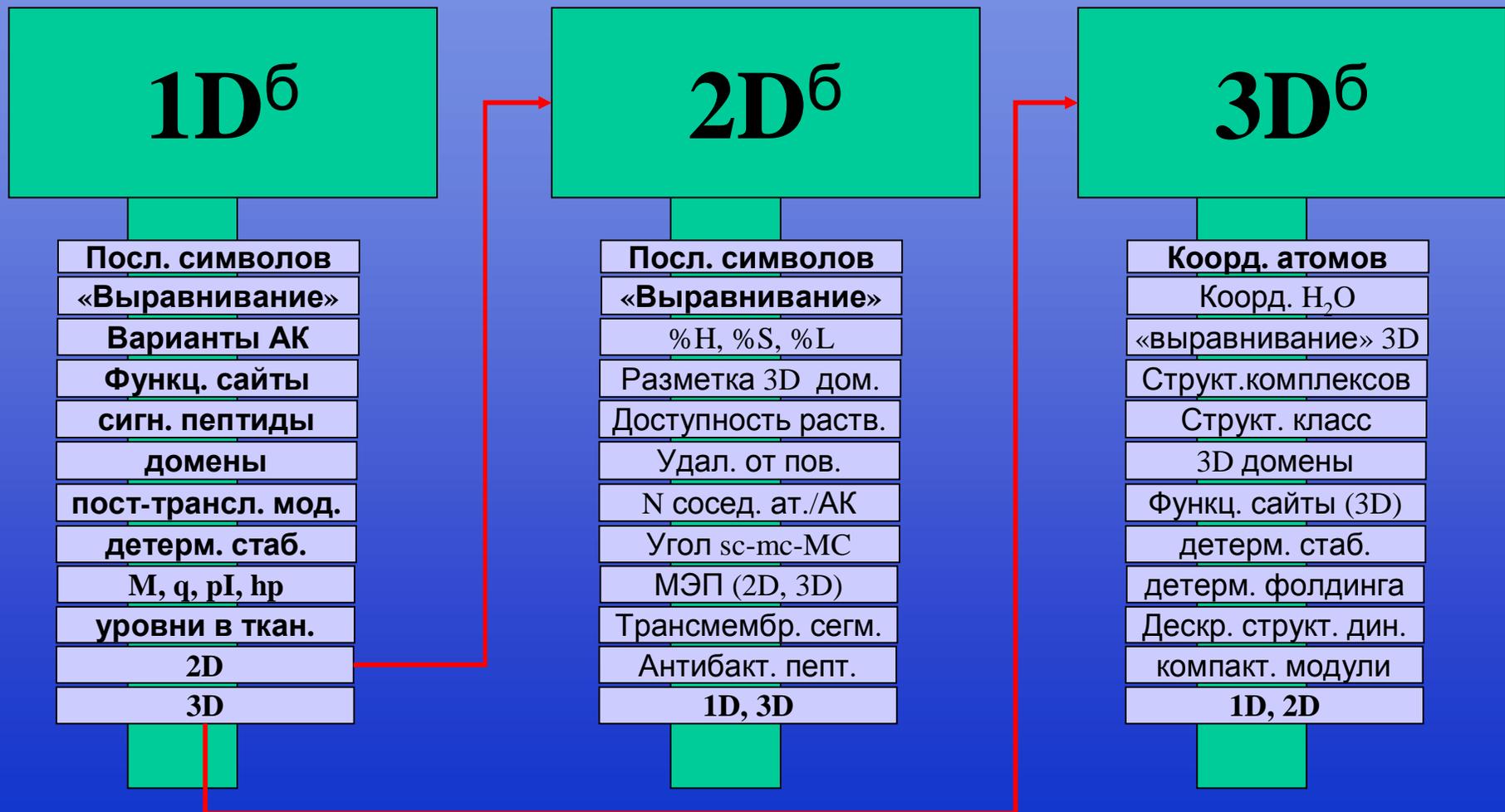
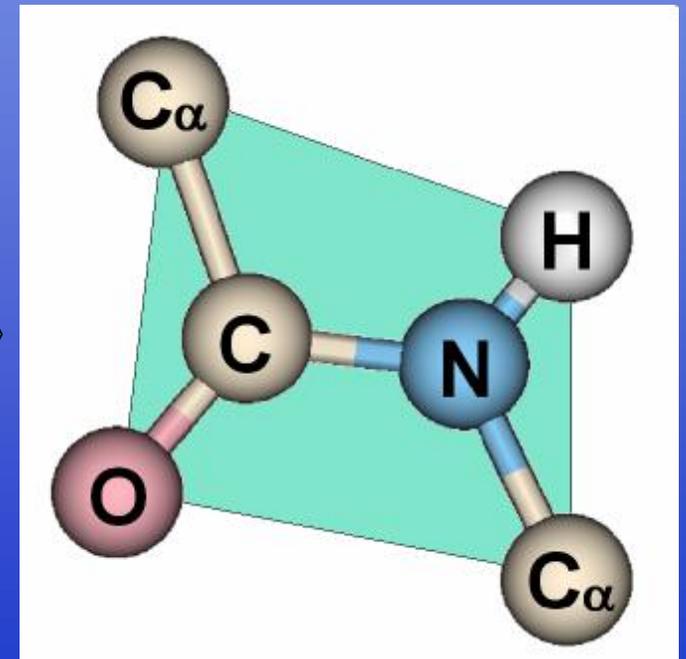
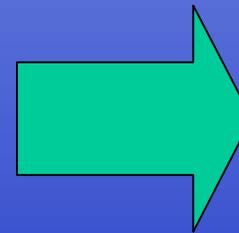
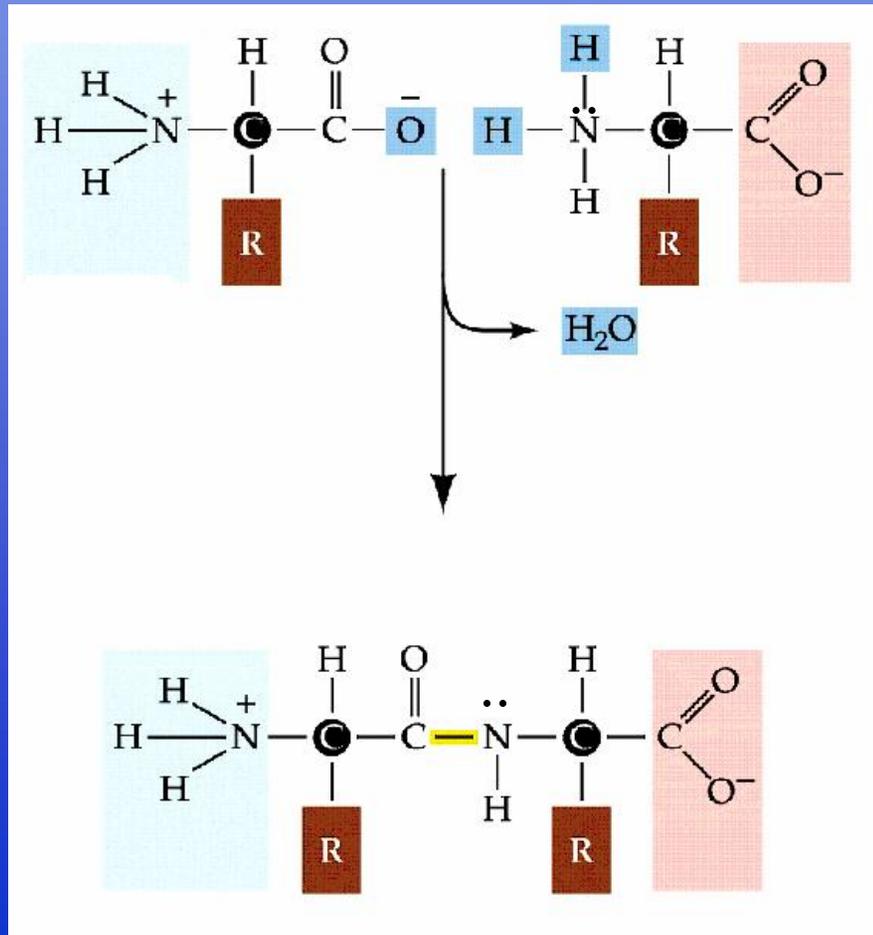
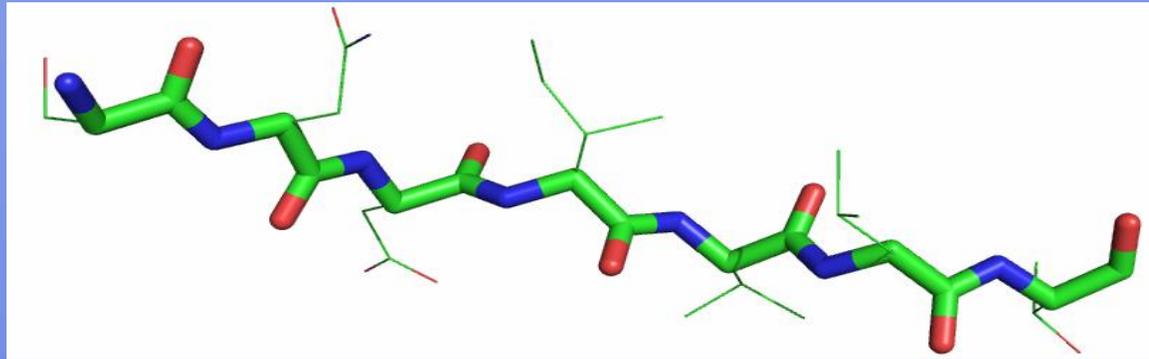
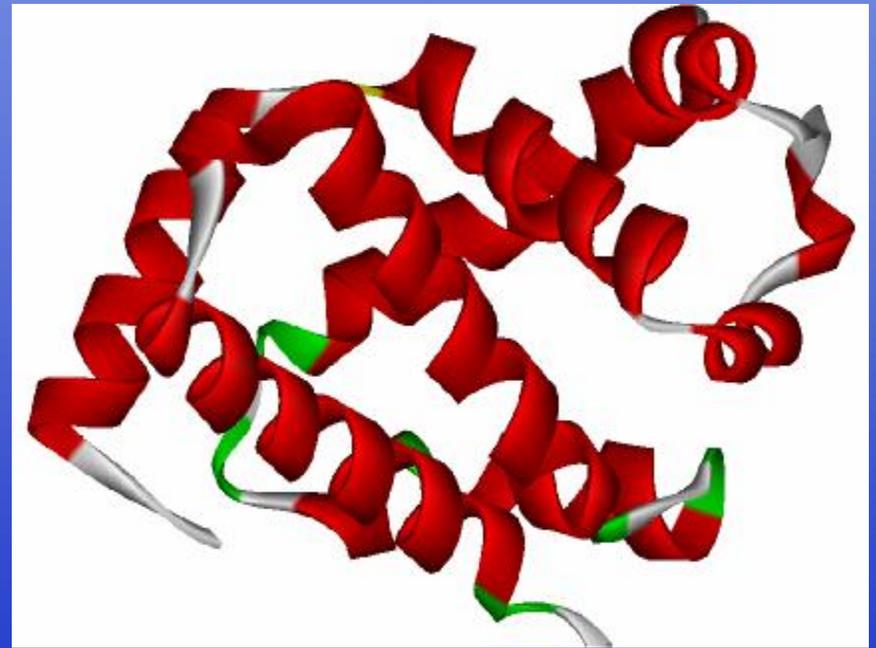
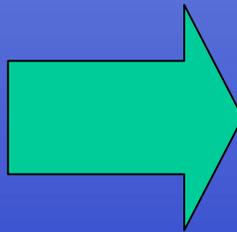
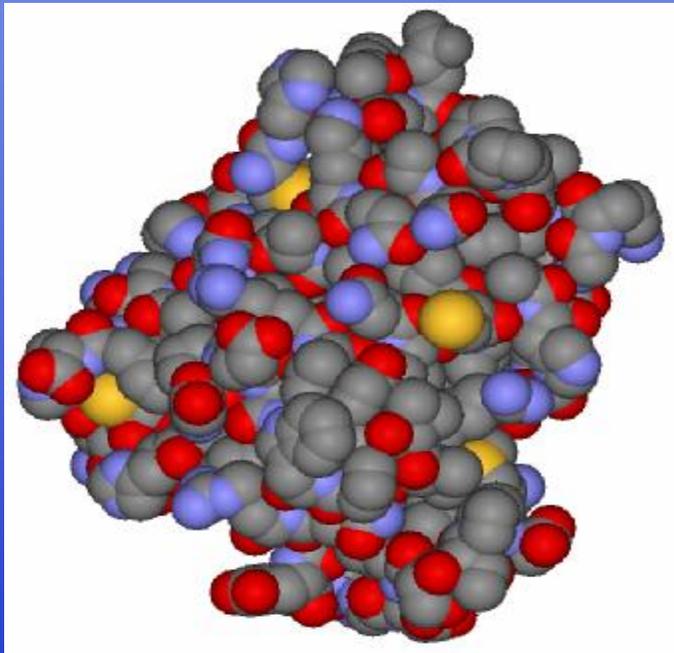


О «структуре белка»...

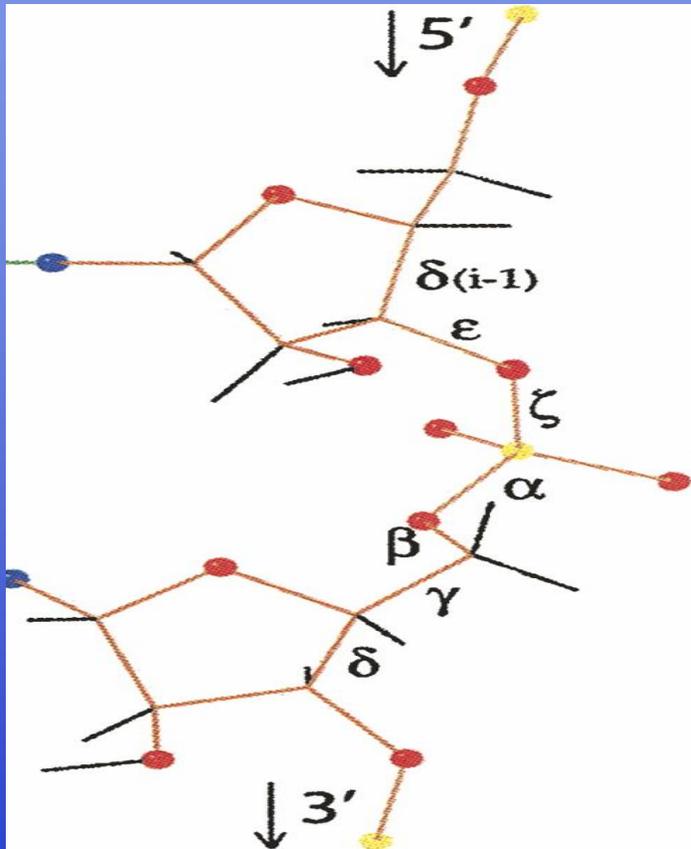




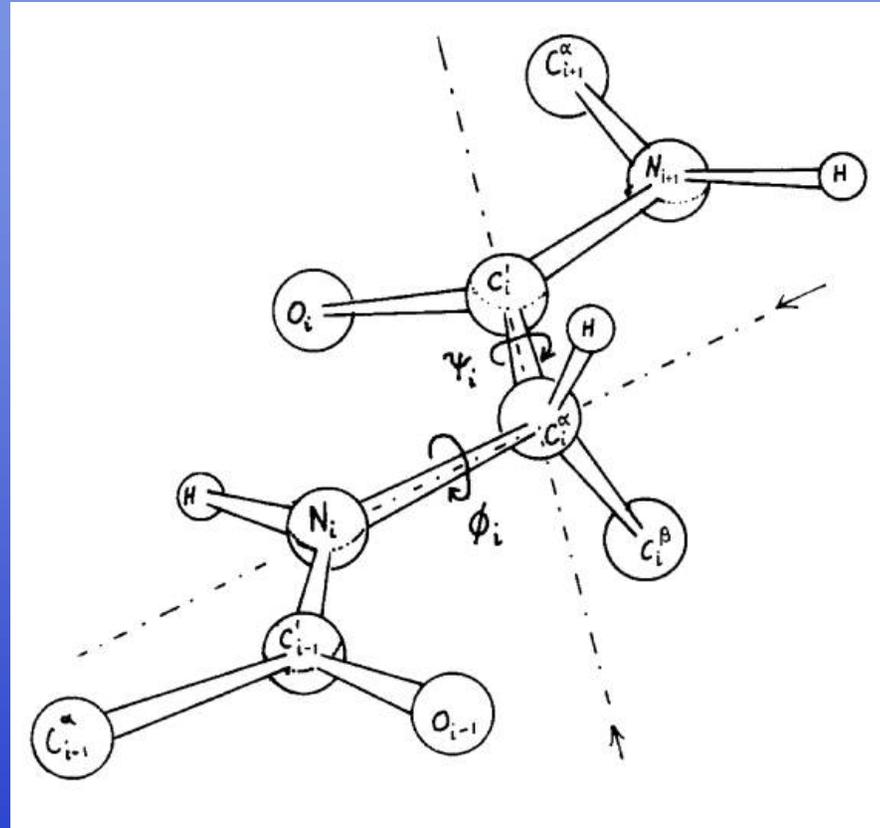
Структура «укладки» главной цепи ~ 3D структура белка



Гибкость и допустимая геометрия главных цепей

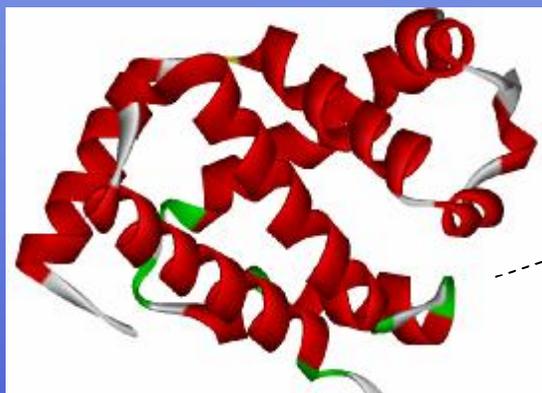


НК

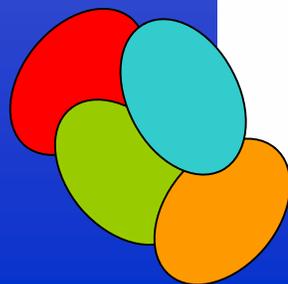
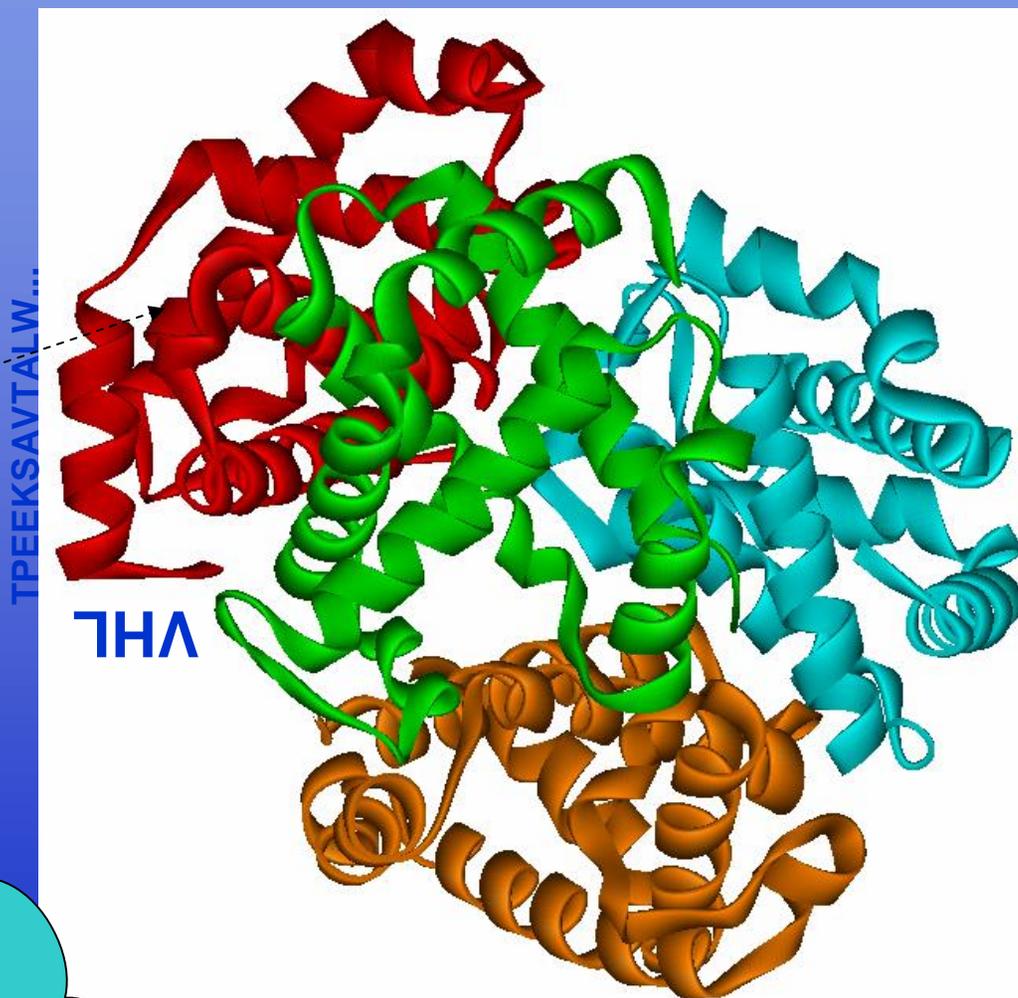


белки

Четвертичная структура – трехмерная композиция третичных структур

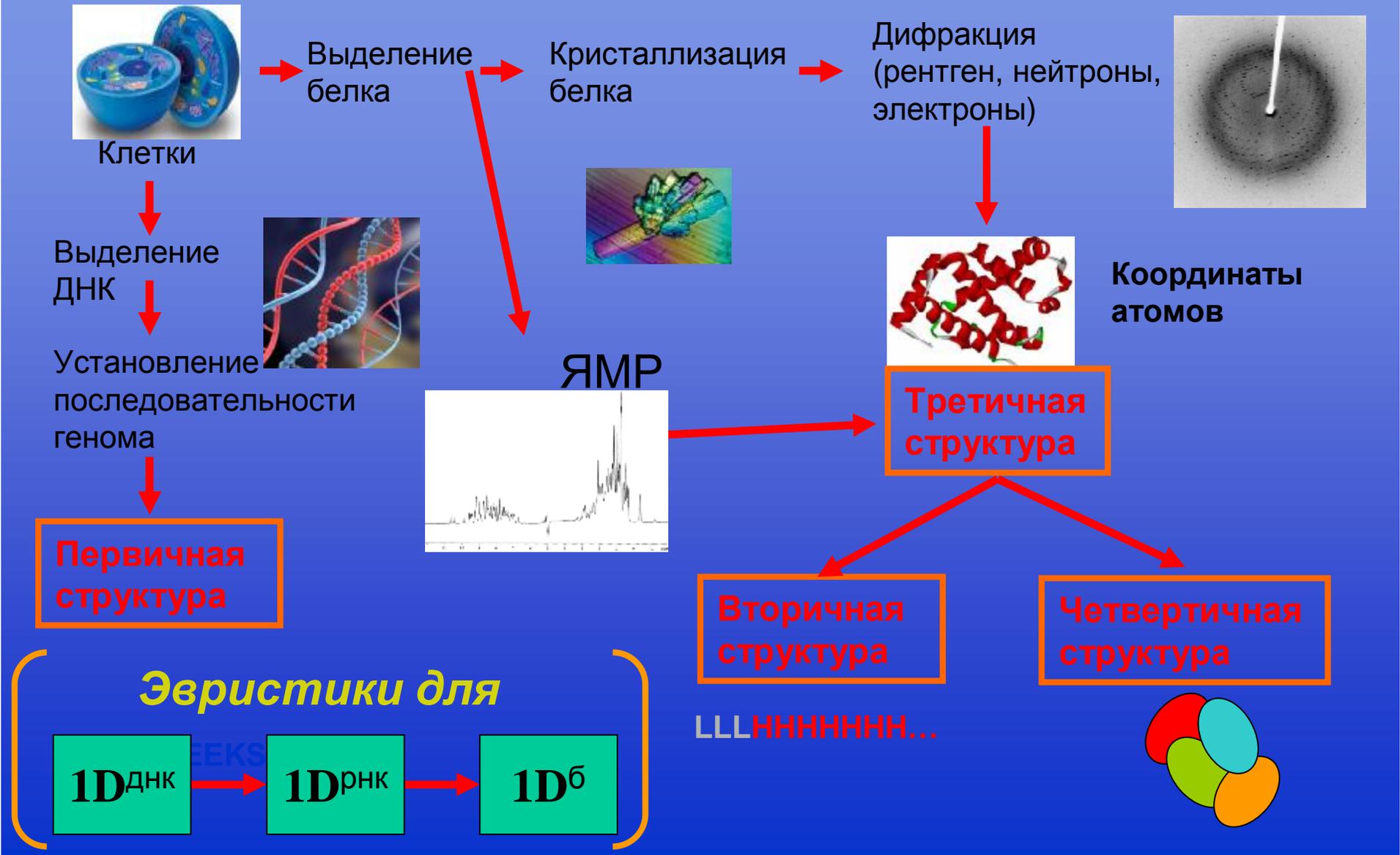


третичная



четвертичная

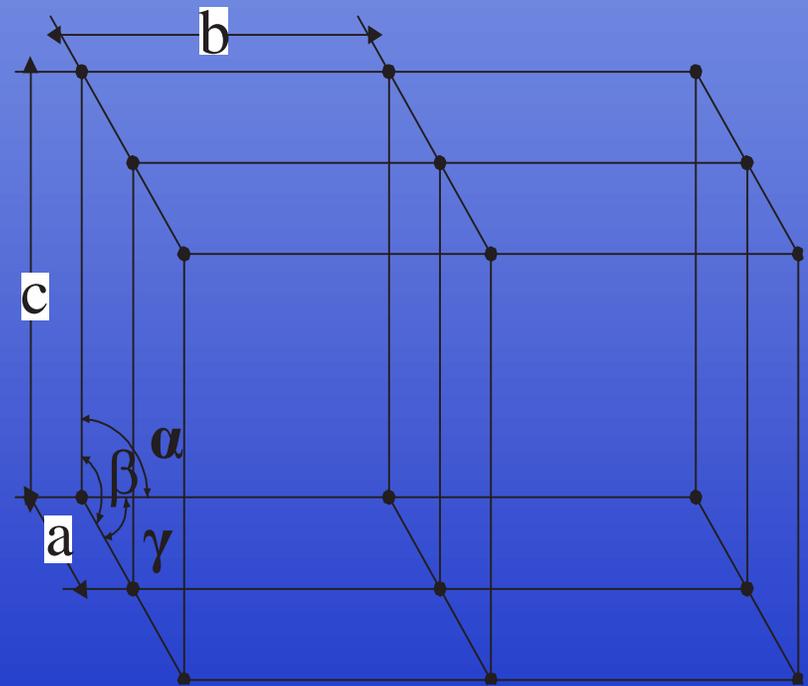
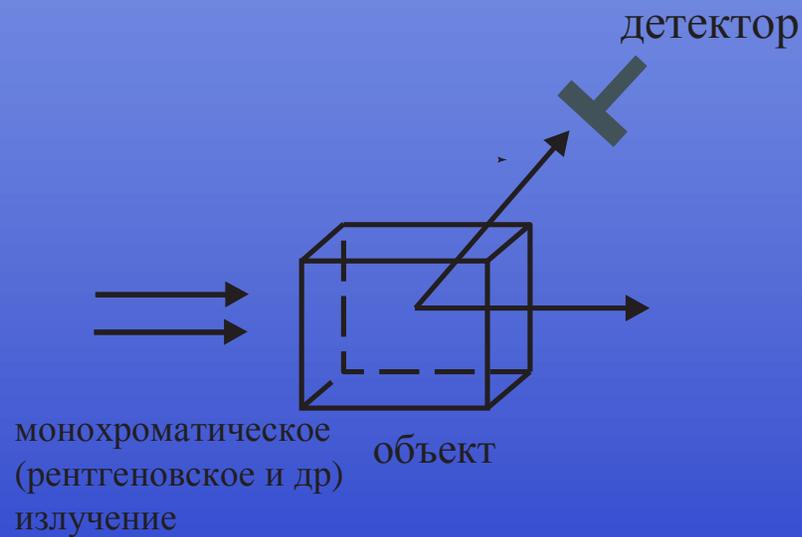
Экспериментальное установление структуры белка



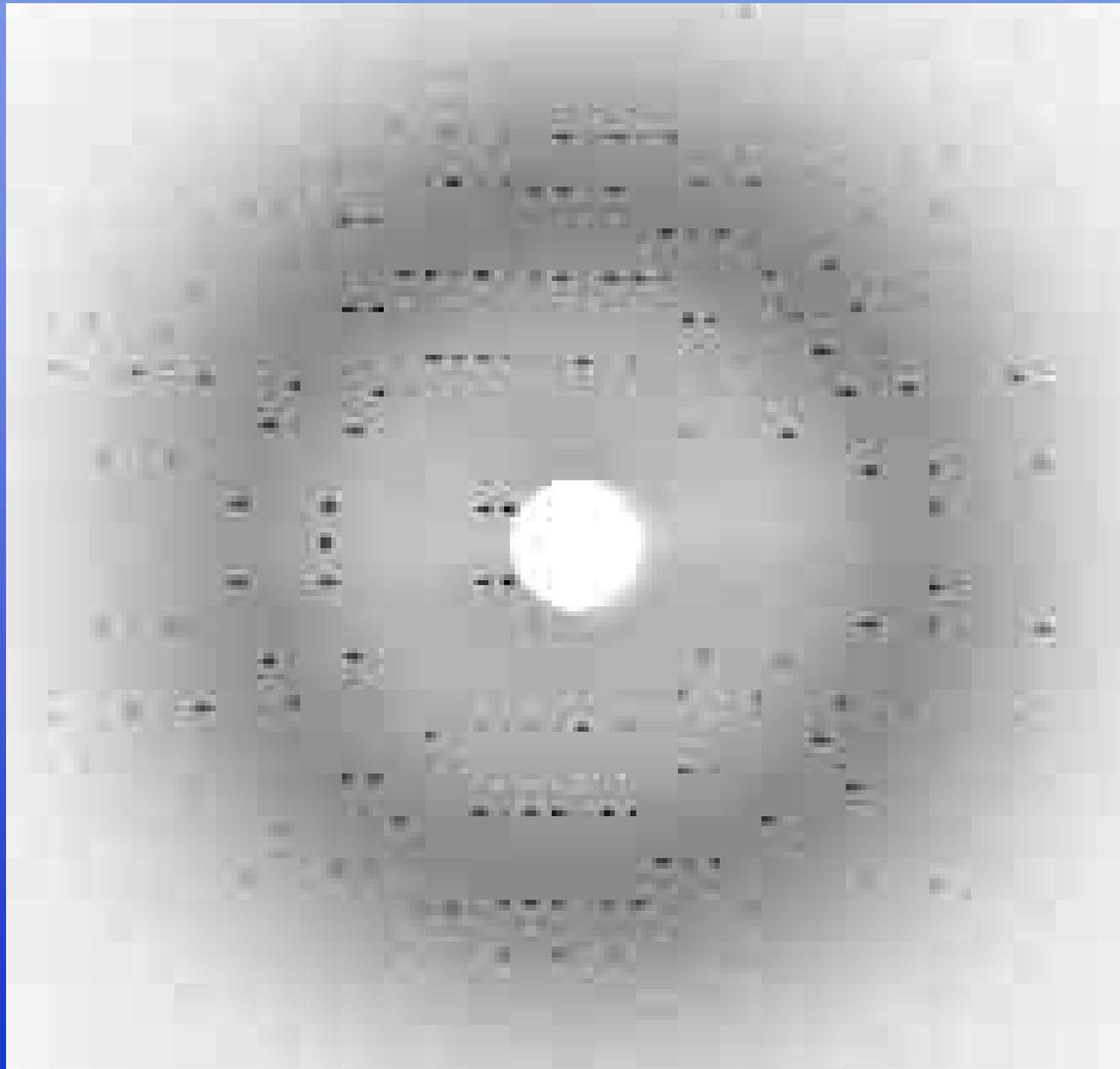
Рентгеноструктурный анализ белков

Бландел Т., Джонсон Л. 1979. Кристаллография белка. —М.: Мир.

Физические основы метода



Рентгенограмма- непосредственный результат дифракционного эксперимента



$h_1, k_1, l_1, I_1;$

$h_2, k_2, l_2, I_2;$

...

...

...

$h_n, k_n, l_n, I_n;$

Расчет электронной плотности

- Функция $\rho(r)$ в кристалле периодична - ряд Фурье:

$$\rho(\mathbf{r}) = \frac{1}{V} \sum_{\mathbf{h}} \mathbf{F}_{\mathbf{h}} e^{2\pi i(\mathbf{h};\mathbf{r})},$$

- V — объем элементарной кристаллической ячейки, \mathbf{r} — вектор координат, $\mathbf{h} = (h, k, l)$ — индексы «плоскости отражения», $\mathbf{F}_{\mathbf{h}}$ - т.н. «структурный фактор»:

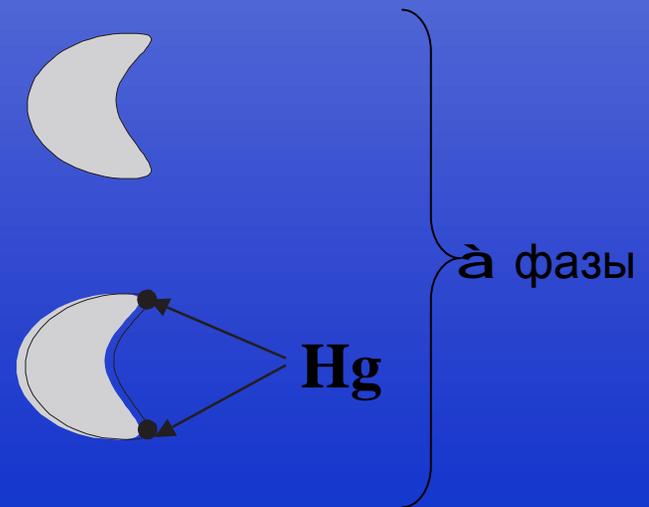
$$\mathbf{F}_{\mathbf{h}} = |\mathbf{F}_{\mathbf{h}}| \cdot e^{i\varphi_{\mathbf{h}}},$$

- $|\mathbf{F}_{\mathbf{h}}|$ — модуль структурного фактора (амплитуда), $\varphi_{\mathbf{h}}$ — фаза

Структурные факторы и фазы

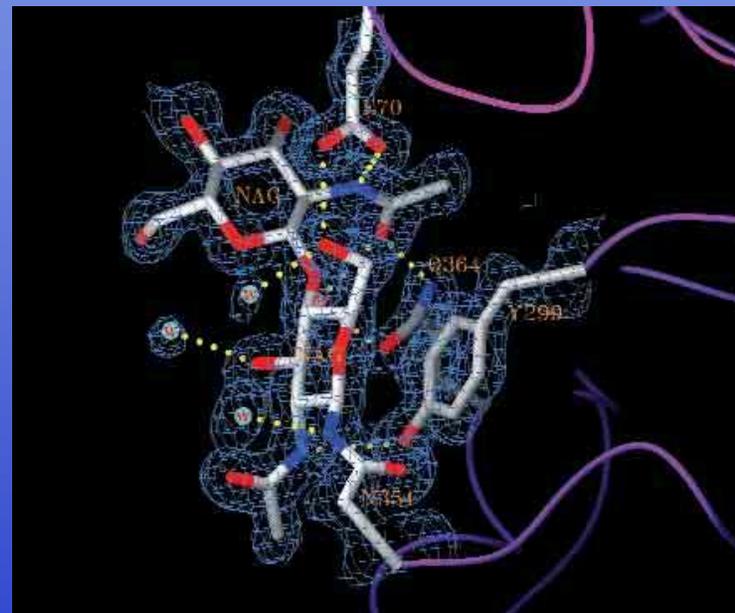
- Кинематическая теория рассеяния: интенсивность отражения (рефлекса) $I_{hkl} \sim |F_{hkl}|^2$
- Проблема фаз: общего решения не существует
- Изоморфное замещение – наиболее распространенный метод
 - введение метки, «тяжелого атома» (Hg)
 - Присоединяется к каждому экземпляру молекулы, в одном и том же месте молекулы, без изменения структуры
 - Сравнение интенсивностей рентгенограмм (1) с тяжелым атомом, (2) без тяжелого атома

$$F_h = |F_h| \cdot e^{i\phi_h},$$



Интерпретация карт распределения электронной плотности

- Построение приближенной атомной модели по пикам $\rho(r)$ и **экспертизы исследователя**
 - Химия (типы атомов, тип и порядок связей) и геометрия (углы, длины связей) белковых молекул
- Уточнение структуры
 - улучшение исходной модели циклической **минимизацией функционала R** , переменные – координаты атомов



Функционал R

- **R** характеризует расхождение между модельными и экспериментальными значениями модулей структурных факторов
- Свободный R, **R_{free}** – R рассчитанный на контрольной выборке (10% от всех hkl отражений)

$$R\text{-factor} = \frac{\sum_{(h,k,l)} \|F_{obs}(h,k,l) - F_{calc}(h,k,l)\|}{\sum_{(h,k,l)} |F_{obs}(h,k,l)|}$$

Норма: R=(0,1–0,15)

*Задача ИАД –
вполне ясна...*

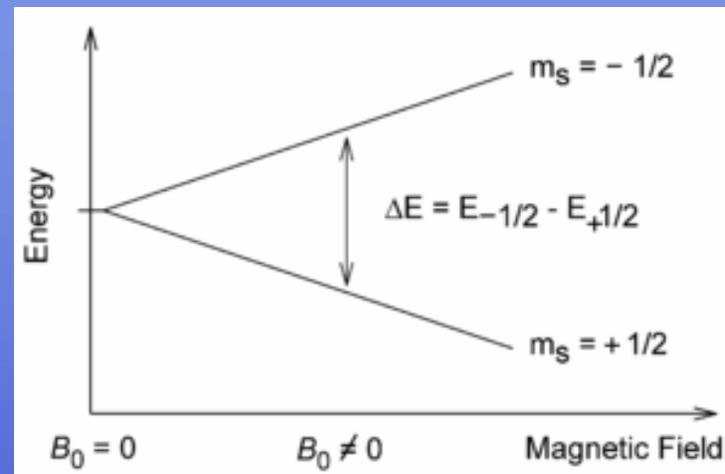
CCV...

Белковый ЯМР

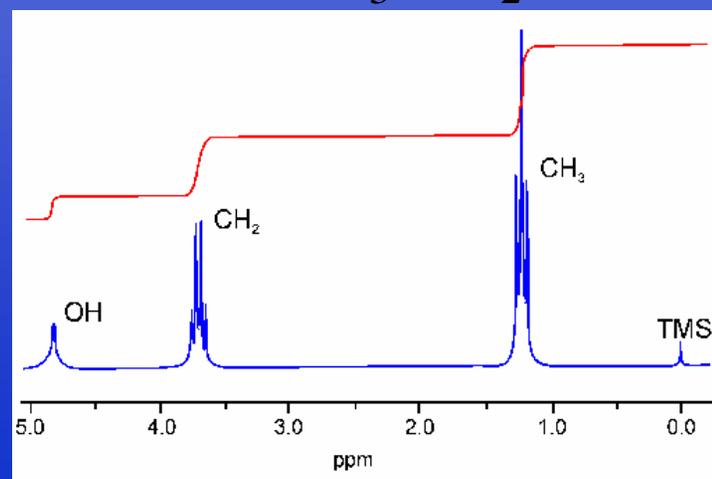
1D, 2D ... но не те!

Физическая основа метода – спин-спиновые взаимодействия ядер

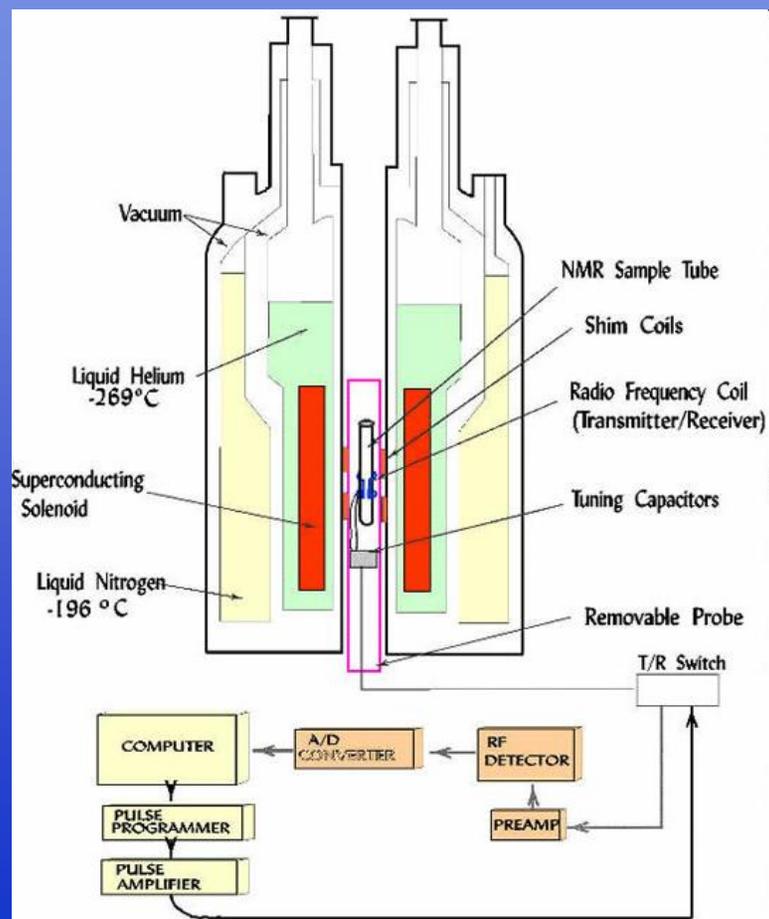
- Атомы с ядрами ненулевых спинов: ^1H , ^{13}C , ^{15}N , состояния $m = 1/2$, $m = -1/2$ имеют одинаковую энергию
- В магнитном поле – уровни расщепляются и становятся возможными переходы под воздействием РЧ
- В биологии: обычно ^1H , прогресс: ^{13}C , ^{15}N для больших структур
- **БПФ (б.п.Фурье)-ЯМР**: короткий импульс на средней частоте, затем БПФ и синтезированный ЯМР спектр



Спектр $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$

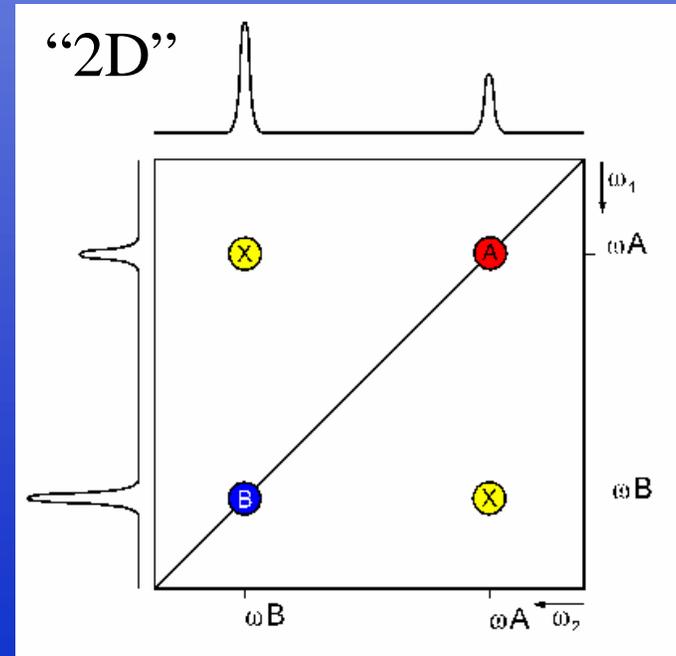
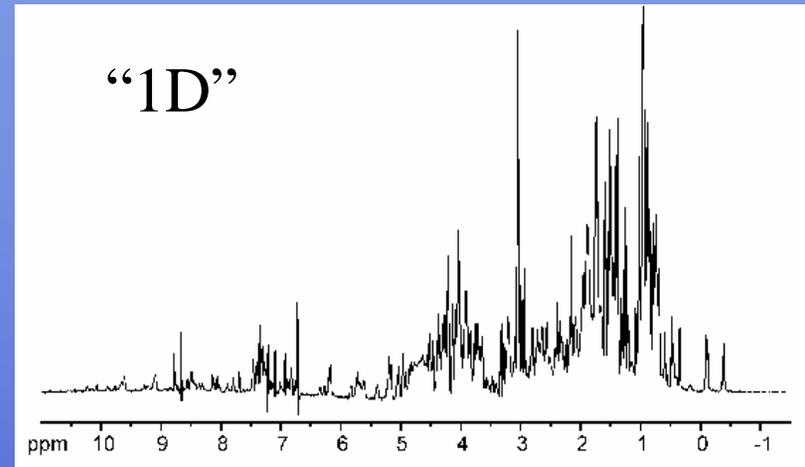


ЯМР спектрометр

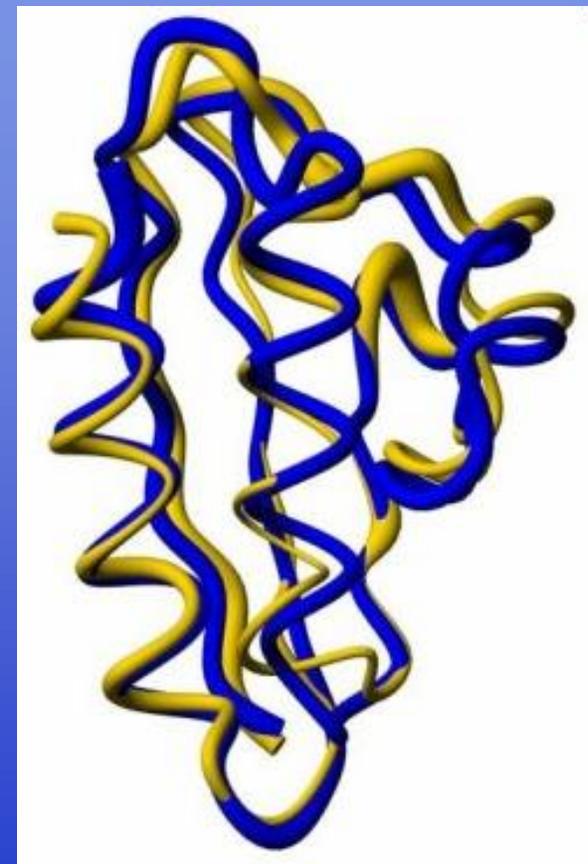
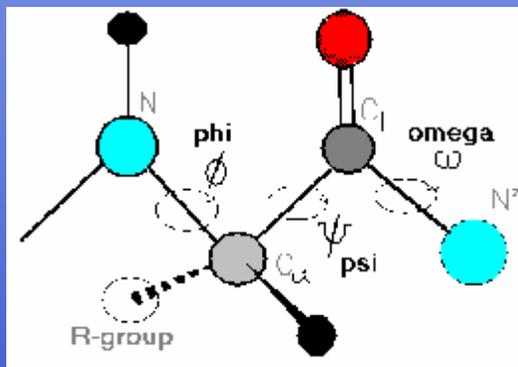
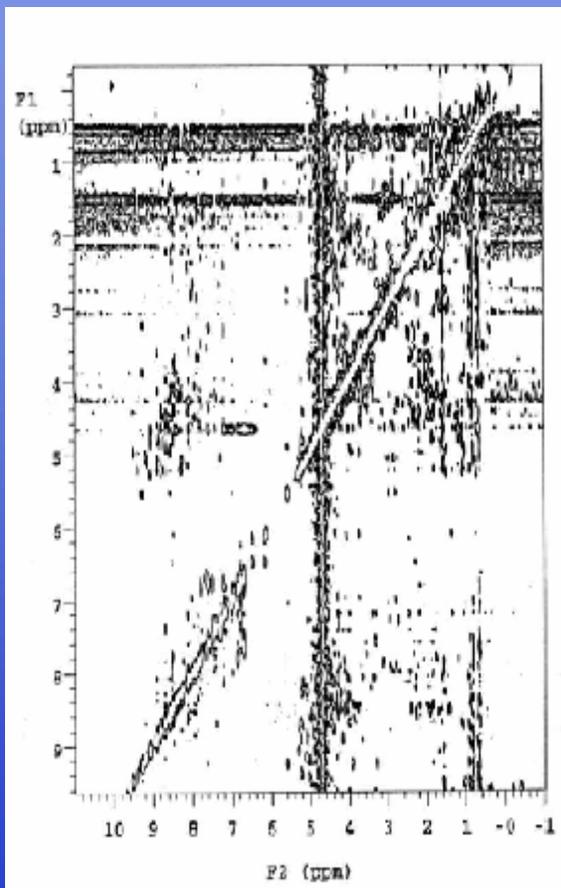


Многомерный (2D) ЯМР

- Белки: много атомов – много пиков в ЯМР спектре
- 2, 3, n-мерный БПФ-ЯМР – использование последовательностей импульсов разных частот, форм и продолжительности
- 2-мерный ЯМР – две частоты по осям



Поток данных ЯМР



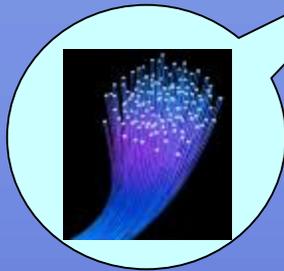
ЯМР спектр

Списки межатомных
расстояний

Наборы
координат атомов

3D-3D

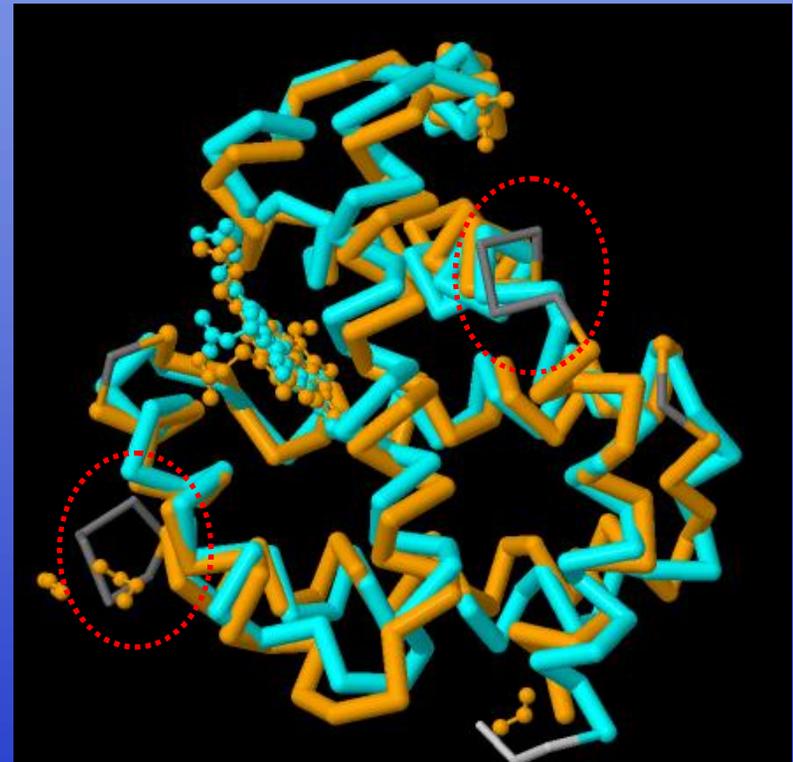
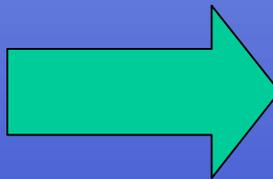
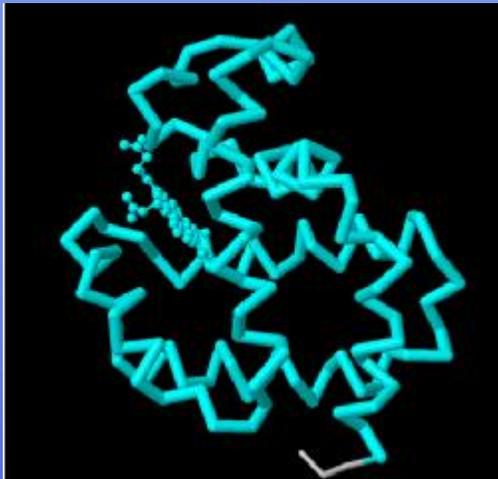
Задачи 3D>3D



- Различные формы представления 3D
- Определения форм – работа **эксперта** и **экспериментатора**



Пример 3D выравнивания: гемоглобины



Кластеризация структур белков

Кластеризация
структур



Структурные
классы белков

Тип архитектуры	Н классов
α (только спирали и петли)	284
β (только стрэнды и петли)	174
α/β	147
$\alpha+\beta$	376
Многодоменные	66
Мембранные	58
«Малые»	90
Всего	1195

38221
структур
(PDB 2009)

