

ПРИЛОЖЕНИЯ

к статье А.А. Бердюгина, В.М. Голышева, А.А. Ломзова

«Структурные основы влияния фосфорамидной *N*-бензимидазольной группы на эффективность удлинения модифицированного праймера Taq ДНК-полимеразой»

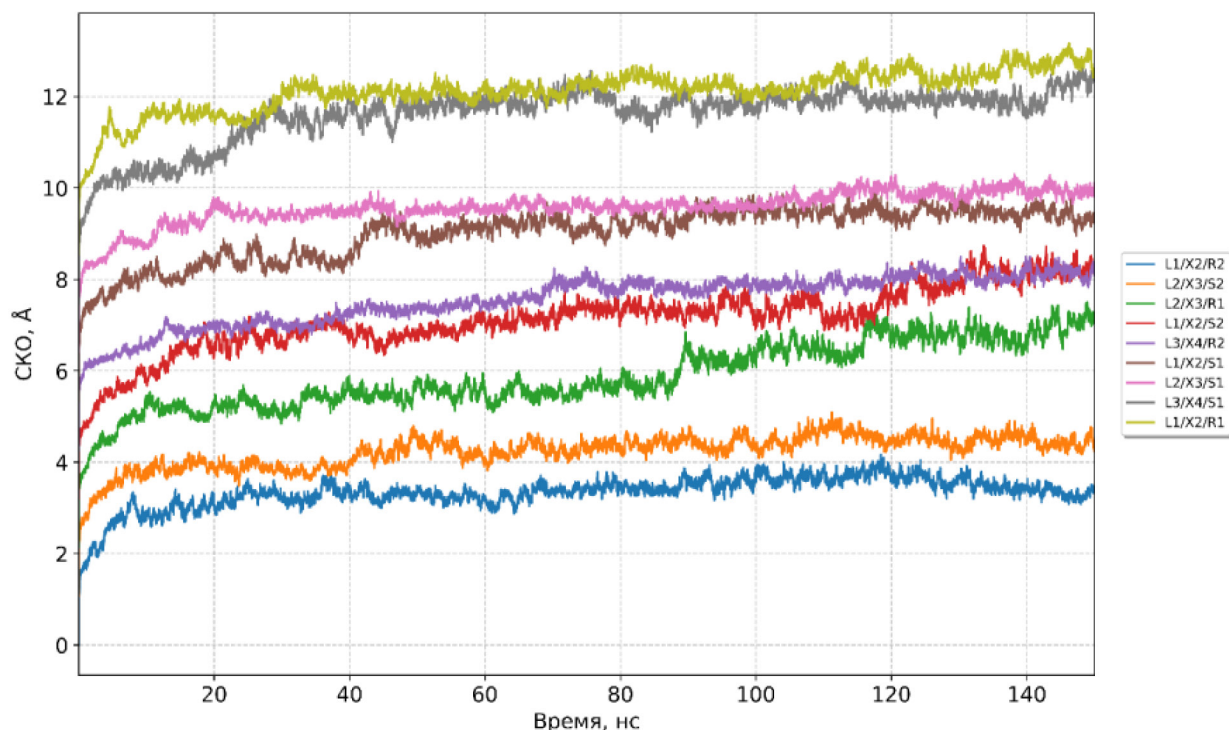


Рис. S1. Зависимость СКО от времени в МД траекториях комплексов, для которых было проведено дополнительное моделирование в течение 50 нс.

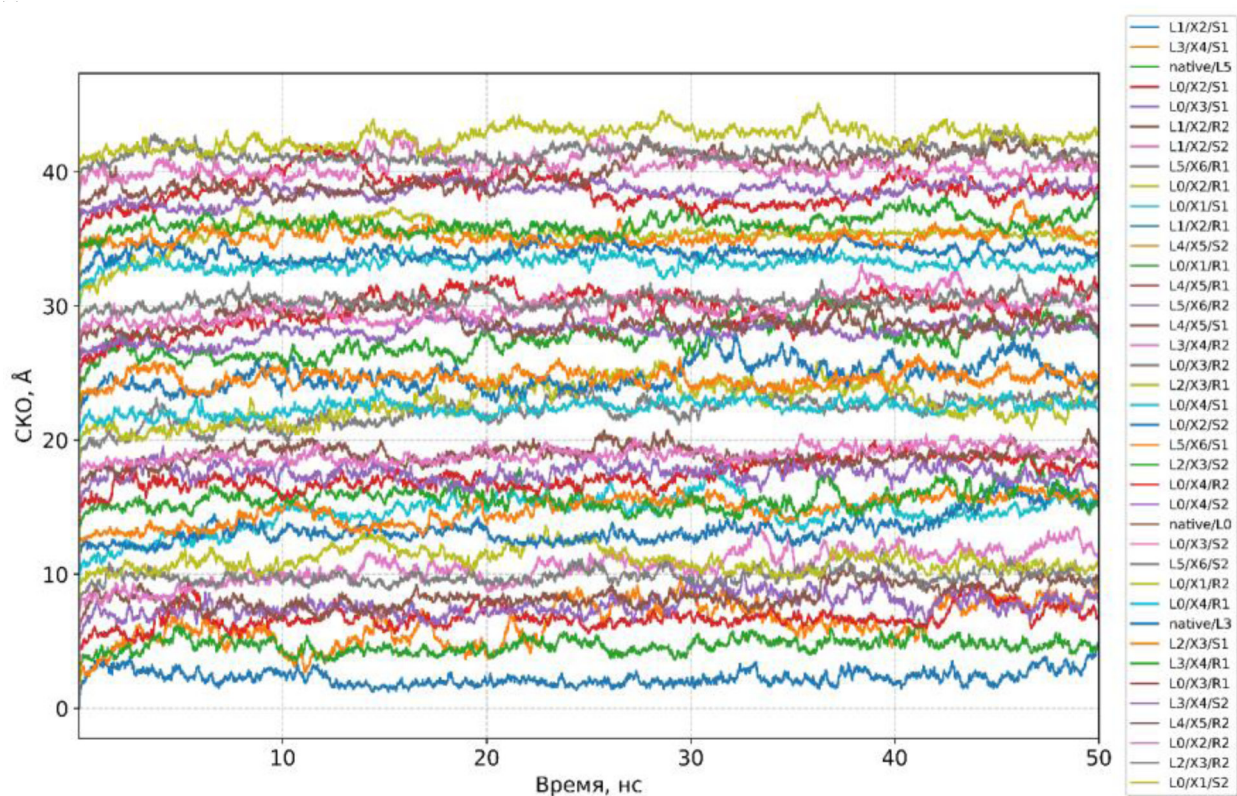


Рис. S2. Зависимость СКО комплексов ДНК с Taq ДНК полимеразой, нуклеозидтрифосфатом и двумя ионами магния от времени в МД траекториях.

Приведены участки последних 50 нс из 100 нс, которые были использованы для дальнейшего анализа. Для удобства анализа изображения все траектории сдвинуты по вертикальной оси друг относительно друга.

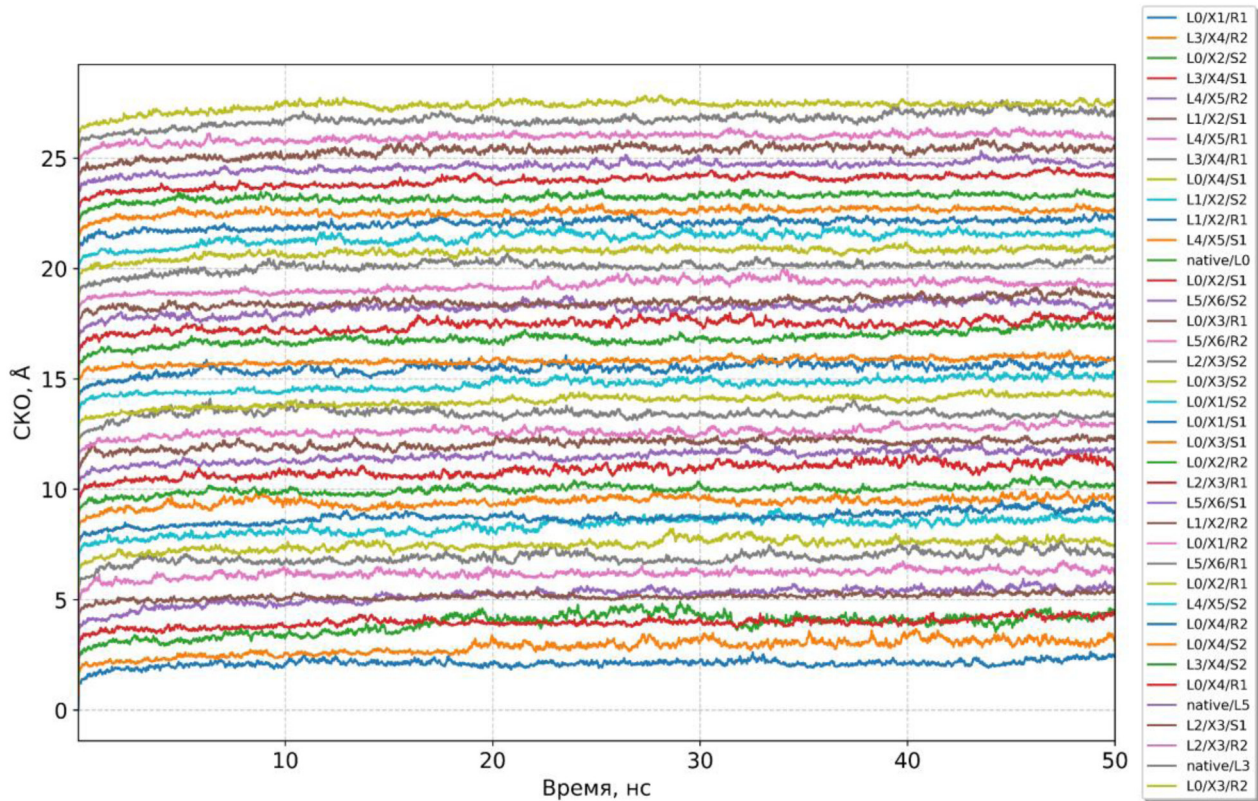


Рис. S3. Зависимость СКО Taq ДНК полимеразы в составе комплексов от времени в МД траекториях. Приведены участки последних 50 нс из 100 нс, которые были использованы для дальнейшего анализа. Для удобства анализа изображения все траектории сдвинуты по вертикальной оси друг относительно друга.

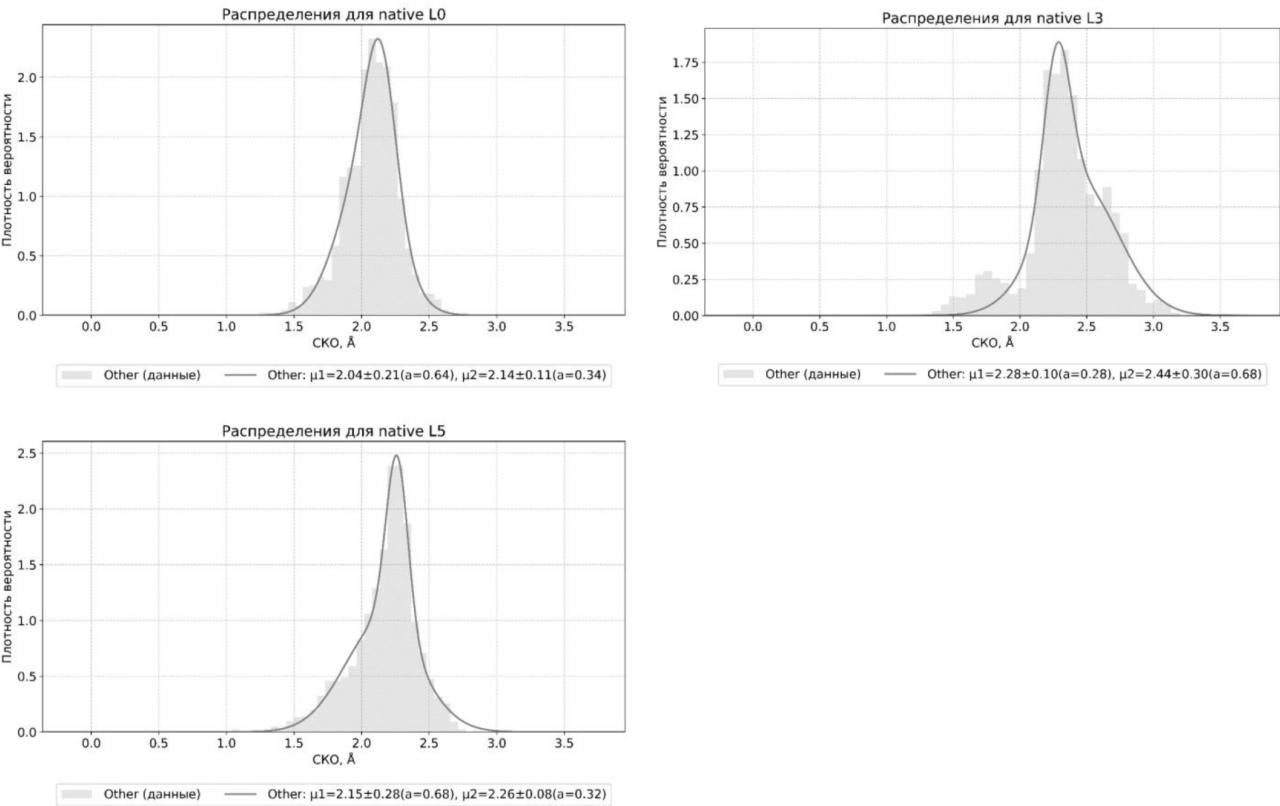
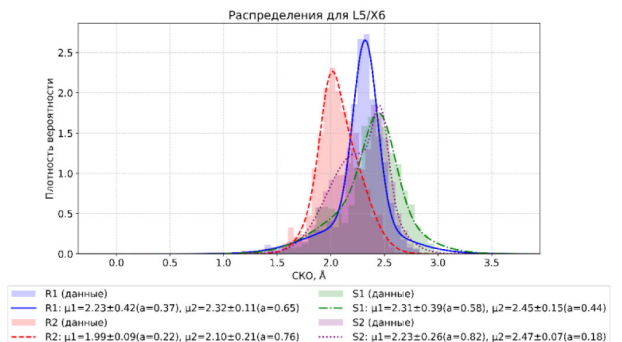
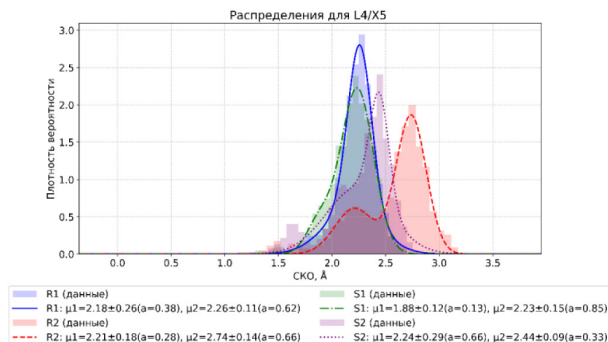
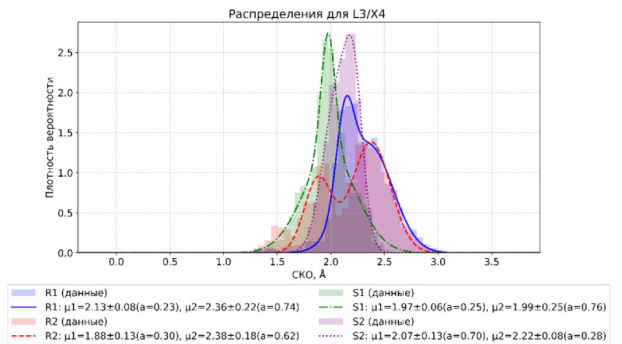
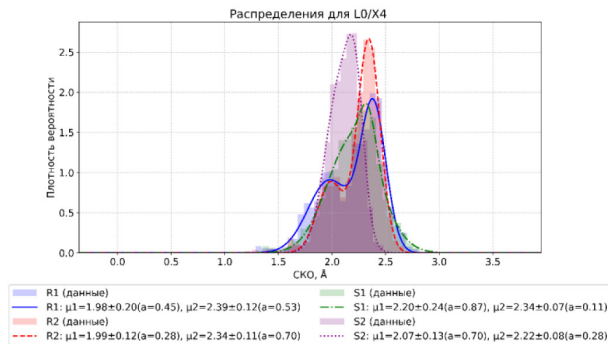
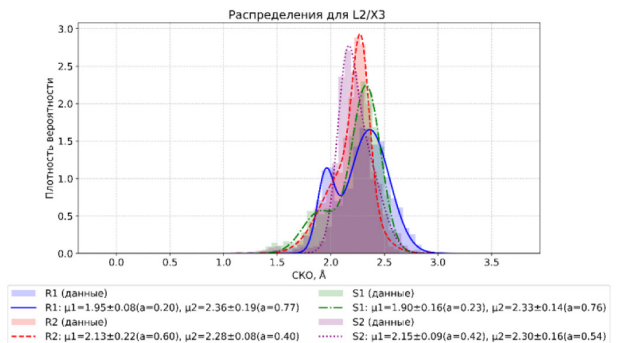
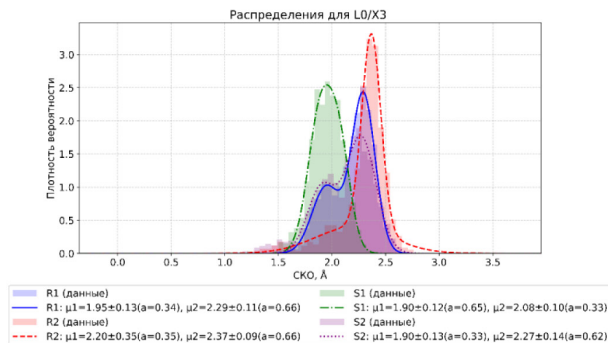
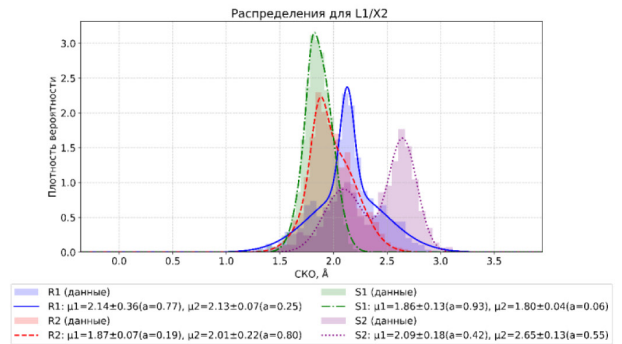
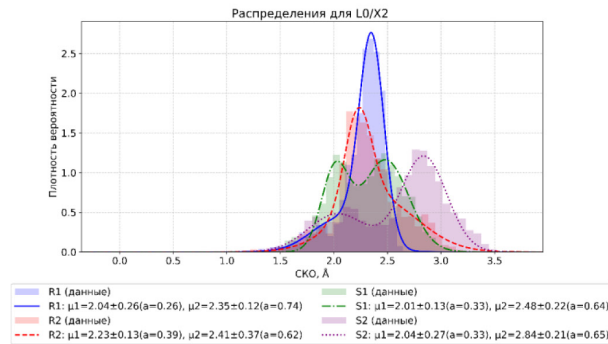
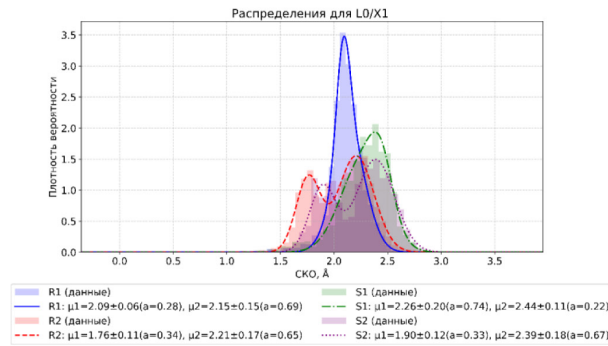


Рис. S4. Сопоставление распределений величин RMSD для исследованных комплексов.



Окончание рис. S4.

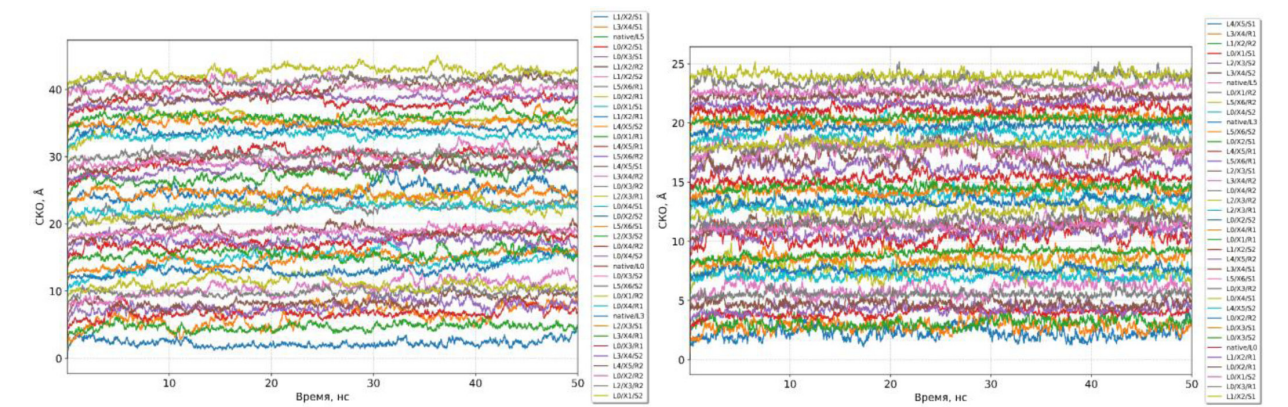


Рис. S5. Зависимость СКД ДНК с одноцепочечным нависанием матричной цепи (слева) и без учета одноцепочечного участка (справа) в составе комплексов с Taq полимеразой от времени в МД траекториях.

Приведены участки последних 50 нс из 100 нс, которые были использованы для дальнейшего анализа. Для удобства анализа изображения все траектории сдвинуты по вертикальной оси друг относительно друга.

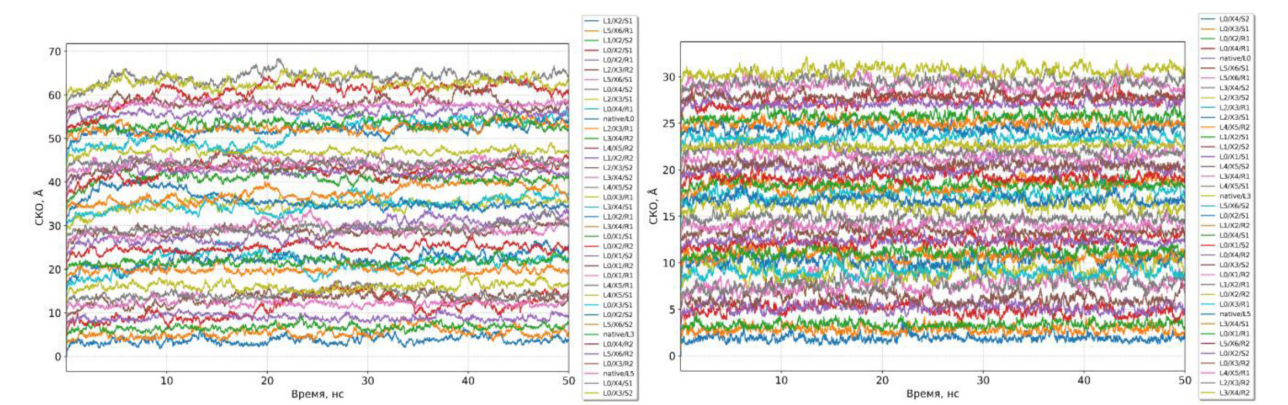


Рис. S6. Зависимость СКД ДНК с одноцепочечным нависанием матричной цепи (слева) и без учета одноцепочечного участка (справа) от времени в МД траекториях.

Приведены участки последних 50 нс из 100 нс, которые были использованы для дальнейшего анализа. Для удобства анализа изображения все траектории сдвинуты по вертикальной оси друг относительно друга.

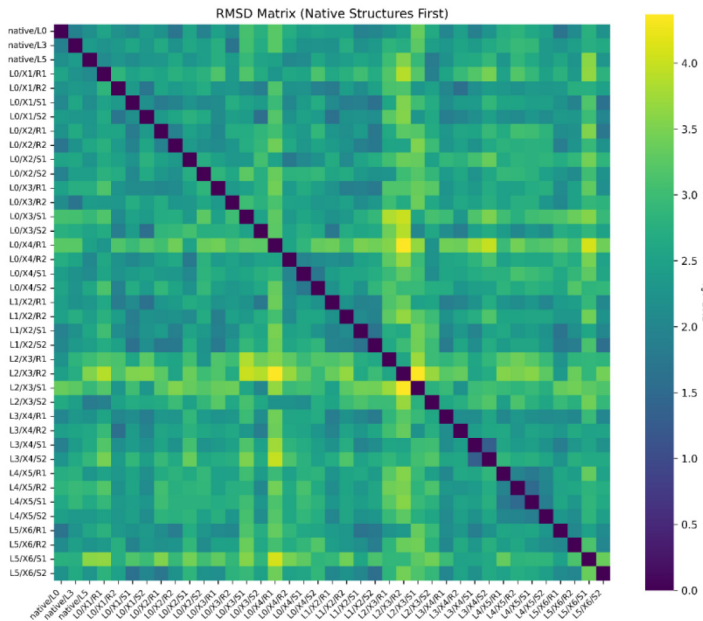


Рис. S7. Тепловая карта величин СКД для наиболее представленных структур белка в кластерах МД траекторий.

Таблица S1. Величины средних значений СКО между Cα атомами белков и их стандартных отклонений для различных комплексов

Величины СКО рассчитаны для данной структуры в сравнении со всеми другими структурами в данном исследовании.

Комплекс	Среднее значение СКО, Å	Стандартное отклонение СКО	Комплекс	Среднее значение СКО, Å	Стандартное отклонение СКО
native/L0	2.38	0.39			
native/L3	2.52	0.33			
native/L5	2.50	0.37			
L0/X1/R1	2.78	0.41			
L0/X1/R2	2.36	0.36			
L0/X1/S1	2.36	0.42			
L0/X1/S2	2.36	0.41			
L0/X2/R1	2.53	0.42	L1/X2/R1	2.33	0.40
L0/X2/R2	2.46	0.41	L1/X2/R2	2.53	0.43
L0/X2/S1	2.66	0.38	L1/X2/S1	2.36	0.43
L0/X2/S2	2.61	0.35	L1/X2/S2	2.38	0.50
L0/X3/R1	2.54	0.43	L2/X3/R1	2.97	0.38
L0/X3/R2	2.53	0.32	L2/X3/R2	3.26	0.51
L0/X3/S1	2.88	0.45	L2/X3/S1	3.07	0.45
L0/X3/S2	2.57	0.45	L2/X3/S2	2.74	0.39
L0/X4/R1	3.24	0.44	L3/X4/R1	2.37	0.39
L0/X4/R2	2.55	0.40	L3/X4/R2	2.50	0.35
L0/X4/S1	2.59	0.35	L3/X4/S1	2.46	0.43
L0/X4/S2	2.61	0.35	L3/X4/S2	2.76	0.43
			L4/X5/R1	2.59	0.37
			L4/X5/R2	2.64	0.43
			L4/X5/S1	2.62	0.40
			L4/X5/S2	2.49	0.35
			L5/X6/R1	2.38	0.41
			L5/X6/R2	2.53	0.42
			L5/X6/S1	3.07	0.37
			L5/X6/S2	2.48	0.46

Таблица S2. Сопоставление СКО дуплексной части НК субстратов

	R1 ¹	R2 ¹	S1 ¹	S2 ¹	Без Taq полимеразы ²	Сравнение с нативной ДНК ³	Сравнение с нативной структурой из моделирования с Taq полимеразой ⁴
L0/X1/R1		1.66	2.32	1.47	3.00	1.80	1.91
L0/X1/R2	1.66		1.82	1.26	2.46	1.49	1.58
L0/X1/S1	2.32	1.47		1.78	2.53	1.78	1.92
L0/X1/S2	1.47	1.26	1.78		2.67	1.67	1.88
L0/X2/R1		1.82	2.17	1.85	2.34	1.61	1.71
L0/X2/R2	1.82		1.80	1.78	2.35	1.70	1.81
L0/X2/S1	2.17	1.80		1.85	2.67	1.45	1.69
L0/X2/S2	1.85	1.78	1.85		2.25	1.62	1.50
L1/X2/R1		2.44	3.88	1.94	2.12		
L1/X2/R2	2.44		3.33	2.48	1.75		
L1/X2/S1	3.88	3.33		3.32	2.39		
L1/X2/S2	1.94	2.48	3.32		2.41		
L0/X3/R1		1.86	2.35	1.50	2.66	1.74	1.88
L0/X3/R2	1.86		2.60	1.66	2.65	1.80	1.90
L0/X3/S1	2.35	2.60		2.26	2.94	1.73	1.53
L0/X3/S2	1.50	1.66	2.26		1.90	1.47	1.72
L2/X3/R1		2.36	2.13	2.52	2.40		
L2/X3/R2	2.36		2.22	2.12	1.68		
L2/X3/S1	2.13	2.22		1.74	2.57		
L2/X3/S2	2.52	2.12	1.74		2.78		
L0/X4/R1	0	1.63	1.53		2.72	1.60	1.71
L0/X4/R2	1.63	0	1.66		1.96	1.96	1.92
L0/X4/S1	1.53	1.66	0		3.33	1.81	1.86
L3/X4/R1		1.50	1.63		2.44	2.07	1.80
L3/X4/R2	1.50		1.64		2.30	2.21	1.76
L3/X4/S1	1.63	1.64			1.85	2.10	1.60
L4/X5/R1		1.77	2.45	2.30	2.61		
L4/X5/R2	1.77		2.56	2.25	2.40		
L4/X5/S1	2.45	2.56		1.53	1.89		
L4/X5/S2	2.30	2.25	1.53		2.10		
L5/X6/R1		1.99	1.99	1.93	2.66	2.49	2.20
L5/X6/R2	1.99		1.86	1.68	2.02	2.19	1.55
L5/X6/S1	1.99	1.86		1.87	1.87	2.57	1.81
L5/X6/S2	1.93	1.68	1.87		1.83	2.30	1.63

¹ Сравнение структур после МД моделирования ДНК в комплексе с белком для разных конформеров и изомеров; ² сравнение структур с одинаковым стартовым положением модификации для одного стереоизомера в моделировании с Taq полимеразой и без нее; ^{3,4} сравнение структур после МД моделирования ДНК с модификацией и без модификации в комплексе с белком.

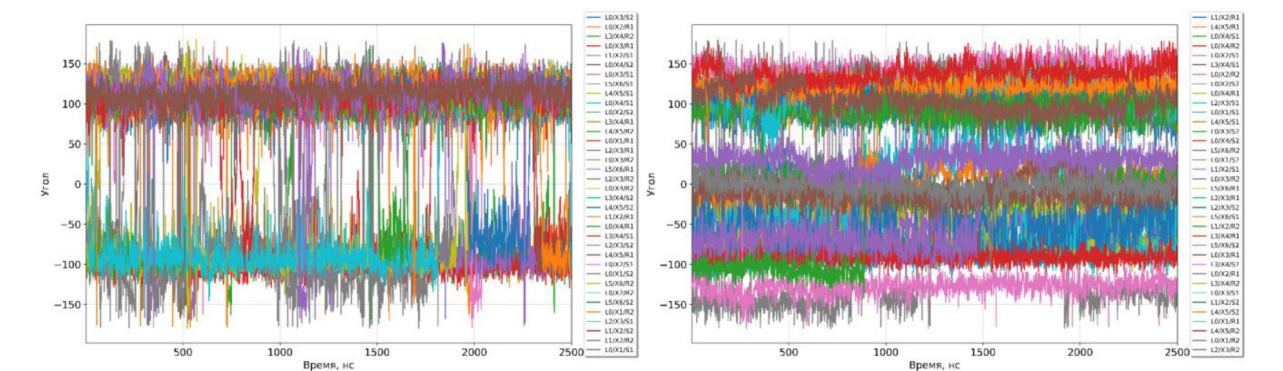
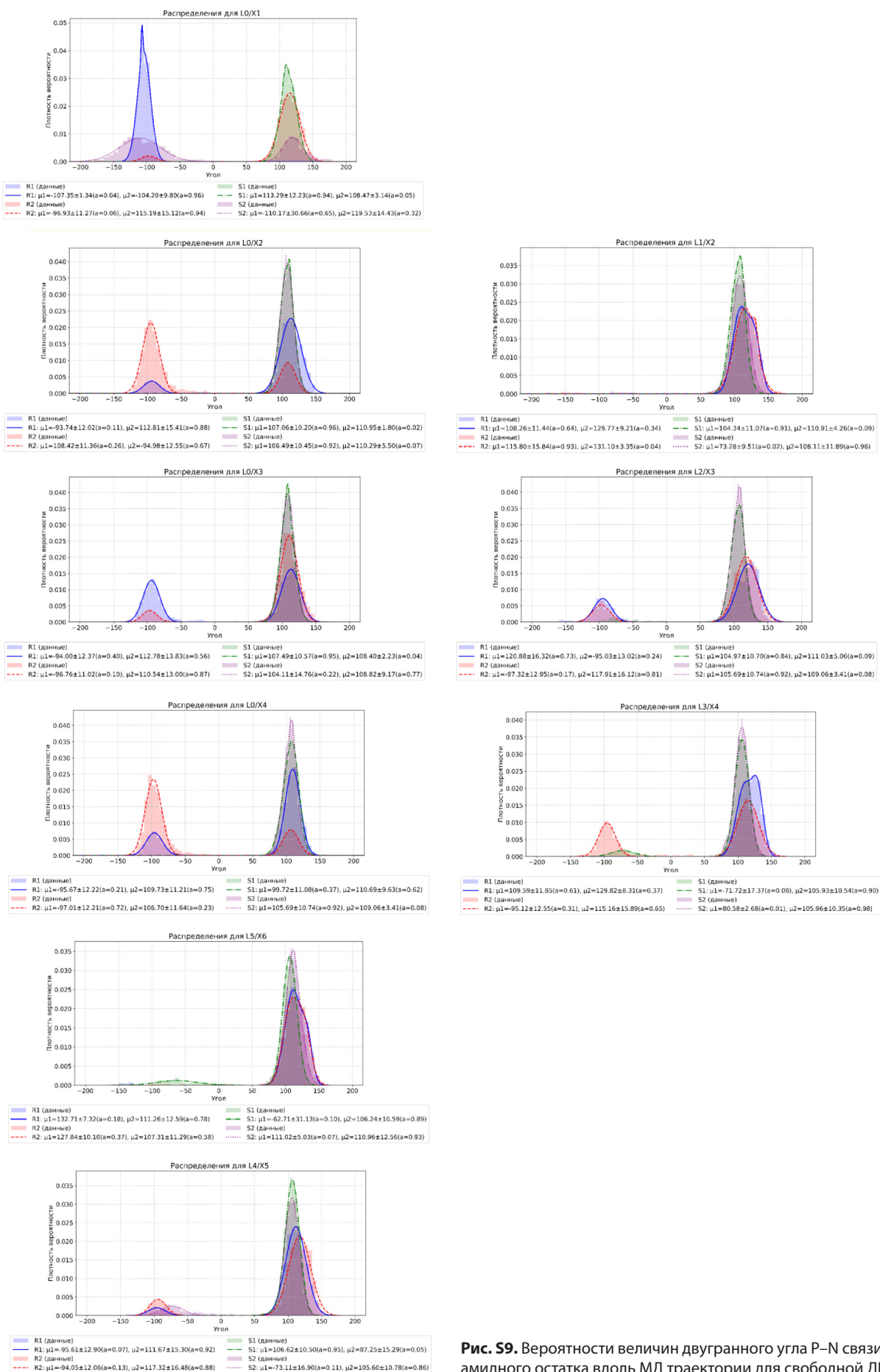


Рис. S8. Величины двугранного угла Р–N связи фосфорамидного остатка вдоль МД траектории для свободной ДНК (слева) и ДНК в составе комплекса с белком (справа).



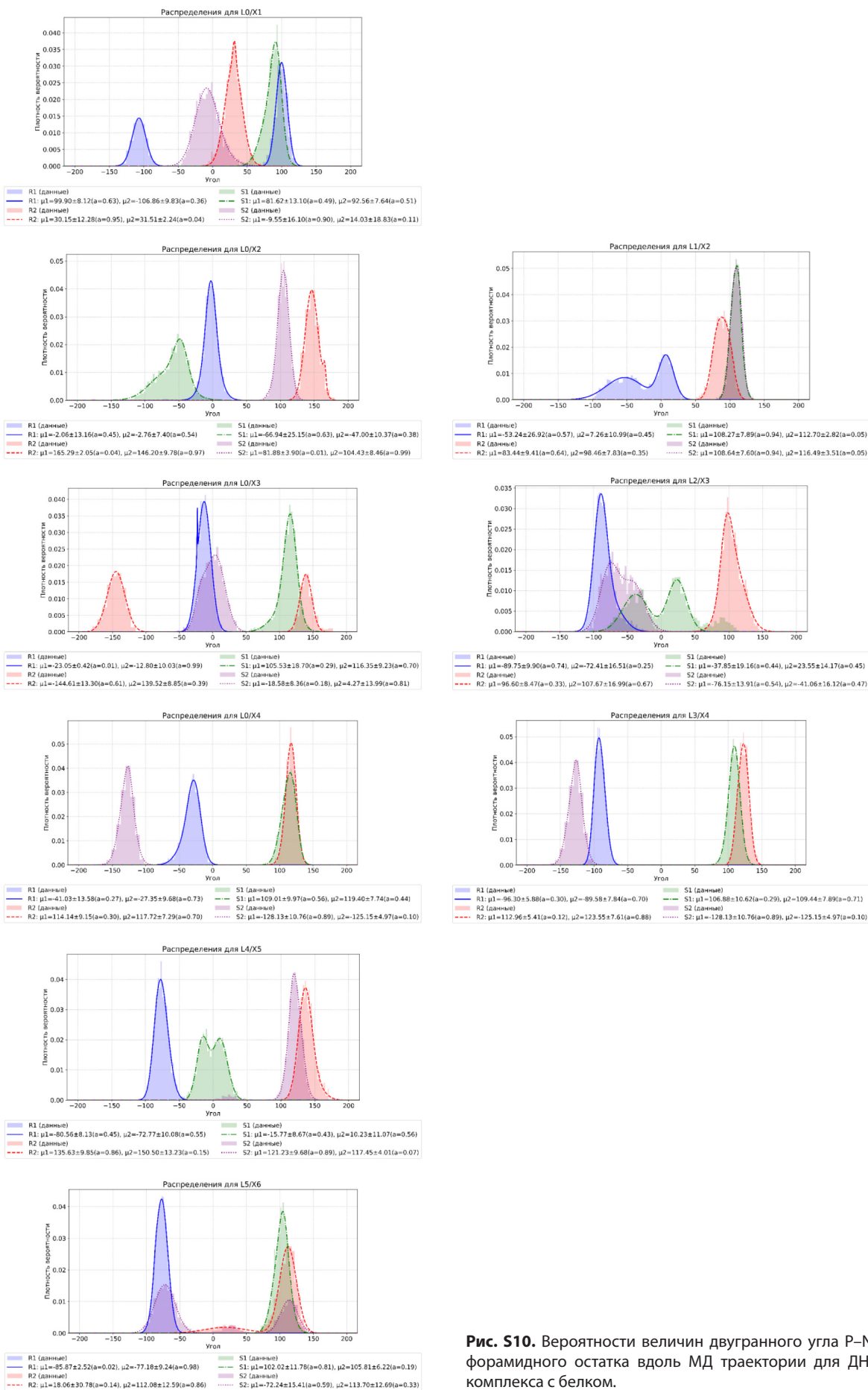


Таблица S3. Особенности расположения N-бензимидазольной модификации в комплексе ДНК с Таq полимеразой и его влияние на структуру

	Расположение в кармане белка	Кол-во атомов		Особенности
		ближе 3 Å	ближе 3.5 Å	
L0/X1/R1	++	26	82	Нарушение планарности 2 и 3 пары оснований
L0/X1/R2	+	18	59	Нарушение планарности 1 и 2 пары оснований
L0/X1/S1	–	12	37	Модификация взаимодействует с трифосфатом
L0/X1/S2	– +	18	47	Нарушение планарности 1 и 3 пары оснований
L0/X2/R1	– +	5	21	Нарушение планарности 3 и разрушение спаривания 2 пары оснований
L0/X2/R2	+	27	65	3 пара основания не имеет спаривания
L0/X2/S1	– +	13	28	«Прикрывает» основания в сторону 3'-конца праймера
L0/X2/S2	– +	14	31	«Прикрывает» основания в сторону 3'-конца праймера
L1/X2/R1	+	18	62	
L1/X2/R2	++	25	68	
L1/X2/S1	+ –	19	38	
L1/X2/S2	–	11	31	3 и 4 основания не имеют УК спаривания
L0/X3/R1	+ –	22	61	5 пара оснований не имеет спаривания
L0/X3/R2	++	25	76	4 и 5 основания праймера имеют слабый стэкинг
L0/X3/S1	– +	5	25	
L0/X3/S2	– +	6	30	
L2/X3/R1	++	28	68	
L2/X3/R2	+	14	37	
L2/X3/S1	–	19	35	
L2/X3/S2	– +	8	26	Нарушение планарности 3 пары оснований
L0/X4/R1	+++	36	100	
L0/X4/R2	+++	28	86	
L0/X4/S1	– +	15	41	Прикрывает основания в сторону 3'-конца праймера
L3/X4/R1	++	28	72	
L3/X4/R2	+++	37	89	Нарушение планарности 5 пары оснований
L3/X4/S1	+	22	49	
L4/X5/R1	+	20	58	
L4/X5/R2	++	28	81	
L4/X5/S1	+ –	15	51	
L4/X5/S2	+ –	17	49	
L5/X6/R1	+	25	61	
L5/X6/R2	–	4	15	
L5/X6/S1	--	0	0	«Прикрывает» основания в сторону 3'-конца праймера
L5/X6/S2	–	9	28	

Таблица S4. Аминокислотные остатки, расположенные ближе 3 Å от фосфорамидного *N*-бензимидазольного остатка

Комплекс	
L0/X1/R1	Leu581, Gln582, Arg595, Val783, Glu786, Trp827
L0/X1/R2	Val586, Arg587, Leu657, Arg660
L0/X1/S1	Val586, Lyn663
L0/X1/S2	Val586, Arg587, Leu657
L0/X2/R1	Asn583, Val586, Arg587
L0/X2/R2	Lys540, Leu541, Tyr545, Pro585, Arg587
L0/X2/S1	Pro585, Val586, Arg587
L0/X2/S2	Pro585, Val586, Arg587
L1/X2/R1	Arg587, Leu657, Arg660
L1/X2/R2	Glu537, Leu541, Pro585, Val586, Thr588, Leu590, Gly591
L1/X2/S1	Pro585, Val586, Arg587
L1/X2/S2	Pro585, Val586, Arg587
L0/X3/R1	Glu537, Leu538, Thr588, Leu590
L0/X3/R2	Glu537, Lys540, Leu541, Pro585, Thr588, Leu590
L0/X3/S1	Lyn540, Arg587
L0/X3/S2	Ala516, Glu537, Lyn540, Arg587 ⁺
L2/X3/R1	Glu537, Lyn540, Leu541, Thr588
L2/X3/R2	Ala516, Leu533, Arg536, Glu537
L2/X3/S1	Ala516, Ala517, Lyn540, Arg587
L2/X3/S2	Arg587
L0/X4/R1	Ser515, Ala516, Leu519, Glu520, Arg523, Val529, Ile532, Leu533, Arg536
L0/X4/R2	Leu490, Thr514, Ser515, Ala516, Leu519, Ile532, Leu533, Arg536
L0/X4/S1	Ser515, Ala516, Arg536
L3/X4/R1	Ser515, Ala516, Leu533, Arg536, Glu537
L3/X4/R2	Leu490, Thr514, Ser515, Ala516, Leu519, Ile532, Leu533
L3/X4/S1	Ser515, Ala516, Ala517, Arg536
L4/X5/R1	Arg487, Leu494, Thr506, Ser513, Thr514
L4/X5/R2	Asp488, Glu491, Thr506, Lys511, Arg512, Ser513, Thr514, Arg536
L4/X5/S1	Arg487, Lys505, Thr506, Ser513, Thr514, Ser515
L4/X5/S2	Arg487, Lys505, Thr506, Ser513, Thr514, Ser515
L5/X6/R1	Thr506, Glu507, Lys508, Thr509, Lys511
L5/X6/R2	Thr506, Lys508, Thr509
L5/X6/S1	–
L5/X6/S2	Glu507, Lys508

Таблица S5. Величины энергий всего комплекса, дуплексной части ДНК и белка, рассчитанные методом MMGBSA при помощи однотраекторного подхода (в ккал/моль)

	Комплекс	ДНК	Белок
L1/X2/R1	–26388	–4885.1	–21299
L1/X2/R2	–26363	–4880.3	–21309
L1/X2/S1	–26367	–4897.1	–21303
L1/X2/S2	–26473	–4879.8	–21388
L2/X3/R1	–26149	–4757.6	–21245
L2/X3/R2	–26117	–4753.1	–21208
L2/X3/S1	–26218	–4756.9	–21244
L2/X3/S2	–26229	–4759.8	–21268
L3/X4/R1	–26337	–4816.5	–21340
L3/X4/R2	–26351	–4808.4	–21360
L3/X4/S1	–26356	–4808.3	–21357
L4/X5/R1	–26356	–4887.8	–21322
L4/X5/R2	–26328	–4885.2	–21285
L4/X5/S1	–26355	–4884.9	–21298
L4/X5/S2	–26334	–4881.3	–21275
L5/X6/R1	–26360	–4931.1	–21249
L5/X6/R2	–26381	–4929.7	–21284
L5/X6/S1	–26362	–4929.0	–21254
L5/X6/S2	–26394	–4929.6	–21293
Немодифицированный	–26711	–4800.8	–21616
L0/X1/R1	–26510	–4955.9	–21363
L0/X1/R2	–26544	–4910.9	–21432
L0/X1/S1	–26516	–4895.9	–21414
L0/X1/S2	–26517	–4916.2	–21393
L0/X2/R1	–26577	–4939.7	–21432
L0/X2/R2	–26417	–4902.4	–21314
L0/X2/S1	–26486	–4920.2	–21358
L0/X2/S2	–26435	–4919.2	–21347
L0/X3/R1	–26514	–4896.2	–21404
L0/X3/R2	–26459	–4909.5	–21350
L0/X3/S1	–26495	–4922.5	–21386
L0/X3/S2	–26512	–4915.9	–21398
L0/X4/R1	–26529	–4903.4	–21399
L0/X4/R2	–26549	–4918.8	–21413
L0/X4/S1	–26461	–4917.4	–21327

Таблица S6. Энергия связи НК субстрата с Taq ДНК-полимеразой, рассчитанная методом MMGBSA при помощи однотоакторного подхода (в ккал/моль)

	ΔE (MMGBSA)	$\Delta \Delta E$, между конформерами	ΔE_{min} для модификации	$\Delta \Delta E$, между стереоизомерами
native/L0	−181.0			
Native/L3	−221.0			
Native/L5	−249.7			
L0/X1/R1	−191.2	10.2	−201.4	6.9
L0/X1/R2	−201.4			
L0/X1/S1	−206.3	2.0	−208.3	
L0/X1/S2	−208.3			
L0/X2/R1	−205.7	−4.6	−205.7	2.5
L0/X2/R2	−201.2			
L0/X2/S1	−208.2	−39.7	−208.2	
L0/X2/S2	−168.6			
L1/X2/R1	−173.5	−30.9	−204.3	0.4
L1/X2/R2	−204.3			
L1/X2/S1	−204.7	−38.3	−204.7	
L1/X2/S2	−166.5			
L0/X3/R1	−213.7	−13.7	−213.7	−15.6
L0/X3/R2	−200.0			
L0/X3/S1	−187.0	11.2	−198.1	
L0/X3/S2	−198.1			
L2/X3/R1	−147.1	9.2	−156.2	59.4
L2/X3/R2	−156.2			
L2/X3/S1	−216.0	−14.5	−216.0	
L2/X3/S2	−201.5			
L0/X4/R1	−226.7	−8.8	−226.7	−9.9
L0/X4/R2	−217.9			
L0/X4/S1	−216.8		−216.8	
L3/X4/R1	−181.2	1.5	−182.7	8.7
L3/X4/R2	−182.7			
L3/X4/S1	−191.4		−191.4	
L4/X5/R1	−145.6	12.2	−157.8	20.3
L4/X5/R2	−157.8			
L4/X5/S1	−172.4	5.8	−178.1	
L4/X5/S2	−178.1			
L5/X6/R1	−180.9	−13.4	−180.9	−1.7
L5/X6/R2	−167.6			
L5/X6/S1	−179.2	−7.7	−179.2	
L5/X6/S2	−171.5			