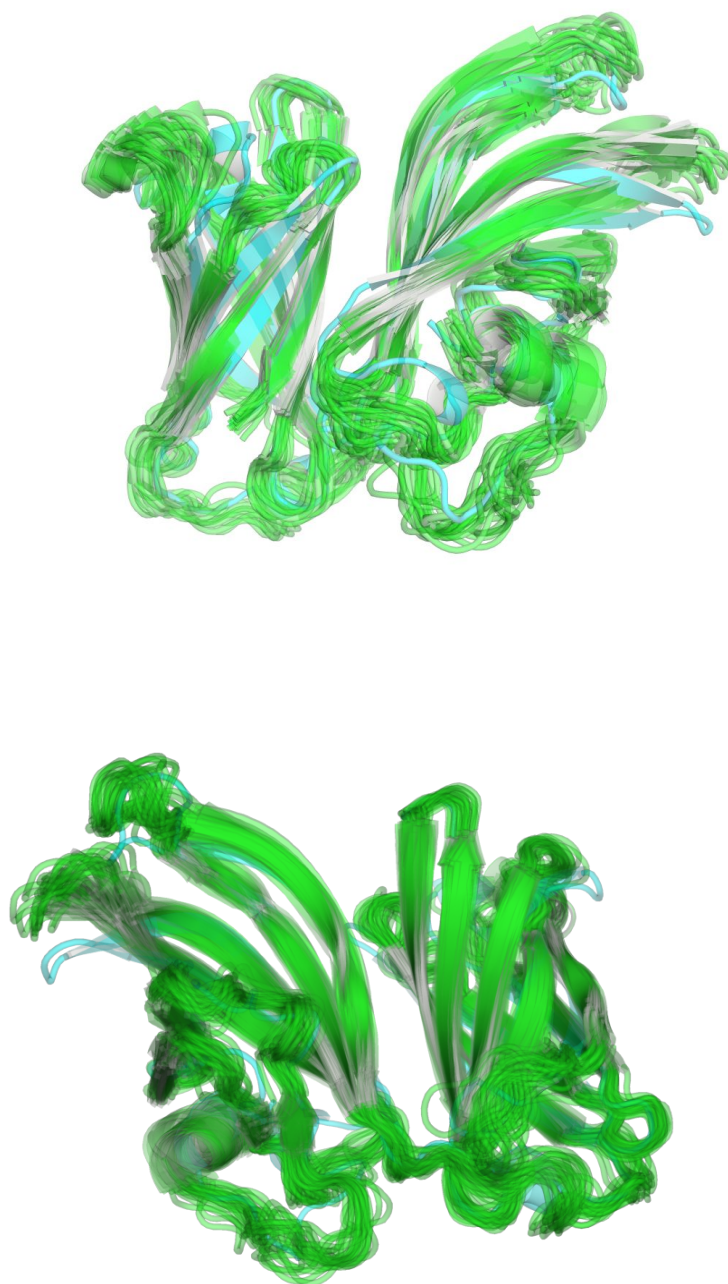


ЯМР vs РСА

Задание 1. Разница ЯМР и РСА

В данном практикуме я работала с двумя структурами – 2КСо (полученная методом ЯМР) и 3KVD (полученная методом РСА). 2КСо представлена 20 моделями, а разрешение 3KVD составляет 2.00 Å.

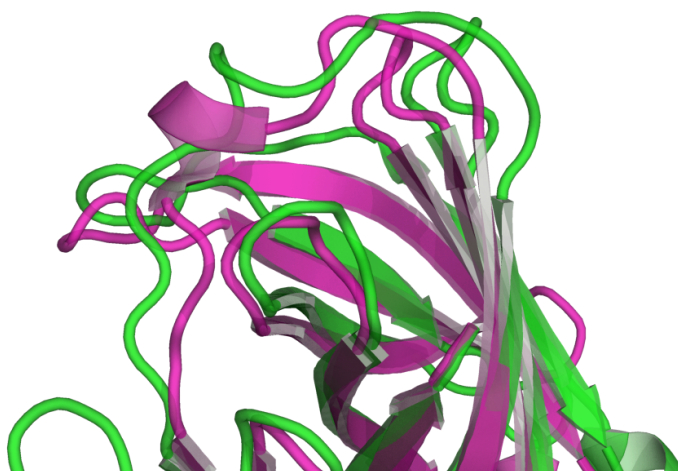
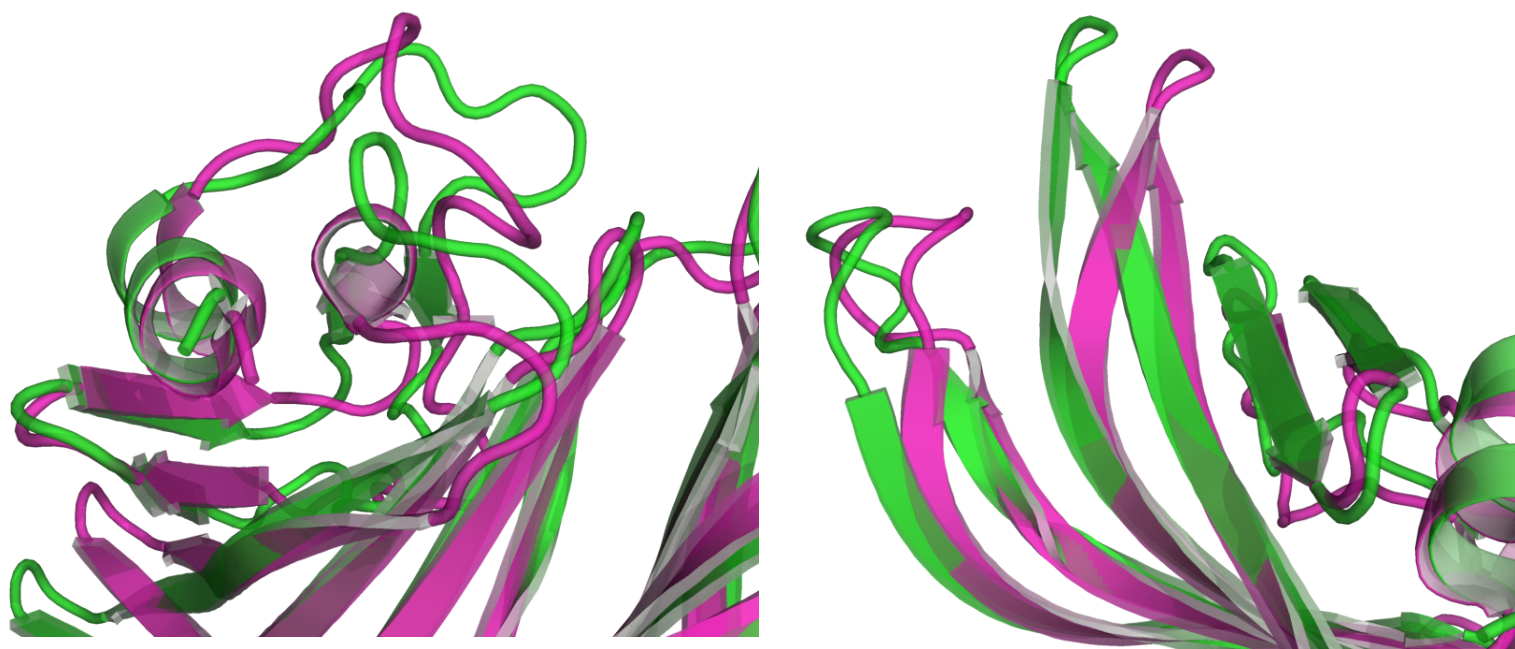
На рисунке 1 структуры показаны в совмещенном состоянии.



1. Структуры 2КСо (ЯМР, зеленая окраска) и 3KVD (РСА, синяя окраска).

Различия структур на микроуровне

В первую очередь заметно, что в структуре ЯМР отсутствуют молекулы воды, т.к. в ЯМР используется растворитель, лишенный протонов и воды. В общем структуры, полученные двумя способами очень похожи. Тем не менее, при более детальном рассмотрении заметно, что в начале и конце молекулы структуры не совпадают. На рисунках ниже показано сильное расхождение двух моделей. В одном из примеров мы видим сильное отклонение петли в структуре, полученной РСА, от петли в модели ЯМР, что вероятно говорит о повышенной подвижности данного участка (петля находится на периферии белка). Также причиной отклонения двух моделей могут служить неточные измерения и искажение конформации из-за кристаллизации белка при РСА.



Рисунки 2-5. Розовым показана структура 3KVD, зеленым 2KCo.
Различия структур на микроуровне

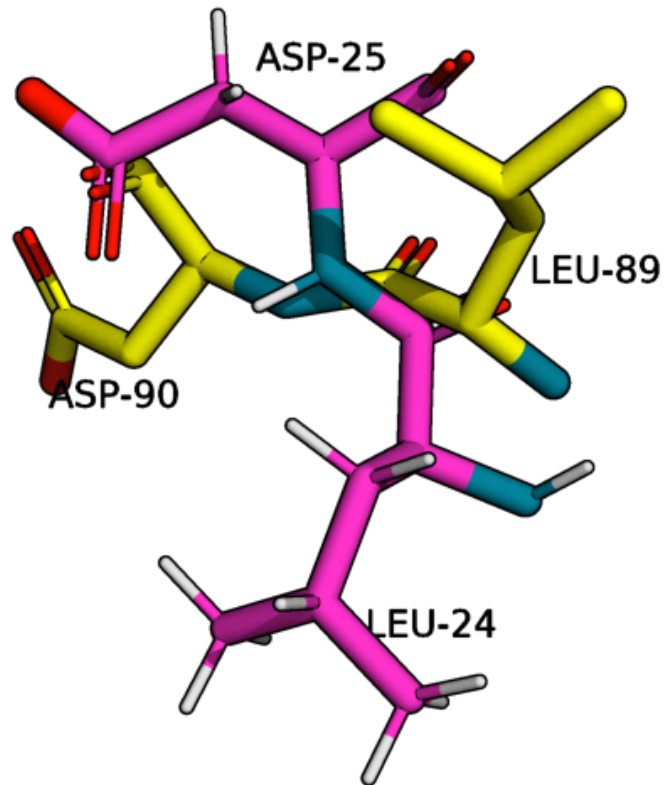
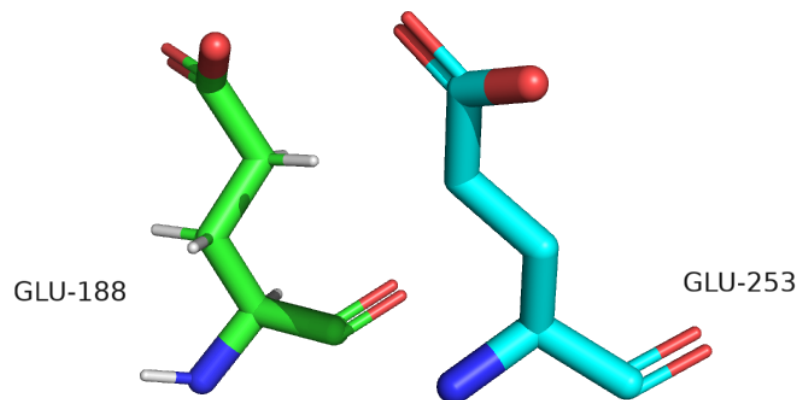


Рисунок 6 - Различия в структуре LEU и ASP в моделях PCA (желтая окраска) и ЯМР (розовая окраска)



Рисунки 7-8 - Различия моделей PCA (синяя окраска) и ЯМР (зеленая окраска)

При сравнении структур альфа-спиралей и бета-листов я не заметила сильных отличий, кроме того, что в модели ЯМР аминокислоты располагаются более неоднозначно и в целом структура более хаотичная.

Поэтому мне кажется, что ЯМР может исказить структуру и следовательно помешать ее восприятию.

При просмотре участка структуры ЯМР мы видим водороды, а в структуре PCA их нет. Пример показан на рисунке 9.

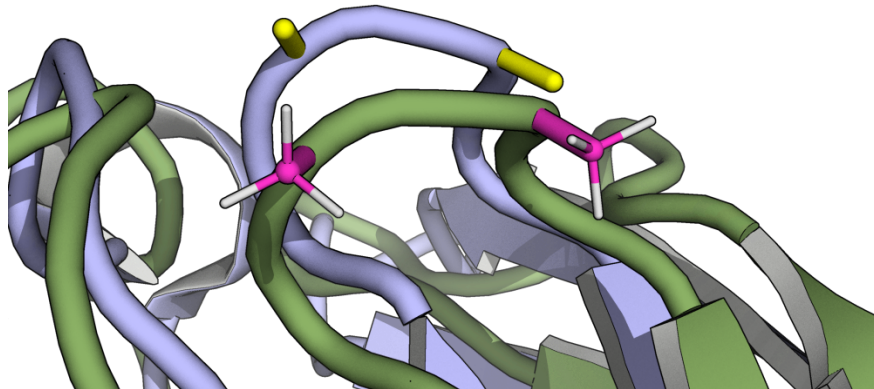


Рисунок 9.

Задание 2. RMSF

Целью этого задания было оценить B-фактор остатков в зависимости от их подвижности (RMSF). Была построена зависимость рассчитанных B-факторов модели PCA от RMSF. Были обрезаны не совпадающие остатки на концах молекул и выровнены модели.

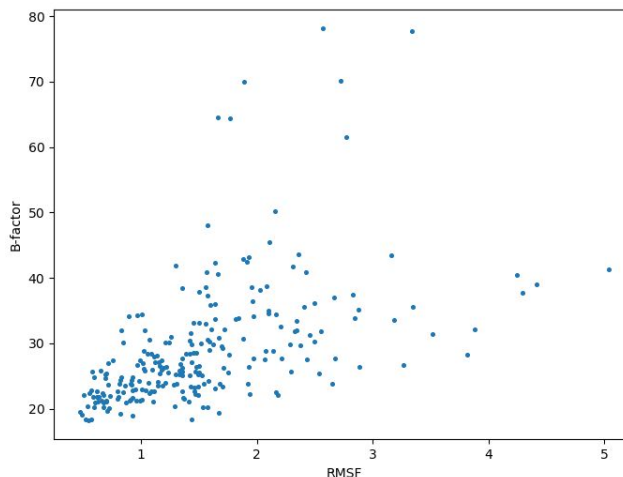


Рисунок 10. График зависимости B-фактора модели PCA от RMSF.

Видно, что в целом, большие значения RMSF совпадают с большими значениями B-фактора. Тем не менее высокий B-фактор наблюдается и у остатков с не очень большими значениями RMSF. Видимо в этом случае B-фактор отражает скорее качество электронной плотности, а не подвижность конкретных остатков.

Задание 3. Сравнение водородных связей

Было проведено сравнение связей между различными частями белка у разных моделей (ЯМР и PCA).

1. Связь между атомами остова в бета-тяжах.

Здесь была выбрана связь между аминокислотными остатками соседних бета-тяжей в глобуле белка: THR-172 и GLY-197 длиной 2,7 ангстрем. Во всех двадцати пяти моделях ЯМР данная связь присутствовала.

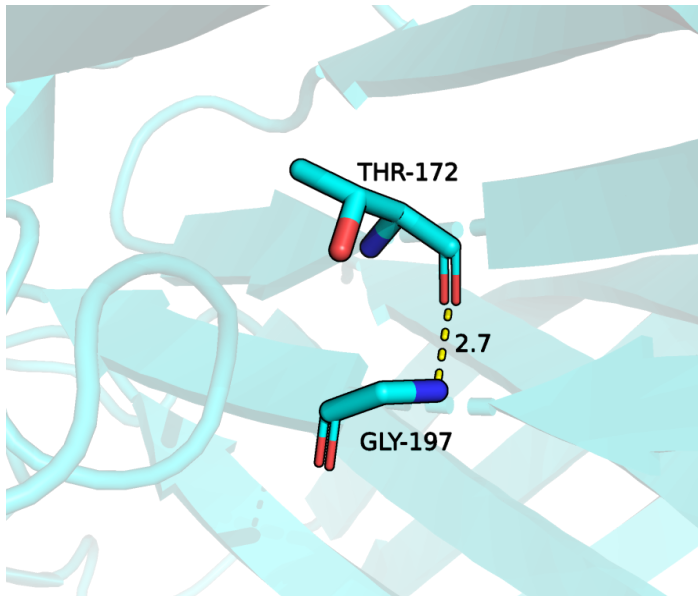


Рис. 10. PCA

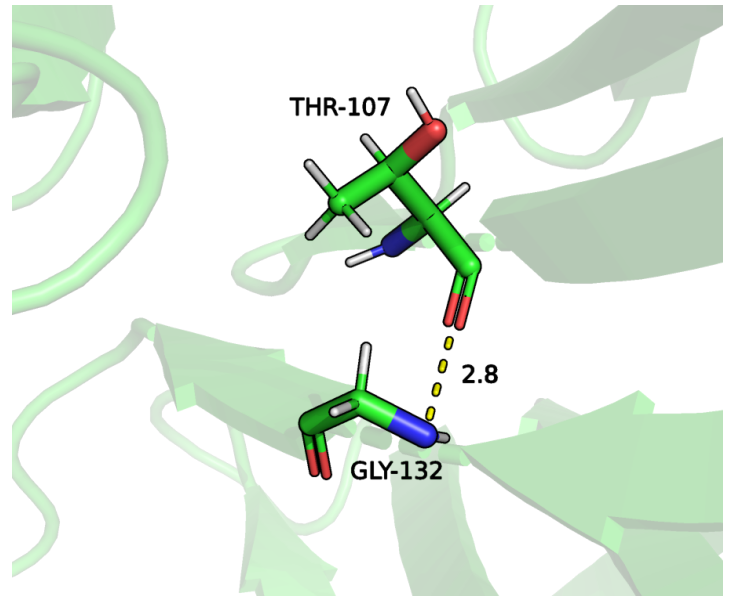


Рис. 11. ЯМР

2. Водородная связь боковых цепей в ядре белка.

В этом случае была рассмотрена связь между альфа-спиралью и бета-тяжем у остатков LEU-85 и LYS-120. В модели PCA связь существует, также как и в 8 из 25 моделях ЯМР. Однако в 17 моделях ЯМР данного взаимодействия нет.

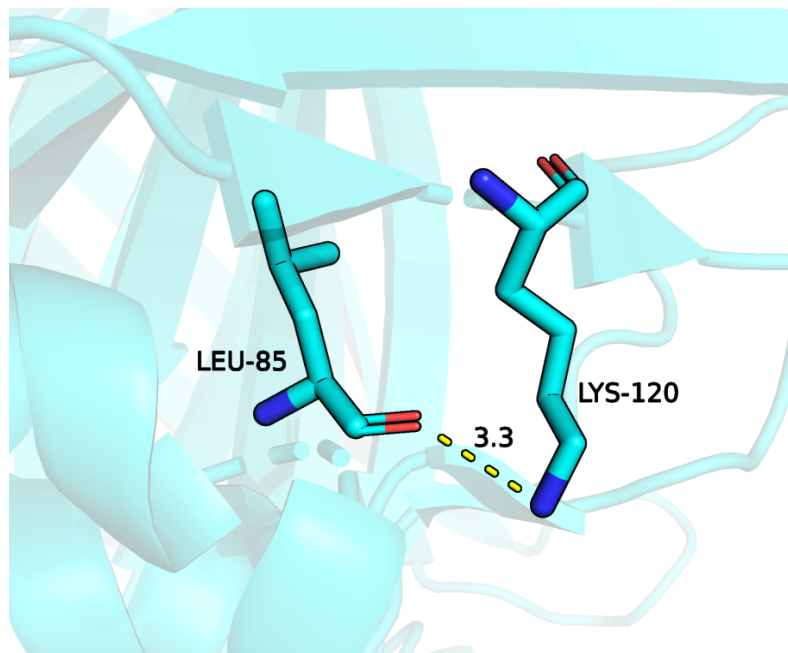


Рис. 12. Связь в PCA

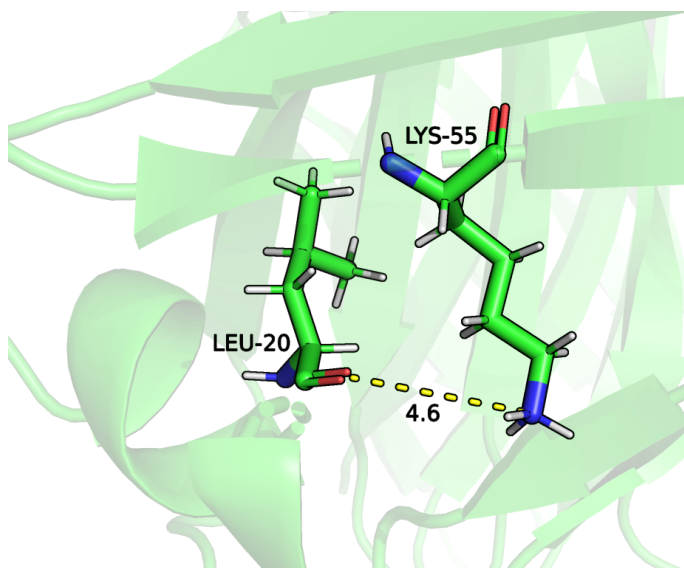


Рис. 13. Невозможная связь в ЯМР

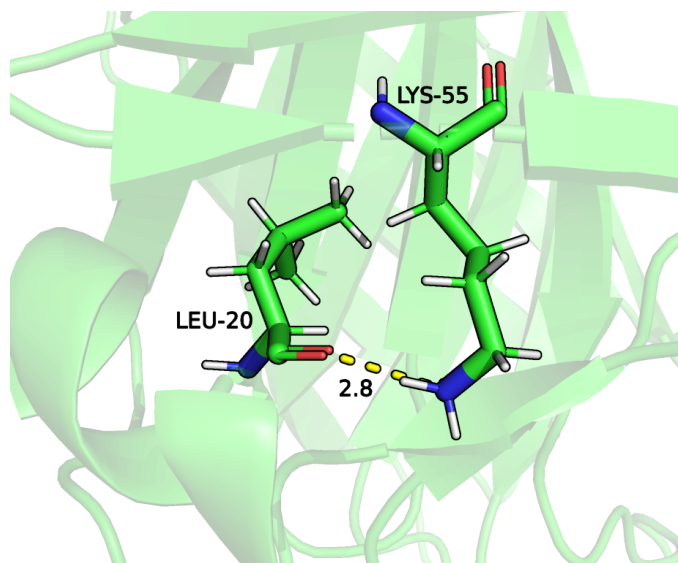


Рис. 14. Возможная связь в ЯМР

3. Водородная связь в петле, выходящей на поверхность глобулы.

Для рассмотрения здесь были выбраны остатки из петли, выходящей на поверхность глобулы белка: LEU-85 и LYS-120.

В структуре PCA связь присутствует и составляет 3.3 ангстрема, тогда как ни в одной из моделей ЯМР данного взаимодействия нет.

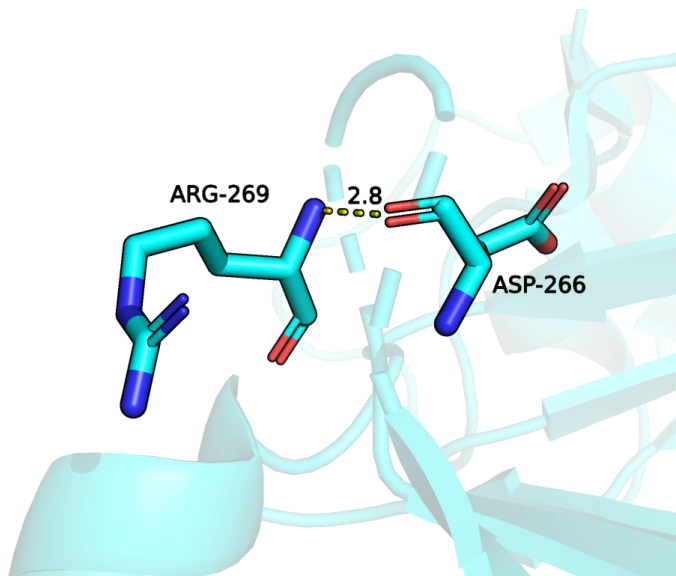


Рис. 15. Нормальное взаимодействие в структуре PCA

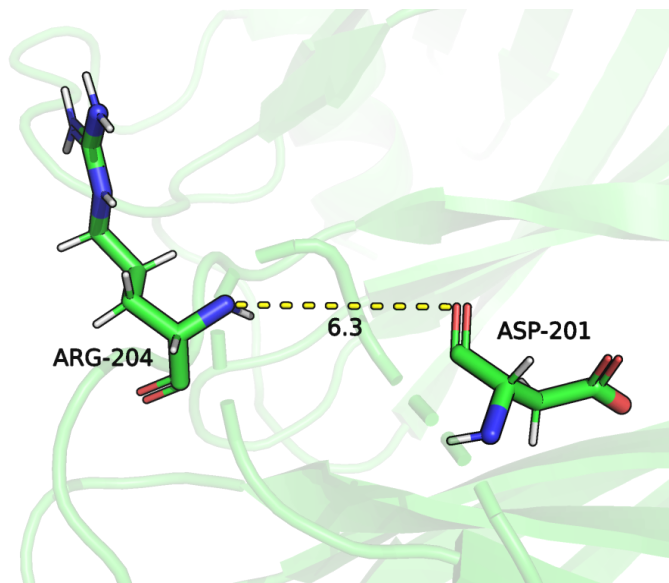


Рис. 16. Невозможное взаимодействие в структуре ЯМР

Таблица с итоговыми данными:

Номер связи	Расстояние в РСА	Процент присутствия в ЯМР	Минимальное расстояние в ЯМР, А	Максимальное расстояние в ЯМР, А	Медианное расстояние в ЯМР, А
1	2.7	100%	2.8	3.2	3.0
2	3.3	32%	2.7	8.4	5.0
3	2.8	0%	4.3	9.0	6.4

- В первом случае связь образуется между бета-тяжами в глобуле белка, которые являются стабильными структурами. Соответственно мы увидели ее и в структуре РСА, и в моделях ЯМР.
- Во втором случае утверждать что-то конкретное сложно. Так как всего у 8 моделей из 25 в ЯМР присутствовала эта связь. Хотя скорее всего она действительно есть.
- В последнем случае связь существует только в модели РСА предположительно из-за подвижности петель и кристаллизации при получении структуры РСА. Так что можно предположить, что скорее всего такой связи в реальности нет.