

**Отчёт по качеству РСА расшифровки структуры белка  
глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы  
(PDBID – 5VMT)**

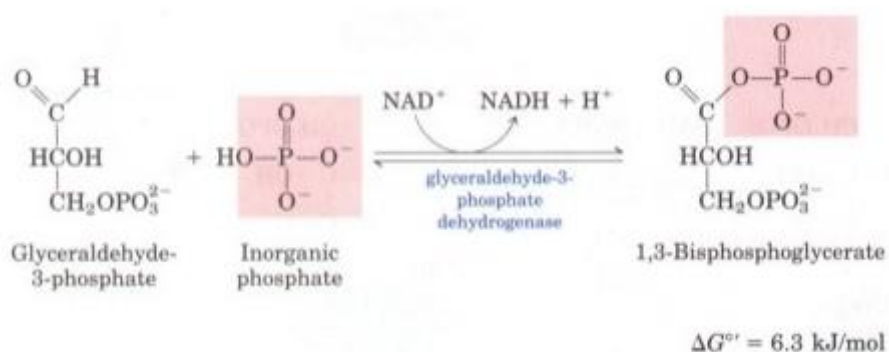
**Автор: Игумнов Даниил**

## Аннотация

В данном исследовании было проанализировано качество РСА структуры глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, которая катализирует одну из реакций гликолиза. Был проведен анализ структуры в целом, а также анализ отдельных аминокислотных остатков. Также было произведено сравнение структуры со структурой из PDBredo. В заключение были сделаны выводы о качестве данной структуры.

## Введение

Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (ГАФД) - это фермент, который катализирует превращение глицеральдегид-3-фосфата в 1,3-дифосфоглицерат (Рис. 1). Наиболее распространенной формой является НАД<sup>+</sup>-зависимый фермент, обнаруженный у всех изученных организмов и обычно локализованный в цитоплазме [3].



**Рисунок 1.** Общая схема реакции.

ГАФД также участвует в ядерных событиях, включая транскрипцию, транспорт РНК, репликацию ДНК и апоптоз, модулирует организацию и сборку цитоскелета. Ядерные функции, вероятно, связаны с активностью нитрозилазы, которая опосредует S-нитрозилирование цистеина ядерных белков-мишеней [1][2].

ГАФД является гомотетрамерным и лучше всего описывается как димер димеров, состоящий из четырех идентичных субъединиц, названных O, P, Q и R. Предполагается, что ГАФД может диссоциировать от тетрамеров до димеров и даже мономеров. Как ГАФД способен переключаться между этими олигомерными состояниями неизвестно. Возможно, что кофактор NAD<sup>+</sup> способствует тетрамеризации, тогда как АТФ может способствовать мономеризации. В других случаях предполагается, что на состояние олигомеризации влияют посттрансляционные модификации [2].

НАД<sup>+</sup> связан в открытой конформации и образует многочисленные водородные связи с молекулами воды и с некоторыми остатками белка, включая R13, I14, E79 и N316.

Неполярные контакты ароматических колец с I14, Y320, P36, F37, T99 и F102 дополнительно способствуют связыванию [2].

## Результаты и обсуждение

### Общая информация

Год получения модели: 2017, статья опубликована в 2020[3].

Авторы: Barrett, K.F., Dranow, D.M., Phan, I.Q., Michaels, S.A., Shaheen, S., Navaluna, E.D., Craig, J.K., Tillery, L.M., Choi, R., Edwards, T.E., Conrady, D.G., Abendroth, J., Horanyi, P.S., Lorimer, D.D., Van Voorhis, W.C., Zhang, Z., Barrett, L.K., Subramanian, S., Staker, B., Fan, E., Myler, P.J., Soge, O.O., Hybiske, K., Ojo, K.K., Seattle Structural Genomics Center for Infectious Disease (SSGCID).

Состав комплекса: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from *Neisseria gonorrhoeae* bound to NAD.

Метод решения фазовой проблемы: молекулярное замещение, в качестве стартовой модели использовалась модель 4QX6.

Число измеренных рефлексов: 99272

Разрешение: 2.5 Å

Полнота набора структурных факторов: 99.8%

Диапазон разрешений структурных факторов: 2.5 – 45.48

Кристаллографическая группа: P 1 2 1

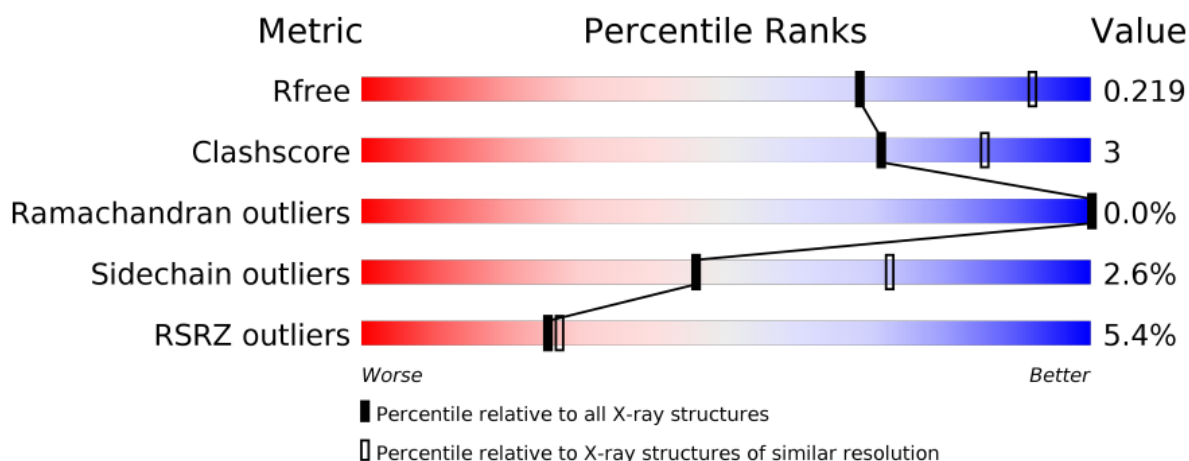
Параметры кристаллографической ячейки:

Length ( Å )	Angle ( ° )
a = 142.45	$\alpha = 90$
b = 132.1	$\beta = 94.56$
c = 156	$\gamma = 90$

Наличие некристаллографических симметрий в асимметрической ячейке: нет

### Качество модели

На странице PDB присутствуют следующие показатели качества (Рис. 2).



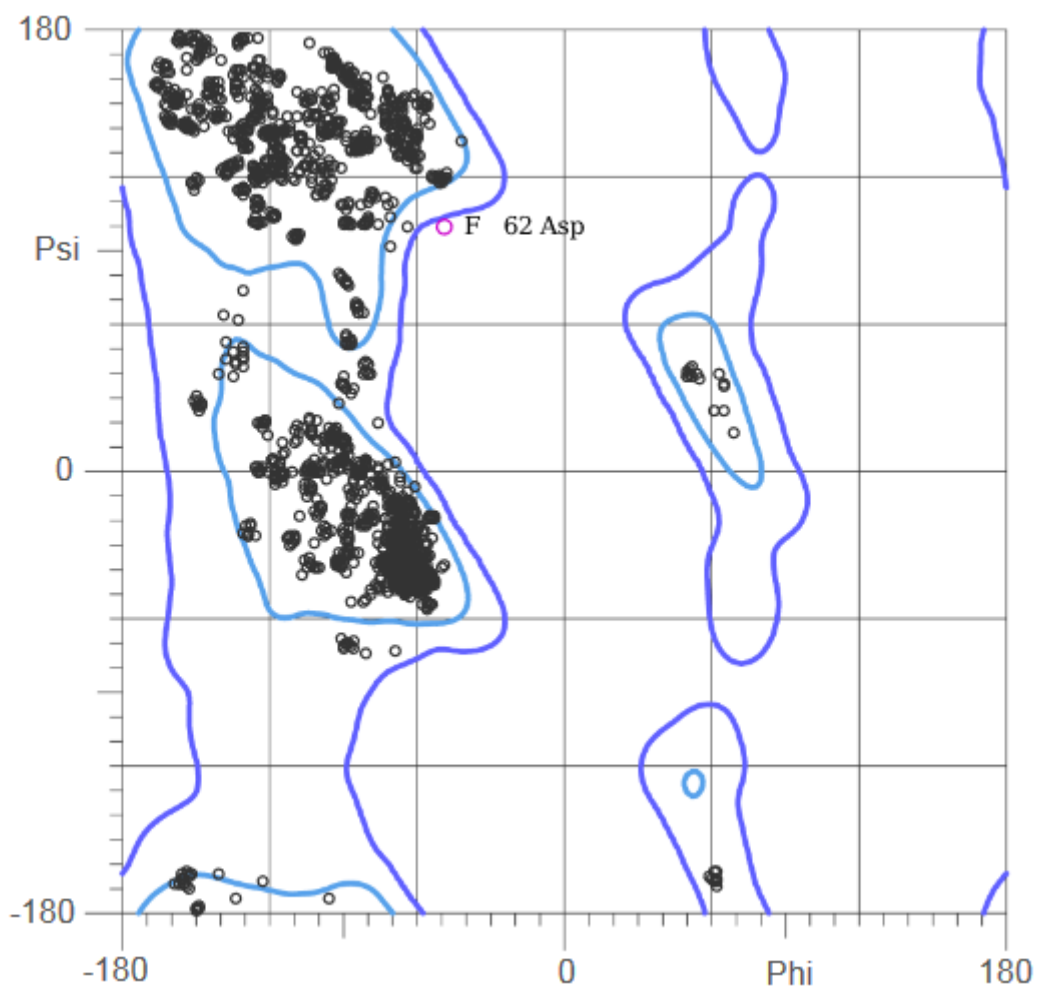
**Рисунок 2.** Показатели качества модели 5VMT.

В данной модели в ассиметрической ячейке находится 2 тетрамера.

R-фактор модели составляет 0.165, а R-free – 0.219 (размер тестовой выборки – 1994 (2.01%)), что говорит об удовлетворительном качестве расшифровки, однако делать конкретные выводы еще рано.

В общем, остальные параметры также удовлетворительны: Clashscore при добавлении атомов водорода составляет всего 3 (это показатель количества близко расположенных атомов на 1000), а процент плохо вписанных в электронную плотность остатков составляет 5.4.

Также было проанализировано, как хорошо остатки ложатся на карту Рамачандрана (Рис. 3).



**Рисунок 3.** Карта Рамачандрана для 5VMT, полученная с помощью сервиса MolProbity[4].

Как можно увидеть, почти все остатки находятся в предпочитаемой области (97.0%) и все в разрешенной (100%). В структуре нет имеются цис-пролины. Также структура имеет достаточно большой процент неротамеров (2.78%) и достаточно низкий предпочтительных ротамеров (92.61%).

### **Анализ маргинальных остатков**

Ниже приведены 10 маргиналов, которые я посчитал самыми интересными (Таблица 2). Цветом выделены маргиналы, которые рассматривались более подробно.

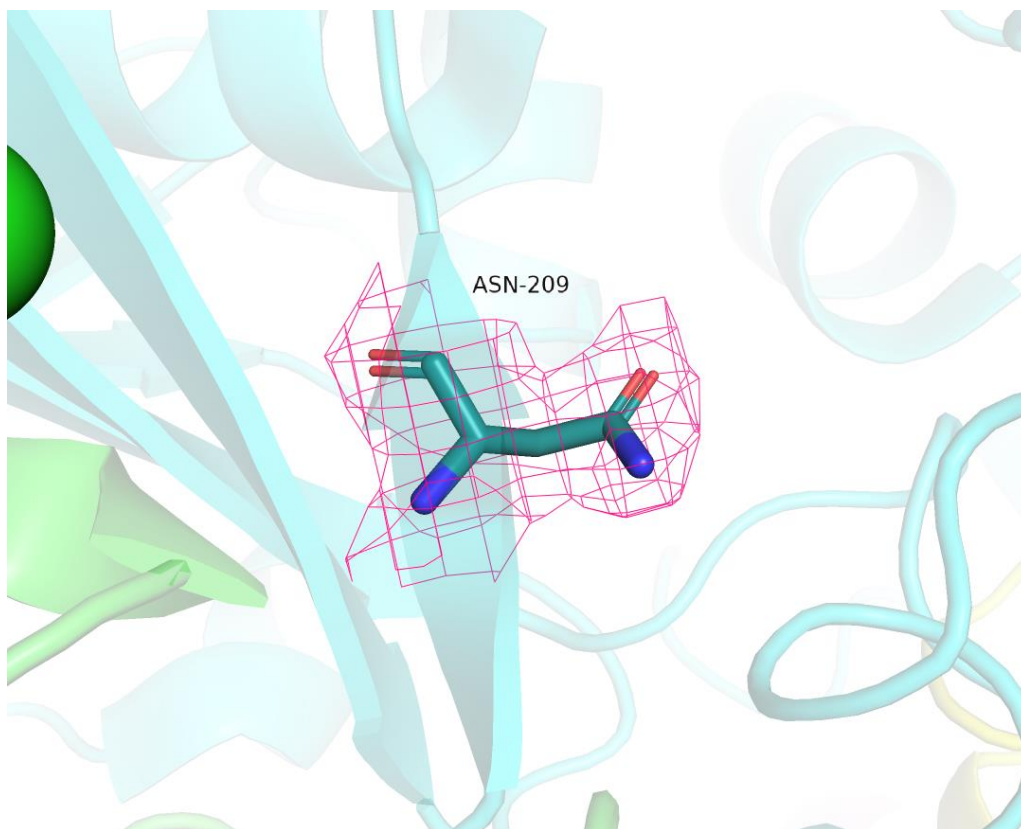
**Таблица 2.** Маргинальные остатки.

<b>Маргинал</b>	<b>Показатели</b>
ASP62 chain F	Плохой торсионный угол
ASN209 chain B (часть активного центра - Pi site)	Неротамер
GLU82 chain C	Отсутствует боковая цепь
PHE99 chain E	Плохое окружение (<-4.5)* RSRZ = 5.2
HIS25 chain G	Плохое окружение (<-4.5) RSRZ = 3.5
GLN164 chain H	Подозрение на инверсию боковой цепи Плохое окружение (<-4.5)
TYR313 chain D	Неротамер
VAL145 chain E	RSRZ = 7.8
PRO80 chain B	Перекрытие атомов
THR36 chain A	Неротамер Перекрытие атомов

\*Измерено с помощью сервиса WHAT\_CHECK[5]

## 1. ASN209 chain B

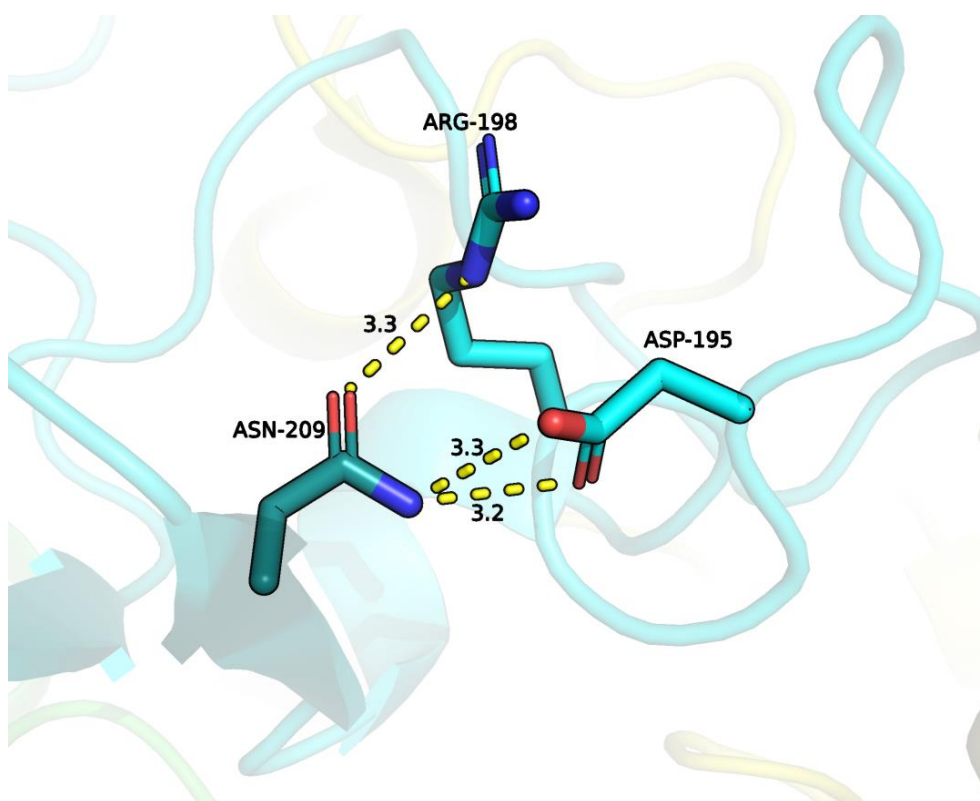
Данный остаток входит в активный центр, поэтому определить его характеристики довольно важно. Судя по данным на странице PDB, этот остаток является неротамером. Если посмотреть на электронную плотность данного остатка (Рис. 4), то можно заметить, что остаток ложиться довольно хорошо, значит дело в другом.



**Рисунок 4.** ASN209 chain B (deepsteel). Электронная плотность показана на уровне подрезки 1.

Судя по всему, неротамерность этого остатка объясняется его окружением (Рис. 5): в таком положении аспарагин стабилизируется ARG198 и ASP195. Таким образом можно сделать вывод, что такое положение остатка объясняется особенностями взаимодействия.

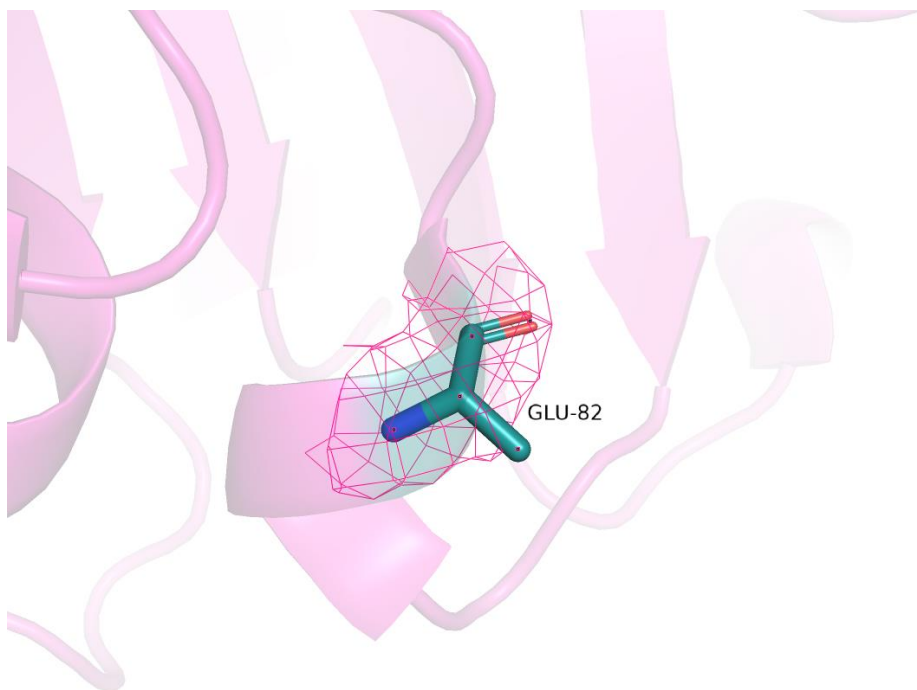




**Рисунок 5.** ASN209 chain B (deepsteel) и его ближайшее окружение. Водородные связи показаны желтым.

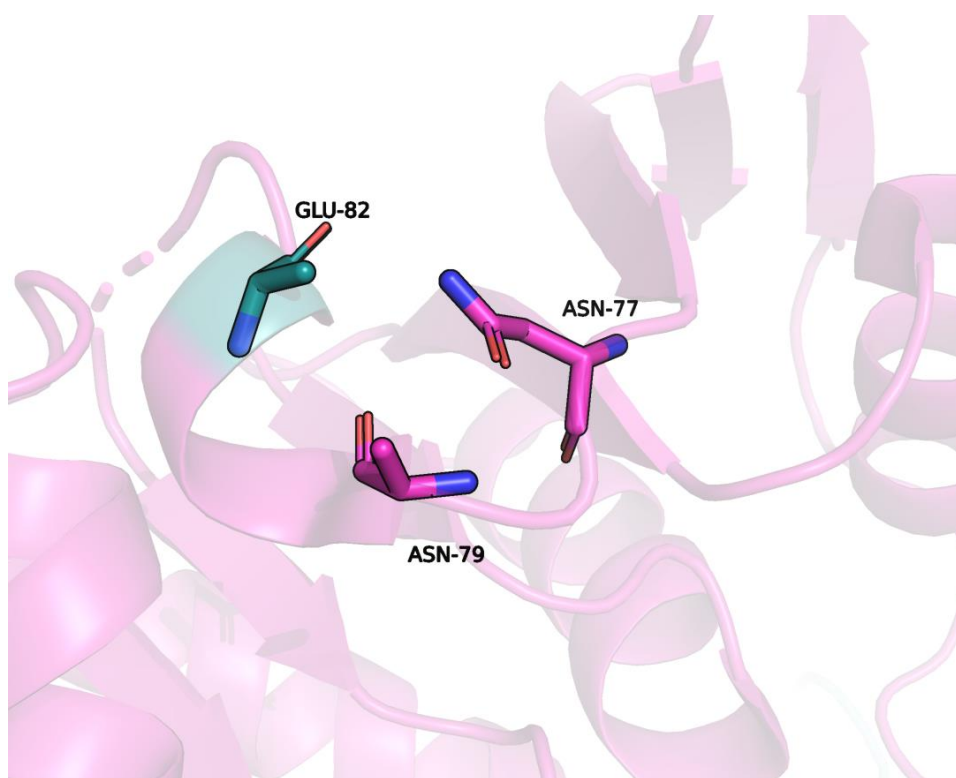
## 2. GLU82 chain C

Если посмотреть на электронную плотность этого остатка (Рис. 6), становится понятно, почему у него отсутствует боковая цепь: авторы не сумели зафиксировать электронную плотность в этом месте и решили не вставлять остаток полностью. Что примечательно, в других цепях такой проблемы не наблюдается.



**Рисунок 6.** GLU82 chain C (deepsteel). Электронная плотность показана на уровне подрезки 1.

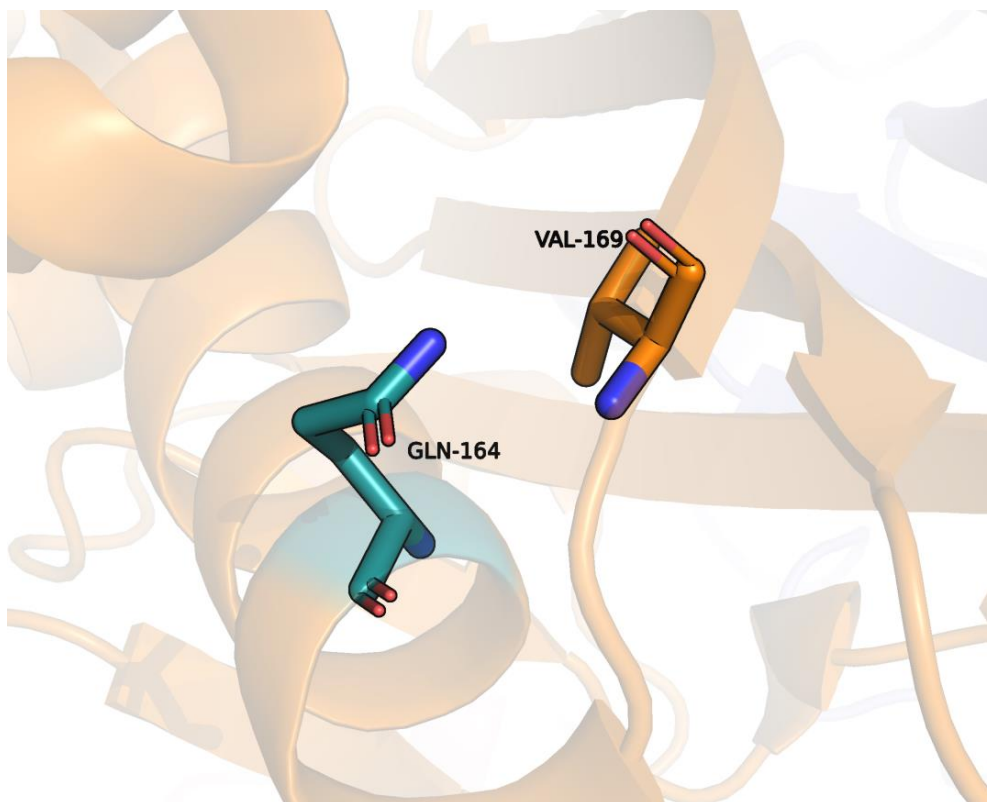
Судя по всему, это связано с положением соседних остатков: ASN79(также отсутствует боковая цепь) и ASN77 (Рис. 7): эти 3 остатка (включая GLU72), находятся слишком близко к друг другу, тогда как в остальных цепях такой проблемы не наблюдается.



**Рисунок 7.** GLU82 chain C (deerstee) и его ближайшее окружение.

### 3. GLN164 chain H

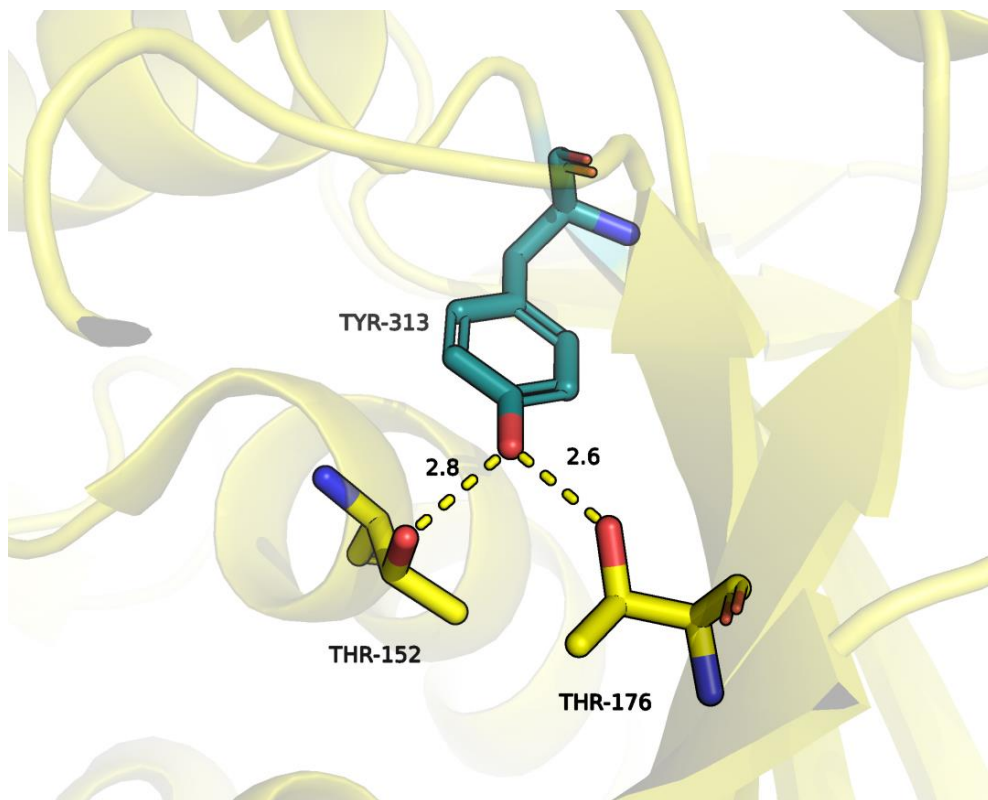
Положение этого остатка довольно сложно объяснить, ведь он не стабилизируется водородными связями (Рис. 8). Однако, если инвертировать атомы азота и кислорода боковой цепи, то появится водородная связь с азотом остова соседнего валина (которая присутствует во всех остальных цепях).



**Рисунок 8.** GLN164 chain H (deepsteel) и его ближайшее окружение.

#### 4. TYR313 chain D

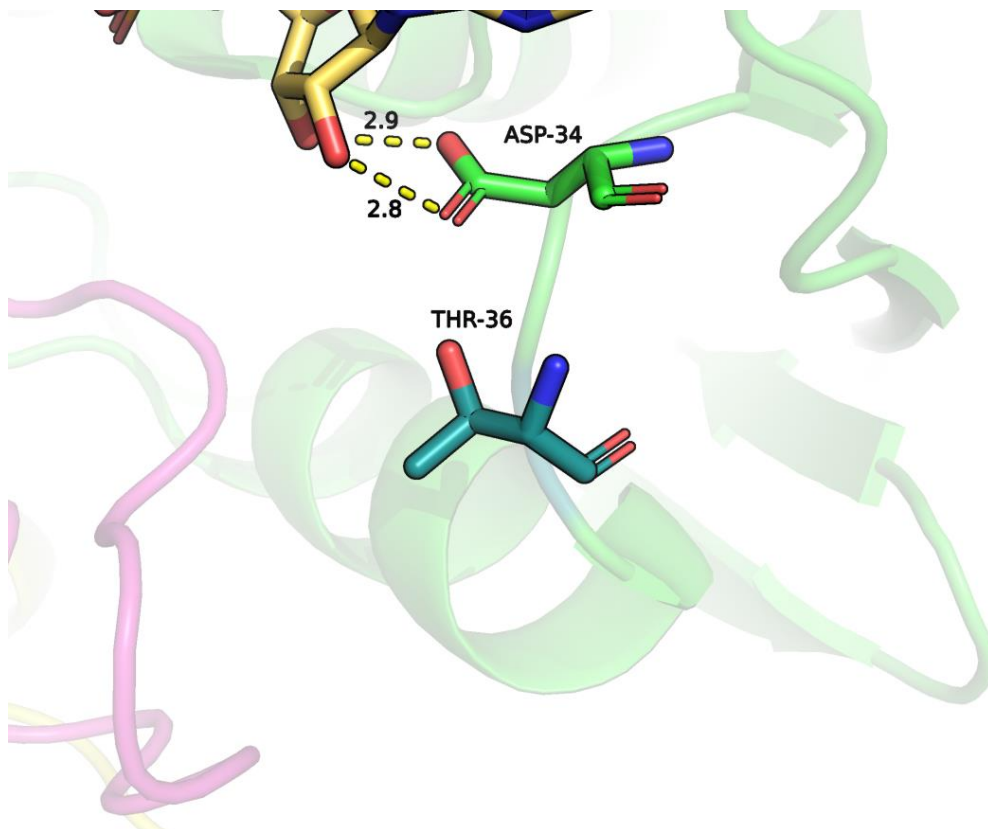
Этот остаток является неротамером во всех цепях. Такое его положение стабилизируют два треонина: THR152 и THR176 (Рис. 9). Возможно, это связано с относительно близким нахождением этого остатка с активным центром, и, поэтому, такое его положение это скорее особенность взаимодействия, чем ошибка эксперимента.



**Рисунок 9.** TYR313 chain D (deepsteel) и его ближайшее окружение. Водородные связи показаны желтым.

## 5. THR36 chain A

Неротамерность этого остатка судя по всему является результатом его непосредственной близости к ASP34 (Рис. 10), который в свою очередь непосредственно участвует в связывании NAD<sup>+</sup> (эта гипотеза подтверждается тем, что THR36 является неротамером во всех остальных цепях).

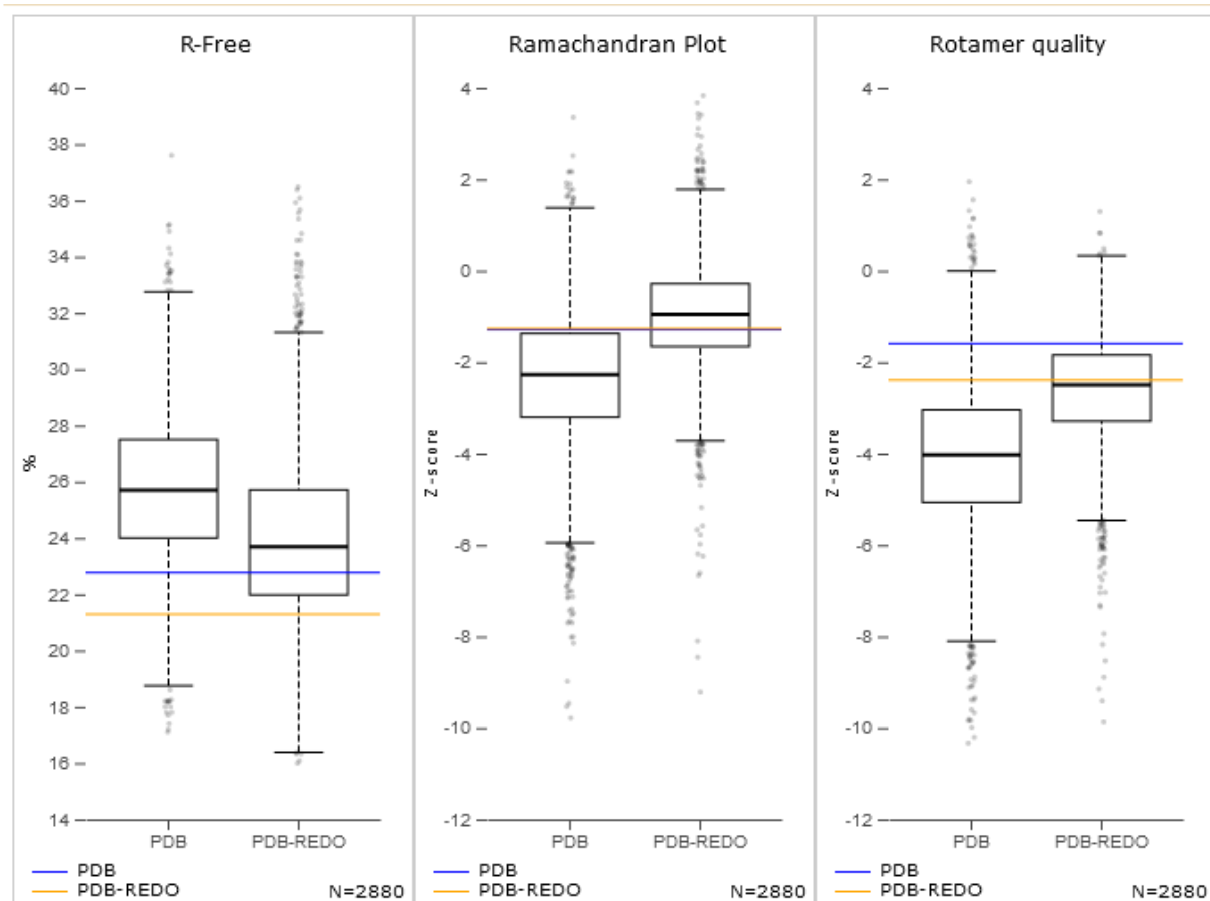


**Рисунок 10.** THR36 chain A (deepsteel) и его ближайшее окружение (NAD<sup>+</sup> показан желтым). Водородные связи показаны желтым.

## PDBredo

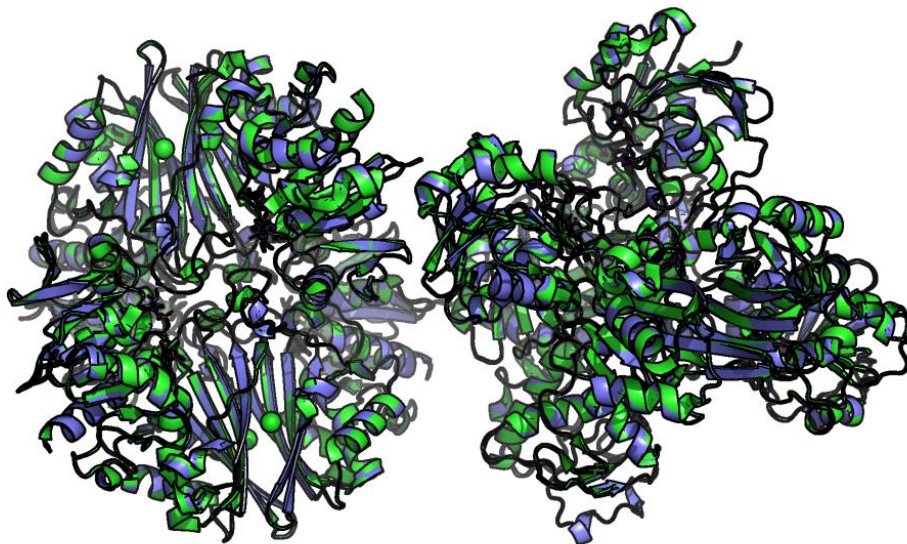
База данных PDB\_redo[6] содержит оптимизированные по различным параметрам версии моделей PDB.

PDB-redo немного улучшил R-free и ухудшил качество ротамеров (Рис. 11). Также было убрано 29 молекул воды.



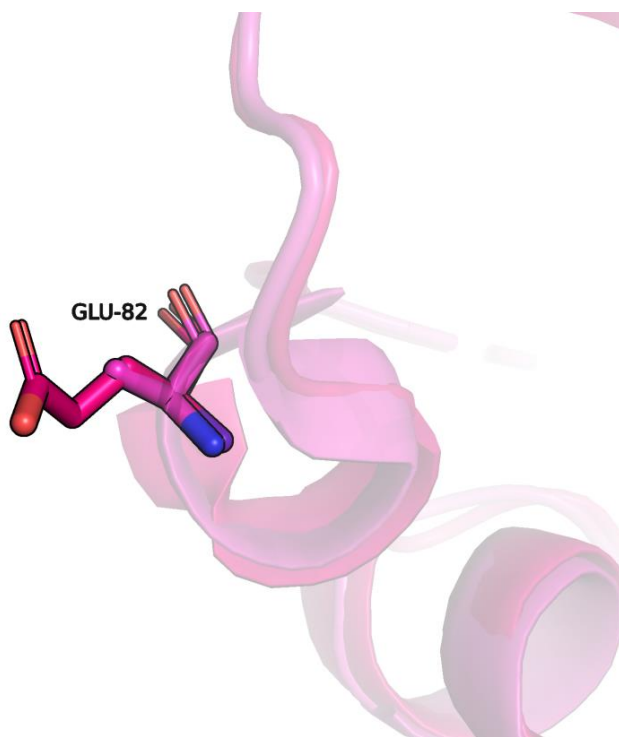
**Рисунок 11.** Сравнение показателей качества моделей из PDB и PDB-redo.

При наложении структур (Рис. 12) Можно заметить, что они очень похожи друг на друга.



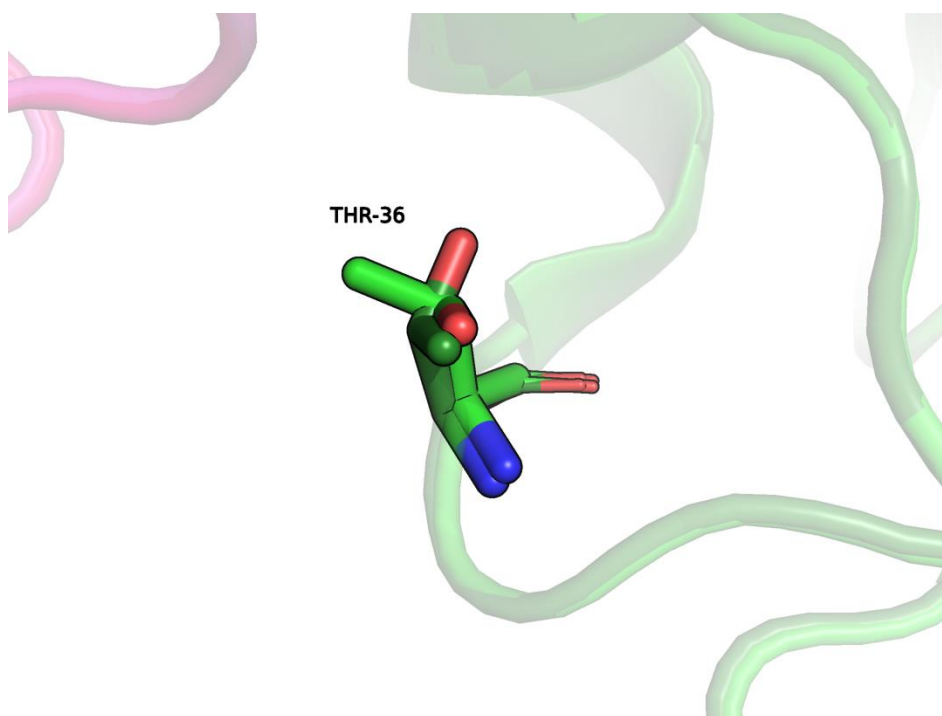
**Рисунок 12.** Сравнение моделей из PDB (зеленый) и PDB-redo (синий).

В PDB-redo были изменены остатки GLU82 (достроена боковая цепь) (Рис. 13), THR36 (улучшение качества) (Рис. 14), а также произошла инверсия азота и кислорода радикала у GLN164.



**Рисунок 13.** GLU82 chain C. Темный цвет относится к структуре PDB-redo.





**Рисунок 14.** THR36 chain A. Темный цвет относится к структуре PDB-redo.

## **Заключение**

В целом структура имеет достаточно хорошее качество и показатели. Несмотря на некоторые недочеты в виде плохо вписанных в электронную плотность остатков и инвертированных боковых цепей, они не сильно влияют на исследование. Кроме того, из неротамерности некоторых остатков можно сделать какие-то биологические выводы по поводу работы фермента. В общем, структура достаточно хорошо подходит для выполнения исследований на ее основе.

## Список литературы

[2] White, M. R., & Garcin, E. D. (2017). D-Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase Structure and Function. *Sub-cellular biochemistry*, 83, 413–453. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-46503-6\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-319-46503-6_15)

[3] Barrett, K. F., Dranow, D. M., Phan, I. Q., Michaels, S. A., Shaheen, S., Navaluna, E. D., Craig, J. K., Tillery, L. M., Choi, R., Edwards, T. E., Conrady, D. G., Abendroth, J., Horanyi, P. S., Lorimer, D. D., Van Voorhis, W. C., Zhang, Z., Barrett, L. K., Subramanian, S., Staker, B., Fan, E., ... Ojo, K. K. (2020). Structures of glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase in *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis*. *Protein science : a publication of the Protein Society*, 29(3), 768–778. <https://doi.org/10.1002/pro.3824>

## Использованные ресурсы

[1] <https://www.uniprot.org/uniprot/P04406>

[4] MolProbity: <http://molprobity.biochem.duke.edu/3>.

[5] WHAT\_CHECK: <https://swift.cmbi.umcn.nl/servers/html/4>

[6] PDB\_redo: <https://pdb-redo.eu>