

**МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В.ЛОМОНОСОВА**

ФАКУЛЬТЕТ БИОИНЖЕНЕРИИ И БИОИНФОРМАТИКИ

Отчет о качестве расшифровки структуры белка бычьего
родопсина (PDB код 1GZM) методом рентгеноструктурного
анализа

Студентки 4 курса
Атроховой А. В.

**Москва
2014 г.**

Содержание

СОДЕРЖАНИЕ	2
АННОТАЦИЯ	3
ВВЕДЕНИЕ	3
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ	4
ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ:	4
КАЧЕСТВО СТРУКТУРЫ.....	4
<i>SER 144 A</i>	7
<i>ASN 145 A</i>	8
<i>GLN 244 A</i>	9
<i>PRO 142 B</i>	10
<i>HIS 195 B</i>	11
СРАВНЕНИЕ МОДЕЛИ 1GZM ИЗ PDB И ИЗ PDB_REDO	12
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	12
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	13

Аннотация

В данной работе был проведен анализ структуры 1GZM (белок бычьего родопсина). Приведены некоторые показатели качества построенной модели (R-фактор, R-free, карта Рамачандрана) и список из 10 маргинальных остатков, 5 из которых рассмотрены подробно.

Введение

Родопсин - фоторецепторный белок палочек сетчатки, который относится к семейству эукариотических трансмембранных рецепторов, связанных с G-белком. Родопсин имеет укладку все-альфа и содержит в своей структуре 7 трансмембранных альфа-спиралей. За светочувствительность отвечает лиганд (11-цис-ретиаль), ковалентно связанный с лизином 296. Поглощение фотона с длиной волны около 500 нм приводит к изомеризации 11-цис-ретиаля во все-транс-ретиаль, что вызывает изменение конформации белка и дальнейшую передачу сигнала через G-белок-опосредованный каскад.

В статье Structure of bovine rhodopsin in a trigonal crystal form, Li J и коллеги получили улучшенную по отношению к предыдущим модель бычьего родопсина с разрешением 2,65 ангстрем. В результате работы количество разрешенных аминокислот на нескольких участках увеличилось, а также были получены данные, проливающие свет на конформационные изменения, связанные с передачей сигнала.

Результаты и обсуждения

Общая информация

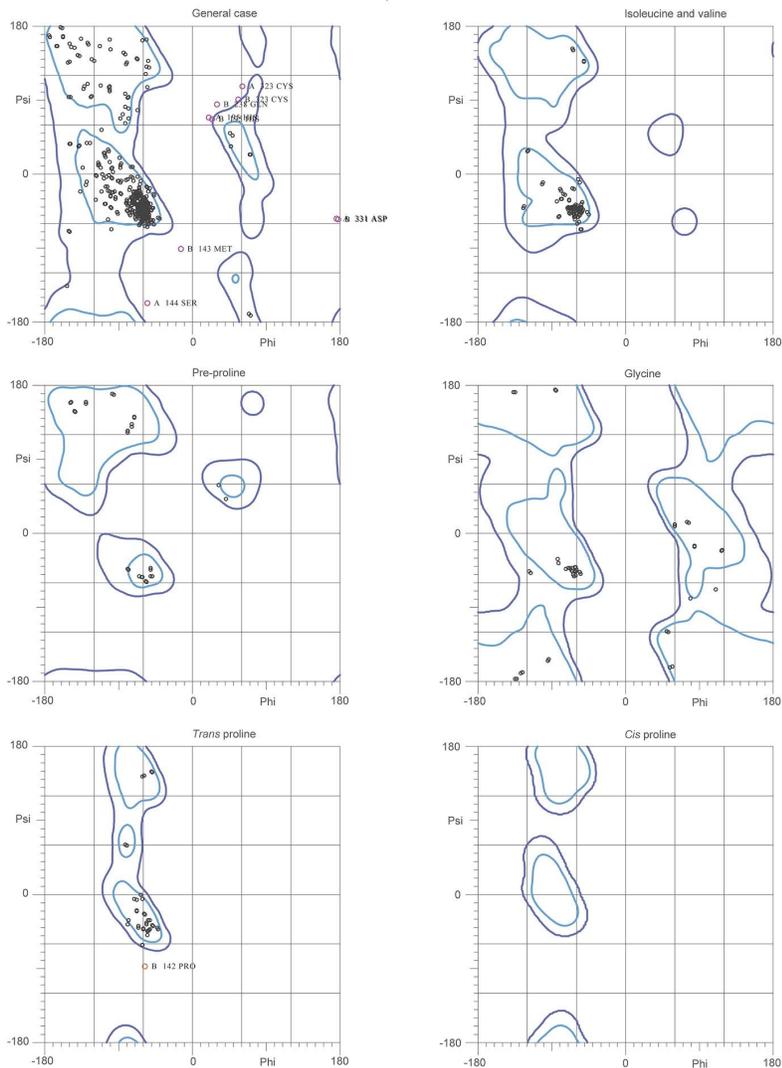
Бычий родопсин в структуре 1GZM образует гомодимер (цепи А и В, 349 а. о.). Структура опубликована Li J и коллегами в 2004. Для решения фазовой проблемы был использован метод молекулярного замещения (Molecular replacement – MR). Использовались координаты родопсина из тетрамера (PDB ID: 1F88). Число рефлексов - 26063, минимальное разрешение - 2,65 ангстрема, максимальное - 44.96. Полнота набора данных - 96,8%. (По данным EDS <http://eds.bmc.uu.se/cgi-bin/eds/uusfs?pdbCode=1GZM>)

Качество структуры

R-фактор структур равен 0.202, а R-free – 0.235 (что весьма неплохо). На карте Рамачандрана 92.6% аминокислотных остатков по значениям углов ϕ и ψ лежат в благоприятной области (См рисунок 1), что меньше идеальных 98%. (По данным <http://molprobit.biochem.duke.edu/>)

MolProbity Ramachandran analysis

IGZM, model 1



92.8% (604/652) of all residues were in favored (98%) regions.
95.5% (462/522) of all residues were in allowed (+99.8%) regions.

There were 10 outliers (phi, psi):
A 144 SER (55.5, -157.3)
A 195 HIS (20.9, 69.1)
A 223 CYS (61.1, 107.9)
A 331 ASP (176.4, -54.3)
B 142 PRO (-58.8, -87.1)
B 142 MET (-144.8, -91.7)
B 195 HIS (24.4, 67.5)
B 238 GLN (10.9, 85.1)
B 223 CYS (66.5, 91.6)
B 331 ASP (178.6, -55.2)

<http://kinemage.biochem.duke.edu>

Lovell, Davis, et al. Proteins 50:437 (2003)

Рисунок 1 - карта Рамачандрана

Среди маргинальных остатков карты Рамачандрана выделяются остатки SER 144, HIS 195, CYS 323 и ASP 331 цепи А, а также PRO 142, MET 143, HIS 195, GLN 238, CYS 323 и ASP 331 цепи В. Также, 21 остаток (3,8%) представлены плохими ротамерами, а 7 связей в остове (0.12%) имеют неоптимальную длину.

Таблица маргинальных остатков, с указанием показателя, по которому они отобраны.

Номер	а. о	цепь	Показатель отбора
144	SER	А	запрещенная область, наложение на другие атомы структуры
145	ASN	А	инверсия боковой цепи
244	GLN	А	инверсия боковой цепи
142	PRO	В	транс-пролин
195	HIS	В	запрещенная область, наложение на другие атомы

SER 144 A

На рисунке 2 показан серин 144 цепи А и его электронная плотность при $\sigma = 0.7$. Вообще на всем этом участке электронная плотность как-то слабо связана с расшифрованной структурой: по-видимому, из-за расположения данного участка на периферии глобулы, серин 144 и соседние остатки обладают высокой подвижностью в кристалле и были плохо разрешены.

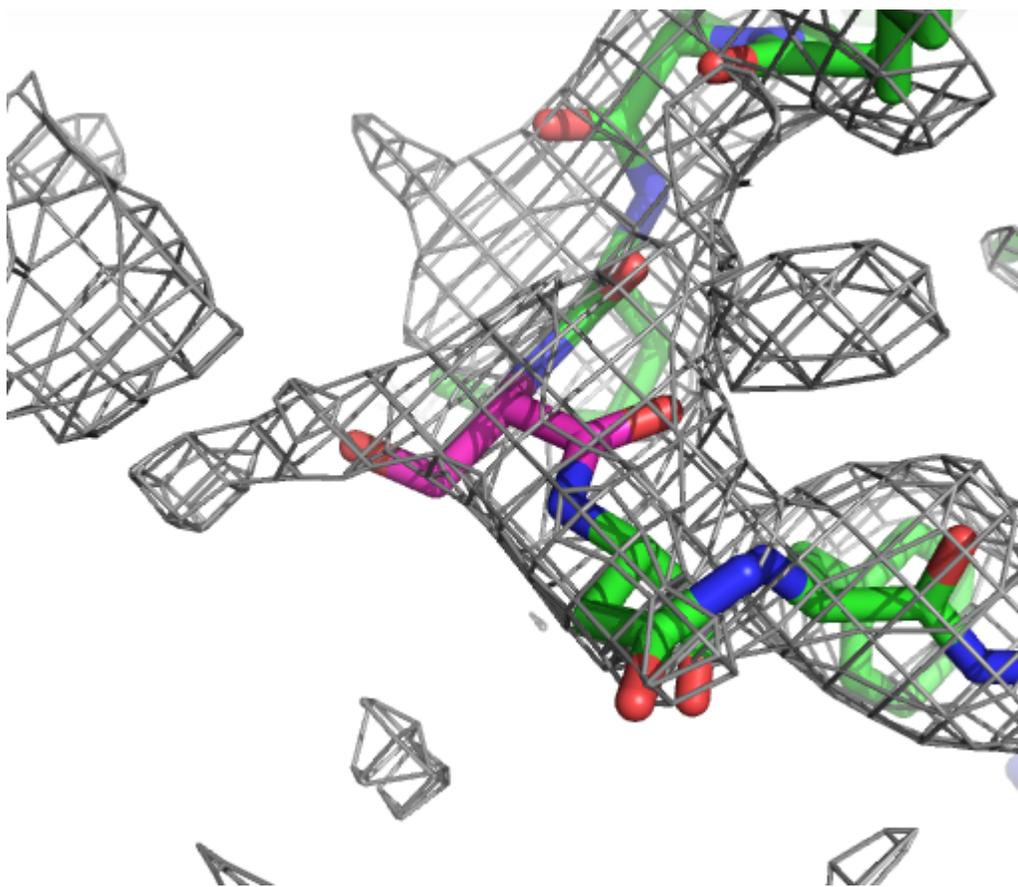


Рисунок 2

ASN 145 A

Так же, как и в случае с серином 144, аспарагин 145, судя по всему, находится в подвижном участке. И хотя MolProbity указывает на инверсию в боковой цепи, я бы сказала, что электронная плотность не достаточно высокого разрешения, чтобы судить о том, где кислород, а где азот.

Аспарагин 145 и его электронная плотность на уровне 0.5 показаны на рисунке 3.

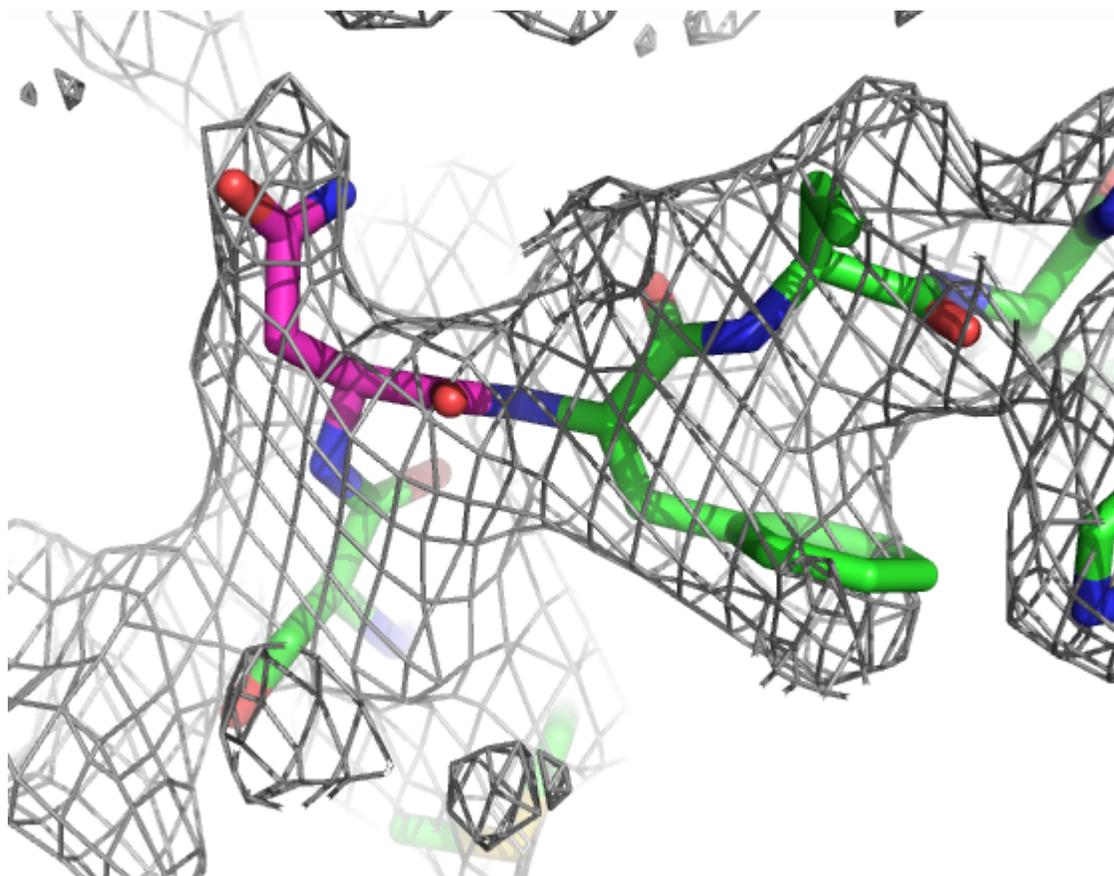


Рисунок 3

GLN 244 A

По моему мнению, глутамин в структуре разрешен правильно, так как скорее всего именно такая конформация стабилизируется за счет водородных связей водородов при азоте карбонильной группы с кислородами остова, а также, возможно, кислорода и радикала лизина 248.

Глутамин 244 и его электронная плотность, а также ряд образуемых им водородных связей показаны на рисунке 4.

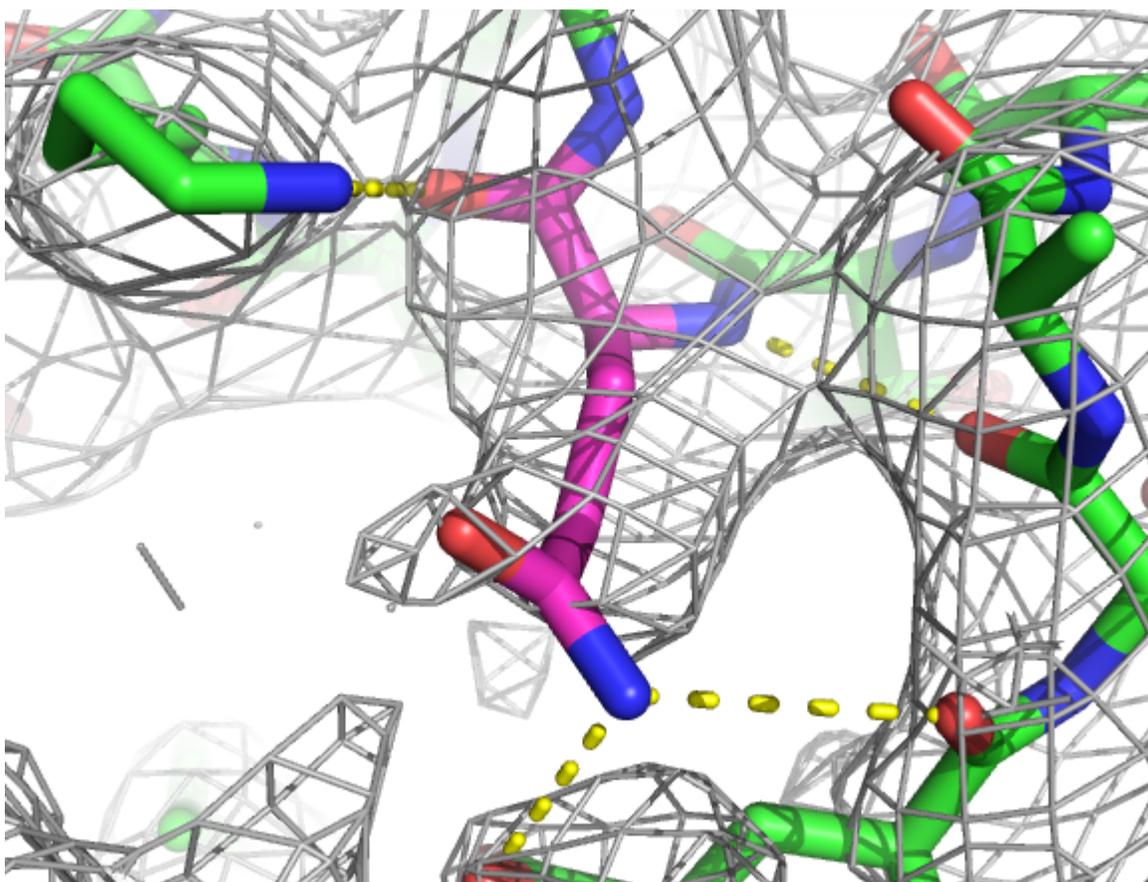


Рисунок 4

PRO 142 B

В структуре 1GZM в цепи В на 142й позиции в электронную плотность вписан транс-изомер пролина (по пептидной связи с предыдущей аминокислотой).

Хотя в белках цис и транс изомеры пролина встречаются с одинаковой частотой, в данном случае нельзя однозначно утверждать о том, какой именно изомер здесь присутствует: в связи с маргинальным положением остатка в глобуле его электронная плотность плохо разрешена.

Пролин 142 и его электронная плотность показаны на рисунке 5.

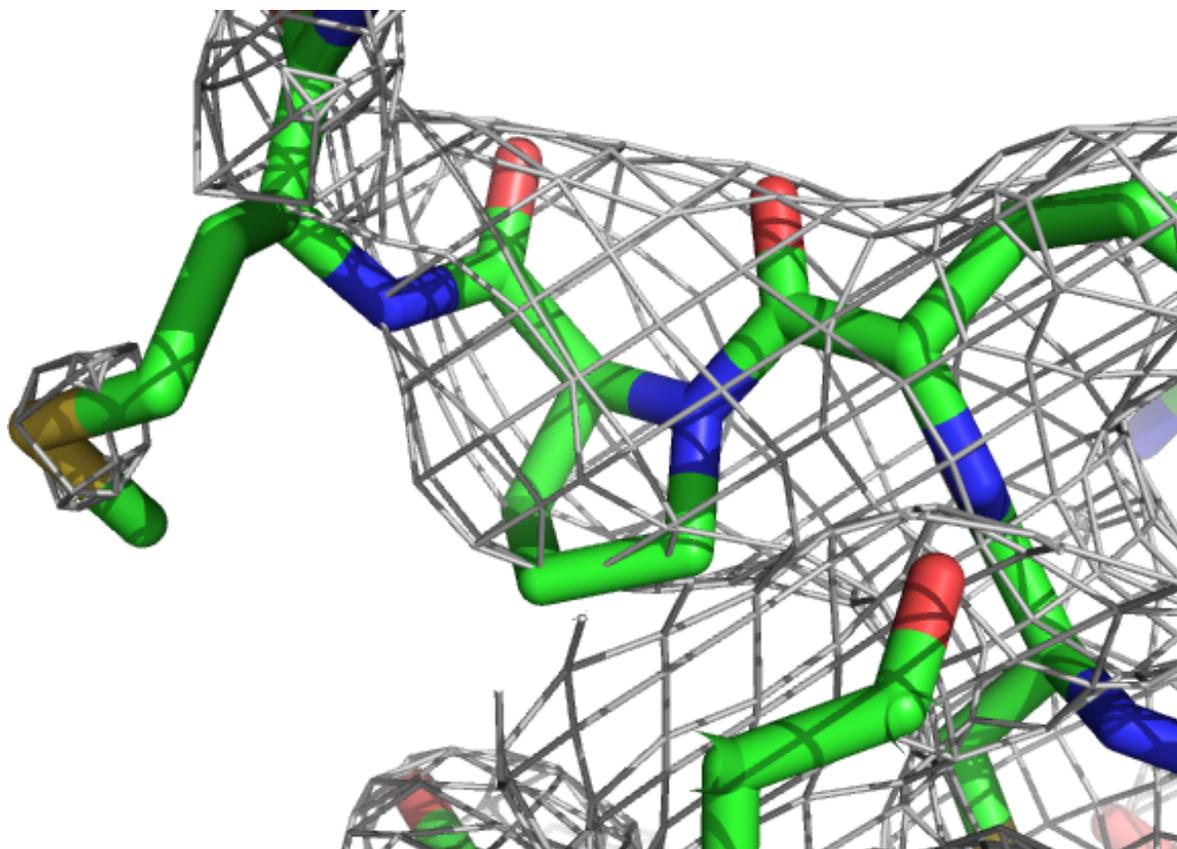


Рисунок 5.

HIS 195 B

Визуально я не вижу никаких проблем в структуре гистидина, хотя и не понимаю, чем обосновано именно такая ориентация азотов кольца.

На рисунке 6 показан гистидин 195 и его электронная плотность на уровне 1.

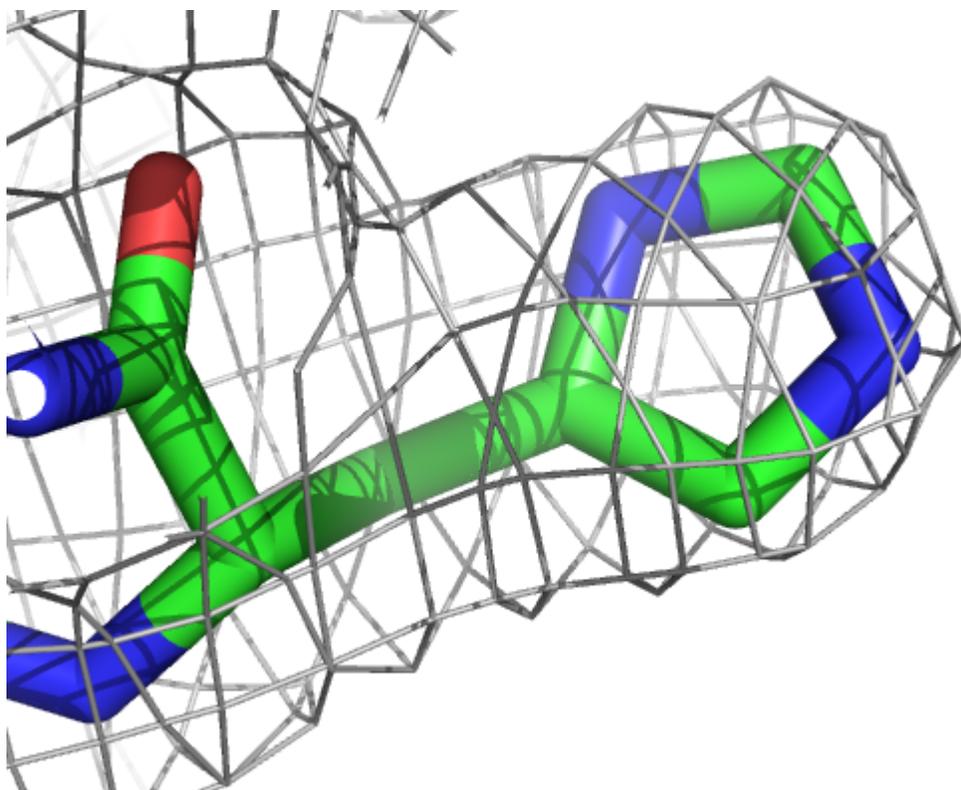


Рисунок 6

Сравнение модели 1GZM из PDB и из PDB_REDO

Из модели 1GZM была получена оптимизированная версия. В таблице 2 отображено сравнение некоторых параметров для оценки качества структуры PDB и PDB_redo.

Таблица 2

Характеристика	PDB	PDB_redo
R	20.2%	21.1%
R-free	23.5%	22.6%
R-free - R	3.4%	1.5%

Разность R-free – R уменьшилась, однако я не могу сказать, что такое низкое значение – это плюс.

Заключение

Таким образом, можно сказать, что структура 1GZM является структурой хорошего качества. Проведенный анализ выявил несколько маргинальных остатков. Есть остатки, для которых предполагается инверсия боковых цепей. При оптимизации модели разница между R-free и R недостоверно мала, хотя сильных изменений в значениях все же нет.

Список литературы

1. J Mol Biol. 2004 Nov 5;343(5):1409-38. "Structure of bovine rhodopsin in a trigonal crystal form". Li J¹, Edwards PC, Burghammer M, Villa C, Schertler GF.
2. PDB: <http://www.rcsb.org/pdb/explore/jmol.do?structureId=1gzm&opt=3&bionumber=1&view=symmetry>
3. EDS: <http://eds.bmc.uu.se/cgi-bin/eds/uusfs?pdbCode=1gzm>
4. MolProbity: <http://molprobity.biochem.duke.edu/>
5. PDB_Redo: http://www.cmbi.ru.nl/pdb_redo/gz/1gzm/index.html