

# Отчет по валидации структуры интерлейкина-11

Выполнила Нестеренко Екатерина, 402 группа

Москва 2021

## Аннотация

### Введение

Для работы был выбран человеческий интерлейкин-11 (IL-11, PDBID - 4MHL). Интерлейкин-11 принадлежит к семейству цитокинов интерлейкина-6, увеличение его количества показано при разных видах рака желудочно-кишечного тракта. Он был расшифрован с целью лучшего понимания IL-11 сигнального пути.

Сигналинг происходит благодаря взаимодействию интерлейкина с его заякоренным в мембране рецептором - IL-11Ralpha.

Также интерлейкин-11 участвует во множестве процессов, активируя MAPK-каскад и путь Jak/STAT.

### Результаты и обсуждение

#### Общая информация по модели

IL-11 это белок суперсемейства длинноспиральных цитокинов. Он состоит из пучка из 4 альфа-спиралей, которые в свою очередь расположены попарно антипараллельно.

Кристаллическая структура модели человеческого интерлейкина 11 была выложена на PDB в 2013 году. Автором в отчете по валидации структуры указан – М. Гриффин.

Статья была написана в 2014 году, авторами из Австралии и Новой Зеландии - Трейси Путочки, Рейнвиком Добсоном и Майклом Гриффинем (T. L. Putoczki, R. C. J. Dobson and M. D. W. Griffin).

В состав структуры входит сам интерлейкин-11 в виде одной цепи. Также присутствует сульфат-ионы и молекула формамида.

Для решения фазовой проблемы авторы использовали метод молекулярного замещения. В качестве первого приближения к искомой структуре использовали структуру интерлейкина-6 (1ALU).

Всего удалось зафиксировать 8862 структурных фактора.

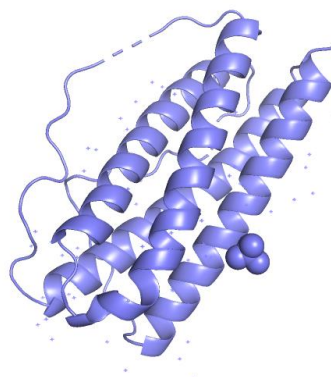


Рис. 1 Общий вид структуры интерлейкина-11.

Итоговое разрешение структуры - 2,09 Å при полноте данных 99,5%. Диапазон разрешений от 41.81 до 2.09 Å.

Ниже приведена таблица с параметрами кристаллографической ячейки и группа симметрии.

Таблица 1. Параметры кристаллографической ячейки	
Length ( Å )	Angle ( ° )
a = 118.862	$\alpha = 90$
b = 28.169	$\beta = 90$
c = 41.806	$\gamma = 90$
Группа симметрии	P 21 21 2

Некристаллографических симметрий в асимметрической ячейке найдено не было.

#### Значение индикаторов качества модели в целом

Значение R-фактора 19%, значение R-free – 24%. Значение R-free хотелось бы поменьше. Разница между R-фактором и R-free меньше 10, следовательно, модель скорее всего не переоптимизирована.

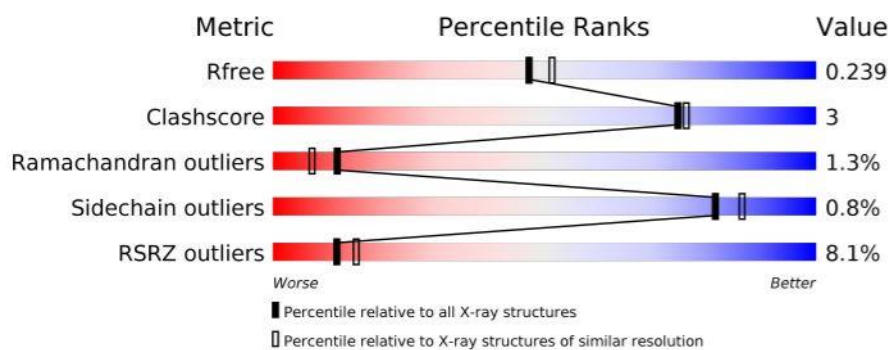


Рис. 2 Общая информация по качеству модели.

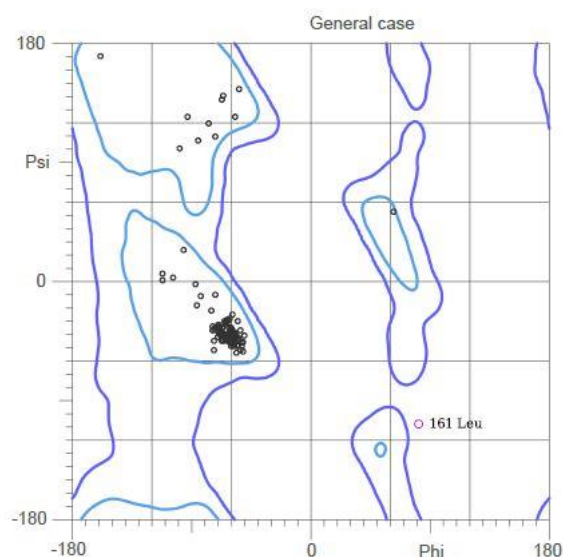


Рис. 3 Карта Рамачандрана для всех остатков изучаемого белка.

Для построения карты Рамачандрана и анализа качества структуры воспользуемся сервером MolProbity. 153 из 155 остатков лежат в разрешенных областях, это видно на карте. Есть два маргинальных остатка – это Leu161 (psi: 82.2, phi: -108.5) и Pro157 (psi: -105.8, phi: 129.8)). Также есть пролин в цис-конформации.

Общее значение Clashscore – 3.99 (число недопустимых наложений атомов на 1000), что соответствует 99 перцентилю – хорошее значение.

Есть два маргинала по боковым цепям.

Несомненным плюсом к качеству структуры являются показатели C $\beta$  deviations >0.25Å, Bad bonds, Bad angles, которые равны 0. В структуре нет C $\beta$  атомов, аномально отличающихся от ожидаемого положения, нет существенно не согласующихся с теорией ковалентных связей и валентных углов.

### Маргинальные остатки

Таблица 2. Списки маргинальных остатков

Остаток	Показатель отбора
Leu 161	Запрещенная область на карте Рамачандрана
Pro 157	Запрещенная область на карте Рамачандрана Rsr = 2.94
Lys 63	Poor rotamers
Ser 118	Poor rotamers
Pro 159	Rsr = 5.83 Клэш с водой 375 Клэш с Ala158
Glu 125	Клэш с водой

Ala 84	Rsr == 3.18
Ala 158	Rsr = 4.88 Клэш с Pro159
Arg 113	Abnormal environment Клэш с водой 320 Угол омега (poor omega)

## Анализ маргинальных остатков

1. Первый маргинальный остаток Leu161. Он находится в запрещенной области на карте Рамачандрана, данные анализа по what\_check утверждают, что у него некомфортное окружение. Он действительно находится в петле, лежит на поверхности и обращен «в наружу» и ему, как гидрофобному остатку, некомфортно.

А еще для него нет электронной плотности. Авторы утверждают, что это лейцин, видимо основываясь на структуре интерлейкина-6, напомним, для решения фазовой проблемы использовался метод молекулярного замещения. В структуре интерлейкина 6 данный участок размечен как альфа-спираль, лейцин обращен в сторону белка, вокруг также есть гидрофобные аминокислоты.

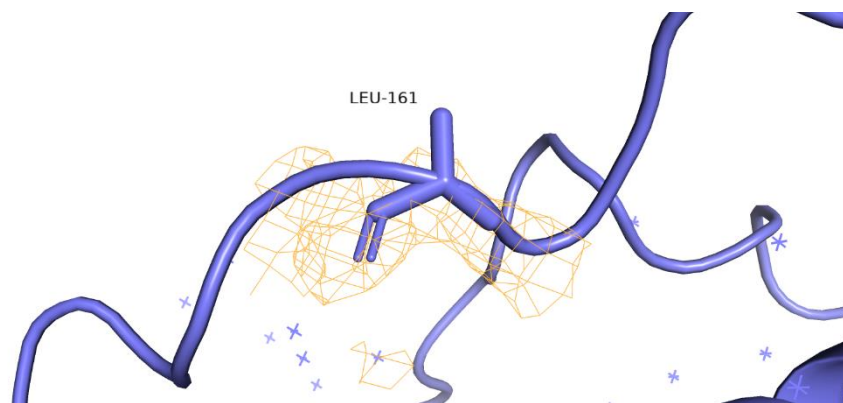


Рис.4 ЭП остатка Leu161.

Скорее всего это ошибка, связанная с низким локальным качеством данных.

2. Второй маргинальный остаток Lys63. Он – один из двух остатков с нехарактерными конформациями боковых радикалов (poor rotamer). Он смотрит внутрь, между двумя альфа-спиралями, вокруг него гидрофобное окружение, и он не образует водородных связей с атомами остова. Рядом есть довольно привлекательная вода, но геометрия не самая удачная для образования водородной связи.

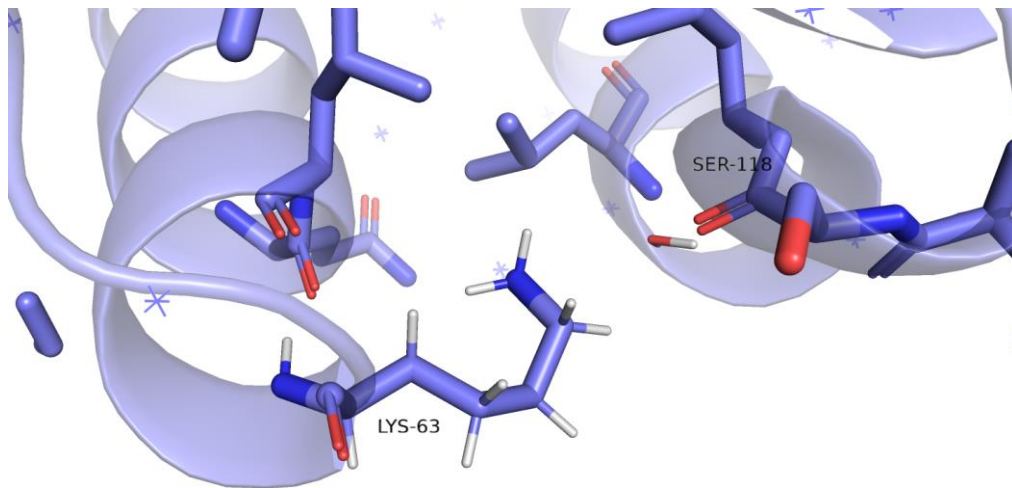


Рис. 5 Положение остатка Lys63

Можно попробовать его развернуть. Тогда он образует водородную связь с остовом Ser118. Но, судя по ЭП, развернут он быть не должен.

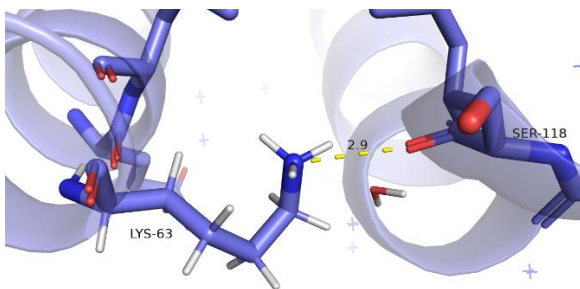


Рис. 6 Повернутая боковая цепь лизина для образования водородной связи.

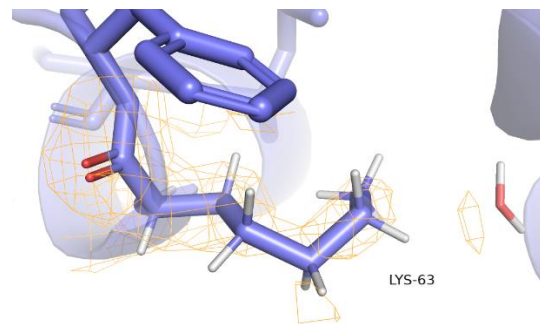


Рис. 7 ЭП остатка Lys63

Кажется, что это ошибка расшифровки, возможно связанная с локальным плохим качеством данных. Лизин не очень хорошо вписан в электронную плотность (ур. подрезки 1,  $\sigma_{\text{cut}} = 2$ ). В структуре интерлейкина-6 лизин в этом месте смотрит вниз, а не внутрь альфа-спирали. Конечно, не стоит полагаться во всем на структуру интерлейкина-6, но белки схожи структурно.

3. Ser118 находится рядом с рассмотренным ранее Lys63. Он тоже обладает пометкой poor rotamer. Он вписан в ЭП достаточно хорошо.

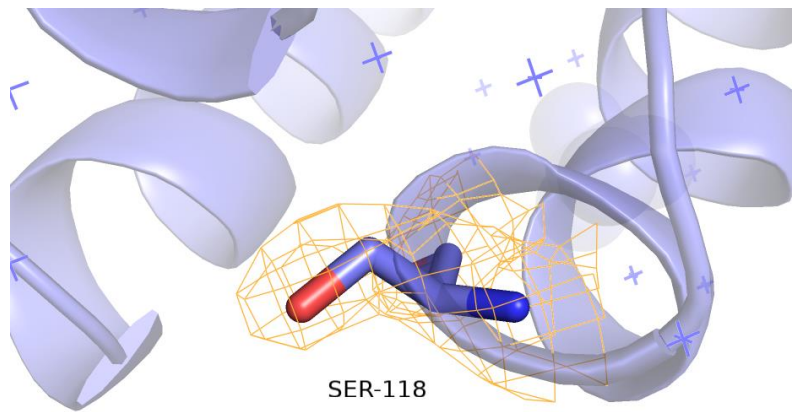


Рис.8 ЭП остатка Ser118.

Чтобы понять, почему он может быть ориентирован именно так, я построила соседей по кристаллу. Оказалось, что Ser118 вполне может образовывать водородную связь с водой (352) и через нее взаимодействовать с остовом Arg112, а также напрямую с остовом Arg113. Значит, скорее всего Ser118 попал в список остатков с плохой репутацией потому, что он особенный, а не ошибочный.

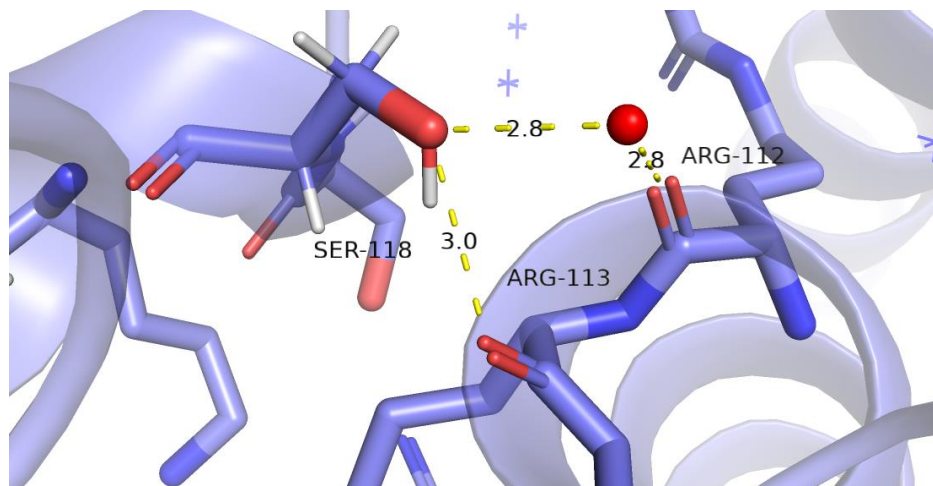


Рис. 9 Контакты Ser118 с соседями по кристаллу.

4. Следующий остаток - Pro159. У этого остатка RSRZ сильно больше двух. Посмотрим на ЭП – на уровне подрезки 1 ЭП на самом остатке вообще нет сетки. На уровне подрезки 0.8 чуть лучше. Вызвано это тем, видимо, что остаток находится в петле, она очень подвижна и данные для этого участка получены плохие.



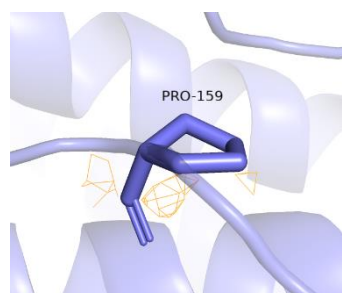


Рис. 10 ЭП на уровне подрезки 1.

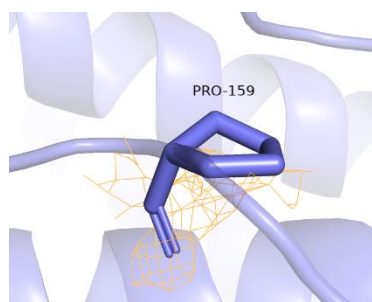


Рис. 11 ЭП на уровне подрезки 0.8.

Также для Pro159 показан клэш (перекрывание) его CD атома с атомом азота остова Ala158, а также с водой (375). Скорее всего, вода оказалась в этом месте потому, что снизу в альфа-спирали ее удерживает серин и аргинин. Перекрывание происходит между атомами водорода радикала пролина и атомом кислорода воды. Облако водорода легко подмять, и, наверное, воде выгодно потянуть его на себя кислородом.

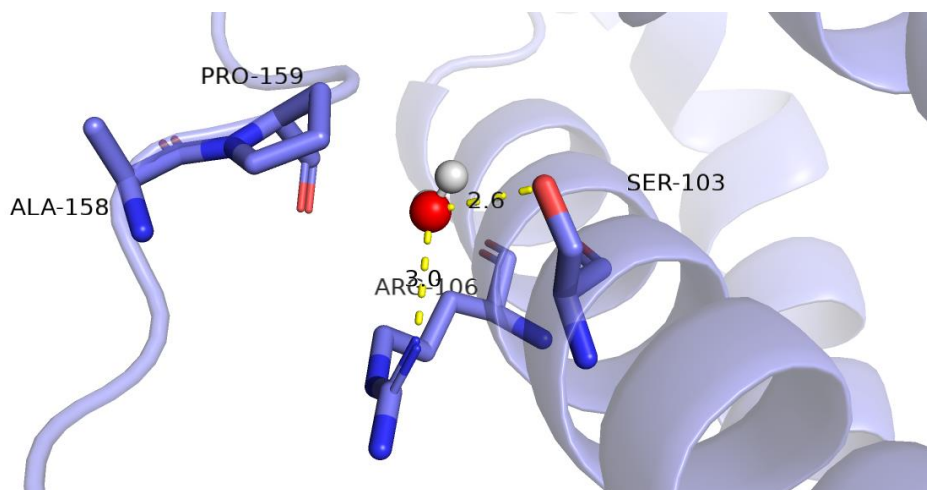


Рис. 12 Вода 375 рядом с Pro159.

Обратим лучше внимание на перекрывание с азотом остова аланина. Суммарный b-фактор атомов выше 80, что говорит о том, что они очень подвижны и скорее всего, даже если при расшифровке атомы получили такие координаты, их там может и не быть в реальном мире. Так что скорее всего Pro159 в таком положении это ошибка, а не особенность.



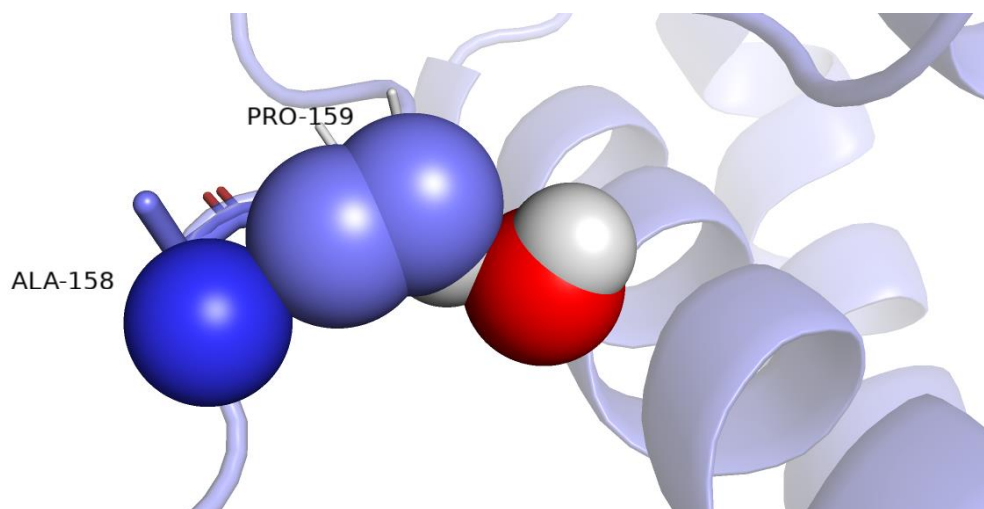


Рис. 13 Перекрытие углерода Pro159 с азотом Ala-158 и водой.

- Последний остаток, который будет рассмотрен Arg113. Для него показан клэш с водой 320, и данные по what\_check говорят, что он находится в неблагоприятном окружении (abnormal environment).

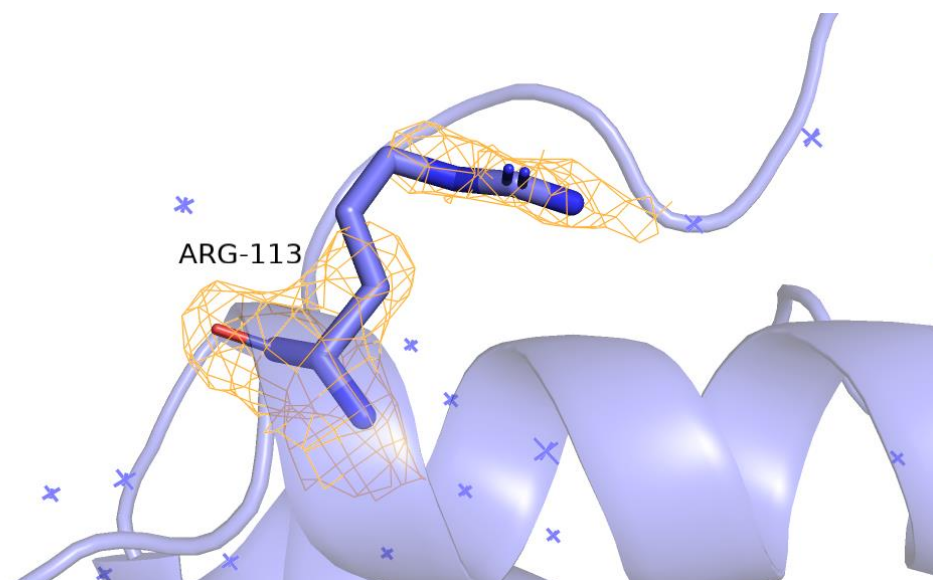


Рис. 14 ЭП остатка Arg113. Ур. подрезки 1.

ЭП для данного остатка есть не целиком. Остаток подвижен.

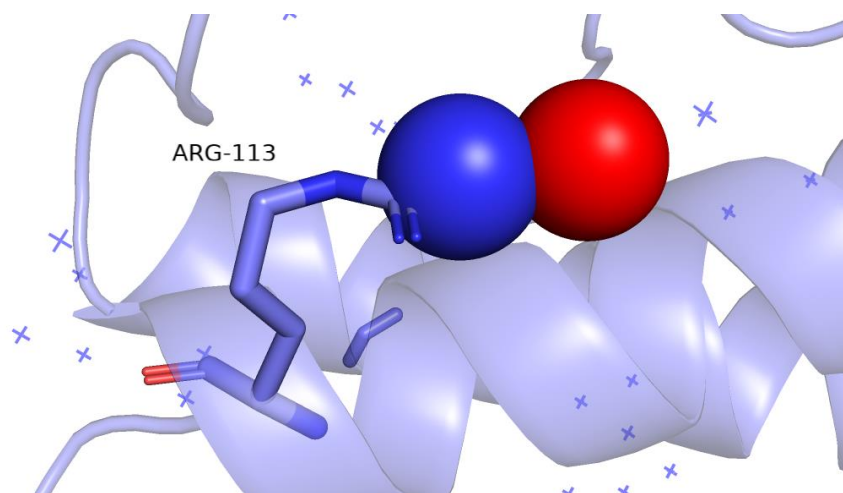


Рис. 15 Клэш с водой.

Вода 320 действительно располагается очень близко к азоту N2. Насчет неблагоприятного окружения. Аргинин находится на поверхности, образует водородную связь с водой, хотя вода находится очень близко.

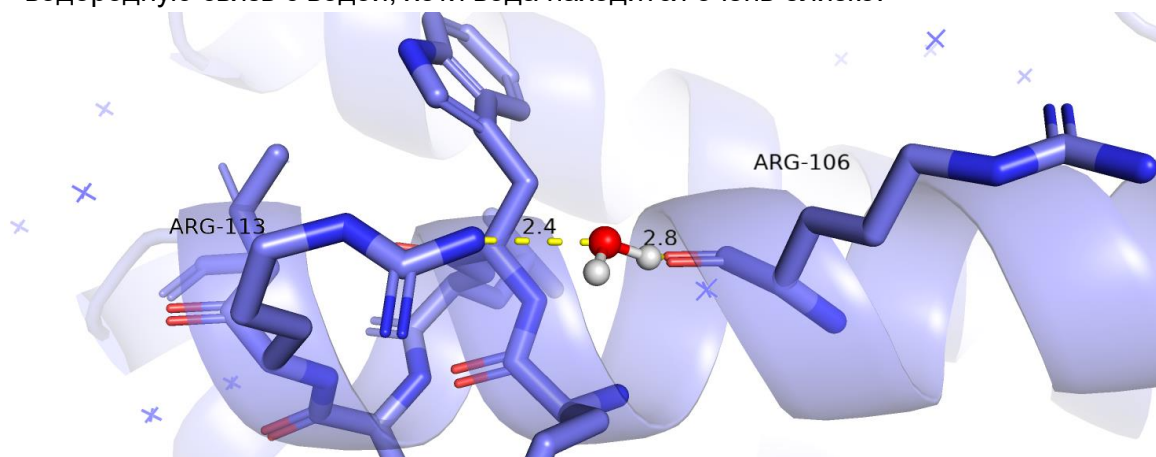


Рис. 16 Возможные взаимодействия Arg113.

Через эту воду Arg113 может взаимодействовать с атомом кислорода остова Arg106. Других водородных связей я не нашла, в том числе с другими молекулами растворителя или с соседями по кристаллу. Возможно, Arg113 и правда некомфортно без большого числа водородных связей. Но скорее всего здесь такое положение Arg113 это особенность, а не ошибка.

## Сравнение модели с моделью из PDB\_redo

Сервис PDB-redo позволяет оптимизировать PDB-модель. Оба значения стали еще больше, что, конечно, не очень хорошо.

Таблица 2. Значения основных параметров модели.

Параметр	PDB	PDB_redo
R	0,1846	0,2006
R-free	0,2447	0,2585

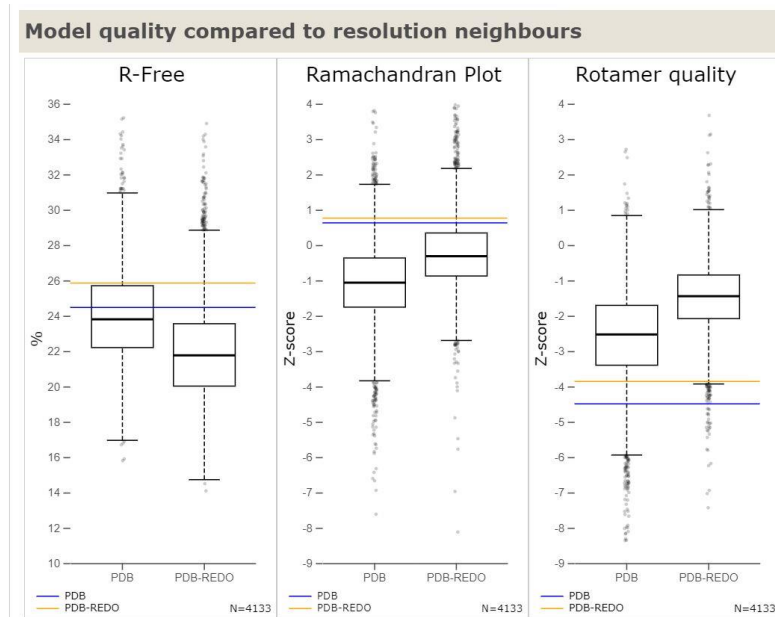


Рис. 17 Сравнение основных параметров.

На графике видно, что качество ротамеров стало лучше.

Были внесены следующие изменения:

- Изменены положения боковых цепей у двух остатков.
- Боковые цепи повернуты у семи остатков.

Таким образом три остатка стали лучше вписываться в ЭП. А два хуже, чем раньше, но это изменение незначительно.

Посмотрим на один остаток их тех, кому стало лучше.

Это будет Asp155. Как видно ЭП там практически нет. Остаток в изначальной структуре был недоразрешен. После PDB\_redo он обрел свое место.

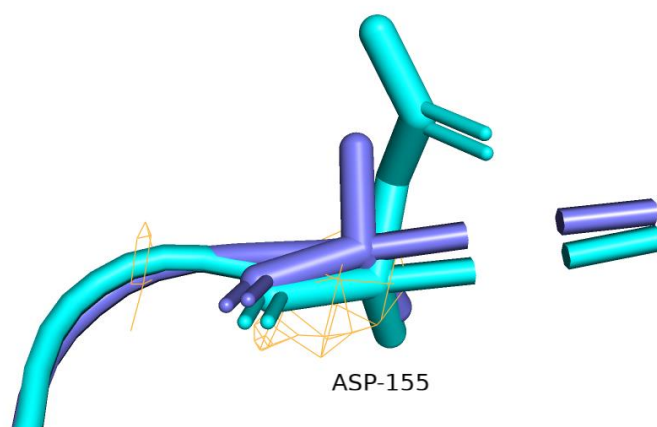
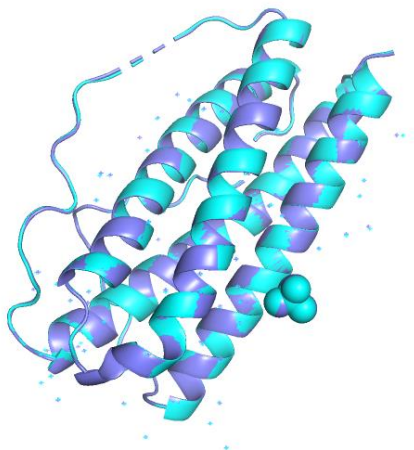


Рис. 18 Пример улучшения структуры. Синяя – начальная структура, бирюзовая – исправленная.

Значимых изменений во вторичной структуре не наблюдается.



*Рис. 19 Наложение изначальной структуры и структуры из PDB\_redo.*

## Заключение

Подводя итог можно сказать, что структура расшифрована неплохо, в ней нет большого количества маргиналов по углам  $\phi$  и  $\psi$ , нет большого количества клэшей между атомами самого белка. Данную структуру я бы использовала для работы с осторожностью, так как присутствуют неразрешенные остатки в петлях и есть остатки, плохо вписанные в ЭП.

## Список литературы и сервисов

Putoczki, Tracy L., Renwick CJ Dobson, and Michael DW Griffin. "The structure of human interleukin-11 reveals receptor-binding site features and structural differences from interleukin-6." *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography* 70.9 (2014): 2277-2285.

<https://swift.cmbi.umcn.nl/servers/html/>

<https://pdb-redo.eu/db/4mhl>

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

<https://eds.bmc.uu.se/cgi-bin/eds/zscore?4mhl>

Презентация с лекции о валидации