

Практикум 3

В этом практикуме нам необходимо было оценить влияние лиганда на стабильность воздействующих с ним частей белковой последовательности. Воспользуемся сначала нашими глазами, а когда поймём, что они работают плохо, обратимся к вычислительным способностям компьютеров.

Задание 1 - оцениваем на глазок

В данном задании мы анализируем структуры 5KKA и 2PWZ. 5KKA - это структура малат-дегидрогеназы *E.coli* в комплексе со своим ингибитором 6DHNAD, а 2PWZ - свободная форма фермента.

Покрасим находящиеся вблизи (меньше 5Å) ингибитора аминокислоты по В-фактору.

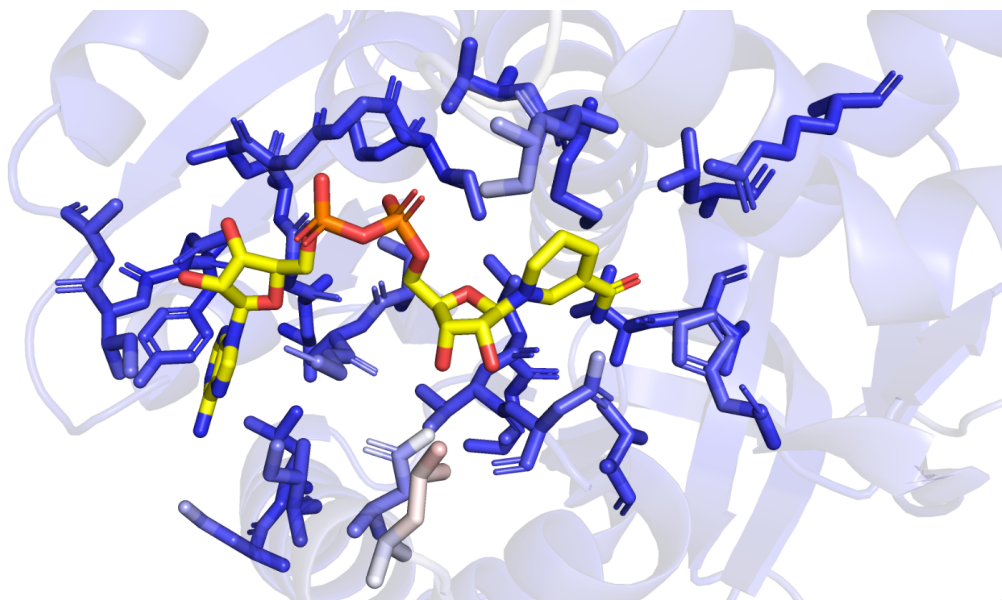


Рис.1. Лиганд (покрашен жёлтым) и окружающие его аминокислотные остатки, покрашенные по В-фактору.

После этого определим номера аминокислот вблизи лиганда, и покрасим их же в свободной форме фермента, чтобы определить, меняется ли значение В-фактора.

Номера аминокислот:

90,94,97,100,101,117,118,119,121,146,147,149,116,153,222,223,224,6,7,8,9,33,34,35,36,227,10,11,12,76,77,78,177 (итого 33 штуки)

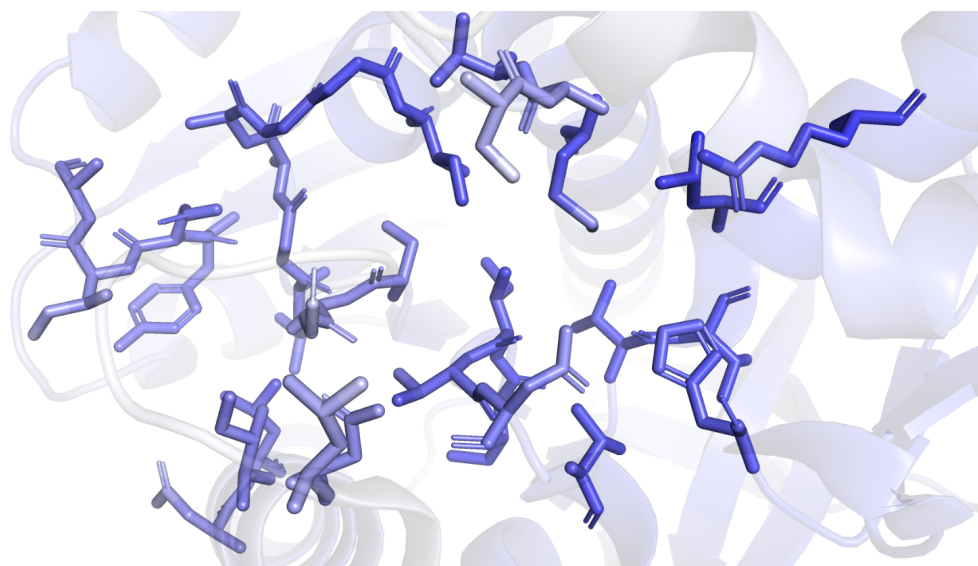


Рис.2. Окружающие аминокислоты в модели белка без лиганда, покрашенные по В-фактору

Видно, что:

- Положение аминокислот если и изменилось, то несильно. По крайней мере, на глаз этого определить нельзя.
- В-фактор аминокислот в свободном состоянии в среднем чуть выше, чем в связанном с ингибитором. Это может свидетельствовать о том, что аминокислотные остатки лучше фиксируются на своём месте, когда связаны с ингибитором.

Задание 2 – пользуемся компьютером

В-фактор, конечно, мог увеличиться, но вполне вероятно, что у автора данного отчёта просто дальтонизм, и он не различает оттенки синего. Поэтому попробуем подтвердить наши догадки вычислениями.

Для сравнения В-факторов между образцами значения В-факторов были преобразованы в z-score, то есть нормализованы и стандартизованы.

[Ссылка на Google Colab](#)

Получили вот такой график

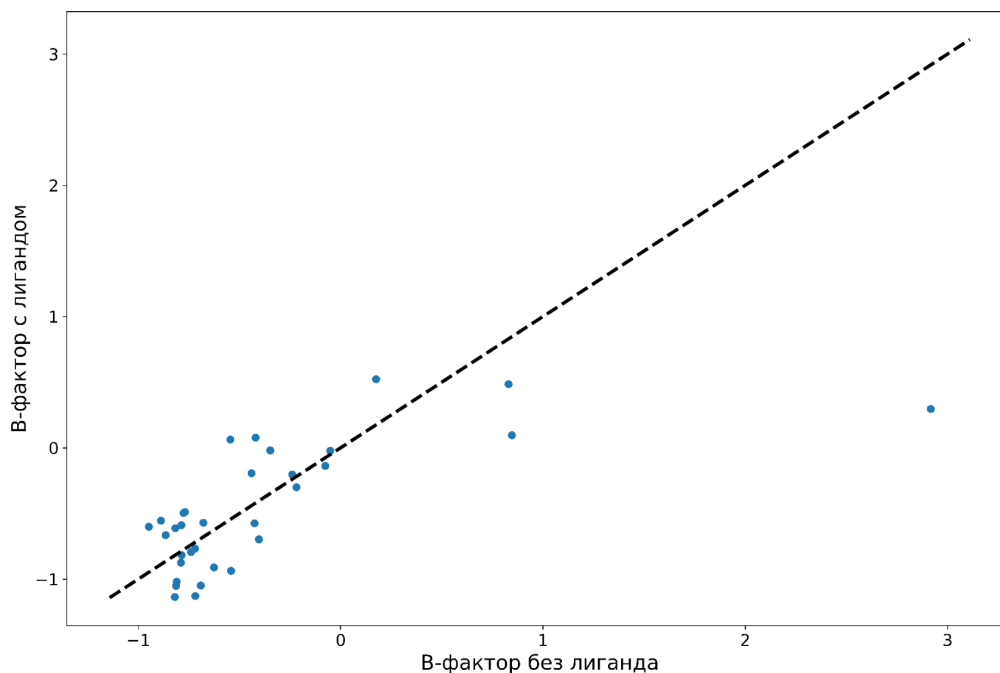


Рис.3. Scatter plot значений B-фактора а.о. остатков в свободной форме и связанной с лигандом форме.

Пунктиром обозначен график функций $y=x$, если точки лежат ниже пунктирной линии, значит, значение B-фактора данного аминокислотного остатка уменьшается при его связывании с лигандом.

Если же точка лежит выше линии, то значение её B-фактора увеличивается.

Можно видеть, что не у всех остатков снижается B-фактор при связывании молекулы с лигандом. Однако скопление точек в нижнем левом углу говорит о том, что участок связывания с лигандом и так был достаточно стабилен, поэтому изменения его подвижности незначительны, т.к. все точки расположены близко к линии $y=x$.

В то же время на графике можно наблюдать аминокислотный остаток, который весьма значительно стабилизируется при связывании с лигандом (без лиганда B-фактор приблизительно равен 3, в связанном состоянии - примерно 0.5). Данным остатком является 36ой аланин (ALA' 36). Интересно.

Сессия PyMol

Сессию PyMol можно скачать по [этой ссылке](#)