

Оценка качества расшифровки структуры белка Fis1 из *Saccharomyces cerevisiae* (PDB ID: 3o48)

Карпухина Анна

Аннотация

В работе был произведен анализ качества расшифровки структуры белка Fis1 (PDB ID: 3o48), полученной методом рентгеноструктурного анализа. Были оценены ключевые индикаторы качества модели и рассмотрены несколько маргинальных аминокислотных остатков.

Введение

Fis1 – белок, необходимый для дробления митохондрий и пероксисом. Этот процесс крайне важен для распространения органелл по клетке, их перераспределения и поддержания клеточного гомеостаза [1]. Дробление обеих органелл предположительно происходит с участием Dnm1 (dynamin-related mechanoenzyme), активность которого модулируется адаптерными белками, такими как Mdv1 и Caf4 у почкующихся дрожжей [2,3]. Fis1 располагается во внешней митохондриальной мембране или мембране пероксисомы и привлекает к ним вышеперечисленные факторы дробления.

Fis1 состоит из двух доменов (Рис.1): С-концевой заякоривающий трансмембранный домен ($\alpha 6$), и цитозольный домен, благодаря которому происходит рекрутмент факторов дробления к необходимым сайтам на внешней мембране. Ранее уже были получены ЯМР и РСА структуры Fis1, но без трансмембранного домена (Fis1 Δ TM). Они показали, что цитозольный домен Fis1 принимает консервативный TRP-подобный (tetratricopeptide-like) фолд из 2 пар антипараллельных альфа-спиралей ($\alpha 2$ - $\alpha 3$, $\alpha 4$ - $\alpha 5$) [2–4]. Это распространенный паттерн сворачивания для белков, обеспечивающих белок-белковые взаимодействия, при котором в структуре формируется углубление, выстланное функционально важными консервативными аминокислотными остатками [3–5].

В работах по восстановлению структуры Fis1 Δ TM человека [4], мыши (PDB ID: 1IYG, статья не опубликована) и почкующихся дрожжей [6] было показано, что белок является мономером, однако в одной из работ по восстановлению полного Fis1 человека структура оказалась димерной [3]. Как именно организована функциональная единица Fis1 пока не ясно, но существует ряд работ, указывающих, что цитозольный домен Fis1 может участвовать в самоассоциации [7,8].

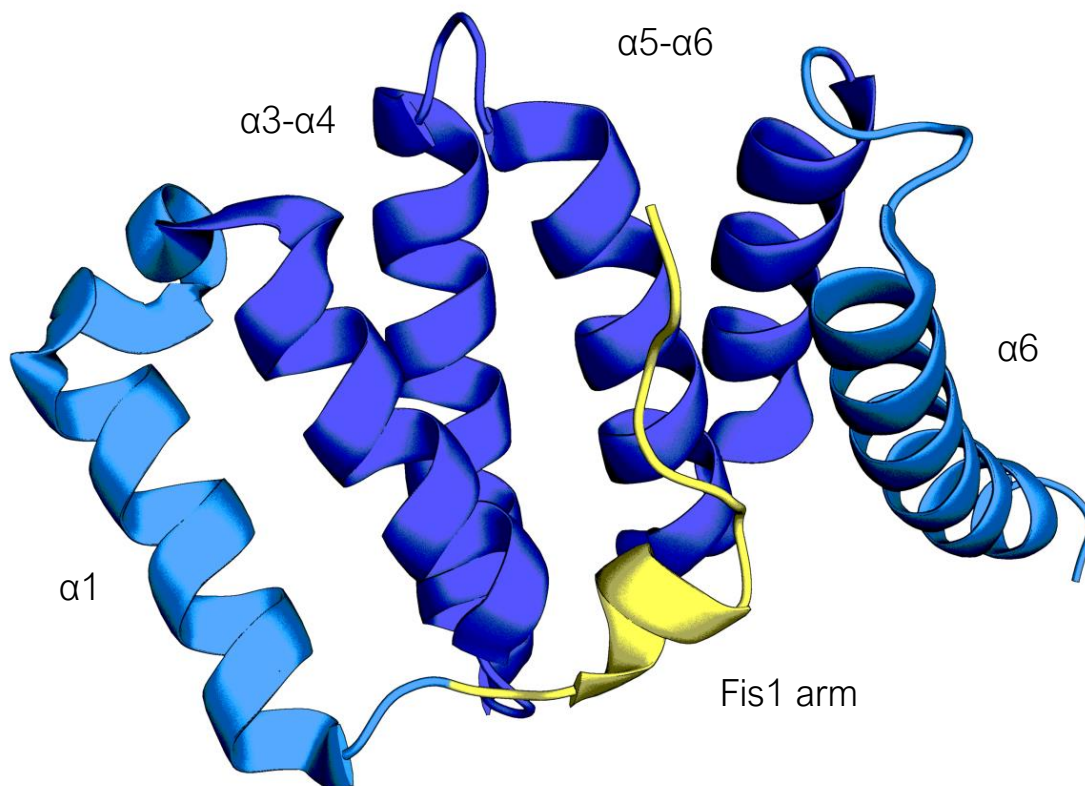


Рисунок 1. Структура белка Fis1 (PDB ID: 3o48)

Примечательно, что все ранее полученные структур Fis1 ([6–9]) имеют между собой существенное различие, заключающееся в положении N-концевого участка – плеча Fis1 (Fis1 arm). Предполагается, что плечо Fis1 структурировано таким образом, что создает стерические препятствия для доступа в углубление TRP-фолда, поэтому его называют также аутоингибиторным плечом. Аутоингибиторные свойства плеча Fis1 наблюдались в работах как на дрожжевых белках, так и на белках млекопитающих [9]. Кроме того, в дрожжах была показана роль Fis1 arm в рекрутменте Dnm1 и Mdv1 [6–8]. В кокристаллических структурах дрожжевого Fis1 Δ TM с пептидами из адаптерных белков Mdv1 и Caf4 плечо Fis1 напрямую участвовало в связывании лиганда [2]. В биохимических работах с дрожжевым белком Fis1 arm ингибировало связывание Dnm1 [7]. Метод водородно-дейтериевого обмена и эксперименты с химическими модификациями дают основания предполагать, что плечо Fis1 является динамической структурой (с временными масштабами порядка секунд и минут) и регулирует доступ к функционально критичному участку белка, тем самым модулируя белок-белковые взаимодействия [10].

Упомянутые выше различия в положении Fis1 arm в имеющихся моделях, а также существование белка в нескольких олигомерных формах, сподвигли авторов статьи [11] провести собственную расшифровку структуры при условиях, в которых было бы возможно

уловить предполагаемые альтернативные положения аутоингибиторного плеча и уточнить, является ли белок мономером или димером. На основании этой расшифровки была создана структура Zo48, анализ которой проводится в данной работе.

Результаты

Общая информация о модели

Структура Zo48 была загружена в Protein Data Bank 10 августа 2011 года группой исследователей из университета Джона Хопкинса, США (Tooley JE, Khangulov V, Lees JP, Schlessman JL, Bewley MC, Heroux A, Bosch J, Hill RB).

Разрешение структуры составляет 1.75 Å, диапазон разрешений - 1.75Å - 19.74Å. Полнота набора структурных факторов – 96.3%. Число измеренных в ходе эксперимента рефлексов (структурных факторов) – 15294. Для решения фазовой проблемы использовался метод молекулярного замещения со структурой дрожжевого Fis1 в комплексе с Mdv1 (PDB ID: 2pqn) по протоколу BALBES [12].

Всего в PDB-файле 1339 атомов, атомы водорода и дейтерия не отражены. Представлены молекулы двух типов: собственно белок Fis1 и молекулы воды. Белок состоит из 129 аминокислотными остатков и 1108 атомов: 707 C, 184 N, 212 O, 5 S. В 7 остатках как минимум один атом принимает альтернативную конформацию, атомов с нулевым коэффициентом заполнения нет. Молекулы воды представлены 231 атомом O, среди них ни одного атома с альтернативными конформациями и нулевыми коэффициентами заполнения.

Как уже было упомянуто ранее, состав биологической единицы спорен. Тем не менее по данным, полученным для конкретно этой структуры, белок является мономером. Каждый мономер состоит из 134 аминокислотных остатков и имеет Mr 15.84 KDa. Асимметрическая единица совпадает с биологической. Некристаллографических симметрий нет. Тип кристаллографической симметрии - $P4_32_12$. Кристаллографическая ячейка ортогональная с параметрами a: 46.02Å b: 46.02Å c: 139.22Å. В одной ячейке находится 8 молекул.

Индикаторы качества модели

Был проведен анализ основных индикаторов качества модели. К ним относятся R-фактор, R-free, а также критерии, характеризующих геометрические параметры структуры (длины и углы связей, карта Рамачандрана, перекрывание Ван-дер-Ваальсовых радиусов атомов, ротамеры).

В таблице 1 представлены значения индикаторов R и R-free. В таблице 2 – количества маргинальных остатков по различным критериям.

Таблица 1. Значения R-фактора и R-free структуры 3o48

Параметр	Значение
R-фактор	0.165 (Depositor), 0.186 (DCC)
R-free	0.188 (Depositor), 0.204 (DCC)
Доля структурных факторов, отобранных для вычисления R-free	5.28% (807 рефлексов)

Таблица 2. Маргинальные остатки в структуре 3o48

Критерий	Количество маргиналов	Доля маргиналов, %
Длины связей	0 из 1151	0
Углы связей	0 из 1549	0
RSR	5 из 129	3.88
Карта Рамачандрана	0	0
Ротамеры	0 из 123	0
Перекрывания (clashes)	4 из 1106	0.36

На рисунке 2 отражено качество модели 3o48 в сравнении с другими моделями из PDB. Видно, что качество 3o48 в целом выше среднего по PDB по всем рассмотренным параметрам кроме RSR (соответствие «экспериментальной» электронной плотности).

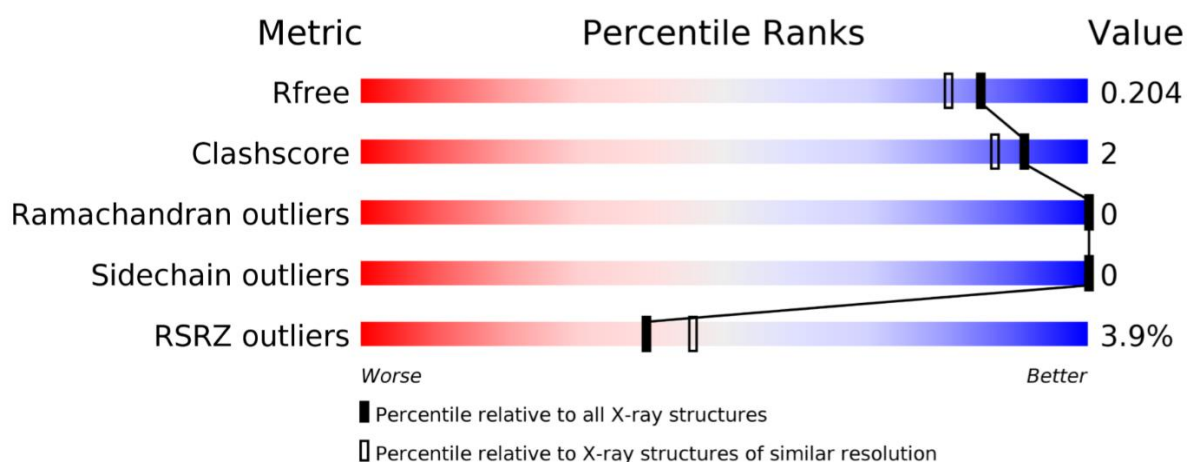


Рисунок 2. Качество модели 3o48 в сравнении с другими моделями из PDB. Градиент цвета показывает, насколько параметры данной структуры лучше (синий) или хуже (красный) средних значений (белый). Черные прямоугольники отражают качество относительно всех структур, белые — относительно структур схожего разрешения.

Рассмотрим некоторые параметры в отдельности.

R-фактор характеризует соответствие построенной модели экспериментальным данным и минимизируется в процессе оптимизации модели. Хорошими считаются показатели меньше

0.25. R-фактор нашей модели 0.186 по DCC, что говорит о вполне хорошем соответствии эксперименту.

R-free является контролем переоптимизации и вычисляется как и общий R-фактор, но по заранее заданной выборке из относительно небольшого числа случайных структурных факторов. В случае 3o48 таких факторов было 807, что составило 5.28% от общего числа. В хорошей модели R-free должен быть такой же или немного больше, чем общий R-фактор, а различия более чем на 10% свидетельствуют о высокой вероятности переоптимизации. В модели 3o48 R-free - R = 0.002. Разница не большая (1%), поэтому переоптимизация маловероятна.

Для более подробного анализа других параметров качества был использован сервис MolProbity [13], предназначенный для валидации структур макромолекул. С его помощью перед анализом в структуру можно добавить атомы водорода, оптимизировать сети водородных связей и произвести инверсии боковых цепей аспарагина, глутамина и гистидина, если это необходимо. В структуру 3o48 было добавлено 1107 атомов водорода, 40 из них подверглись «подгонке», чтобы оптимизировать водородные связи. Неправильно ориентированных Asn, Gln и His обнаружено не было. Результаты выдачи MolProbity для структуры 3o48 представлены на рисунке 3.

All-Atom Contacts	Clashscore, all atoms:	1.81	99 th percentile * (N=932, 1.75Å ± 0.25Å)	
	Clashscore is the number of serious steric overlaps (> 0.4 Å) per 1000 atoms.			
Protein Geometry	Poor rotamers	1	0.81%	Goal: <0.3%
	Favored rotamers	119	96.75%	Goal: >98%
	Ramachandran outliers	0	0.00%	Goal: <0.05%
	Ramachandran favored	125	98.43%	Goal: >98%
	MolProbity score ^	0.94	100 th percentile * (N=11713, 1.75Å ± 0.25Å)	
	Cβ deviations >0.25Å	0	0.00%	Goal: 0
	Bad bonds:	0 / 1137	0.00%	Goal: 0%
	Bad angles:	0 / 1544	0.00%	Goal: <0.1%
Peptide Omegas	Cis Prolines:	0 / 4	0.00%	Expected: ≤1 per chain, or ≤5%

Рисунок 3. Индикаторы качества структуры 3o48, определенные сервисом MolProbity

Clashscore – параметр, показывающий число стерических перекрытий на 1000 атомов. Перекрытием считается пересечение Ван-дер-Ваальсовых радиусов более, чем на 0.4 Å. Для 3o48 clashscore составляет 1.81 и является 99-ым перцентилем, что соответствует почти наилучшему качеству по данному параметру среди моделей со сходным разрешением (1.75±0.25 Å).

Оценку того, насколько хорошо конформация остова модели соответствует предпочитаемому положению торсионных углов φ и ψ, позволяет карта Рамачандрана. Карта, построенная сервисом MolProbity для 3o48 представлена на рисунке 4.

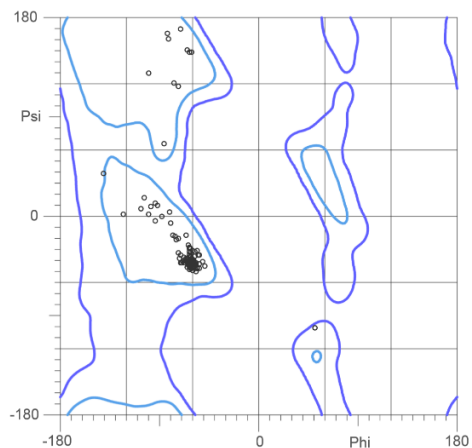


Рисунок 4. Карта Рамачандрана для структуры 3o48. Голубые линии ограничивают участки предпочтительных областей, синие – допустимых областей. Точками представлены отдельные аминокислотные остатки.

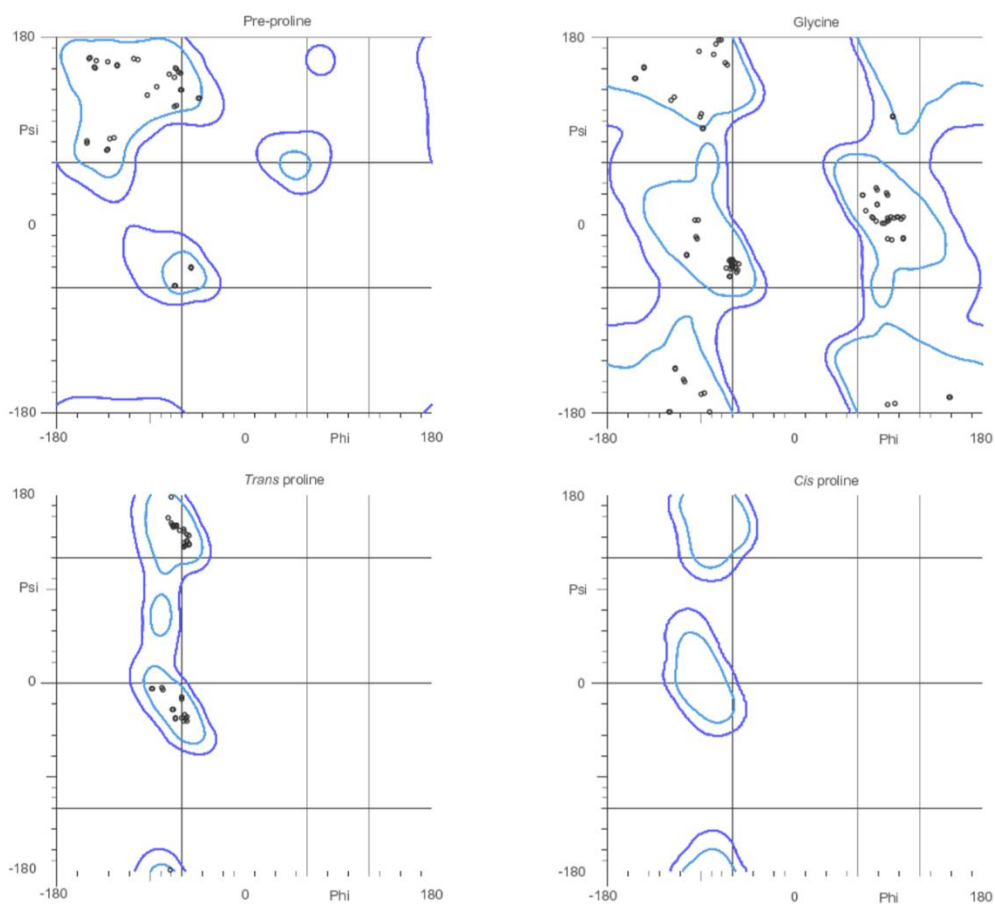


Рисунок 5. Карта Рамачандрана для отдельных остатков структуры 3o48. Голубые линии ограничивают участки предпочтительных областей, синие – допустимых областей. Точками представлены аминокислотные остатки.

98.5% (132/134) остатков лежат в предпочтительной области, 1.5% (2/134) – в разрешенной. Итого, все 100% остатков находятся в разрешенной области, маргиналов по значениям торсионных углов нет.

Отдельно были построены карты для Gly и Pro (Рис. 5) ввиду их тенденции принимать «нестандартные» значения торсионных углов. Тем не менее все эти остатки также оказались в предпочтительной области. Пролина в *cis*-конформации найдено не было.

Оценкой конформации боковых цепей аминокислот служат ротамеры – наборы предпочитаемых положений боковых цепей для данного остатка, заданные допустимыми значениями торсионных углов χ . По оценке MolProbity о хорошем качестве модели свидетельствует доля «плохих» ротамеров менее 0.3%. В структуре 3o48 96.75% (119/120) ротамеров являются «хорошими» и только 0.81% (1/120) – «плохими». 0.81% > 0.3%, однако ввиду того, что «плохой» ротамер всего 1, а процент повышен из-за небольшого общего числа остатков в белке, качество по данному параметру можно считать нормальным.

Соответствие каждого аминокислотного остатка экспериментальным данным (т.е. то, насколько хорошо данный остаток вписывается в условно экспериментальную электронную плотность) характеризует параметр RSR. Принято производить оценку в виде Z-score (RSRZ), которая показывает, насколько RSR для остатка в данной модели отличается от среднего значения RSR по структурам из PDB аналогичного разрешения. Показателем маргинальности считается Z-score > 2. Данный параметр вычисляется для отдельного остатка, однако доля остатков-маргиналов по RSR может быть интерпретирована как показатель качества модели в целом.

Для 3o48 доля маргинальных остатков по RSR составляет 3.88% (5/129). Этот параметр в нашей модели хуже, чем в среднем по PDB (Рис. 2). В следующем разделе маргинальные по RSR остатки будут рассмотрены более подробно.

Наконец, необходимо оценить, есть ли в модели нарушения по длине химических связей и величинам валентных углов. По данным как PDB, так и MolProbity, в структуре 3o48 все углы и связи являются оптимальными, что, безусловно, говорит о хорошем качестве модели.

Анализ маргинальных остатков

На рисунке 6 визуализировано качество моделирования остатков на всем протяжении полипептидной цепи Fis1. Маргиналов по геометрическим параметрам относительно мало (4), несколько больше маргиналов по RSR (5). В целом картина вполне хорошая.

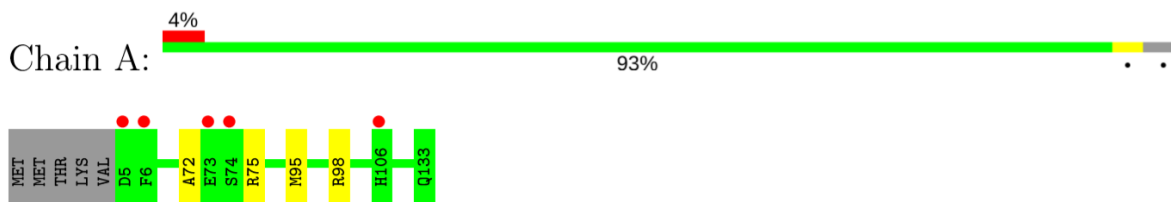


Рисунок 6. График качества остатков в структуре 3o48. Нижняя полоса показывает последовательность остатков в полипептидной цепи, окрашенных по принципу их соответствия геометрическим критериям качества: зеленый – остаток не является маргиналом по геометрическим критериям, желтый – маргинал по одному критерию, оранжевый – по 2-м критериям, красный – по 3-м и более. Красная точка над остатком указывает на плохое соответствие остатка электронной плотности ($RSRZ > 2$). Стречи из 2-х и более не маргинальных остатков изображены в виде зеленой линии. Остатки, которые были в кристалле, но не вошли в модель, окрашены серым. Верхняя полоса отражает процентное соотношение остатков разного качества во всей цепи. Красная полоса и значение над ней отражают процент остатков, плохо вписывающихся в электронную плотность.

В таблице 3 представлен полный список маргинальных остатков с указанием отклоняющихся параметров.

Таблица 3. Маргинальные остатки в структуре 3o48

Остаток	Обоснование маргинальности
Arg75	Перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов атомов HB2 и HH11 данного остатка на 0.76 Å; «плохой» ротамер
Ala72	Перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов атома O данного остатка и атома NH1 из Arg75 на 0.50 Å
Arg98	Перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов атома NH2 данного остатка и атома O 216-ой молекулы воды на 0.46 Å
Met95	Перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов атома SD данного остатка и атома NH1 из Arg98 на 0.44 Å
Asp5	Плохое соответствие экспериментальной электронной плотности ($RSRZ = 4.6 > 2$)
Phe6	Плохое соответствие экспериментальной электронной плотности ($RSRZ = 4.2 > 2$)
Ser74	Плохое соответствие экспериментальной электронной плотности ($RSRZ = 2.7 > 2$)
Glu73	Плохое соответствие экспериментальной электронной плотности ($RSRZ = 2.5 > 2$)
His106	Плохое соответствие экспериментальной электронной плотности ($RSRZ = 2.2 > 2$)

Проанализируем некоторые из маргинальных остатков подробно.

Наиболее проблемным является Arg75. Конформация его боковой цепи не соответствует ни одному из ротамеров (углы χ_1 , χ_2 , χ_3 и χ_4 составляют 289.3, 164.7, 253.4 и 69.8 соответственно), а также наблюдается перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов двух

атомов (HB2 и HH11) в пределах самого Arg75 и между атомом NH1 Arg75 и атомом O Ala72. На рисунке 7 изображен данный остаток и электронная плотность вокруг него на уровне подрезки 1.5 σ . Видно, что боковая цепь, за исключением отдельных регионов вблизи атомов азота, совсем не покрыта электронной плотностью. 3 атома C и один атом N представлены в альтернативных положениях. Не удивительно, что данный остаток является маргиналом и не соответствует ни одной из предпочтительных конформаций боковой цепи.

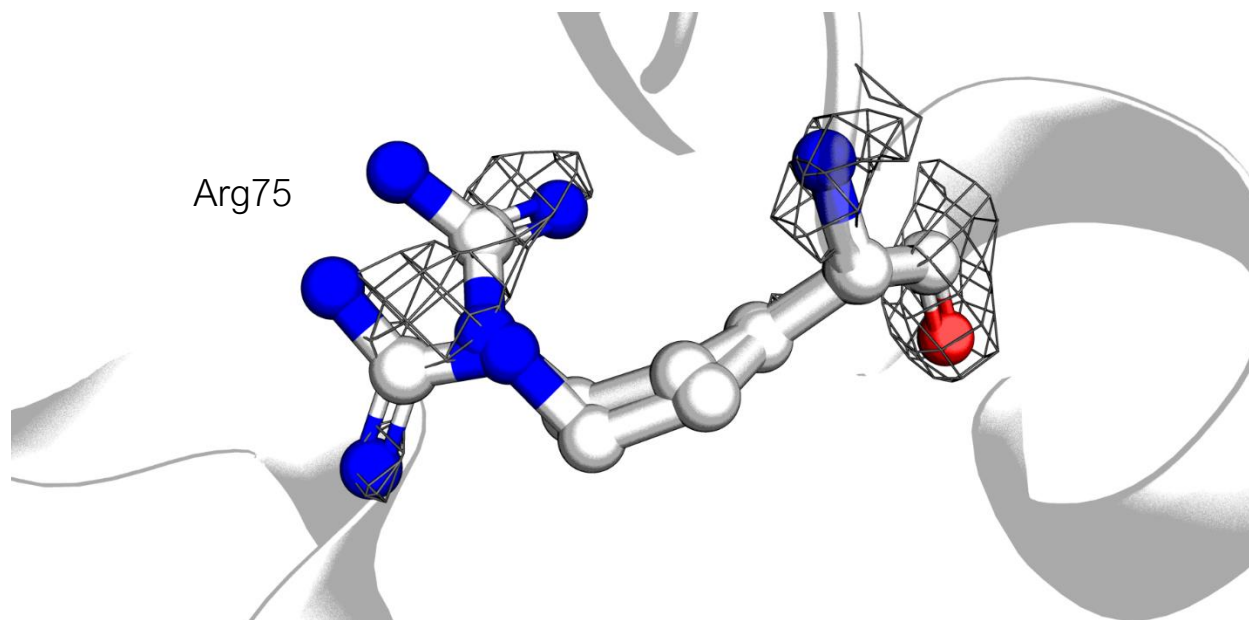


Рисунок 7. Arg75 с изображением электронной плотности на уровне подрезки 1.5 σ .

Возможной причиной такого плохого моделирования Arg75 является его положение в петле. Петли более мобильны по сравнению с другими частями белковой молекулы и в целом плохо кристаллизуются, поэтому получить кристалл с одинаковым расположением петель во всех асимметрических ячейках достаточно сложно. Обычно в петлях электронная плотность хорошо покрывает только остов цепи, а боковые цепи разрешаются плохо, что наблюдается и в нашем случае.

На рисунке 8 изображены остатки Arg75 и Ala72. Между атомами N Arg75 и атомом O Ala72 должна образовываться водородная связь, однако по ее направлению наблюдается перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов атомов (на 0.5 Å), и длина связи оказывается слишком маленькой (2.45 Å против типичных 3.5 Å для водородных связей). В отличие от Arg75, Ala72 находится уже не в петле, а на границе петли и α -спирали. Он достаточно полно вписывается в электронную плотность и отклонений по геометрическим показателям, помимо перекрытия с Arg75, не имеет. Поэтому, вероятно, что проблемы с данным остатком объясняются его близостью к плохо определенному Arg75. Также можно заметить, что хоть общее покрытие Ala72 электронной плотностью довольно хорошее, его остовный атом кислорода немного выставляется за пределы поверхности ρ . Если сместить атом немного влево, то он впишется в электронную плотность лучше, и длина связи между O Ala72

и N Arg75 увеличится и приблизится к стандартной. Возможно, что имеет место небольшая ошибка расшифровки и координаты атома подобраны не оптимально. Тем не менее, такое смещение атома может потенциально приводить к неблагоприятным величинам торсионных углов, поэтому утверждать об ошибке на данном уровне анализа рано.

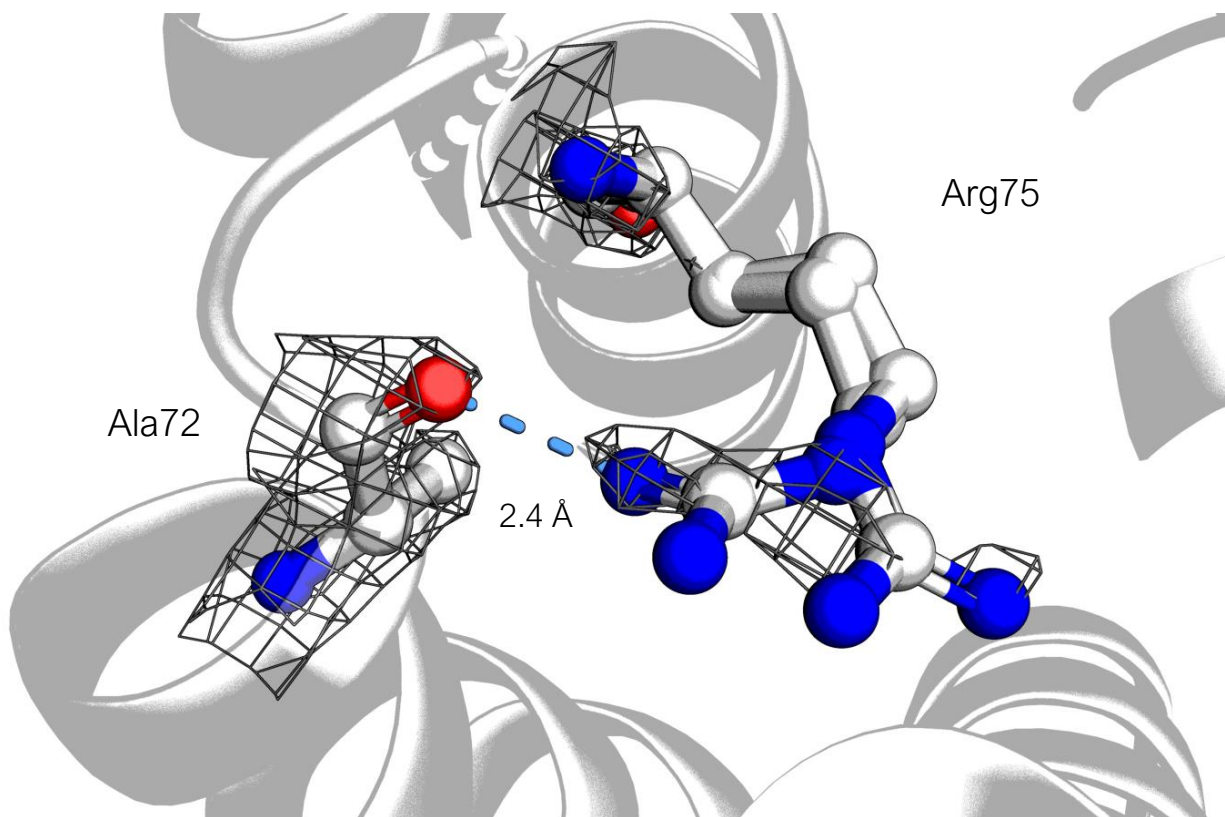


Рисунок 8. Остатки Ala72 и Arg75 в структуре Зо48. Голубым пунктиром показана предполагаемая водородная связь, имеющая нестандартную длину ввиду перекрытия Ван-дер-Ваальсовых радиусов атомов O и C. Сеткой изображена электронная плотность на уровне подрезки 1.5 σ .

Следующий маргинальный остаток, Arg98, перекрывается Ван-дер-Ваальсовыми радиусами с 216-ой молекулой воды (Рис.9). В первую очередь подозрение вызывает молекула воды, так как H₂O в кристалле часто бывают подвижны, могут иметь альтернативные положения и определяться не во всех элементарных ячейках. Тем не менее коэффициент заполнения атома O данной молекулы равен 1, что означает, что данный атом присутствует в указанной позиции во всех ячейках. Покрытие атома электронной плотностью удовлетворительное. Еще одним аргументом в пользу правильного определения 216-ой H₂O является то, что она зафиксирована водородными взаимодействиями с молекулой белка. Поэтому имеет смысл искать причину перекрытия в аминокислотном остатке. Действительно, при изображении электронной плотности вокруг Arg98, хорошо видно, что его боковая цепь полностью

«обнажена». Остаток, хоть и находится в составе α -спирали, экспонирован на поверхность белковой глобулы и потенциально может являться достаточно мобильным. Возможно, это одна из причин его плохого определения.

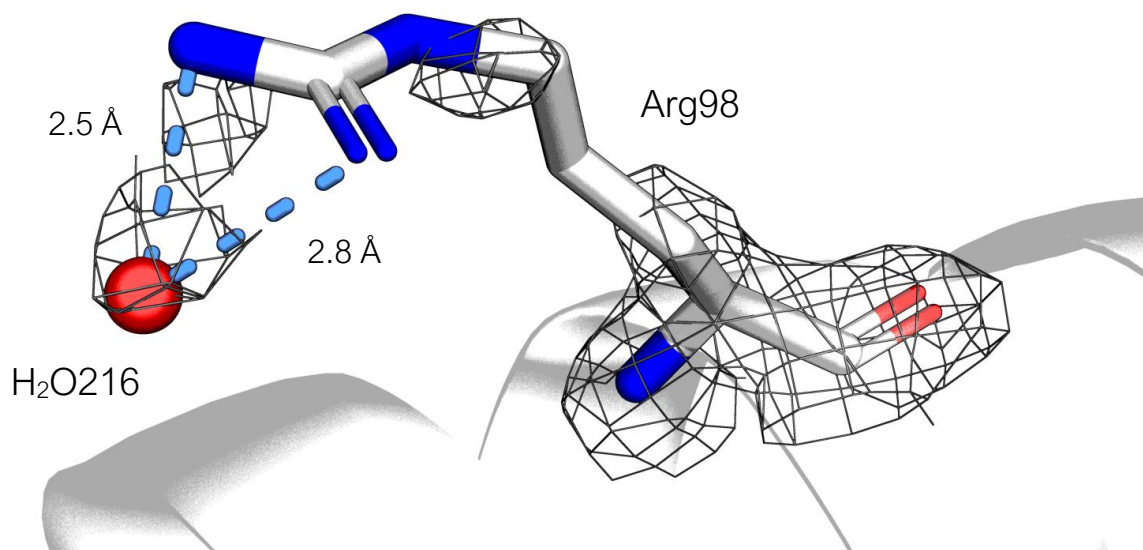


Рисунок 9. Arg98 и H2O216 структуры Зо48. Голубым пунктиром указаны водородные связи, одна из которых укорочена ввиду перекрытия Ван-дер-Ваальсовых радиусов атома O H2O216 и атома N Arg98. Сеткой изображена электронная плотность на уровне подрезки 1σ .

Помимо воды, Arg98 перекрывается еще и с атомом серы Met95 (Рис. 9). Этот атом имеет два альтернативных положения в равной степени хорошо покрытых электронной плотностью. Вероятно, более правильным является положение, при котором не образуется перекрытия. Причина двойственности определения координат атомов Met95, скорее всего, та же, что и для Arg98 – подвижность боковой цепи на поверхности глобулы.

Теперь рассмотрим группу остатков, демонстрирующих несоответствие экспериментальной электронной плотности. Самые высокие RSRZ (4.6 и 4.2 соответственно) имеют остатки Asp5 и Phe6, идущие друг за другом (Рис. 11). Видно, что даже на низком уровне подрезки 1σ электронная плотность покрывает только остовные атомы. Ароматическое кольцо фенилаланина и достаточно электронноплотные атомы кислорода, вопреки теоретическим ожиданиям, совсем не покрыты поверхностью ρ . Это говорит о том, что положение боковых цепей данных остатков фактически не определено. Скорее всего, это связано с низким качеством карты электронной плотности на соответствующем участке полипептидной цепи. Это, впрочем, не удивительно, поскольку остатки 5-6 расположены в N-концевой неструктурированной области, и к тому же входят в состав предположительно функционально мобильного Fis1 arm.

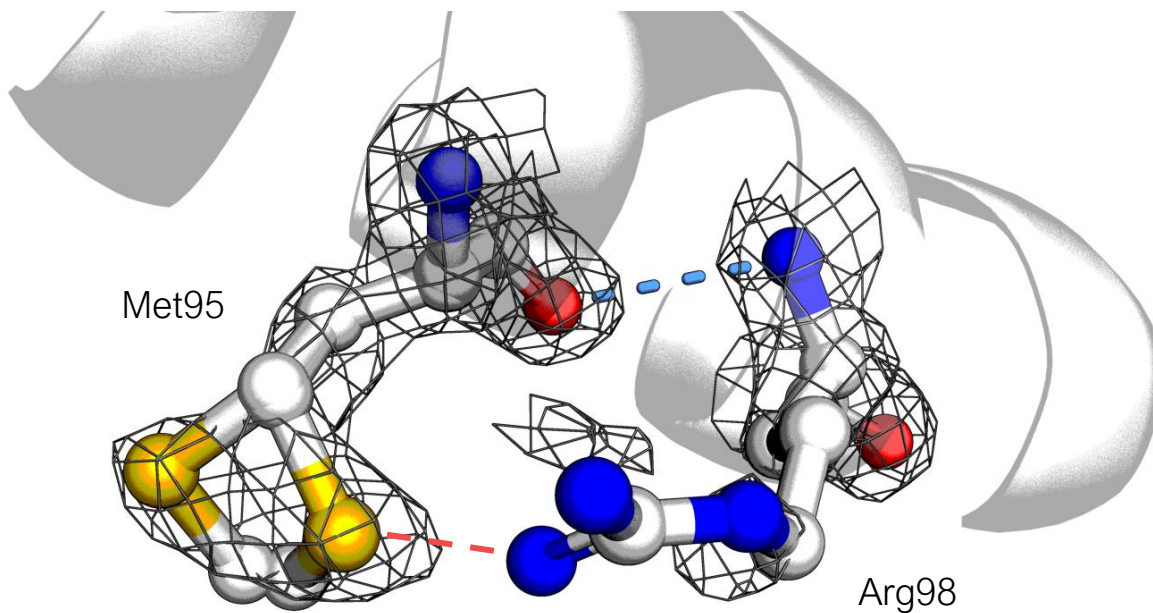


Рисунок 10. Остатки Met95 и Arg98 в структуре 3o48. Голубым пунктиром показана водородная связь. Красным пунктиром соединены атомы, между которыми наблюдается перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов. Сеткой изображена электронная плотность на уровне подрезки 1.5 σ .

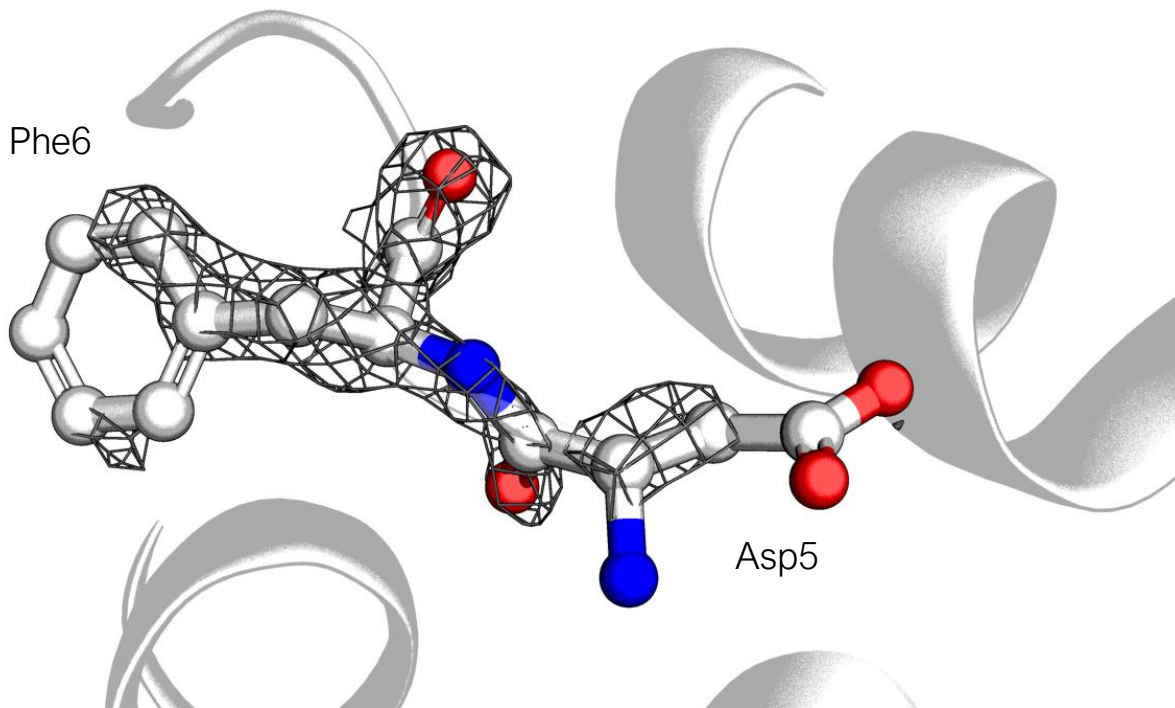


Рисунок 11. Остатки Asp5 и Phe6 в структуре 3o48. Сеткой изображена электронная плотность на уровне подрезки 1 σ .

Еще одна пара остатков с превышающими «норму» RSRZ - Glu73 (RSRZ = 2.5) и Ser74 (RSRZ = 2.7) (Рис. 12).

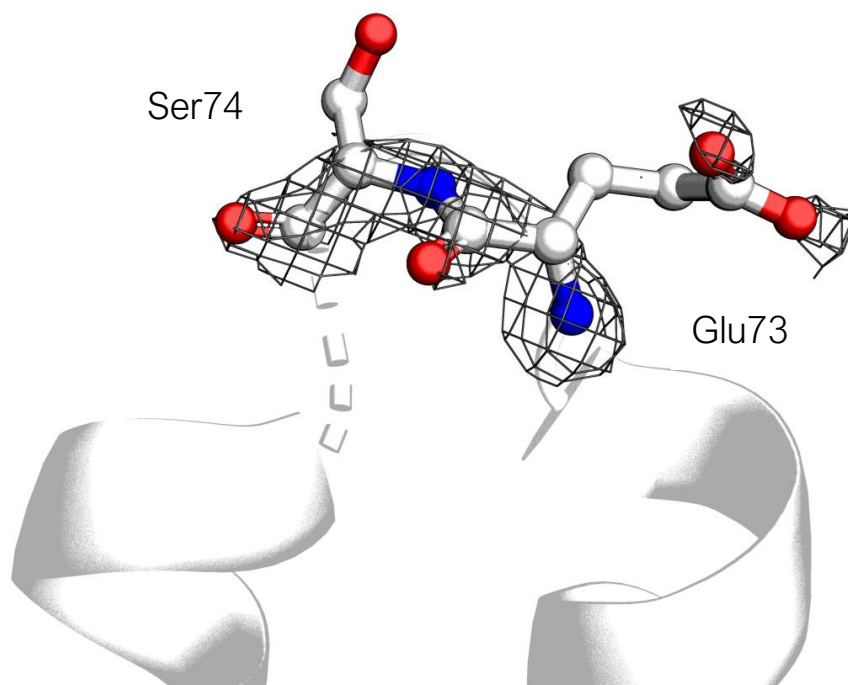


Рисунок 12. Остатки Glu73 и Ser74 в структуре 3o48. Сеткой изображена электронная плотность на уровне подрезки 1σ .

Ситуация здесь аналогичная – боковые цепи остатков плохо покрыты электронной плотностью даже на низком уровне подрезки. Причина этого – нахождение остатков в петле.

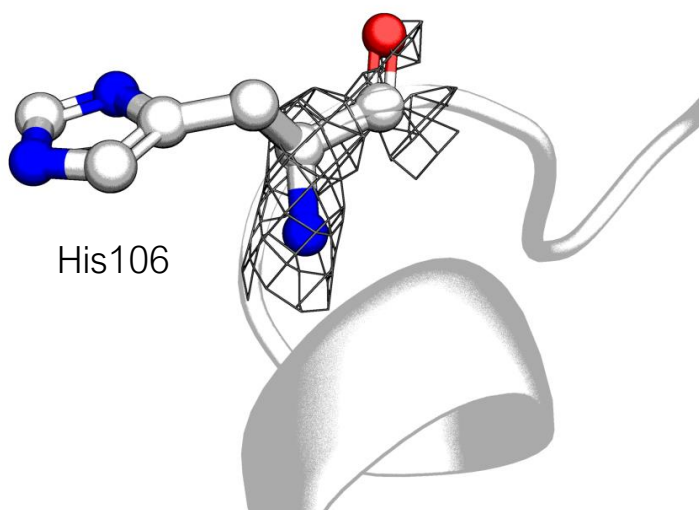


Рисунок 13. Остаток His106 в структуре 3o48. Сеткой изображена электронная плотность на уровне подрезки 1.5σ .

Наконец, последним маргиналом в структуре 3o48 является His106 (Рис. 13). Его RSRZ составляет 2.2 и совсем не сильно превышает приемлемое значение 2. В этом остатке тоже нет ничего интересного – он находится в петле, поэтому плохо покрыт поверхностью р.

Сравнение модели из PDB с моделью из PDB_redo

База данных PDB_redo [14] содержит оптимизированные версии моделей, существующих в PDB. Для структуры 3o48 было проведено сравнение ее исходной и «улучшенной» версий.

Изменений по «улучшению» было проведено не так уж и много: было удалено 32 молекулы воды и изменено положение одного аминокислотного остатка, которое, вообще говоря, привело к тому, что он стал хуже вписываться в электронную плотность. По сравнению с исходной у оптимизированной структуры (по данным PDB_redo) немного снизился R-фактор (с 0.1882 до 0.1698) и R-free (с 0.2062 до 0.1949).

Оптимизированная структура была проанализирована с помощью MolProbity. Результаты анализа приведены на рисунке 14.

All-Atom Contacts	Clashscore, all atoms:	2.26	99 th percentile* (N=932, 1.75Å ± 0.25Å)	
	Clashscore is the number of serious steric overlaps (> 0.4 Å) per 1000 atoms.			
Protein Geometry	Poor rotamers	1	0.81%	Goal: <0.3%
	Favored rotamers	119	96.75%	Goal: >98%
	Ramachandran outliers	0	0.00%	Goal: <0.05%
	Ramachandran favored	125	98.43%	Goal: >98%
	MolProbity score [^]	1.00	100 th percentile* (N=11713, 1.75Å ± 0.25Å)	
	Cβ deviations >0.25Å	0	0.00%	Goal: 0
	Bad bonds:	0 / 1137	0.00%	Goal: 0%
Bad angles:	0 / 1544	0.00%	Goal: <0.1%	
Peptide Omegas	Cis Prolines:	0 / 4	0.00%	Expected: ≤1 per chain, or ≤5%

Рисунок 14. Индикаторы качества оптимизированной структуры 3o48 из PDB_redo, определенные сервисом MolProbity

Существенного улучшения каких-либо параметров качества модели в оптимизированной структуре не наблюдается. Фактически, изменились показатели только в двух колонках. Немного лучше стала интегральная оценка качества MolProbity score (увеличилась с 0.96 до 1.00), однако ухудшился Clashscore, оценивающий количество стерических перекрытий на 1000 атомов (увеличился с 1.81 до 2.26).

Таким образом, оптимизация оказалась сомнительной. Возможно, PDB_redo позволяет улучшить качество исходно плохих моделей, но бесполезен для уже достаточно качественных

структур. В случае 3o48 использование модели из PDB_redo вместо модели из PDB не имеет смысла.

Выводы

Структура дрожжевого белка Fis1 с PDB ID 3o48 имеет высокое разрешение и смоделирована достаточно хорошо. Большинство индикаторов качества имеют значения выше среднего для аналогичных структур из PDB. Маргинальные остатки наблюдаются только по двум параметрам - RSR и перекрыванию Ван-дер-Ваальсовых радиусов, их количество невелико. Большинство проблем расшифровки связано с наличием в белке подвижных неструктурированных петель. Дополнительная оптимизация структуры с помощью PDB_redo не требуется.

Источники

1. Chan DC. Mitochondrial Dynamics in Disease. *N Engl J Med.* 2007;356: 1707–1709. doi:10.1056/NEJMp078040
2. Zhang Y, Chan DC. Structural basis for recruitment of mitochondrial fission complexes by Fis1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104: 18526–18530. doi:10.1073/pnas.0706441104
3. Dohm JA, Lee SJ, Hardwick JM, Hill RB, Gittis AG. Cytosolic domain of the human mitochondrial fission protein fis1 adopts a TPR fold. *Proteins.* 2004;54: 153–156. doi:10.1002/prot.10524
4. Suzuki M, Jeong SY, Karbowski M, Youle RJ, Tjandra N. The solution structure of human mitochondria fission protein Fis1 reveals a novel TPR-like helix bundle. *J Mol Biol.* 2003;334: 445–458.
5. Blatch GL, Lässle M. The tetratricopeptide repeat: a structural motif mediating protein-protein interactions. *BioEssays News Rev Mol Cell Dev Biol.* 1999;21: 932–939. doi:10.1002/(SICI)1521-1878(199911)21:11<932::AID-BIES5>3.0.CO;2-N
6. Suzuki M, Neutzner A, Tjandra N, Youle RJ. Novel structure of the N terminus in yeast Fis1 correlates with a specialized function in mitochondrial fission. *J Biol Chem.* 2005;280: 21444–21452. doi:10.1074/jbc.M414092200
7. Wells RC, Picton LK, Williams SCP, Tan FJ, Hill RB. Direct binding of the dynamin-like GTPase, Dnm1, to mitochondrial dynamics protein Fis1 is negatively regulated by the Fis1 N-terminal arm. *J Biol Chem.* 2007;282: 33769–33775. doi:10.1074/jbc.M700807200
8. Karren MA, Coonrod EM, Anderson TK, Shaw JM. The role of Fis1p-Mdv1p interactions in mitochondrial fission complex assembly. *J Cell Biol.* 2005;171: 291–301. doi:10.1083/jcb.200506158

9. Serasinghe MN, Yoon Y. The mitochondrial outer membrane protein hFis1 regulates mitochondrial morphology and fission through self-interaction. *Exp Cell Res*. 2008;314: 3494–3507. doi:10.1016/j.yexcr.2008.09.009
10. Picton LK, Casares S, Monahan AC, Majumdar A, Hill RB. Evidence for conformational heterogeneity of fission protein Fis1 from *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochemistry*. 2009;48: 6598–6609. doi:10.1021/bi802221h
11. Tooley JE, Khangulov V, Lees JPB, Schlessman JL, Bewley MC, Heroux A, et al. The 1.75 Å resolution structure of fission protein Fis1 from *Saccharomyces cerevisiae* reveals elusive interactions of the autoinhibitory domain. *Acta Crystallograph Sect F Struct Biol Cryst Commun*. 2011;67: 1310–1315. doi:10.1107/S1744309111029368
12. Long F, Vagin AA, Young P, Murshudov GN. BALBES: a molecular-replacement pipeline. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*. 2008;64: 125–132. doi:10.1107/S0907444907050172
13. Chen VB, Arendall WB, Headd JJ, Keedy DA, Immormino RM, Kapral GJ, et al. MolProbity: all-atom structure validation for macromolecular crystallography. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*. 2010;66: 12–21. doi:10.1107/S0907444909042073
14. <https://pdb-redo.eu/db>