

# Оценка качества расшифровки структуры енон-редуктазы бактерии *Lactobacillus plantarum* (PDB ID: 4QLX)

Преображенская Юлия

## Аннотация

В работе был произведен анализ качества расшифровки структуры 4QLX, рассмотрены основные индикаторы качества модели, а также несколько маргинальных аминокислотных остатков.

## Введение

## Результаты и обсуждение

### 1. Общая информация о модели

Использовалась структура енон-редуктазы бактерии *Lactobacillus plantarum* (PDB ID: 4QLX [1]). Это гомодимер (219 а.к.), содержащий кофактор FMN. Структура белка была получена методом рентгеноструктурного анализа и впервые загружена на сервер PDB 25 февраля 2015 года авторами Нои, F., Miyakawa, T., Tanokura, M. Изначально структура была опубликована на сайте PDB февраля 2015 года, а 11 марта 2015 года была обновлена и добавлена информация о структуре. Эти данные использовались в статье по изучению структуры и механизма реакции енон-редуктазы[2], опубликованной в *The FEBS Journal* 18 марта 2015 года

В файле структурных факторов содержится экспериментальная информация обо всех измеренных рефлексах – всего их 40949 (в статье 32707). Согласно информации на сервере EDS, полнота данных составляет 99.6 %. Общее разрешение структуры составляет 1.95 Å, а разрешения структурных факторов находятся в диапазоне 98.75 - 1.80 Å (а по данным авторов, диапазон составляет 20.00 - 2.30 Å; в остальном данные на сайте PDB, в статье и в выдаче сервисов будут примерно совпадать).

Фазовая проблема была решена методом молекулярного замещения, информации о том, что бралось в качестве гомолога, найдено не было. Информация о параметрах кристаллографической ячейки представлена в файле PDB, а также, в наиболее наглядной форме, прямо на сайте PDB (Таблица 1). В левом столбце перечислены длины направляющих векторов кристаллографической ячейки, а в правом – значения углов между ними. Видим, что все углы между векторами прямые. Также в поле CRYST файла PDB содержится информация о группе симметрии: данная структура принадлежит группе симметрии  $C_{2221}$ . В элементарной ячейке модели содержится 16 молекулы (последняя колонка поля CRYST).

Согласно информации в полях BIOMT и MTRX, при образовании олигомера не используются некристаллографические симметрии.

Таблица 1. Информация о параметрах кристаллографической ячейки с сайта PDB.

Length (Å)	Angle (°)
a = 64.933	$\alpha = 90.00$
b = 68.850	$\beta = 90.00$
c = 197.497	$\gamma = 90.00$

Асимметрическая единица содержит 2 цепи: А и В, а биологическая единица представляет собой димер, таким образом, для данной структуры биологическая единица равна асимметрической.

## 2. Значения индикаторов качества модели в целом

На рисунке 2 показаны значения индикаторов относительно всех структур PCA. Из всех значений хорошими можно назвать все, а лучше всего получилась Ramachandran outliers - его нет.

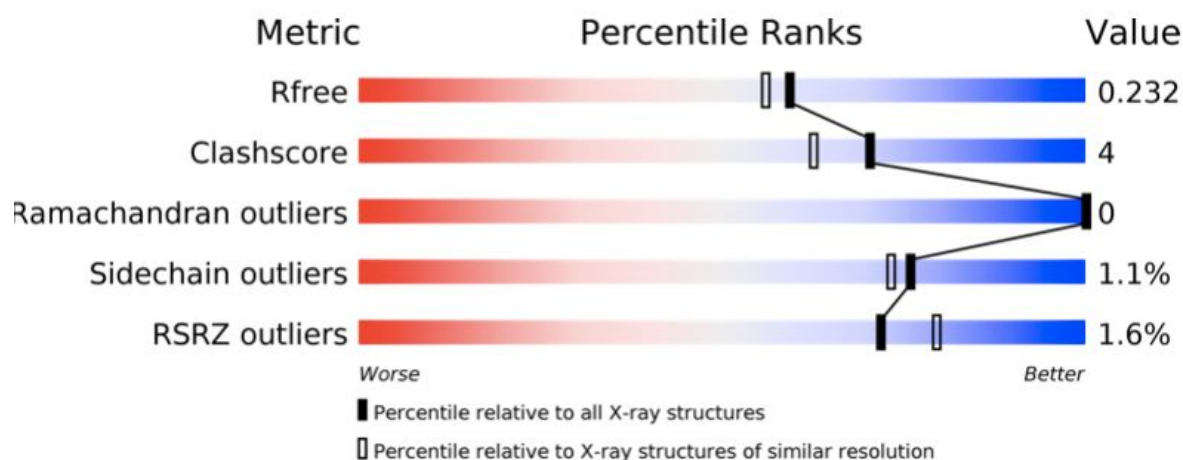
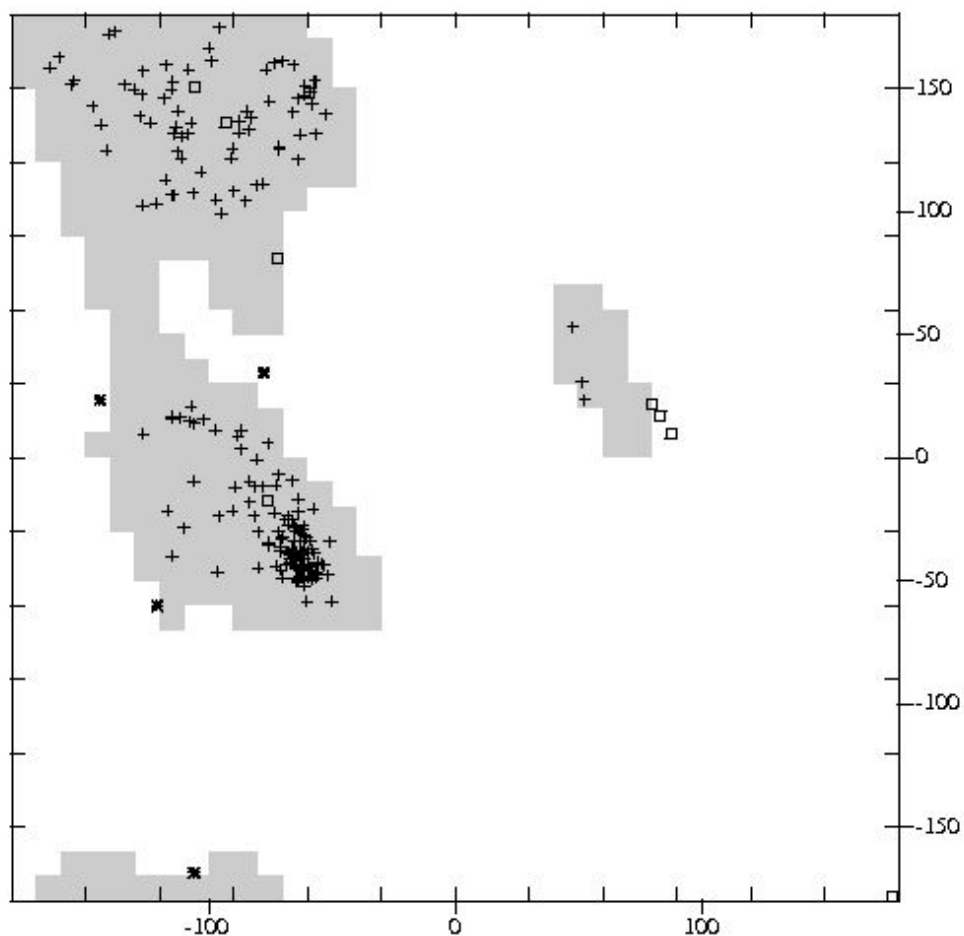


Рис.3. Значения индикаторов относительно всех структур PCA [1]

Значения R-фактора и R-free составляет 0,187 и 0.230, соответственно [2]. Так как значения R-free <25%, а R-free – R <10%, можно сделать вывод, что у модели высокое качество.

Карта Рамачандрана:

┌



X = PHI mapped to [-180,180>

Y = PSI mapped to [-180,180>

PDB file : /pub/db/eds/sfd/4qlx/pdb4qlx.ent

Glycines (open squares): 10 ; Start/end residues : 2

D-amino acids : 0 ; Residues with missing atoms : 0

Residues in Ramachandran plot checked : 198 out of 210

In core regions (plus signs): 194 ; Outliers (asterisks): 4

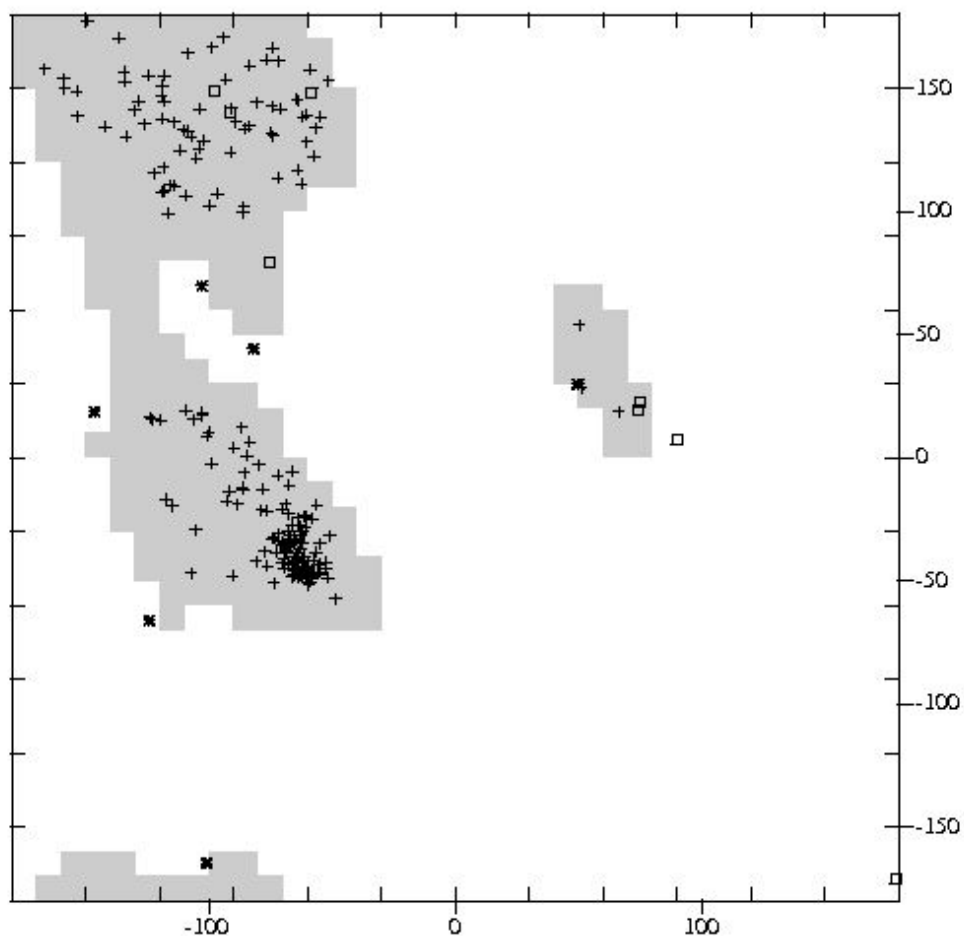
Percentage outliers: 2.0

An average <= 2.0 Å model has ~0.5% outliers

See: Kleywegt, G.J. and Jones, T.A. (1996). Structure 4, 1395-1400.

└

┌



X = PHI mapped to [-180,180>

Y = PSI mapped to [-180,180>

PDB file : /pub/db/eds/sfd/4qlx/pdb4qlx.ent

Glycines (open squares): 10 ; Start/end residues : 2

D-amino acids : 0 ; Residues with missing atoms : 0

Residues in Ramachandran plot checked : 205 out of 217

In core regions (plus signs): 199 ; Outliers (asterisks): 6

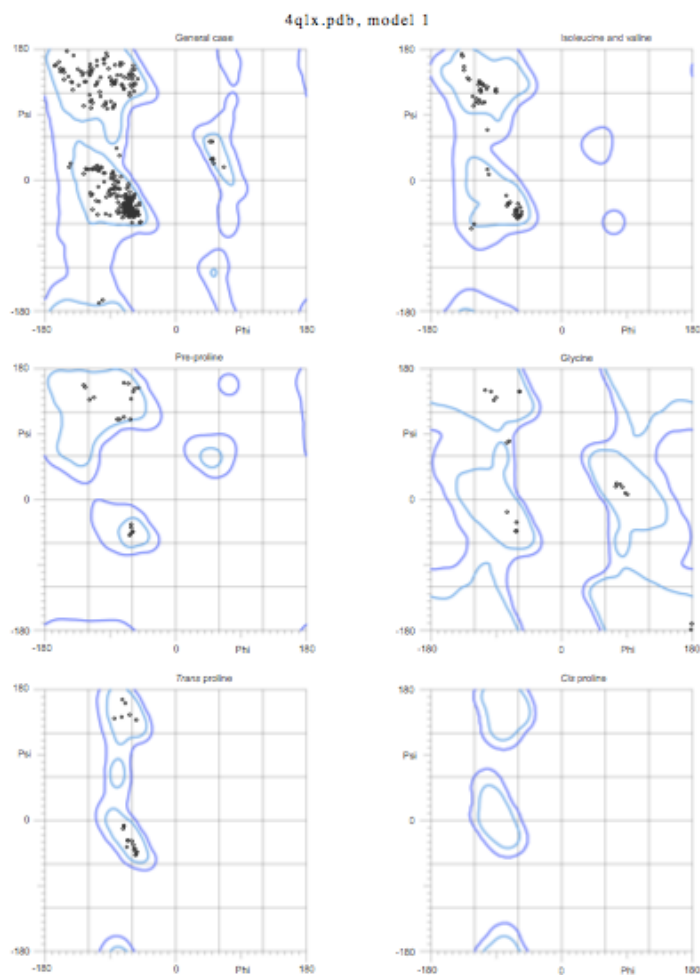
Percentage outliers: 2.9

An average  $\leq 2.0$  Å model has ~0.5% outliers

See: Kleywegt, G.J. and Jones, T.A. (1996). Structure 4, 1395-1400.

└

Рис.3. Карта Рамачандрана, полученная с помощью EDS[3]. Цепи А и В



97.6% (413/423) of all residues were in favored (98%) regions.  
 100.0% (423/423) of all residues were in allowed (>99.8%) regions.

There were no outliers.

Рис.4. Карта Рамачандрана, полученная с помощью MolProbity[4]. Цепи А и В

### Список маргинальных остатков

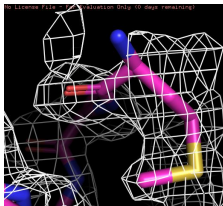
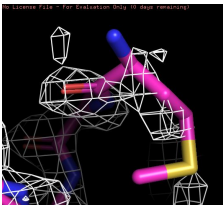
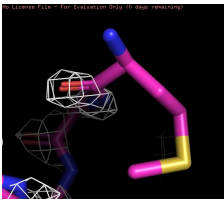

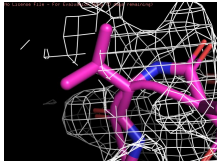
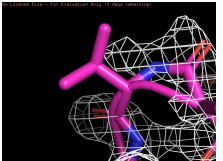
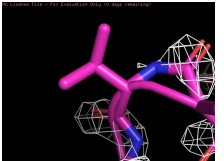

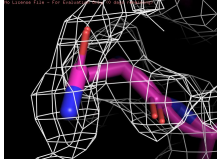
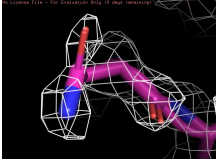
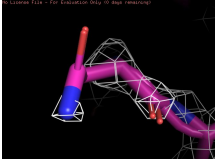

Таблица 2 содержит список маргинальных остатков с указанием показателя, по которому они отобраны.

Таблица 2. Список найденных маргинальных остатков с указанием показателя, по которому они отобраны.

Цепь	Тип	Критерий маргинальности
А 1	MET	Rotamer, RSR=0.276
А 7	ASN	Clash > 0.4Å, остатки, находящиеся в cis (или

		не trans и не cis) конформации
<b>B 200</b>	<b>GLU</b>	<b>RSR=0.292</b>
<b>A 5</b>	<b>VAL</b>	<b>RSR=0.285, карта Рамачандрана</b>
<b>A 26</b>	<b>PHE</b>	<b>SC-BB выброс по длине связи</b>
<b>A 191</b>	<b>GLY</b>	<b>BB-SC выброс по длине связи</b>
<b>A 199</b>	<b>GLN</b>	<b>Плохое окружение (What_CHECK)</b>
<b>A 52</b>	<b>ASN</b>	<b>карта Рамачандрана</b>

### Анализ выбранных маргинальных остатков

Уровень подрезки	0.5	1	1.5	2
<b>MET1</b>				
<b>VAL5</b>				
<b>ASN7</b>				

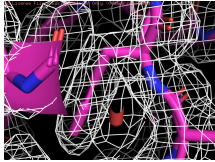
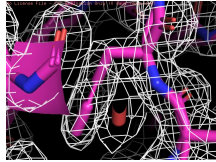
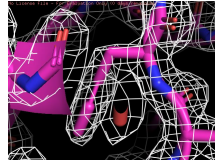
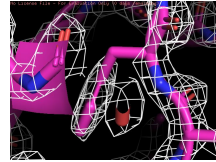
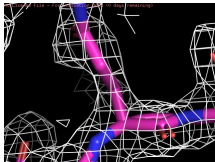
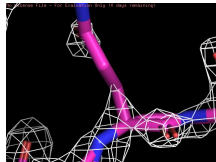
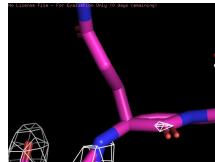
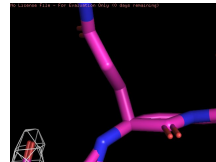
<b>PHE26</b>				
<b>GLN199</b>				

Таблица 3. Визуализация маргинальных остатков в *rutol* при различных уровнях подрезки.

**PHE26:** электронная плотность хорошо ложится на остаток, несовпадения не выявлено, скорее всего это не маргинальный остаток.

**MET1:** электронная плотность не полностью ложится на остаток

**VAL5:** Этот остаток является маргинальным по карте Рамачандрана и значению RSR (остаток недостаточно хорошо вписывается в «экспериментальную» функцию электронной плотности). Как можно видеть из рисунка, электронная плотность недостаточно хорошо ложится на остаток, а согласно электронной плотности угол связи действительно странный. Скорее всего данный остаток является маргинальным из-за особенностей структуры - петли плохо кристаллизуются, поэтому не удастся получить кристалл с одинаковым положением петель во всех асимметрических ячейках. Обычно в петлях электронная плотность нормально покрывает только остов цепи.

**ASN7:** электронная плотность хорошо ложится на остаток, несовпадения не выявлено, скорее всего это не маргинальный остаток.

**GLN199:** Электронная плотность недостаточно хорошо ложится на остаток, а при подрезке 1 согласно электронной плотности угол связи странный и трудно идентифицировать тип остатка. Расположен также в петле.

### Сравнение модели из PDB с моделью из PDB\_redo

В базе PDB-REDO [5] была проведена оптимизация структуры 4QLX, что не привело к заметному улучшению качества вписывания остатков в электронную плотность, значения R-фактора и R-free стали заметно выше. В целом значения всех параметров стали выше.


Validation metrics from PDB-REDO		
	PDB	PDB-REDO
<b>Crystallographic refinement</b>		
<i>R</i>	0,2497	0,1867
<i>R-free</i>	0,2428 	0,2168
<i>Bond length RMS Z-score</i>	0,347	0,569
<i>Bond angle RMS Z-score</i>	0,553	0,733
<b>Model quality (raw scores   percentiles)</b>		
<i>Ramachandran plot appearance</i>	55	81
<i>Rotamer normality</i>	59	84
<i>Coarse packing</i>	N/A	N/A
<i>Fine packing</i>	28	32
<i>Bump severity</i>	88	95
<i>Hydrogen bond satisfaction</i>	60	68
<i>WHAT_CHECK</i>	<a href="#">Report</a>	<a href="#">Report</a>

Таблица 4. Оптимизация 5DQY на PDB-REDO.



## **Выводы**

Качество структуры отличное, обладает высоким разрешением и малым количеством маргинальных остатков. Я бы рекомендовала структуру из PDB-REDO к использованию для биоинформатических исследований вместо структуры в PDB, так как такая оптимизация дает более качественную структуру. Многие проблемы при расшифровке структуры вызваны наличием альтернативных конформаций петель, которые плохо описываются электронной плотностью, в связи с чем возникают маргинальные остатки.

## Список литературы

1. PDB [Электронный ресурс] // URL: <https://www.rcsb.org/structure/4qlx>
2. Hou F, Miyakawa T, Kitamura N, Takeuchi M, Park SB, Kishino S, Ogawa J, Tanokura M; Structure and reaction mechanism of a novel enone reductase. *FEBS J.* (2015) doi:10.1111/febs.13239
3. EDS [Электронный ресурс] // URL: <http://eds.bmc.uu.se/cgi-bin/eds/uusfs?pdbCode=4qlx>
4. MOLPROBITY [Электронный ресурс] // URL: <http://molprobity.biochem.duke.edu/index.php>
5. PDB-REDO [Электронный ресурс] // URL: <https://pdb-redo.eu>