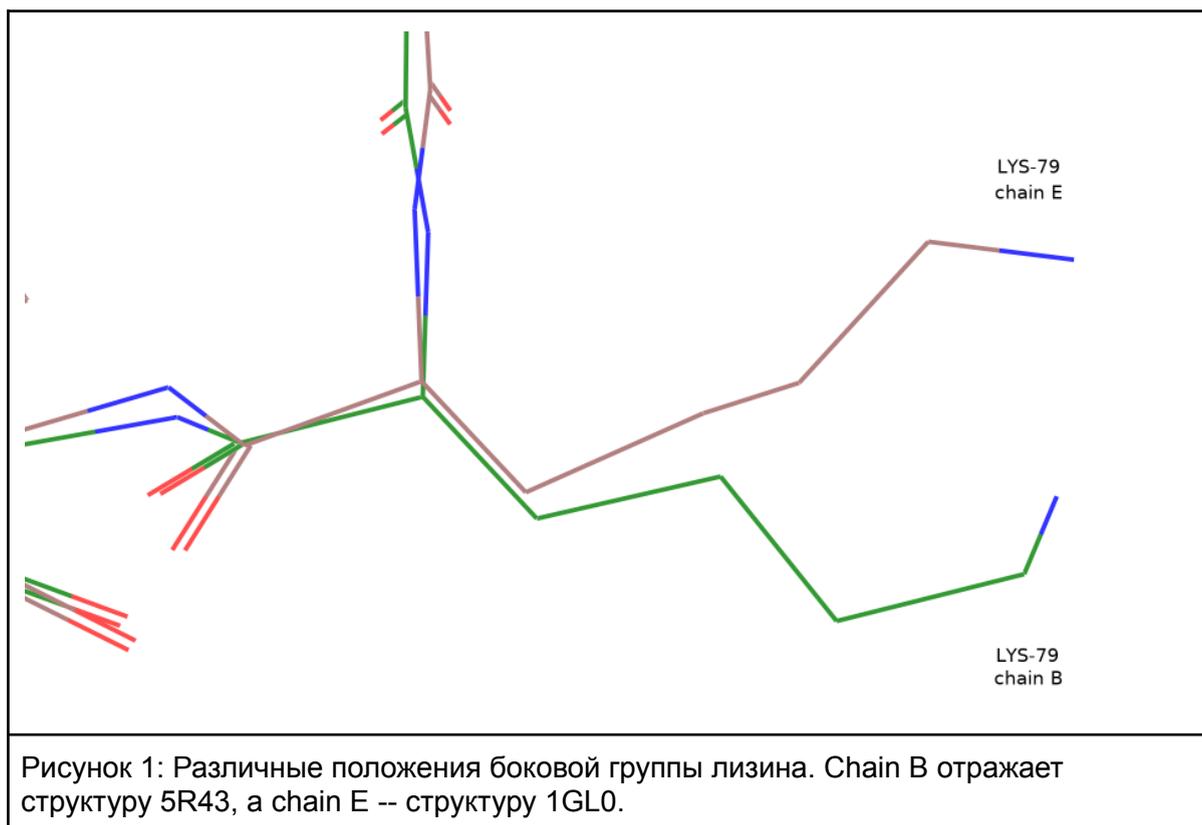


## Задание 1: качество расшифровки

В данном задании было необходимо посмотреть на карты электронной плотности различного качества для одного и того же белка -- химотрипсина. Химотрипсин является сериновой протеазой панкреатического сока и участвует в процессе расщепления белков, гидролизуя связи перед крупными гидрофобными аминокислотами (фенилаланин, тирозин, триптофан). Как и многие другие ферменты панкреатического сока, химотрипсин синтезируется в неактивном виде (химотрипсиноген), который активируется трипсином. В результате активации происходит расщепление пептидной связи между 15 и 16 аминокислотами, что приводит к формированию карманов активного центра. Химотрипсин способен также активировать химотрипсиноген, внося разрывы между остатками 14-15, 146-147 и 148-149.

Рассмотрим две кристаллографические расшифровки  $\alpha$ -химотрипсина. Крупных различий между белковыми структурами, связанных с качеством полученных моделей, не наблюдается, однако в структурах немного различается положение белковых остовов и некоторых боковых групп аминокислот.



Обусловлены ли эти различия именно качеством полученных расшифровок? Посмотрим на карту электронной плотности на этом остатке.

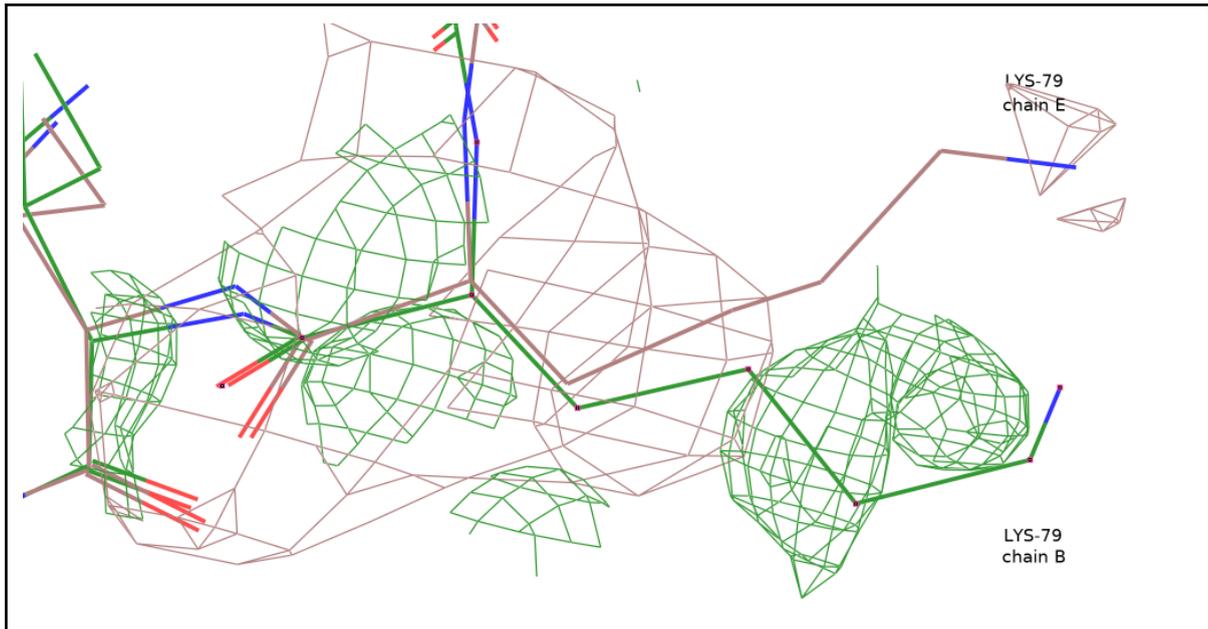


Рисунок 2: Электронная плотность на остатке Lys79 в двух расшифровках. Chain B отражает структуру 5R43, а chain E -- структуру 1GL0. Уровень подрезки -- 0.5, carve -- 1.5.

Для данного аминокислотного остатка мы не наблюдаем хорошего разрешения электронной плотности ни на одной из структур, что может отражать высокую подвижность данной боковой цепи. Видимо, такое разное положение цепи в двух структурах не связано со средним качеством расшифровки белка.

Также стоит отметить, что в структуре 5R43 мы наблюдаем два разрыва белковой цепи.

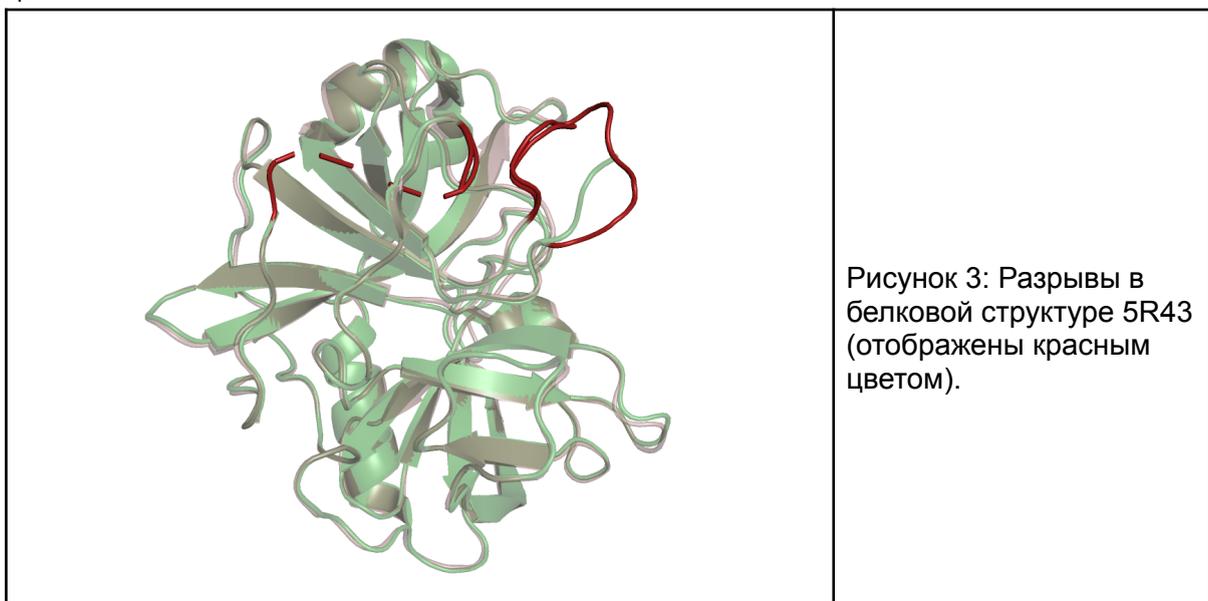


Рисунок 3: Разрывы в белковой структуре 5R43 (отображены красным цветом).

Стоит отметить, что один из них располагается непосредственно между аминокислотными остатками 145 и 149 и, скорее всего, является не следствием

недостаточно хорошей расшифровки данного участка, а следствием протеолитического расщепления.

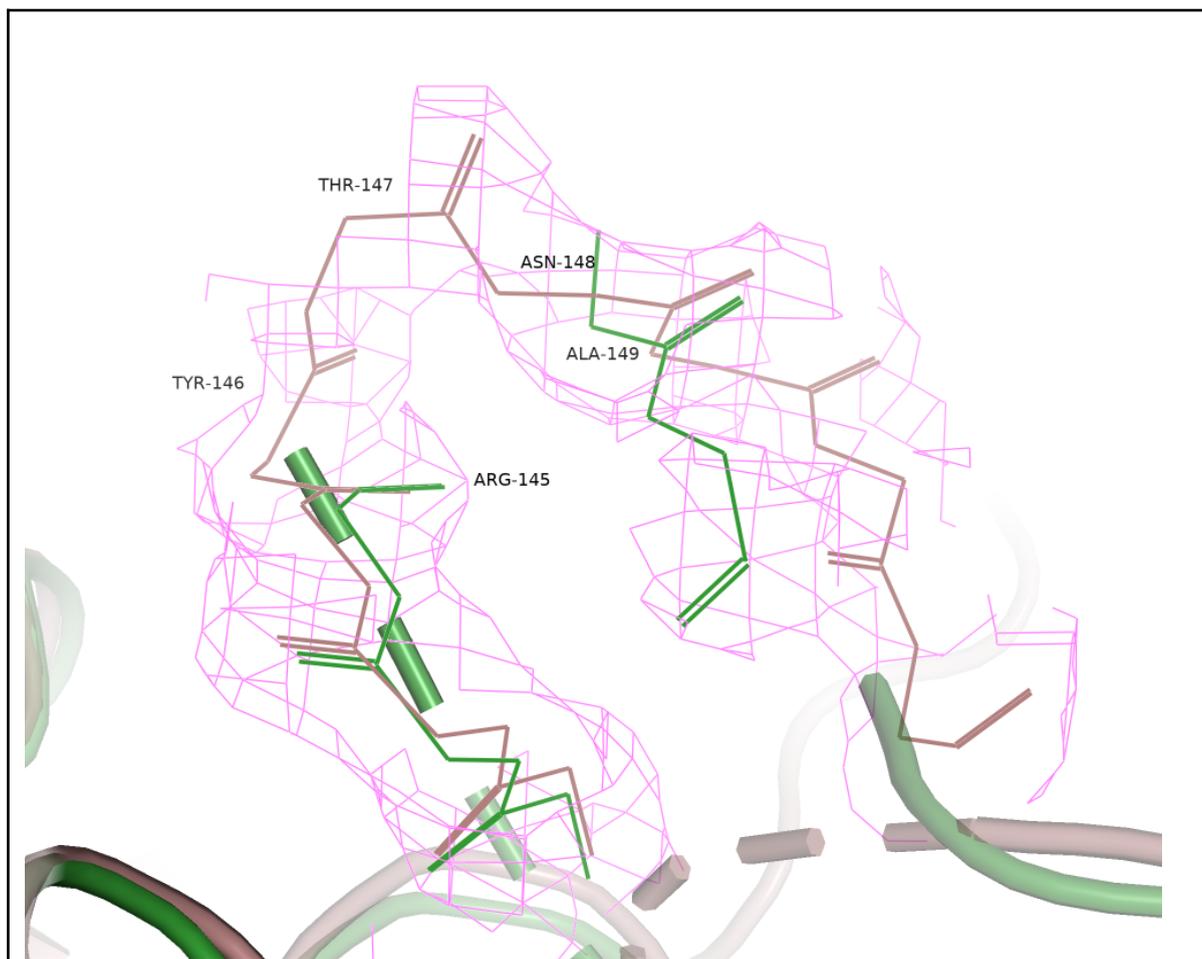


Рисунок 4: Карта электронной плотности вокруг остова аминокислотных остатков 145-149. Розовым цветом показана электронная плотность из структуры 1GL0, электронная плотность для структуры 5R43 на данном участке не отображается для любого уровня подрезки и *carve*. Уровень подрезки -- 0.5, *carve* -- 1.5.

Стоит отметить, что в случае протеолитического расщепления мы ожидали бы увидеть аминокислотный остаток 146, однако в структуре 5R43 он не отображен. Это может быть связано с плохим качеством расшифровки данного участка, что может быть в свою очередь обусловлено высокой подвижностью данных аминокислот в отличие от фермента, в котором данное протеолитическое расщепление не происходит (1GL0). В данном случае почти все атомы остова покрыты электронной плотностью.

Оценим качество расшифровки исходя из карты распределения электронной плотности остова молекулы на участке 35-38.

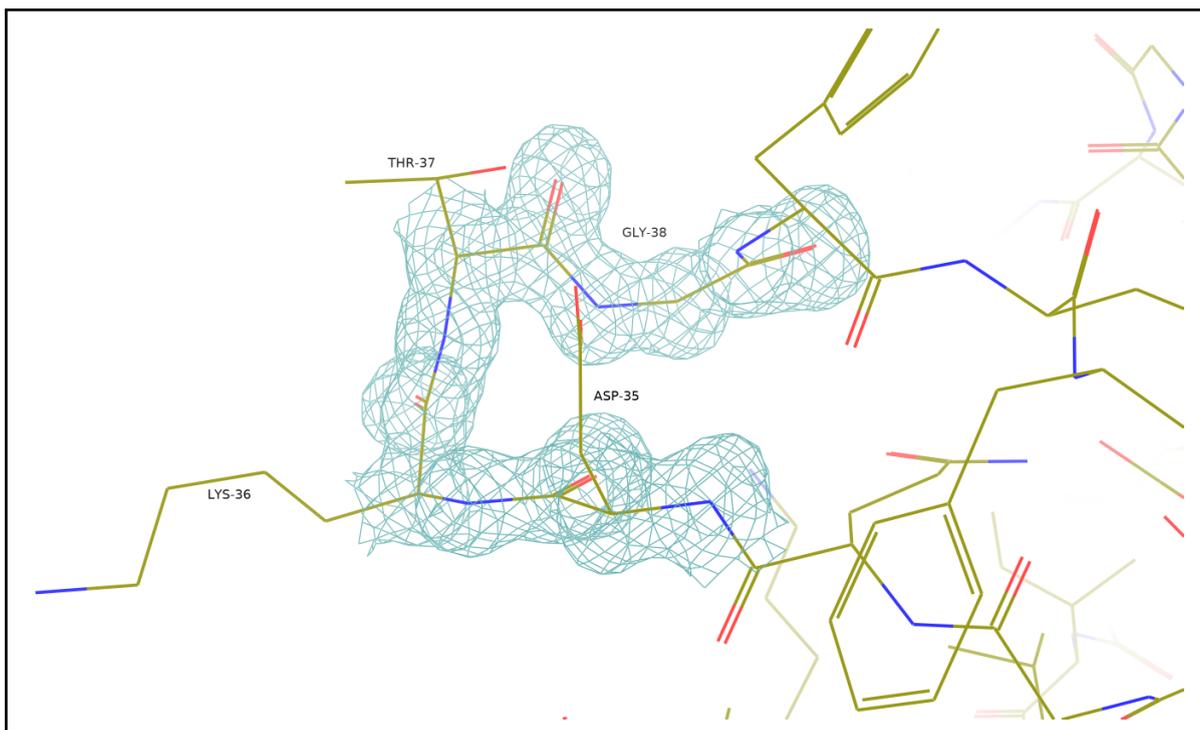


Рисунок 5: Карта электронной плотности на участке 35-38 для структуры 5R43. Уровень подрезки -- 1,  $\sigma$ cut -- 1.3.

В структуре 5R43 каждый атом белкового остова покрыт участками электронной плотности, которая имеет вид оформленных сфер.

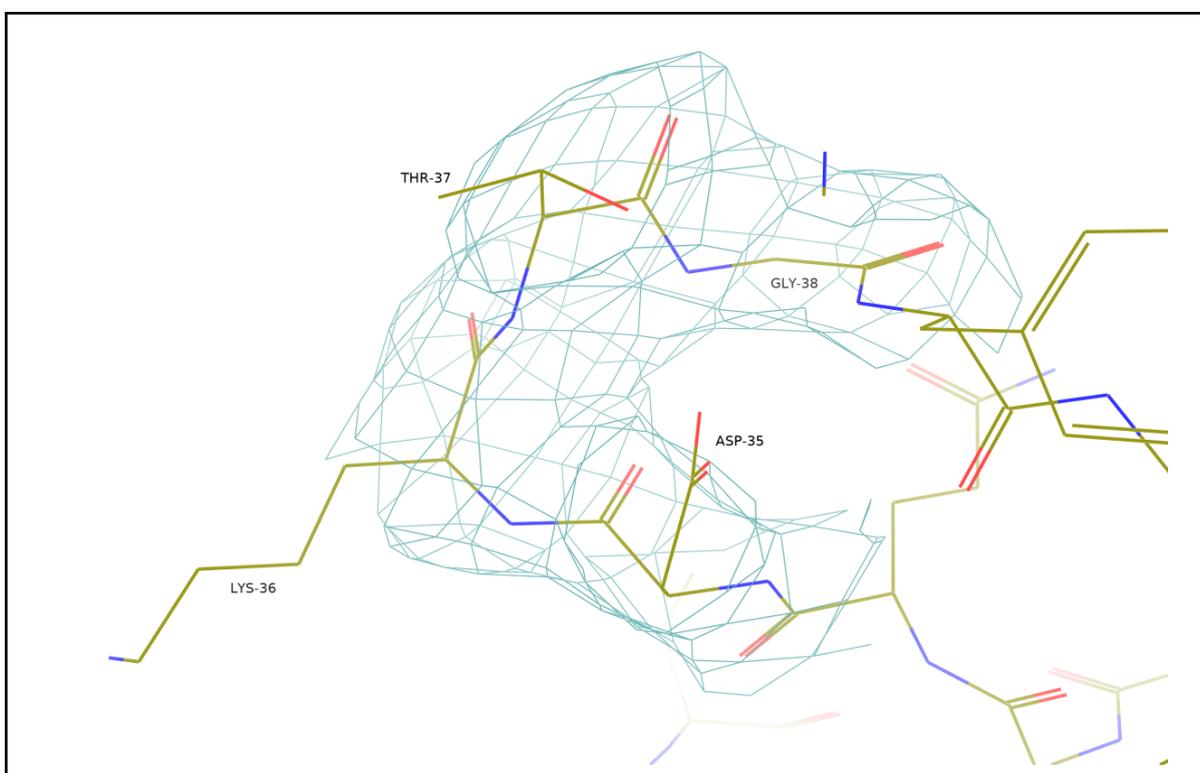


Рисунок 5: Карта электронной плотности на участке 35-38 для структуры 1GL0. Уровень подрезки -- 1,  $\sigma$ cut -- 2.

В данной структуре электронная плотность также покрывает все атомы остова, но является очень “размазанной” и не концентрируется вокруг атомов.

Это позволяет сказать, что структура 5R43 является более хорошо разрешенной в целом по сравнению со структурой 1GL0 (предполагаемое качество для 1GL0:  $\sim 3\text{\AA}$ , для 5R43:  $< 1.5\text{\AA}$ ), однако качество расшифровки отдельных участков в структуре 5R43 либо совпадает с качеством расшифровки 1GL0, либо имеет худшее качество.

Разрешение для 5R43:  $1.00\text{\AA}$

Разрешение для 1GL0:  $3.00\text{\AA}$

Разрешения совпадают с нашими предположениями.

## Задание 2: Электронная плотность и положение в структуре

В дальнейшем было необходимо установить, связано ли качество расшифровки отдельных групп белкового остова с их “положением” в белковой структуре.

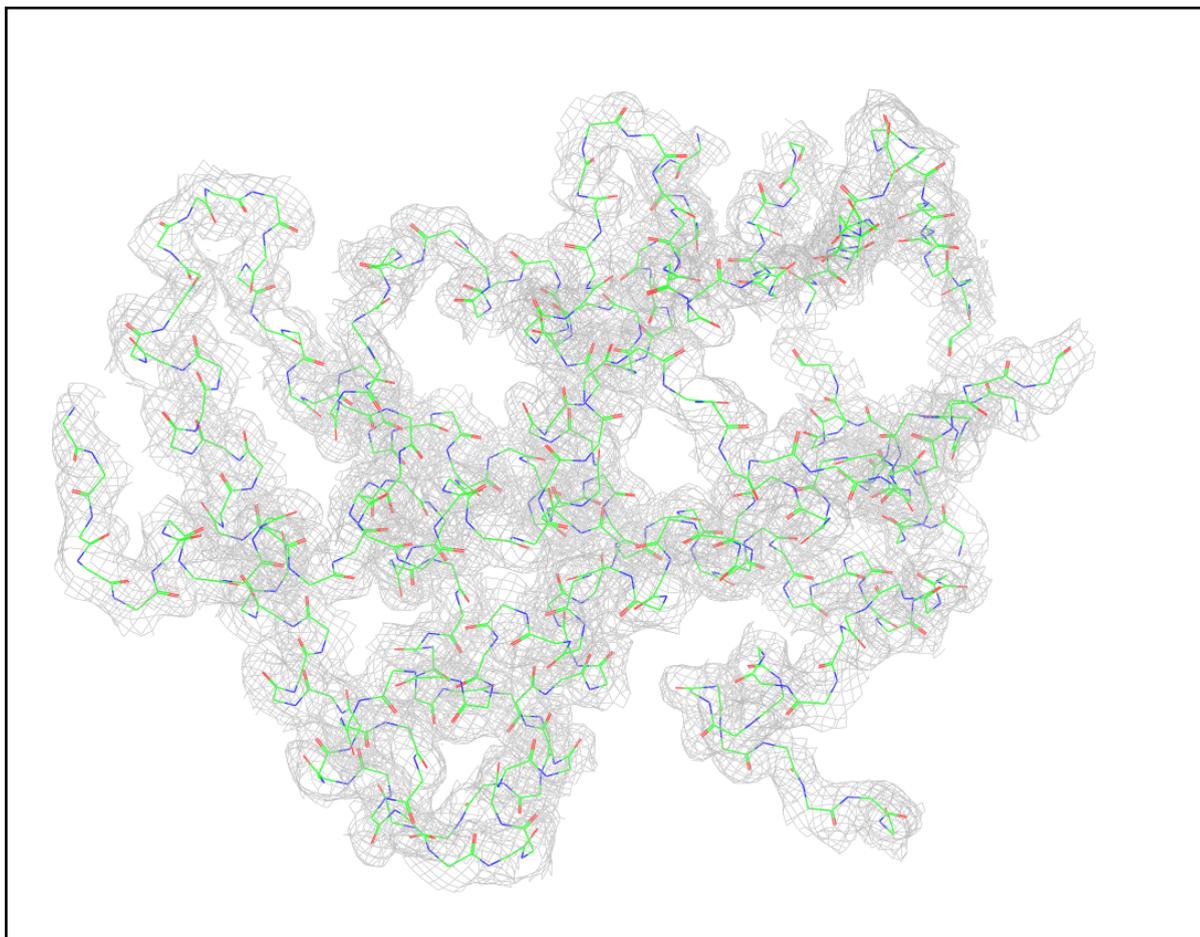


Рисунок 6: Карта электронной плотности белкового остова для структуры 7AXC. Уровень подрезки -- 0.5, carve -- 1.5.

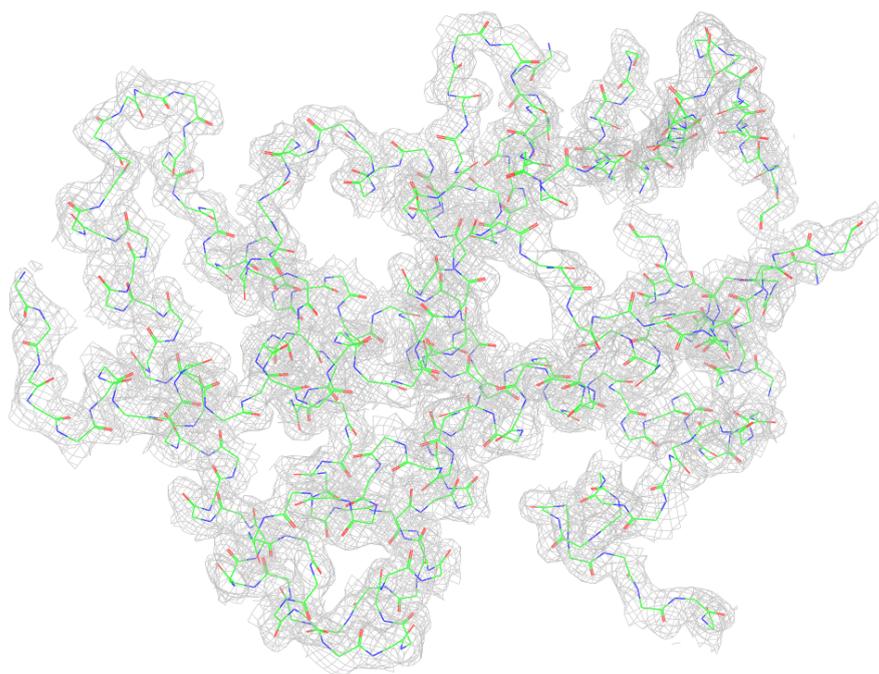


Рисунок 7: Карта электронной плотности белкового остова для структуры 7AXC. Уровень подрезки -- 1, carve -- 1.5.

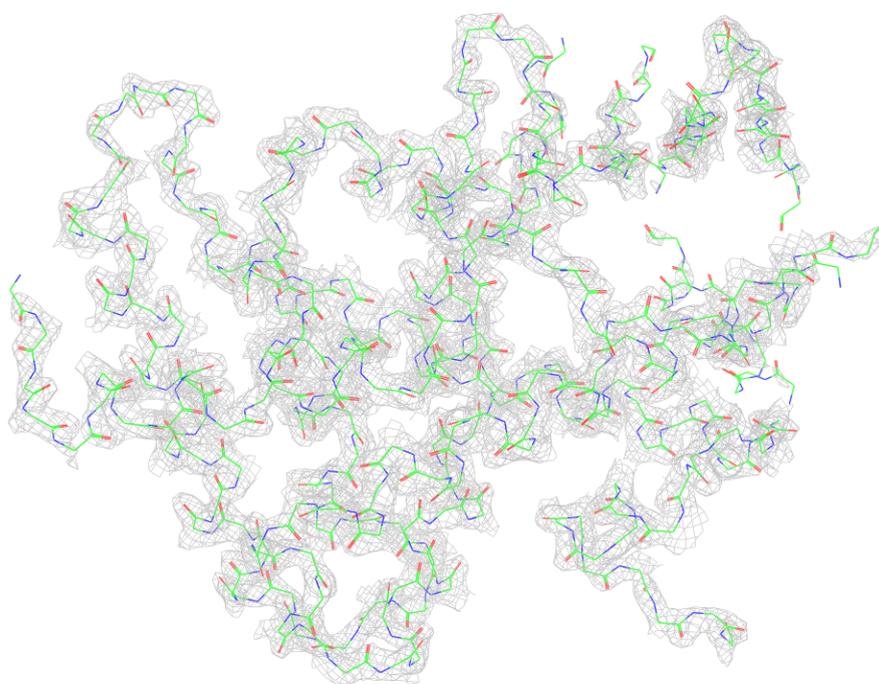


Рисунок 8: Карта электронной плотности белкового остова для структуры 7AXC. Уровень подрезки -- 2, carve -- 1.5.

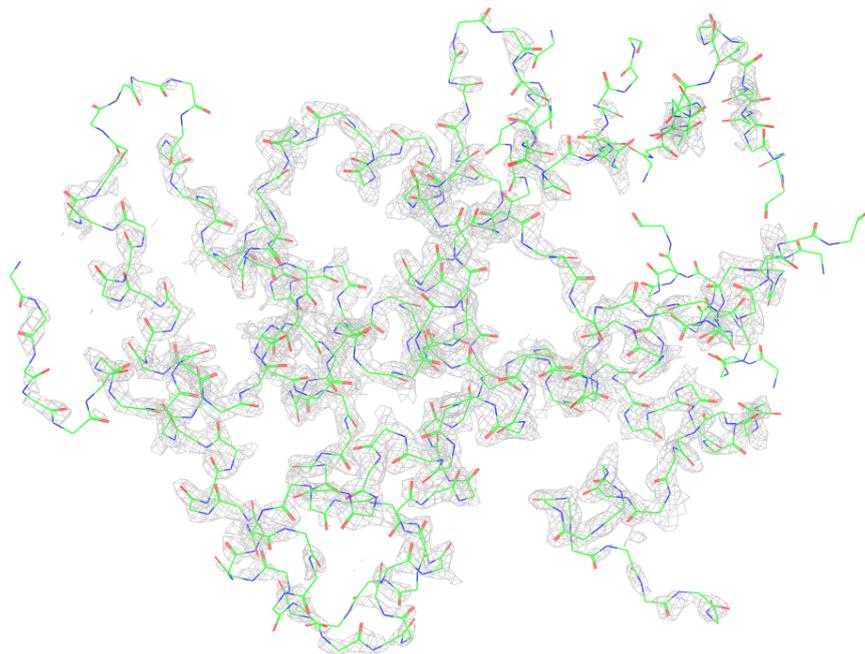


Рисунок 9: Карта электронной плотности белкового остова для структуры 7AXC. Уровень подрезки -- 3, carve -- 1.5.

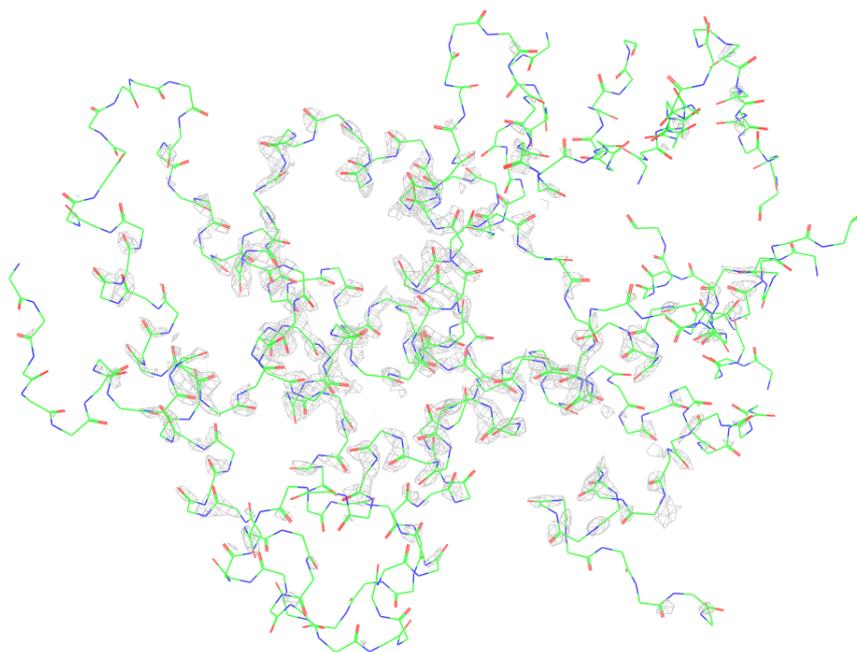
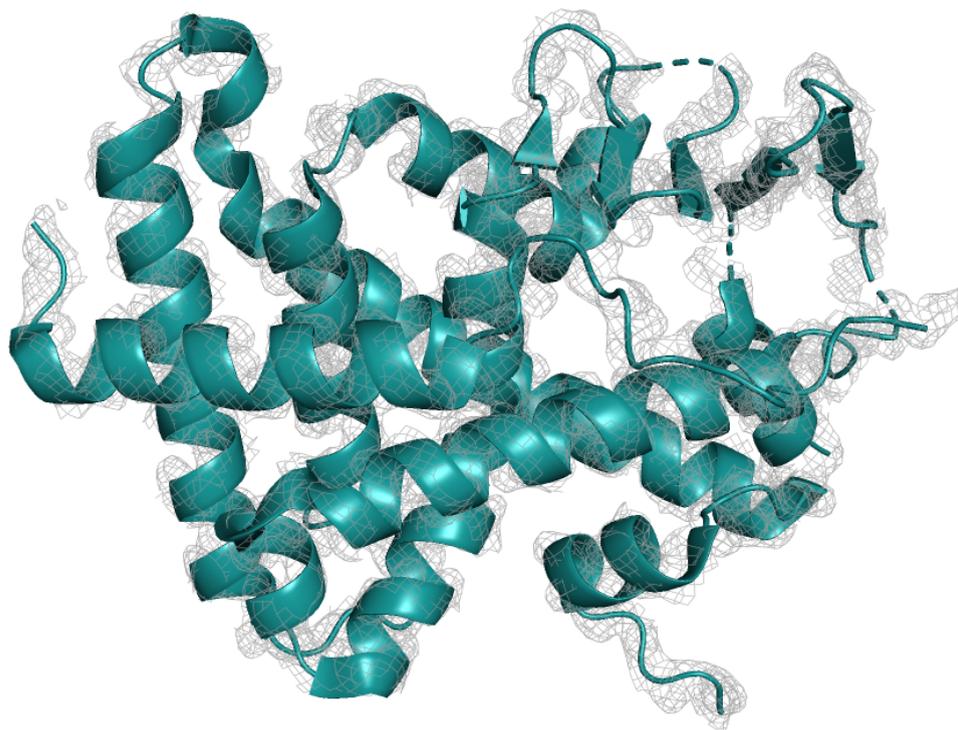


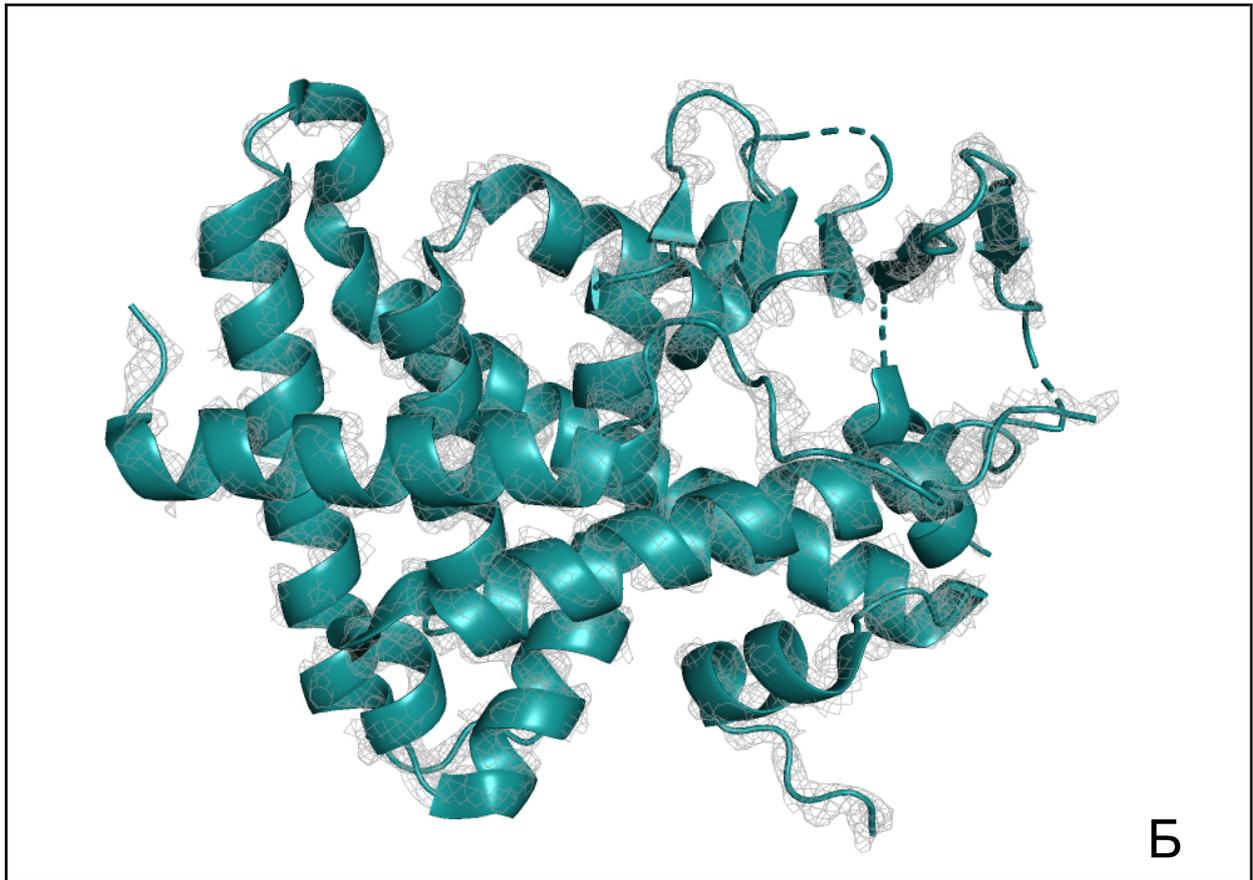
Рисунок 10: Карта электронной плотности белкового остова для структуры 7AXC.

Уровень подрезки -- 4, carve -- 1.5.

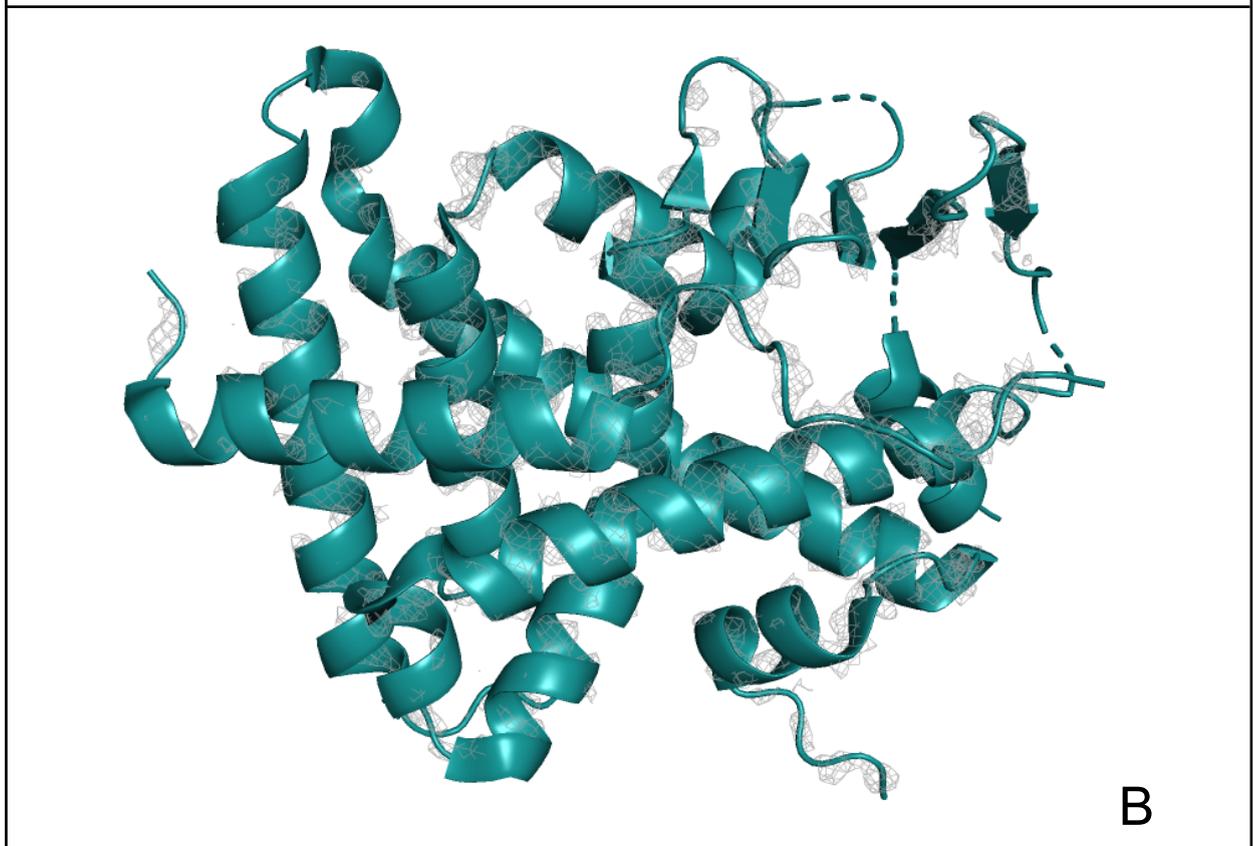
В первую очередь стоит отметить, что при увеличении уровня обрезки электронная плотность начинает “пропадать” с концевых участков молекулы, что можно объяснить их более высокой гибкостью по сравнению с элементами вторичных структур. Также стоит отметить, что наиболее четко электронная плотность определяется вокруг пептидной связи (наиболее хорошо это наблюдается на уровне подрезки 4), что, вероятно, объясняется ее жесткостью.



A



Б



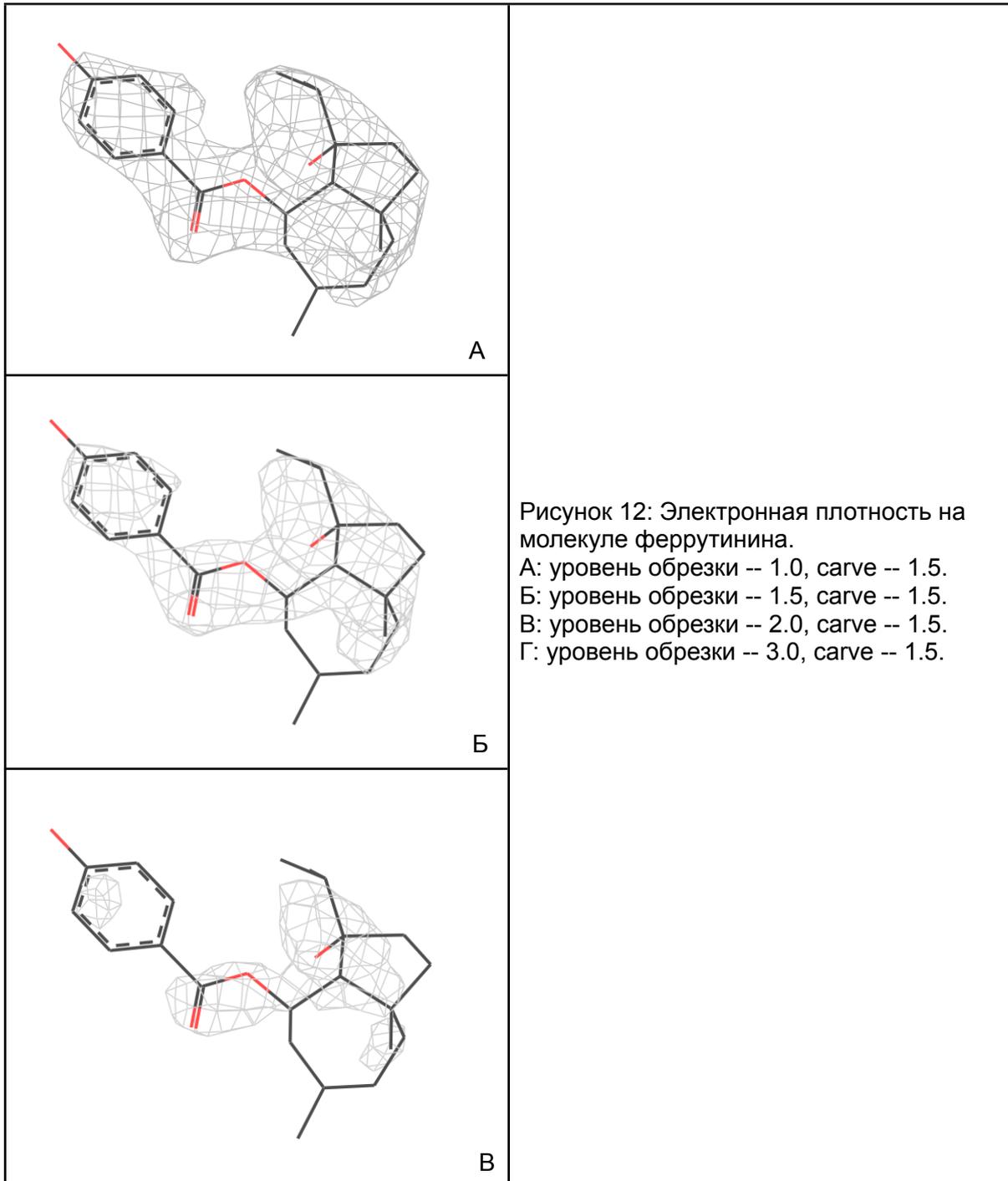
В

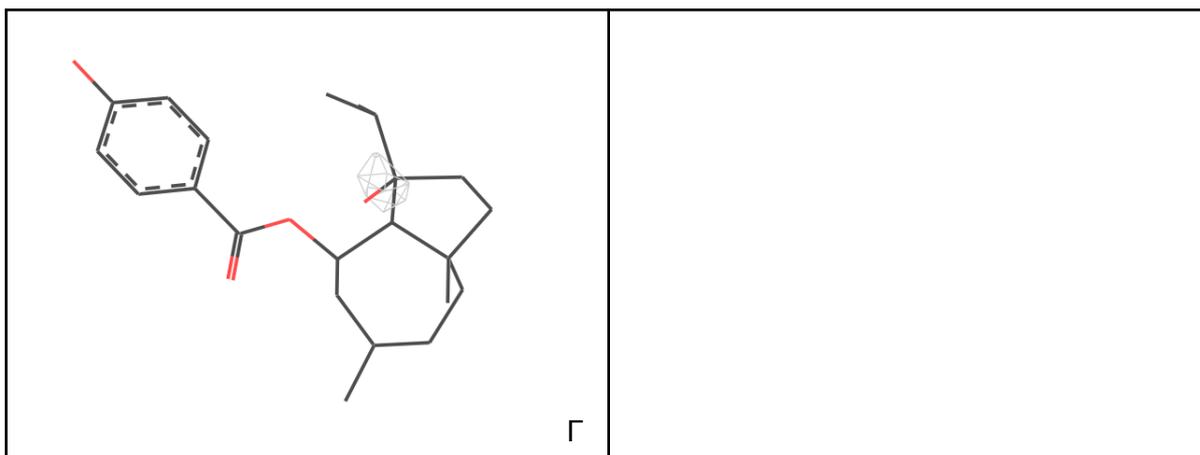
Рисунок 11: Связь электронной плотности с элементами вторичной структуры белка на разных уровнях обрезки (А -- 1.0, Б -- 2.0, В -- 3.0, carve -- 1.5). В целом, данные согласуются с предположением, что электронная плотность имеет лучшее разрешение

в более стабильных участках вторичной структуры, в данном случае --  $\alpha$ -спиральных, петли между ними разрешены хуже.

### Задание 3: Электронная плотность и типы атомов

В данном задании было необходимо проанализировать связь качества разрешения с типами атомов в структуре на примере лиганда, связанного с белковой молекулой.





Стоит отметить, что даже на уровне обрезки 1.0 не вся молекула лиганда покрыта электронной плотностью: непокрытыми остаются метильная группа и ОН-группа у бензольного кольца. При увеличении уровня обрезки, электронная плотность сохраняется рядом со стабильными “плоскими” группами: бензольным кольцом и сложноэфирной связью, а также на атоме углерода кольца, связанном с ОН-группой. Эти наблюдения позволяют предположить, что электронная плотность различима лучше на “тяжелых