

Практикум 3. Альтернативные положения, В-фактор, кристалл

Задание 1

Здесь и далее рассматриваем структуру одной из бета-лактамаз из организма *Klebsiella pneumoniae* с PDB ID **6XD5**.

У аргинина-266 есть два альт-лока (А с заселённостью 0,52 и В с заселённостью 0,48). Сначала рассмотрим более заселенный альт-лок А и остатки, образующие с ним связи (рис. 1).

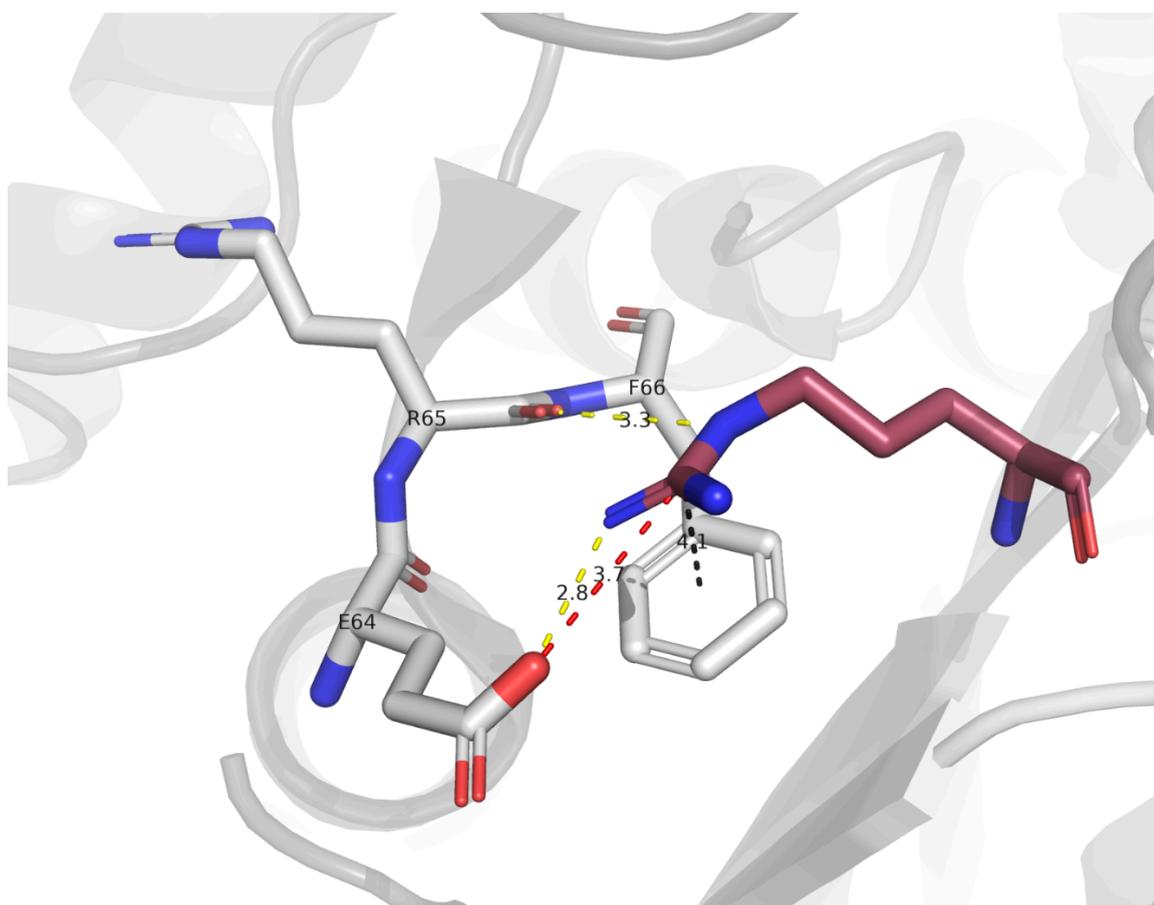


Рисунок 1. Взаимодействия бокового радикала аргинина 266 (бордовый) в альт-локе А. Красным показаны ионные взаимодействия, желтым - водородные связи, черным - пи-стекинг.

На рисунке 1 видно, что гуанидиновая группа аргинина в альт-локе А образует ряд благоприятных взаимодействий с соседними остатками белка. Во-первых, она формирует

стабильный пи-катионный стэкинг с фенилаланином. Это взаимодействие обусловлено одновременно положительным зарядом на гуанидиновой группе и параллельным расположением пи-систем аргинина и фенилаланина. Также положительно заряженная гуанидиновая группа оказывается рядом с отрицательно заряженной карбоксильной группой глутамата, образуя ионную связь, и формирует пару водородных связей (обе - как донор, так как находится в протонированном состоянии).

На рисунке 2 показаны взаимодействия аргинина в альт-локе В с окружающими остатками. Видно, что взаимодействия скромнее, чем для альт-лока А: все еще формируются 2 водородные связи. В теории может образовываться пи-катионный стэкинг с тирозином, но расстояние довольно большое (5.6 Å).

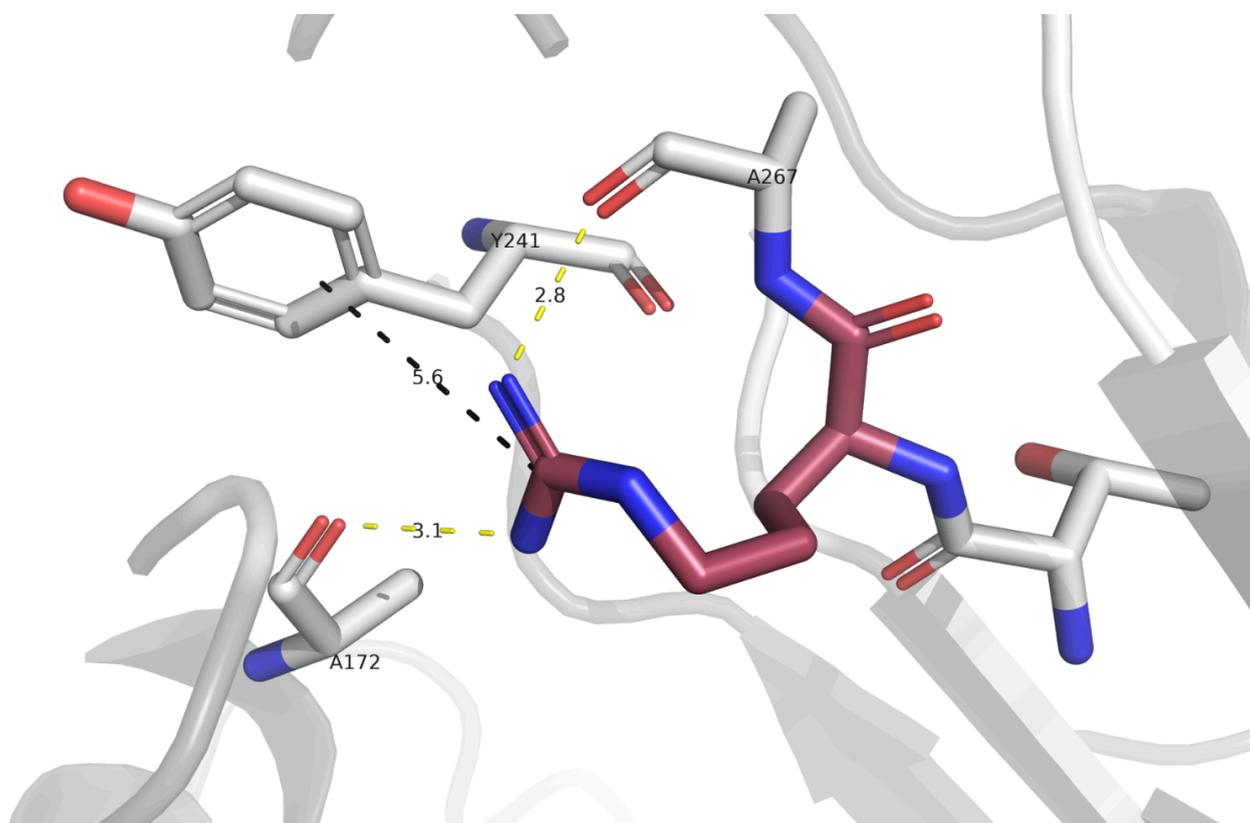


Рисунок 2. Взаимодействия бокового радикала аргинина 266 (бордовый) в альт-локе В. Красным показаны ионные взаимодействия, желтым - водородные связи, черным - пи-стекинг.

Таким образом, можно было бы ожидать значительного превалирования альт-лока А в кристалле, так как взаимодействия с окружающими остатками более сильные. По кристаллографическим данным, он реально превалирует, но незначительно.

Задание 2

В-фактор, или фактор температурного смещения, является показателем степени размазанности электронной плотности вокруг атома в белковой структуре. Он отражает колебания атома вокруг своего среднего положения, которые могут быть обусловлены его тепловым движением, гибкостью белка, а также взаимодействием с окружающей средой.

Ожидается, что значения В-фактора будут выше в тех участках белка, где атомы более подвижны. Например, концы белковой цепи и выступающие в растворитель петли, как правило, обладают более высокой подвижностью. В то же время, гидрофобное ядро белка и устойчивые элементы вторичной структуры, такие как α -спирали и β -листы, характеризуются более низкими значениями В-фактора, что говорит о их стабильности.

Посмотрим на распределение В-фактора по атомам остова той же бета-лактамазы, чтобы убедиться в соответствии этого предположения с реальностью (рис. 3).

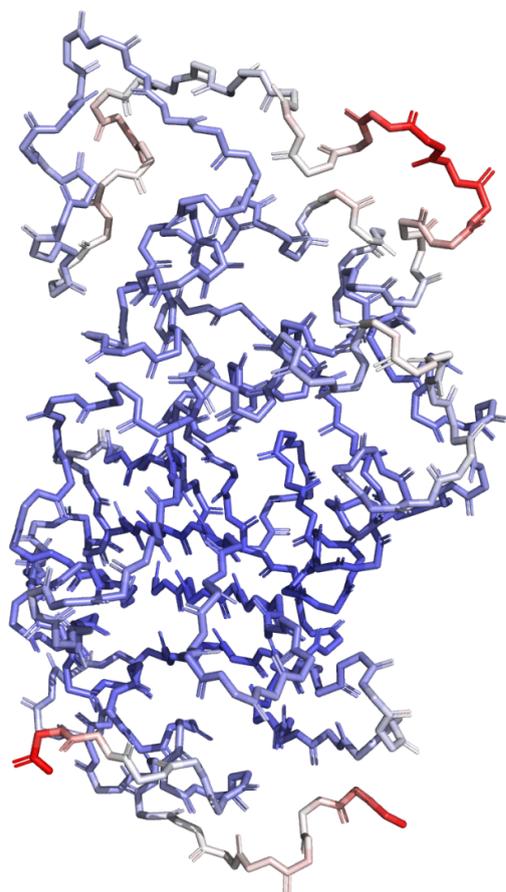
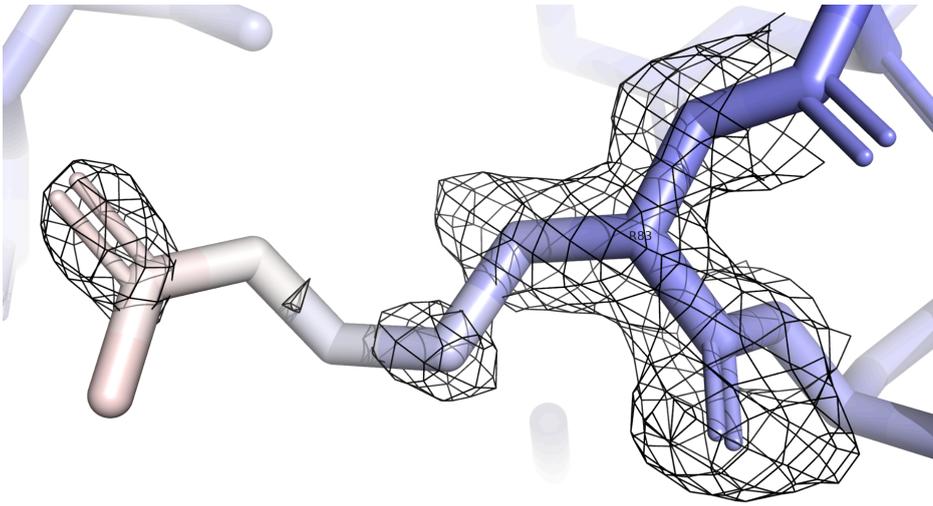


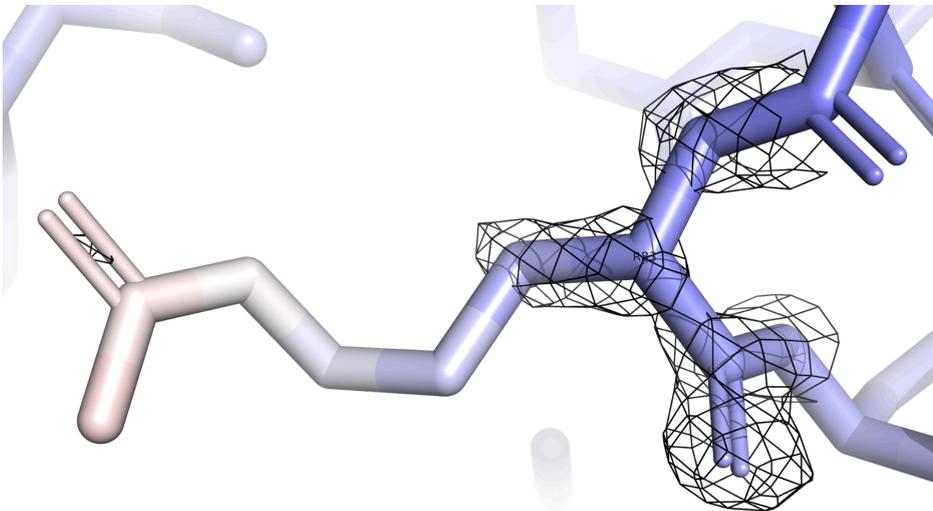
Рисунок 3. В-фактор остовных атомов (красный - высокий, синий - низкий).

Из рисунка 3 видно, что в целом гипотеза подтверждается: ядро белка из альфа-спиралей окрасилось в синий, в то время как петли на краях белка - в красный.

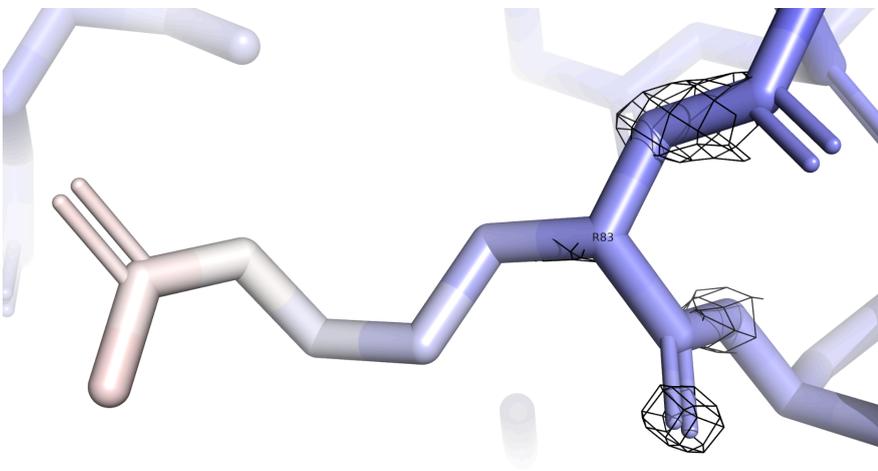
Рассмотрим теперь боковую цепь одного из выступающих в растворитель остатков аргинина-88 (рис. 3-4). В-фактор уменьшается от остова к концу боковой цепи. Это объясняется тем, что чем дальше атом от остова, тем меньше он зафиксирован, и тем больше погрешность при определении его координат. Также чем дальше атом от остова, тем раньше он перестаёт быть покрыт электронной плотностью, что объясняется тем же эффектом - у более подвижных атомов сильнее размазывается в пространстве электронная плотность.



$(\sigma) = 1$, carve = 1.5



$(\sigma) = 2$, carve = 1.5



$(\sigma) = 3$, carve = 1.5

Рисунок 4. боковая цепь аргинина, окрашенная по В-фактору (красный - высокий, синий - низкий) с отображением электронной плотности с $\sigma_{\text{cut}} = 1.3$ и уровнями подрезки 1 (верхняя), 2 (средняя) и 3 (нижняя).

Задание 3

Далее была рассмотрена кристаллическая решетка белка и его ближайшее окружение. Кристаллическая решетка была рассмотрена на расстоянии 50 Å от исходной структуры. Далее было рассмотрено ближайшее окружение на расстоянии 5 Å от исходной структуры. Видно, что структура взаимодействует с 11-ю другими структурами в кристаллической решетке.

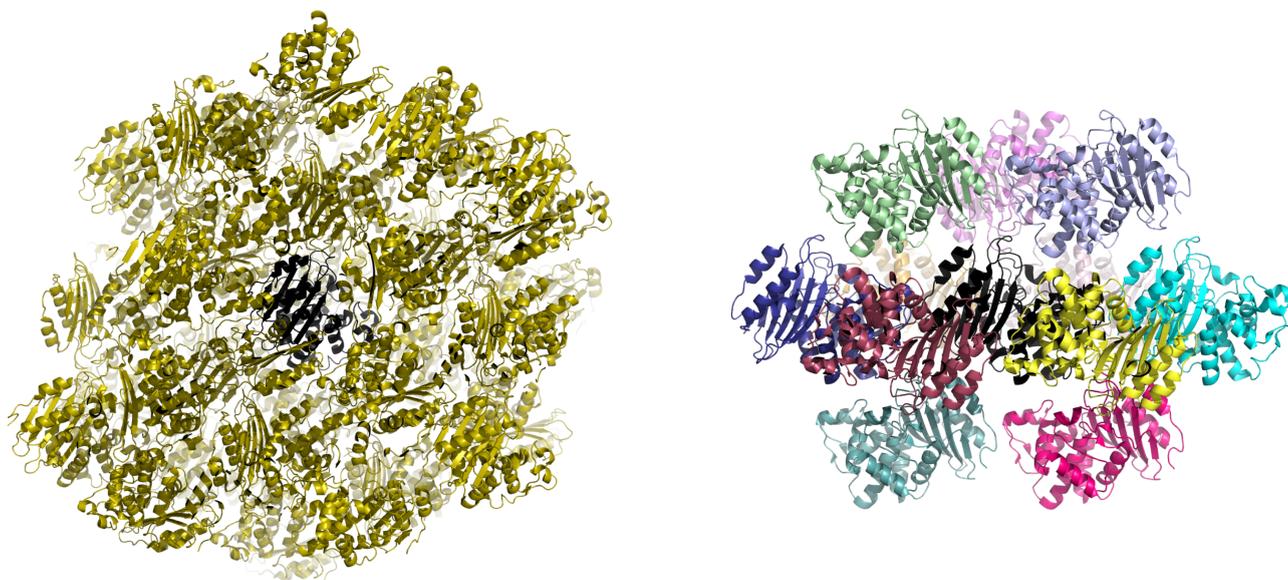


Рисунок 5. Организация кристалла белка. Слева– общий вид, справа– ближайшее окружение.

Ссылки на сессии Rmol всех заданий: [тут](#)

Задание 4

Здесь мы исследовали интерфейсы контактов между отдельными молекулами белка. Как можно было видеть на рисунке 5 выше, всего каждую молекулу белка окружает 11 других, соответственно, так как белки в кристалле расположены не в одинаковом положении, придется рассмотреть 11 уникальных зон контакта. Для этого я рассмотрела все остатки на расстоянии 6 ангстрем от исходного белка и вручную изучила, могут ли они взаимодействовать. Среди одиннадцати соседей, которые потенциально контактируют с исходным белком, было найдено восемь уникальных контактов, они приведены на рисунках ниже.

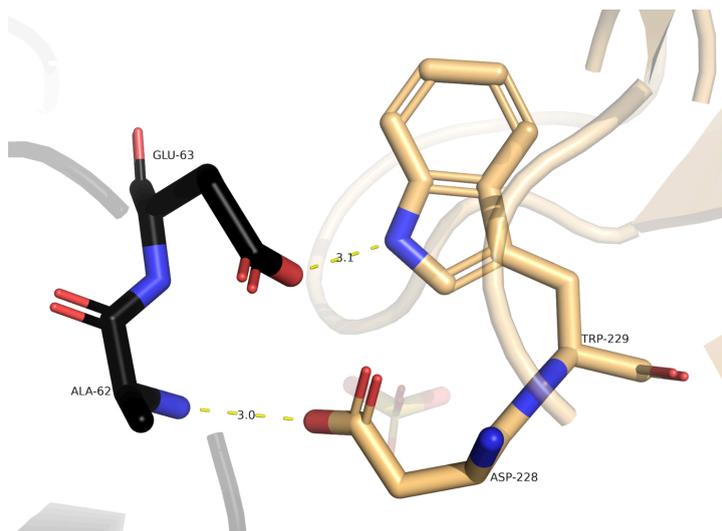
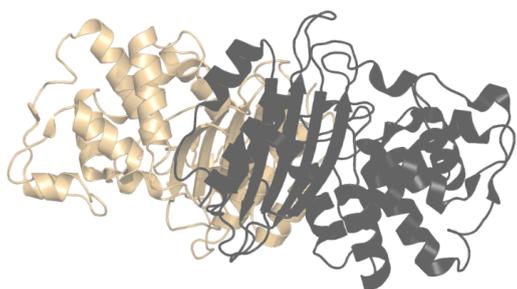


Рисунок 6. Группа соседей 1 и взаимодействия между ними. Черным показан исходный белок, цветным - соседи.

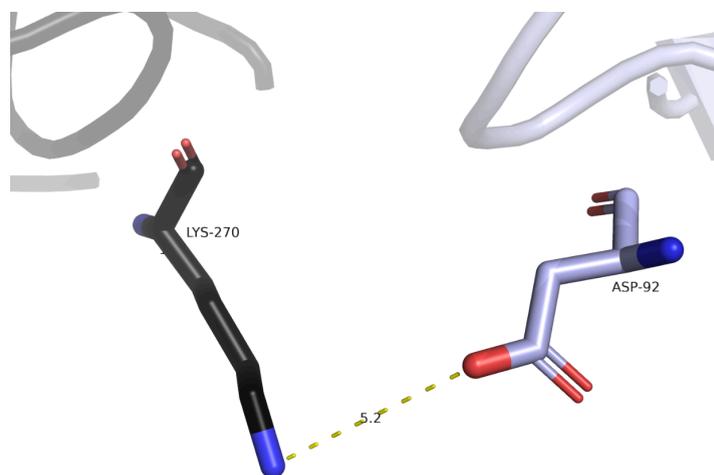
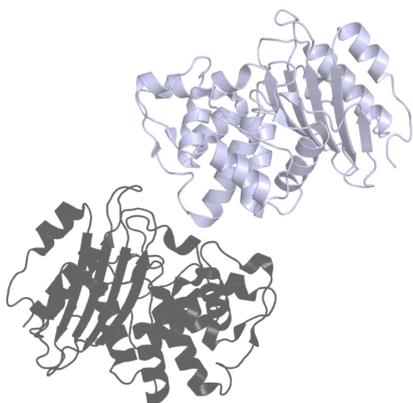


Рисунок 7. Группа соседей 2 и взаимодействия между ними

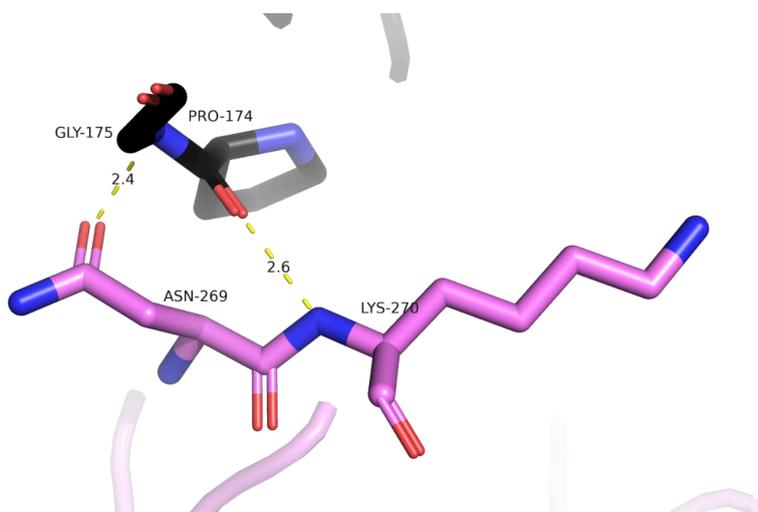
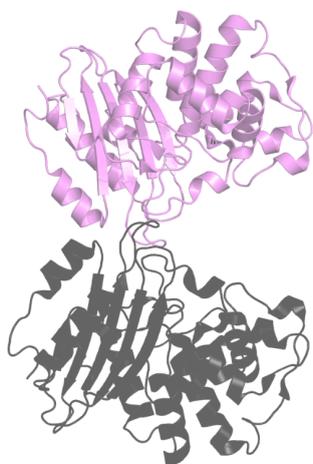


Рисунок 8. Группа соседей 3 и взаимодействия между ними

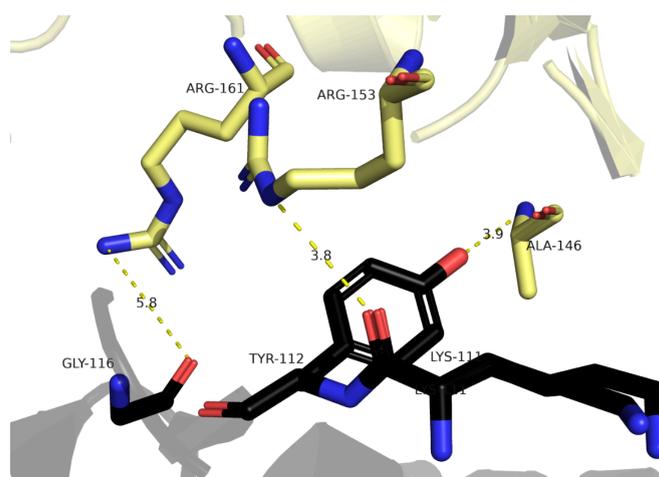
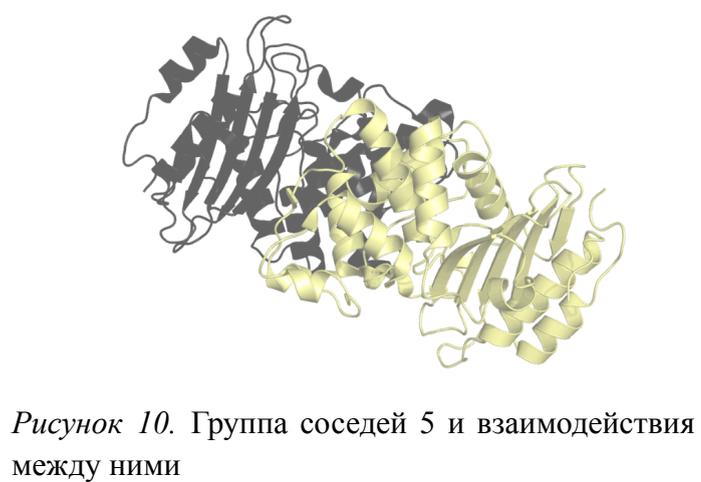
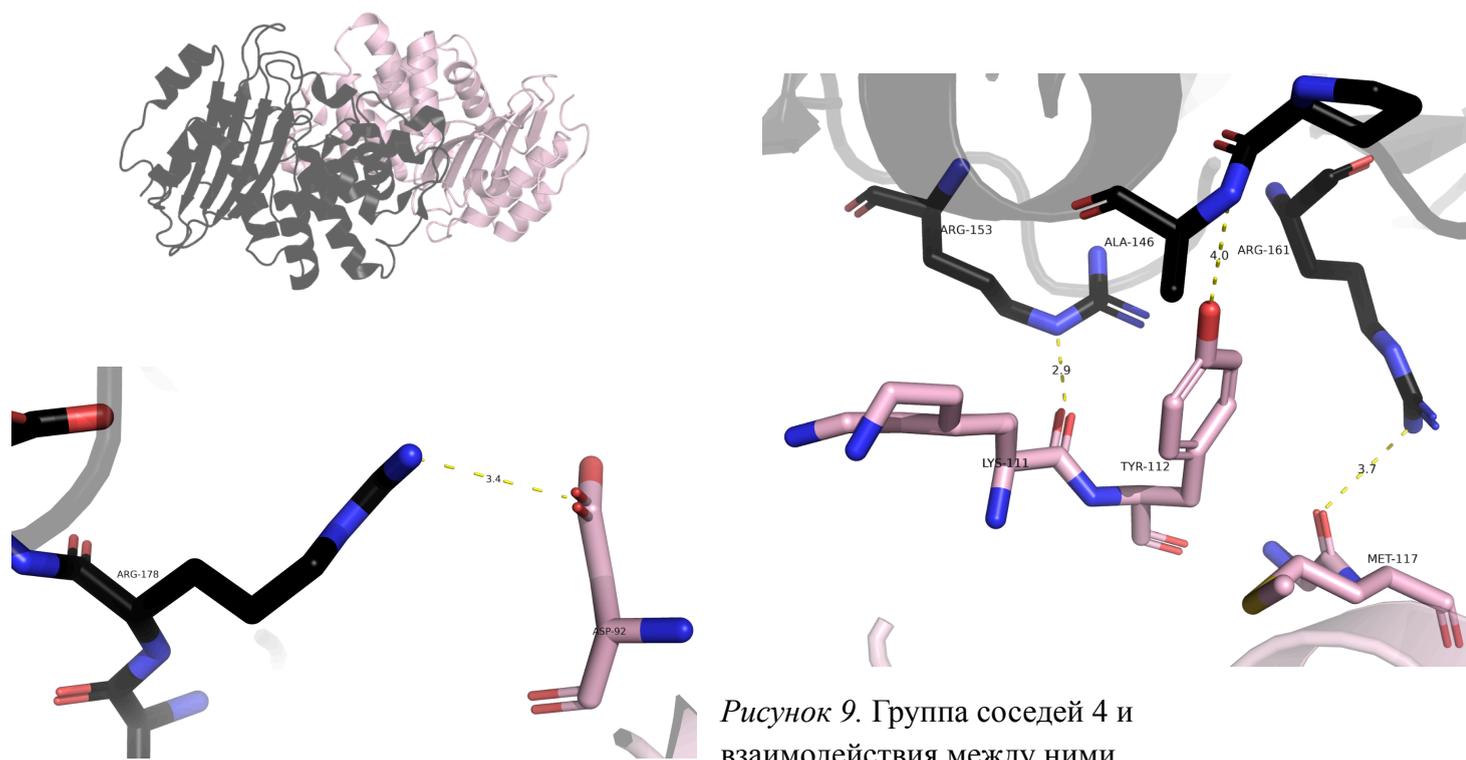


Рисунок 11. Группа соседей 6 и взаимодействия между ними

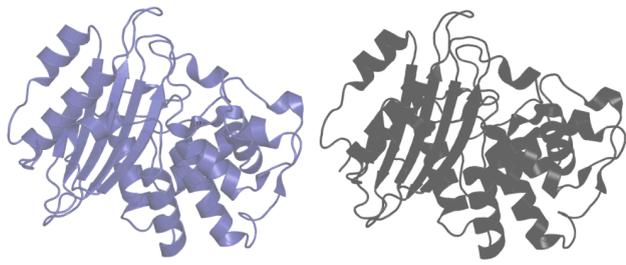


Рисунок 12. Группа соседей 7 и взаимодействия между ними

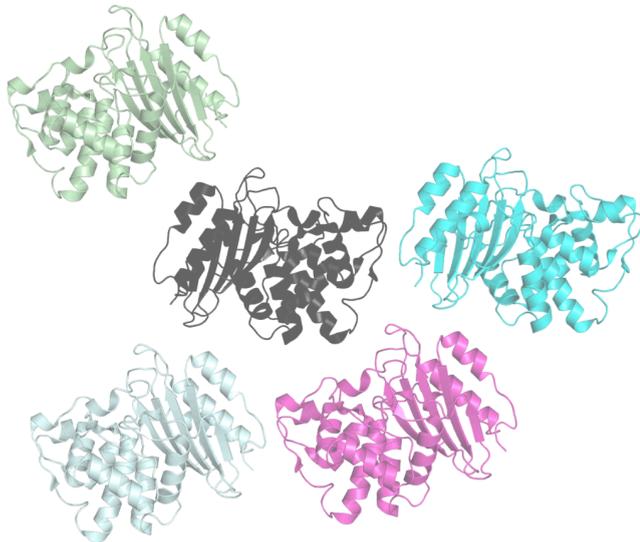
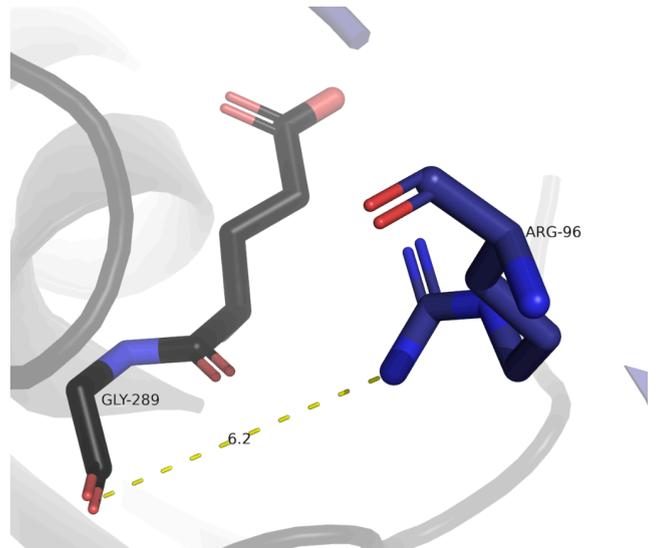


Рисунок 13. Группы соседей 8, 9, 10, 11. Взаимодействия на расстоянии в пределах 6 ангстрем не найдены.

Анализ всех наблюдаемых зон контакта в кристаллической структуре позволяет сделать вывод о ее невысокой стабильности. Несмотря на наличие зон с довольно большим количеством взаимодействий, как показано на рисунках 9-10, существуют пары соседних с исходным белком молекул, между которыми не было обнаружено никаких возможных взаимодействий на расстоянии 6 ангстрем.

Важно отметить, что контакты в кристалле не всегда точно отражают природные взаимодействия этих белков в растворе при ди- или олигомеризации. Это связано с тем, что кристаллизация белков происходит в искусственных условиях, которые отличаются от физиологических. Кроме того, образование функционально значимых димеров или олигомеров для рассматриваемого белка в природных условиях не было экспериментально подтверждено [1].

Тем не менее, наличие значительного количества связей в зонах контакта, показанных на рисунках 6 и 8, может свидетельствовать о том, что подобные комплексы могут формироваться и в физиологических условиях при определенных факторах, например, при специфическом рН.

Достаточно высокое рН может обеспечить необходимую степень протонирования аминокислотных остатков для образования водородных связей. Кроме того, высокая концентрация белка в растворе также может способствовать формированию комплексов, поскольку увеличивает вероятность столкновений между молекулами.

[Ссылка на сессию PyMol](#)

Литература

- [1] R. P. D. Bank, "RCSB PDB - 6XD5: Apo KPC-2 N170A mutant at 1.20 Å." Accessed: Nov. 08, 2024. [Online]. Available: <https://www.rcsb.org/structure/6XD5>