

第二次作业

要求：1.氨基酸残基性质分析：

①侧链可以成氢键的氨基酸有哪些？

②侧链带手性的氨基酸都有哪些，它们是否有某种特定的二级结构倾向性？

③为什么带电的精氨酸、赖氨酸也有一定的疏水性质，这种性质是如何表现出来的？

2.L. Pauling在建立 α 螺旋模型时的主要假设是什么？

3.请在PDB数据库中下载我国科学家新解出的新型冠状病毒主蛋白酶（PDB id: 6LU7）的晶体结构数据，用PYMOL观察其结构特征并画出二级结构卡通图；用STRIDE服务器计算其二级结构、contact map及Ramachandran plot。

（1）STRIDE计算的二级结构与PDB文件中标出的二级结构是否相同？

（2）该结构的主链二面角是否都在允许区域内？

（3）根据contact map图分析该蛋白质的二级结构情况。

问题分析：1.①氨基酸侧链可以成氢键，就意味着侧链有羟基、氨基等给出质子的基团，或是有羰基、亚氨基等接受质子的基团。因此，侧链可以成氢键的氨基酸可分为如下几种：I. 侧链具有羟基的氨基酸：酪氨酸、丝氨酸、苏氨酸；II. 侧链具有巯基或硫醚基团的氨基酸：甲硫氨酸、半胱氨酸；III. 侧链具有氨基的氨基酸：赖氨酸；IV. 侧链具有羧基的氨基酸：天冬氨酸、谷氨酸；V. 侧链具有酰胺基的氨基酸：天冬酰胺、谷氨酰胺；VI. 侧链具有胍基的氨基酸：精氨酸；VII. 侧链具有氮杂环的氨基酸：色氨酸、组氨酸。

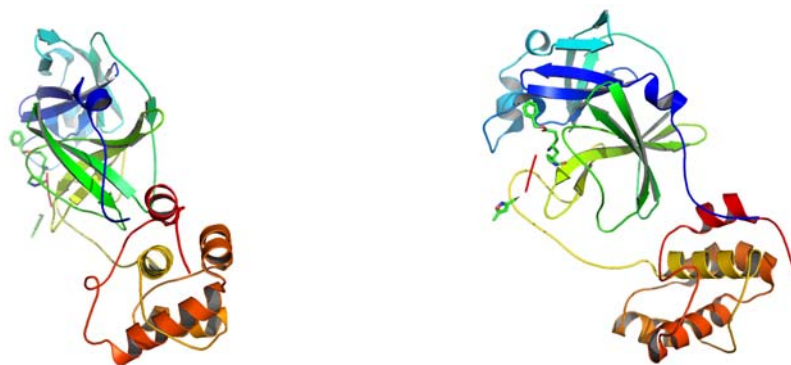
②侧链带手性的氨基酸有异亮氨酸、苏氨酸；这两种氨基酸形成 α 螺旋的倾向较小，而更容易形成 β 折叠片，其中异亮氨酸在 β 折叠片中的频率很高。（参见朱圣庚《生物化学》（第四版）第141-143页）

③精氨酸和赖氨酸的侧链都具有一条长链的烷基，在烷基末端连有亲水基团（如赖氨酸的氨基，精氨酸的胍基），而长链的烷基具有一定疏水性，因此精氨酸、赖氨酸也有一定的疏水性质。在富含精氨酸/赖氨酸的 α 螺旋中，它们的残基并非相互远离，而是相互靠近，这一方面有利于质子化的胍基/氨基形成良好的溶剂化构象，另一方面有利于形成良好的疏水相互作用（见Vila, J. A.; Ripoll, D. R.; Villegas, M. E.; Vorobjev, Y. N.; Scheraga, H. A. *Biophys. J.* **1998**, 75, 2637）。

2.鲍林在构建 α 螺旋模型时用到了如下假设：（1）由于肽键具有共振结构，其中的C-N键具有部分双键性质，不能绕键轴自由旋转，因此肽键应该为刚性平面结构；（2）多肽链形成 α 螺旋时，其残基数与旋转的圈数并不需要严格满足简单的整数比，也即沿着 α 螺旋旋转一圈，相应的残基数并不需要为整数个；（3）肽键中的N-H键应该与另一个肽键中的C=O键形成氢键，且氢键中氮与氧的直线距离为2.72埃， $\angle O-N-H \leq 30^\circ$ （这使得每个残基沿轴旋转的角度由 $165^\circ/120^\circ/108^\circ/97.2^\circ/70.1^\circ$ 这五种变成了 97.2° 或 70.1° ，前者为 α 螺旋，后者为 γ 螺旋）。

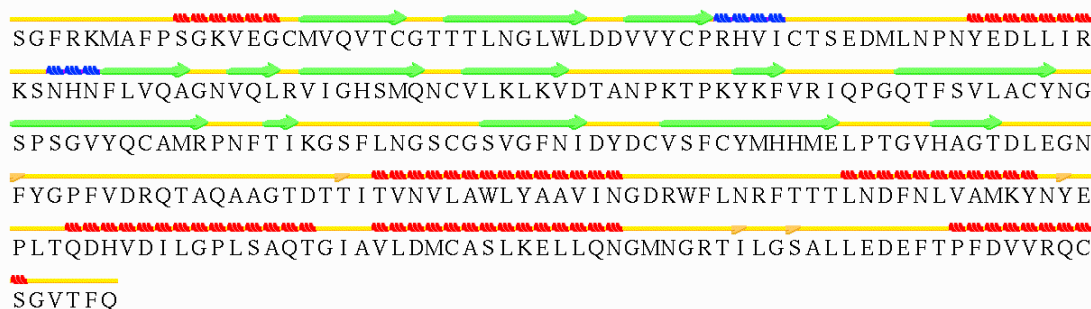
3.用PyMOL观察新型冠状病毒主蛋白酶的结构，可发现其可分为上下两部分，下半部分为全 α 蛋白质结构，以大量 α 螺旋为主；上半部分又可细分为两个部分，即顶部的全 β 类蛋白质结构（希腊钥匙型？）和中部的 $\alpha+\beta$ 类蛋白结构（双绕平行 β 片）。以下是新型冠状病毒主蛋白酶的部分示意图：





(1) 以下是STRIDE计算的二级结构示意图，其中红色螺旋为 α 螺旋，蓝色螺旋为 3_{10} -螺旋，绿色箭头为 β 折叠片，土黄色三角为独立 β 桥连，黄色横线为转角或无规结构。

VIRAL PROTEIN 26-JAN-20 6LU7 Chain: A

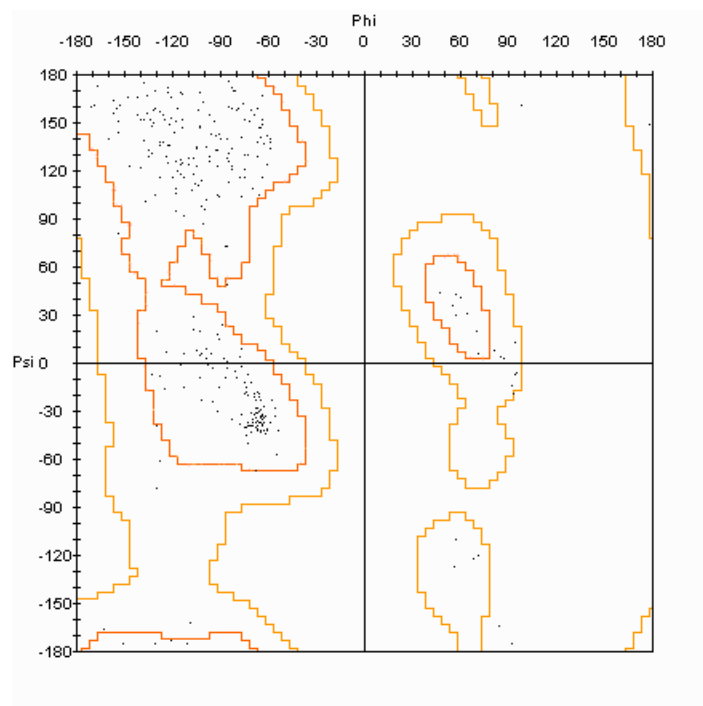


STRIDE计算的二级结构表明，6LU7的 α 螺旋对应序列为：SER10-GLY15，TYR54-ARG60，THR201-ASN214，LEU227-TYR237，GLN244-THR257，VAL261-ASN274，PRO293-SER301； 3_{10} -螺旋对应序列为：ARG40-ILE43，ASN63-ASN65； β 折叠片对应序列为：MET17-CYS22，THR25-LEU32，VAL35-PRO39，PHE66-ALA70，VAL73-LEU75，VAL77-GLN83，VAL86-VAL91，TYR101-PHE103，GLN110-TYR118，SER121-ARG131，THR135-ILE136，SER147-ILE152，VAL157-GLU166，HIS172-THR175；其余均为转角和无规卷曲。

作为对比，现展示6LU7的PDB文件中标出的二级结构，其 α 螺旋对应序列为：SER10-GLY15，ASN53-ARG60，ILE200-ASN214，THR226-TYR237，THR243-LEU250，LEU250-GLY258，ALA260-GLY275，THR292-SER301； 3_{10} -螺旋对应序列为：HIS41-CYS44，SER62-PHE66； β 折叠片对应序列为：MET17-CYS22，THR25-LEU32，VAL35-PRO39，LEU67-ALA70，VAL73-LEU75，VAL77-GLN83，VAL86-VAL91，TYR101-PHE103，THR111-TYR118，SER121-ALA129，VAL148-ILE152，VAL157-GLU166，HIS172-THR175

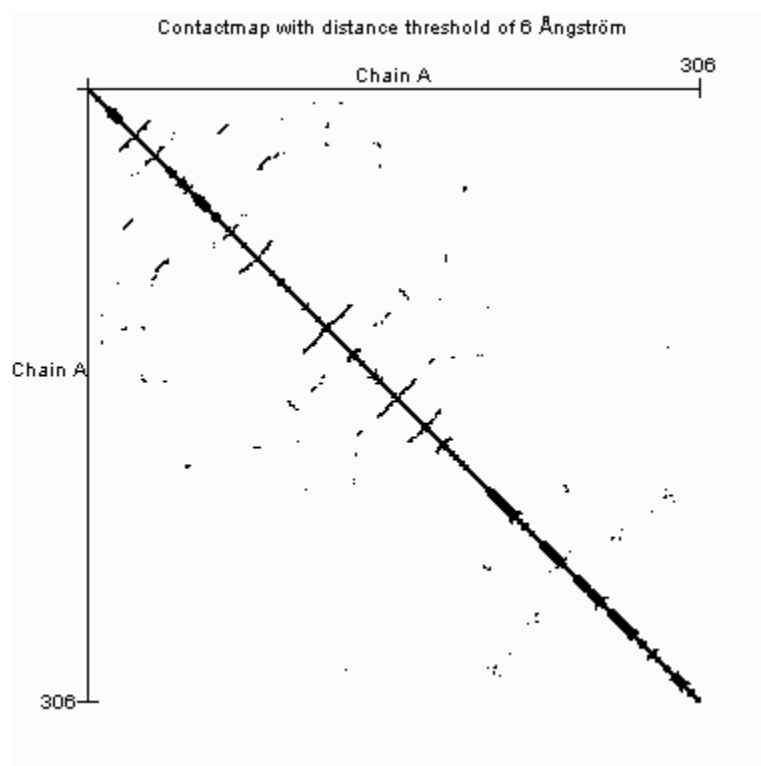
由此可以看出，STRIDE计算的二级结构与PDB文件中标出的二级结构大致位置上没有差异，但如果细致比较，便可发现STRIDE计算的 α 螺旋和 3_{10} -螺旋对应序列总有1~2个残基的误差； β 折叠片基本没有误差，但却将THR135-ILE136认为是 β 折叠片（实际上为无规序列）。

(2) 以下是STRIDE计算的拉氏图，其中橙色线为完全允许区，土黄色线为不完全允许区（临界限制区）。



由上图可知，该结构的主链二面角大部分落在在允许区域内，且集中在右手 α 螺旋允许区、 β 折叠片允许区、胶原蛋白三股螺旋允许区（此处参考朱圣庚《生物化学》（第四版）第92页）。但仍然有极少数残基落在允许区域外，这几个残基均属于无规卷曲结构。

（3）以下是STRIDE计算的接触矩阵（距离矩阵）。为了更清楚地分析接触矩阵，笔者采用接触矩阵分析软件CMView 1.1.1进行辅助分析。

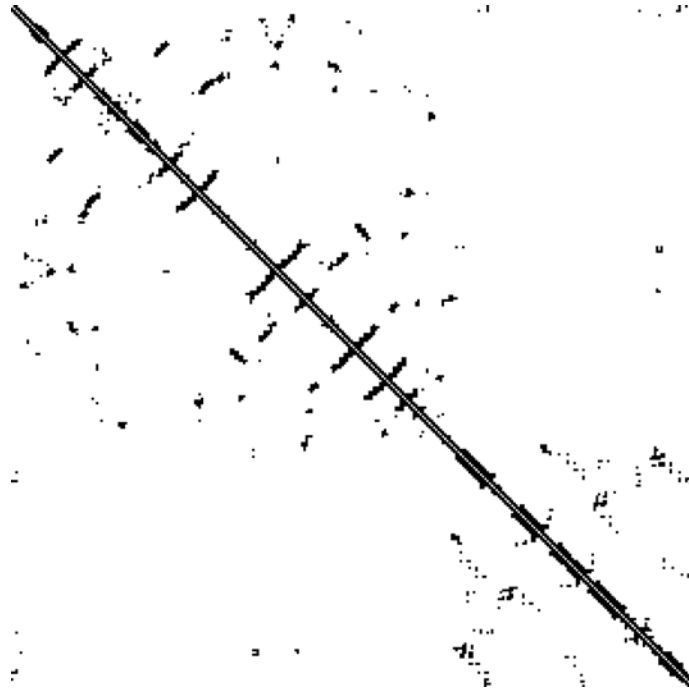


首先分析 β 折叠片之间的接触关系。由上图可知，MET17-CYS22（ β 折叠片）与THR25-LEU32（ β 折叠片）、PHE66-ALA70（ β 折叠片）密切接触，THR25-LEU32（ β 折叠片）与MET17-CYS22（ β 折叠片）、VAL35-PRO39（ β 折叠片）密切接触，VAL35-PRO39（ β 折叠片）与THR25-LEU32（ β 折叠片）、VAL86-VAL91（ β 折叠片）密切接触，PHE66-ALA70（ β 折叠片）与MET17-CYS22（ β 折叠片）、VAL73-LEU75（ β 折叠片）密切接触，VAL73-LEU75（ β 折叠片）与PHE66-ALA70（ β 折叠片）密切接触，VAL77-GLN83（ β 折叠片）与VAL86-VAL91（ β 折叠片）密切接触，VAL86-VAL91与VAL35-PRO39（ β 折叠片）、VAL77-GLN83（ β 折叠片）密切接触，以上相互接触的 β 折叠片构成一个结构域。

TYR101-PHE103（ β 折叠片）与VAL157-GLU166（ β 折叠片）密切接触，GLN110-TYR118（ β 折叠片）

与SER121-ARG131 (β 折叠片)、SER147-ILE152 (β 折叠片) 密切接触, SER121-ARG131 (β 折叠片) 与GLN110-TYR118 (β 折叠片) 密切接触, THR135-ILE136 (疑似 β 折叠片, 实际为无规卷曲) 与SER121-ARG131 (β 折叠片) 密切接触, SER147-ILE152 (β 折叠片) 与GLN110-TYR118 (β 折叠片)、VAL157-GLU166 (β 折叠片) 密切接触, VAL157-GLU166 (β 折叠片) 与SER147-ILE152 (β 折叠片)、HIS172-THR175 (β 折叠片) 密切接触, HIS172-THR175 (β 折叠片) 与VAL157-GLU166 (β 折叠片) 密切接触, 以上相互接触的 β 折叠片构成另一个结构域。

接下来分析 α 螺旋之间的接触关系。由上图可知, SER10-GLY15 (α 螺旋)、TYR54-ARG60 (α 螺旋)、LEU227-TYR237 (α 螺旋)、GLN244-THR257 (α 螺旋)、VAL261-ASN274 (α 螺旋) 均与其他二级结构没有明显接触, THR201-ASN214 (α 螺旋) 与PRO293-SER301 (α 螺旋) 之间仅有极少的残基接触。如果将接触距离上限放大到8埃 (见下图), 则THR201-ASN214 (α 螺旋)、LEU227-TYR237 (α 螺旋)、GLN244-THR257 (α 螺旋)、VAL261-ASN274 (α 螺旋)、PRO293-SER301 (α 螺旋) 之间的接触点均有明显增加, 因此这5个 α 螺旋构成一个结构域。



最后分析 3_{10} -螺旋的接触关系。由上图可知, ARG40-ILE43 (3_{10} -螺旋) 与MET17-CYS22 (β 折叠片), ASN63-ASN65 (3_{10} -螺旋) 与MET17-CYS22 (β 折叠片) 及VAL77-GLN83 (β 折叠片) 有少量残基接触, 说明这两个 3_{10} -螺旋与第一组 β 折叠片很接近, 很有可能起到连接 β 折叠片的作用。