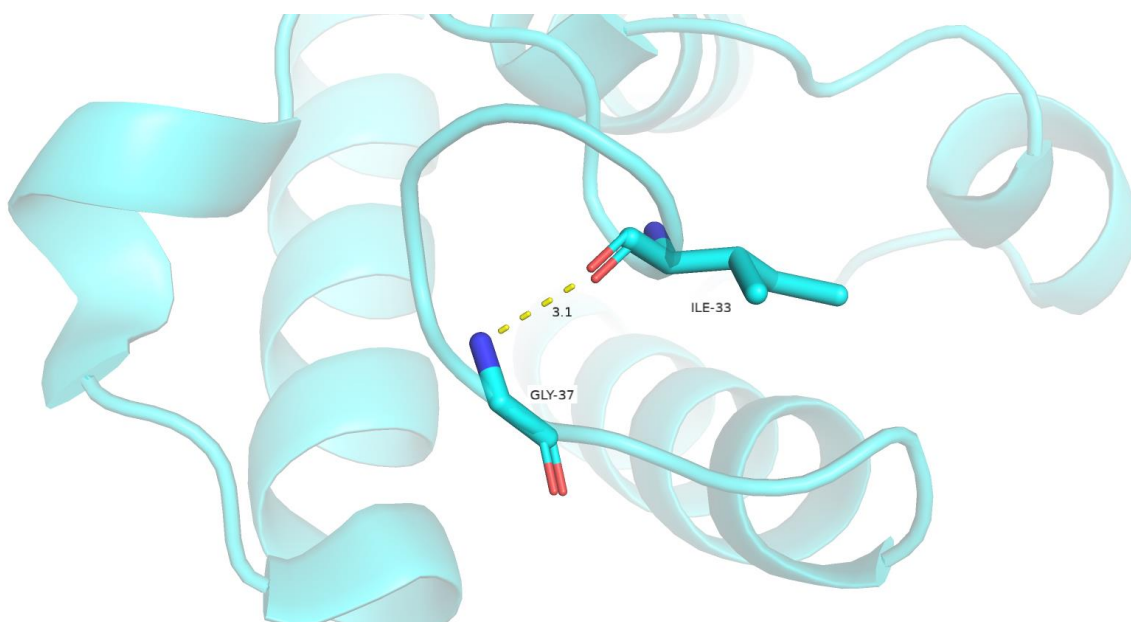


Рис. 8. Н-связь между остовным N Gly-37 и остовным О Ile-33

Табл. 1. Сравнение характеристик предположительных водородных связей в РСА-модели и в ЯМР-модели

№	Расстояние РСА, Å	Число ЯМР-моделей с Н-связью	% ЯМР-моделей с Н-связью	Мин. расстояние ЯМР, Å	Медианное расстояние ЯМР, Å	Макс. расстояние ЯМР, Å
1	3.0	20	100	3.075	3.195	3.272
2	2.7	1	5	3.493	5.462	6.695
3	3.1	20	100	2.908	2.935	2.970

## Источники

1. Lee, Yeongjoon & Jang, Ahjin & Jeong, Min-Cheol & Park, Nuri & Park, Jungwoo & Lee, Woo & Cheong, Chaejoon & Kim, Yangmee. (2020). Structural Characterization of an ACP from *Thermotoga maritima*: Insights into Hyperthermal Adaptation. *International Journal of Molecular Sciences*. 21. 2600. 10.3390/ijms21072600.