

---

# Отчёт по качеству расшифровки структуры редуктазы ртути II (PDB ID: 1ZK7).

Выполнил студент 4 курса ФББ МГУ Мыларщиков Дмитрий, 2019 год.

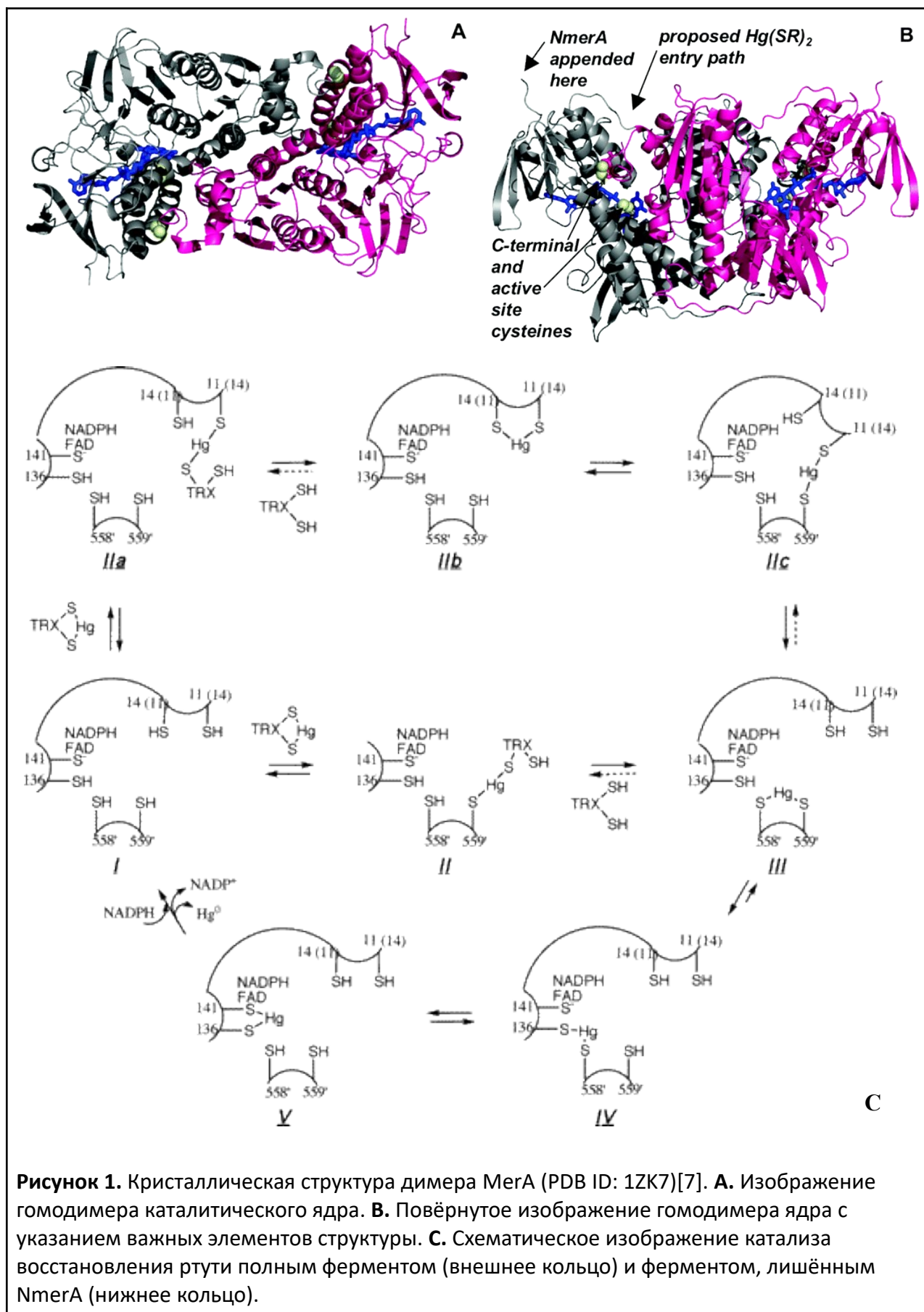
## Аннотация

Проведён анализ качества расшифровки структуры редуктазы ртути II (MerA) *Pseudomonas aeruginosa* (PDB ID: 1ZK7). Систематизирована информация PCA-эксперимента, приведены общие показатели качества. Выявлены маргинальные остатки по различным показателям и определено наличие или отсутствие связи между маргинальностью остатков и их биологическими особенностями. Остатки, маргинальные по нескольким показателям, детально и визуально исследованы. Проведено сравнение с моделью из PDB-REDO. Выведено заключение о качестве расшифровки структуры.

## Введение

Редуктаза ртути II (EC 1.16.1.1, MerA) – фермент, катализирующий восстановление иона  $\text{Hg}^{2+}$  до  $\text{Hg}^0$  с использованием NADPH:  $\text{NADPH} + \text{Hg}^{2+} \rightleftharpoons \text{Hg}^0 + \text{NADP}^+ + \text{H}^+$  (KEGG: R02807). Ион ртути крайне токсичен: он связывается с тиоловыми группами белков, блокируя их работу. MerA восстанавливает связанный ион ртути до нетоксичного атома, который затем выводится из организма.

Ферменты группы MerA являются гомодимерами. Каждая субъединица состоит из двух доменов (рис. 1A): N-концевого NmerA и каталитического ядра. В каталитическом домене выделяют C-концевую петлю, которая содержит два соседних цистеина (рис. 1B). Они доставляют ион ртути из раствора (или связанного состояния) в каталитический центр. В нём находятся два других цистеина, которые принимают ион ртути. Напротив них расположена флавиновая часть FAD. Напротив FAD расположен остаток тирозина, который повернут перпендикулярно плоскости флавина боковой частью своего кольца. FAD забирает электроны с иона ртути, освобождая  $\text{Hg}^0$ . NADPH встраивается в карман между FAD и остатком тирозина так, что последний отгибается в сторону и образуется сеть стекинговых взаимодействий между FAD, NADPH и тирозином. Такое расположение стабилизирует NADPH и сближает его с FAD настолько, что облегчается перенос гидрид-иона[8]. Белок функционирует в виде димера. Оба каталитических центра активны, но C-конец одной субъединицы доставляет ион ртути в активный центр другой субъединицы. Каноническая структура MerA была получена из *Bacillus subtilis* в 1991 году. Она была крайне похожа на глутатионредуктазу.



---

Роль NmerA была не до конца ясна. Было известно, что по структуре этот домен был похож на известные переносчики тяжёлых ионов. Этот домен не был необходимым для функционирования MerA, однако он был консервативен, что наводило на мысль о его функциональной значимости. Исследуемый белок MerA выделен из *Pseudomonas aeruginosa*. Ранее получаемые кристаллы полного белка были непригодны для PCA, поэтому исследователи выделили кристаллы только каталитического ядра. Его структура была крайне схожа со структурой каталитического центра MerA *B. subtilis*. Кинетические исследования проводились как на полноразмерном белке, так и на NmerA. Было выяснено, что NmerA подвижен и способен эффективно захватывать Hg<sup>2+</sup>, перенося его на C-концевые цистеины, повышая скорость восстановления в 5 раз по сравнению с тем же белком без NmerA[7]. Схематически механизм приведён на рисунке 1С.

Структура 1ZK7 в PDB содержит одну белковую цепь А (мономер) из 467 остатков, FAD, сульфат-анионы, глицерин и молекулы воды.

## Материалы и методы

### Данные

Файл со структурой белка был взят из PDB (1ZK7)[2]. Файл с электронной плотностью был взят из PDBe[1]. Переделанная структура была взята из PDB-REDO[6]. Общие сведения об эксперименте PCA были взяты из PDBe.

### Обработка

#### Модификации структуры

Водороды в структуру были добавлены с помощью веб-сервиса WHAT\_IF[5]. Симметрические единицы в радиусе 5Å были достроены в rutil с помощью команды symexp.

#### Анализ качества

Из отчёта по валидации расшифровки структуры в PDBe[4] были взяты сведения об общем качестве расшифровки структуры и данные о маргинальных остатках по длинам и углам связей, клешам, карте Рамачандрана, ротамерным конфигурациям, RSRZ, с подозрением на необходимость инверсии боковой цепи.

Из сервиса MolProbity[3] была получена та же информация, а также визуализация маргиналов по карте Рамачандрана, clashscore, цис-остатки и сведения об общем качестве расшифровки структуры.

С помощью веб-сервиса WHAT\_IF[5] были получены данные о нормальности локального окружения остатков (fine packing quality control), маргиналы по углам связей,

---

была предсказана оптимальная сеть водородных связей, доступная поверхность остатков (accessible molecular surface), солевые мостики (salt bridges), дисульфидные связи и свободные цистеины (cysteines and cysteine bridges), взаимодействия с кофакторами и контакты с симметричными молекулами в кристалле (contacts with symmetry related molecules in a crystal, порог 5Å).

## **Выявление маргинальных и очень плохих остатков**

Большая часть категорий маргинальных остатков была получена напрямую из сервисов валидации.

Для определения остатков, чьи полярные атомы боковых цепей не образуют водородных связей, был сделан ряд шагов. Сначала были отобраны полярные атомы (O, N, S) боковых цепей остатков, не вовлечённые в водородные связи. Из этого списка были удалены те атомы, которые участвуют в солевых мостиках. Затем были взяты остатки с оставшимися атомами. Из них были выбраны лишь те, у которых площадь доступной для растворителя поверхности боковой цепи была меньше 10Å<sup>2</sup>. Из них были удалены метионины (они вряд ли образуют водородные связи в белке) и цистеины, образующие дисульфидные связи.

Маргинальные остатки по fine packing quality control были определены как те, у которых хотя бы один из показателей этого критерия был меньше -2.5.

«Плохие» молекулы воды были определены как те, которые не участвуют в водородных связях с белком или лигандами или не участвуют во взаимодействиях с молекулами соседних ячеек кристалла кроме молекул воды.

## **Статистика**

Наличие влияния биологических особенностей остатков на их маргинальность определялось с помощью теста хи-квадрат на уровне значимости 0.05.

## **Программная среда**

Для обработки данных использовался Python 3.7.3, модули pandas, numpy, biopython. Для построения графиков использовался модуль matplotlib. Статистические расчёты велись с использованием модуля scipy.stats.

## **Визуализация**

Все изображения молекул были получены в PyMol.

## **Доступность обработанных данных**

Все данные по маргинальным остаткам и биологическим особенностям структуры сведены в одну таблицу Excel, доступную по ссылке:

<http://kodomofbb.msu.ru/~dmitrymyl/term07/validation/outliers.xlsx>. Jupyter notebook (Python 3), который использовался для обработки этих данных, доступен по ссылке: <http://kodomofbb.msu.ru/~dmitrymyl/term07/validation/scripts.ipynb>. Его html-версия (только для просмотра) доступна по ссылке: <http://kodomofbb.msu.ru/~dmitrymyl/term07/validation/scripts.html>. Сессия PyMol, в которой происходила визуализация, доступна по ссылке: <http://kodomofbb.msu.ru/~dmitrymyl/term07/validation/validation.pse>. Таблица S1 с обработанной информацией по маргинальным остаткам доступна по ссылке: [http://kodomofbb.msu.ru/~dmitrymyl/term07/validation/table\\_s1.xlsx](http://kodomofbb.msu.ru/~dmitrymyl/term07/validation/table_s1.xlsx).

## Результаты и обсуждение

### Общая информация

В таблице 1 приведена общая информация об РСА-эксперименте и структуре.

**Таблица 1.** Общая информация о структуре 1ZK7.

Показатель	Информация	Источник
Состав комплекса	MerA <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	[2]
Год	2005	[2]
Авторы	Dong, A., Ledwidge, R., Patel, B., Fiedler, D., Falkowski, M., Zelikova, J., Summers, A.O., Pai, E.F., Miller, S.M.	[2]
Статья	<a href="https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bi050519d">https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bi050519d</a>	[2]
Метод решения фазовой проблемы	Молекулярное замещение, 3GRS (глутатионредуктаза человека)	[1, 2]
Число измеренных рефлексов	68039	[1]
Разрешение	1.6 Å	[1]
Полнота набора структурных факторов	94%	[1]
Диапазон разрешений структурных факторов	1.6 Å — 37.34 Å	[1]
Параметры кристаллографической ячейки	a: 86.788 Å, b: 86.788 Å, c: 136.823 Å, α: 90°, β: 90°, γ: 90°	[1]
Кристаллографическая группа	P4 <sub>3</sub> 2 <sub>1</sub> 2	[1]
Наличие некристаллографических симметрий в ассиметрической ячейке	Нет	Визуально

## Значения индикаторов качества в целом

В таблице 2 приведены значения общих индикаторов качества модели, полученных из отчёта по валидации и сервиса MolProbity. Электронная плотность структуры в целом хорошо интерпретирована, судя по R-фактору и clashscore. Однако физикохимические

**Таблица 2.** Значения индикаторов качества модели 1ZK7 в целом.

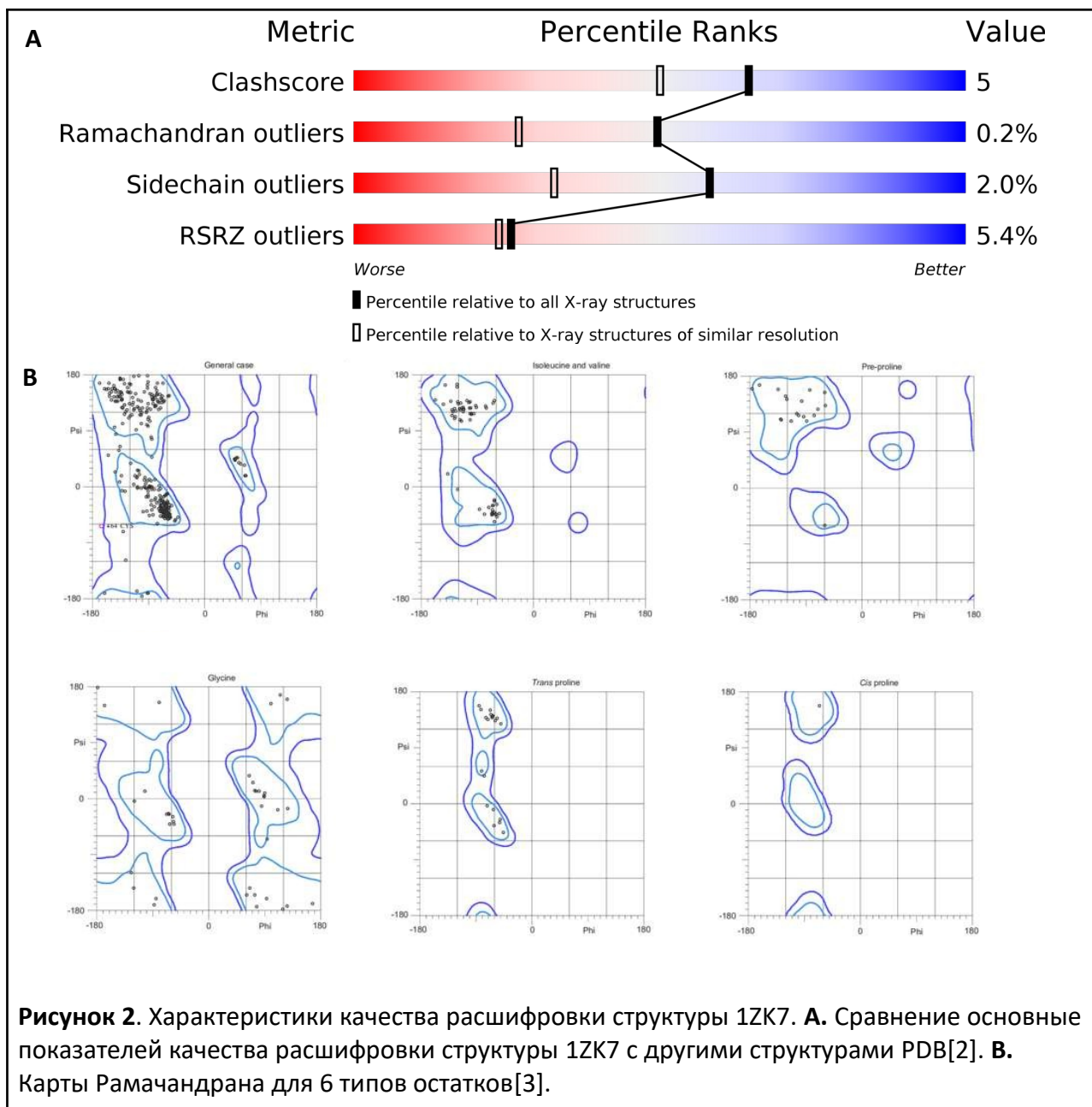
Показатель	Значение	Желаемый уровень	Источник
R-фактор	0.19	NA	[1]
R_free	0.21	NA	[1]
Карта Рамачандрана	1 маргинал	NA	[3]
Удовлетворительные по Рамачандрану	451 (96.99%)	> 98%	[3]
Плохие ротамеры	6 (1.68%)	< 0.3%	[3]
Удовлетворительные ротамеры	345 (96.64%)	> 98%	[3]
Плохие связи	11/3590 (0.31%)	0%	[3]
Плохие углы	12/4893 (0.25%)	0%	[3]
цис-пролины	1/21 (4.76%)	5%	[3]
цис-непролины	0 (0%)	0.05%	[3]
Clashscore (N clashes / 1000 atoms)	4.67 (95 перцентиль)	NA	[3]

характеристики структуры выходят за пределы желаемых уровней. Это может говорить как о биологических особенностях фермента, так и о плохой расшифровке концов цепи белка. Если сравнивать структуру с другими структурами из PDB, то окажется, что 1ZK7 в целом имеет хороший уровень качества расшифровки по сравнению со всеми структурами PDB, но достаточно плохой уровень по сравнению со структурами похожего разрешения (рис. 2A).

## Маргинальные остатки

Из сервисов валидации и с помощью собственных скриптов были получены списки маргинальных остатков по различным критериям.

Единственный маргинальный остаток по карте Рамачандрана – это Cys-464 (табл. S1, лист «Ramachandran» и рис. 2B). Было обнаружено 32 перекрытия Ван-дер-Ваальсовых радиусов атомов (табл. S1, лист «Clash»). Было найдено 7 неротамерных остатков (табл. S1, лист «Non\_rotamer»). Для 5 остатков типа {Glx, Asx, His} была показана необходимость поворота боковой цепи для улучшения локального окружения и сети водородных связей (табл. S1, лист «Inversion»). Было найдено 25 остатков с RSRZ  $\geq 2$  (табл. S1, лист «RSRZ»).



Только у молекулы FAD были обнаружены длины связей, не соответствующие ожидаемым (16 штук, табл. S1, лист «Bond\_length»). У 4 остатков и молекулы FAD были обнаружены маргинальные углы между связями (13 штук, табл. S1, лист «Bond\_angle»). Только один остаток является маргиналом по комфортности локального окружения – Pro-271 (по расположению боковых цепей:  $SC\_SC \leq -2.5$ , табл. S1, лист «Fine\_packing»). Лишь один остаток имеет cis-конформацию пептидной связи с N-конца: Pro-351 (табл. S1, лист «Cis»). 20 остатков имели в боковой цепи полярные атомы, которые не были вовлечены в водородные связи, солевые мостики или дисульфидные связи, при этом площадь боковой цепи, доступной растворителю, была меньше  $10 \text{ \AA}^2$  (табл. S1, лист «Polar\_marginals»). Все молекулы воды одной ячейки взаимодействуют с какими-либо молекулами соседних ячеек кристалла. Но при этом 90 молекул воды не взаимодействуют с белком или лигандами или

не участвуют во взаимодействиях с неводными молекулами соседних ячеек (табл. S1, лист «Bad\_water»). В таблице 3 приведены сводные сведения о количестве маргинальных остатков по разным критериям.

Всего 90 белковых остатков и 2 лиганда (FAD-666 и GOL-3002) являются маргинальными по тем или иным признакам.

**Таблица 3.** Общие сведения о количестве маргинальных остатков по разным критериям.

Тип	Количество
Перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов	45
Карта Рамачандрана	1
Неротамеры	7
RSRZ	25
Инверсии	5
Плохие полярные остатки	20
Плохая вода	90
Цис-остатки	1
Угол между двумя связями	5
Длина связи	1
Локальное окружение	1

**Таблица 4.** Влияние биологических особенностей на маргинальность остатков.

Биологическая особенность	Маргинальные остатки	Немаргинальные остатки	p-value
Взаимодействуют с кофакторами	16	29	0.0073
Не взаимодействуют с кофакторами	76	353	
Образуют солевой мостик	30	48	8.86e-6
Не образуют солевой мостик	62	334	
Взаимодействуют с другим мономером	32	141	0.79
Не взаимодействуют с другим мономером	60	241	



---

## Связь маргинальности и биологических особенностей

Чтобы оценить вклад биологических особенностей в маргинальность остатков, были выбраны 3 доступных набора биологической информации: взаимодействие с кофакторами, образование солевых мостиков и взаимодействие с остатками другого мономера в составе димера. Учитывались только остатки белка и лиганды (не молекулы воды). Были составлены таблицы сопряжённости и проведены тесты хи-квадрат на независимость (табл. 4). На уровне значимости 0.05 взаимодействие с кофакторами и образование солевых мостиков зависимы с маргинальностью остатков.

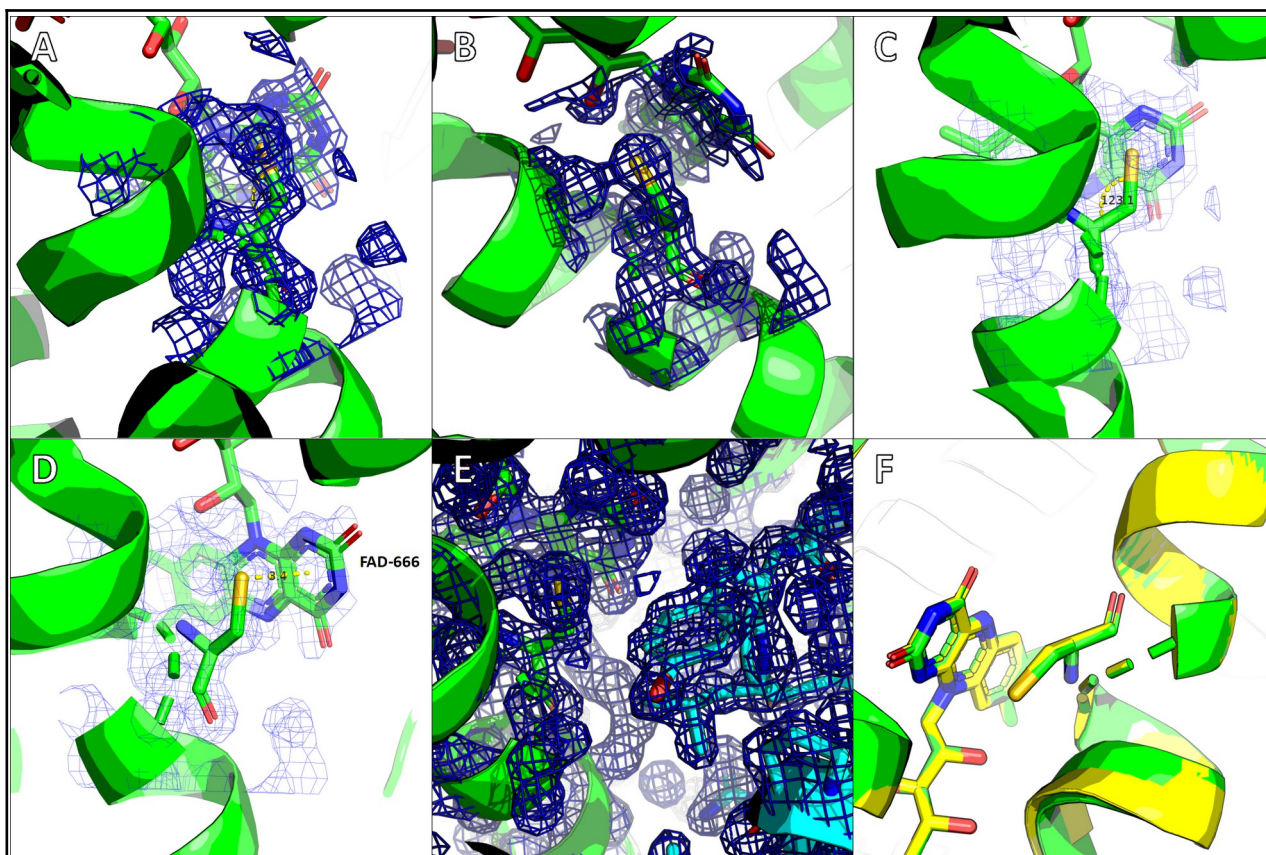
### Очень плохие остатки

11 остатков и кофакторов были маргиналами по более чем одному критерию. Такие остатки мы обозначаем как очень плохие. В таблице 5 приведена общая информация об очень плохих остатках.

**Таблица 5.** Очень плохие остатки.

Остаток	Тип	Критерии
47	CYS	Неротамер, угол между связями
100	TYR	Пересечение Ван-дер-Ваальсовых радиусов, плохой полярный остаток
163	TYR	Пересечение Ван-дер-Ваальсовых радиусов, плохой полярный остаток
213	ARG	Пересечение Ван-дер-Ваальсовых радиусов, неротамер, RSRZ $\geq 2$
359	SER	Плохой полярный остаток, угол между связями
364	HIS	Неротамер, RSRZ $\geq 2$ , необходимость инверсии
456	ASN	Пересечение Ван-дер-Ваальсовых радиусов, RSRZ $\geq 2$ , необходимость инверсии
463	SER	RSRZ $\geq 2$ , плохой полярный остаток
464	CYS	Карта Рамачандрана, неротамер, RSRZ $\geq 2$
465	CYS	Неротамер, RSRZ $\geq 2$
666	FAD	Угол между связями, длина связи

Далее мы рассмотрим каждый очень плохой остаток отдельно. На всех рисунках приняты следующие цветовые обозначения: зелёный – цвет оригинальной структуры 1ZK7 из PDB, розовый – цвет структуры с добавленными атомами, жёлтый – цвет структуры из PDB-REDO, синяя сетка – электронная плотность на уровне подрезки 1.5, оранжевая сетка – электронная плотность на уровне подрезки 1. Вся электронная плотность отображена в ячейке 2.5 Å вокруг соответствующих остатков. На изображениях поверхностей белка углероды соответствующих остатков покрашены белым, а все атомы изображены сферами.



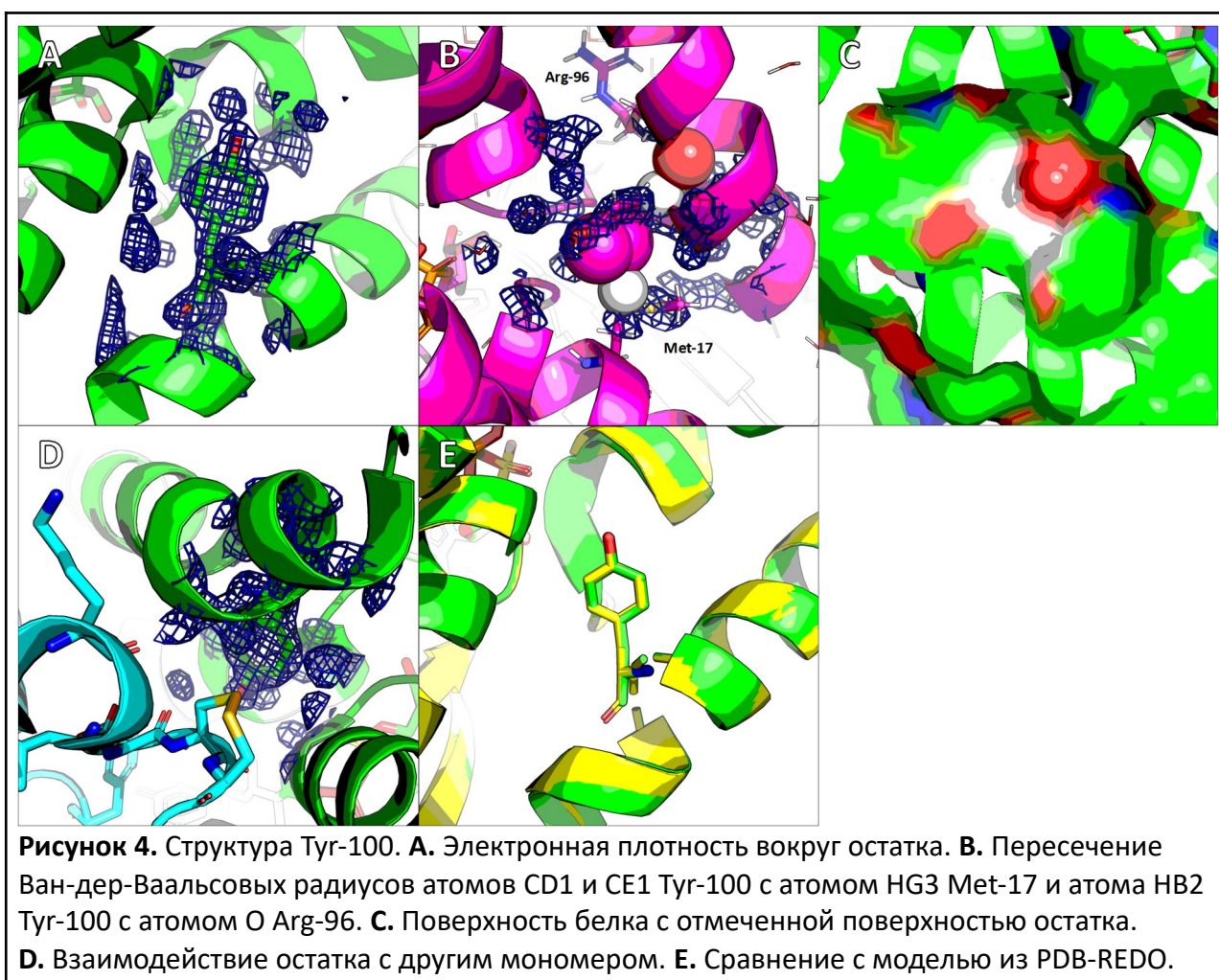
**Рисунок 3.** Структура Cys-47. **А.** Электронная плотность в ячейке вокруг Cys-47. **В.** Образование дисульфидной связи с Cys-42 на электронной плотности. **С.** Неправильный угол. **Д.** Взаимодействие с FAD-666. **Е.** Взаимодействие с другим мономером. **Ф.** Сравнение с моделью из PDB-REDO,

### Cys-47

Остаток очень правильно вписан в электронную плотность (рис. 3А). Данный остаток является неротамером, угол между связями CA-CB-SG составляет  $123^\circ$  (рис. 3С), Z-score по всему банку PDB для данного остатка 5.08. По-видимому, это связано с тем, что остаток образует дисульфидную связь с Cys-42, которая хорошо видна в электронной плотности (рис. 3В). Эта дисульфидная связь является центральной в каталитическом центре MerA, поэтому она соответствует нативной структуре. Атом серы взаимодействует с кольцом FAD-66: расстояние между ним и центром кольца составляет  $3.4 \text{ \AA}$ . Также Cys-47 взаимодействует с остатками другого мономера: Pro-381, Arg-382, Ala-385, Pro-440, Tyr-441 и Leu-442. Таким образом, маргинальность остатка является следствием его биологической функции в катализе.

### Tyr-100

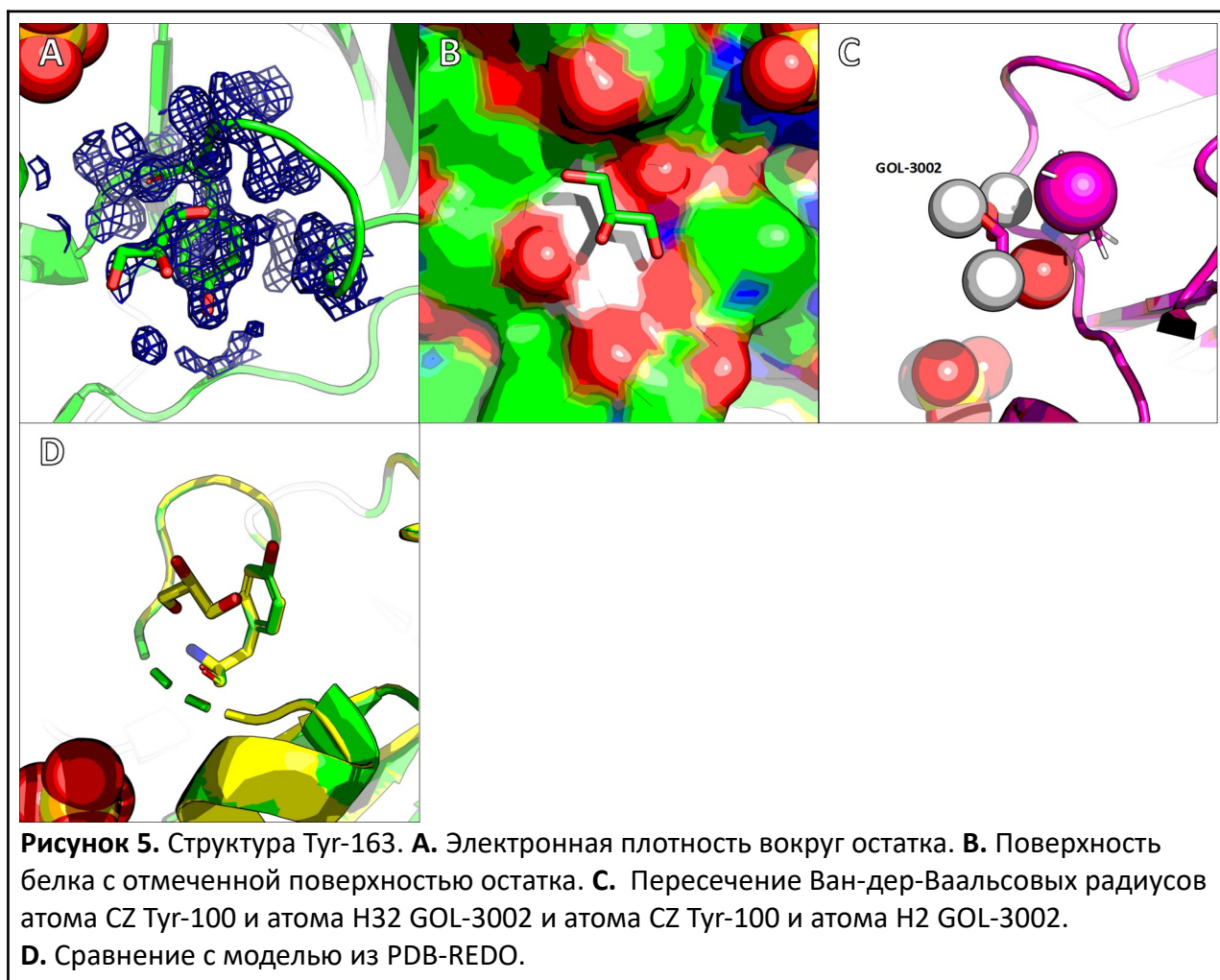
Остаток очень правильно вписан в электронную плотность (рис. 4А). Однако атомы остатка пересекаются Ван-дер-Ваальсовыми радиусами с атомами остатков Met-17 и Arg-96 (рис. 4В). Остаток был определён как плохой полярный: он выходит на поверхность белка



только боковой цепью и только на  $6.8 \text{ \AA}^2$ . Однако его единственный боковой полярный атом выходит на поверхность белка, так что автоматический анализ в данном случае дал сбой. Остаток взаимодействует с остатками другого мономера: Tyr-441, Lys-460, Leu-462, Ser-463, Cys-464 и Cys-465. Последние два остатка участвуют в захвате иона  $\text{Hg}^{2+}$ , в нативном состоянии они не образуют дисульфидную связь. Возможно, роль этого остатка в стабилизации такого состояния.

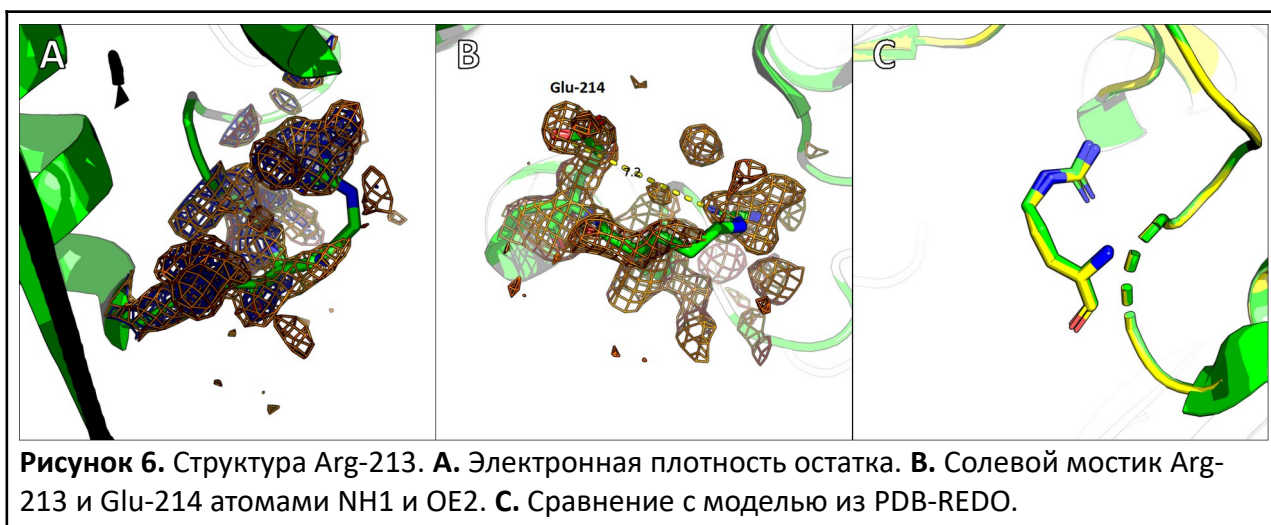
### Tyr-163

Остаток хорошо вписан в электронную плотность (рис. 5A). Остаток определён как плохой полярный: он выходит на поверхность белка скелетом на  $0.2 \text{ \AA}$  и боковой цепью на  $4.5 \text{ \AA}$ . При этом полярный атом выходит наружу и как будто взаимодействует с молекулой глицерина GOL-3002 (рис. 5B). Были показаны пересечения Ван-дер-Ваальсовых радиусов атомов Tyr-100 и GOL-3002, однако на структуре с добавленными атомами водорода это не было визуально обнаружено (рис. 5C). По-видимому, атомы водорода добавляются странным образом и они способны изменять положение в нативной структуре. Помимо этого, глицерин является лишь добавленной молекулой в процессе кристаллизации и не несёт биологической функции.



### Arg-213

Остаток плохо вписан в электронную плотность, даже на уровне подрезки 1 (рис. 6А). По-видимому, это связано с тем, что данный участок находится в петле, а поэтому в разных ячейках мог кристаллизоваться по-разному. Это отражено в RSRZ = 2.8 и в том, что остаток является неротамером. Был предсказан солевой мостик с Glu-214, однако он тоже плохо



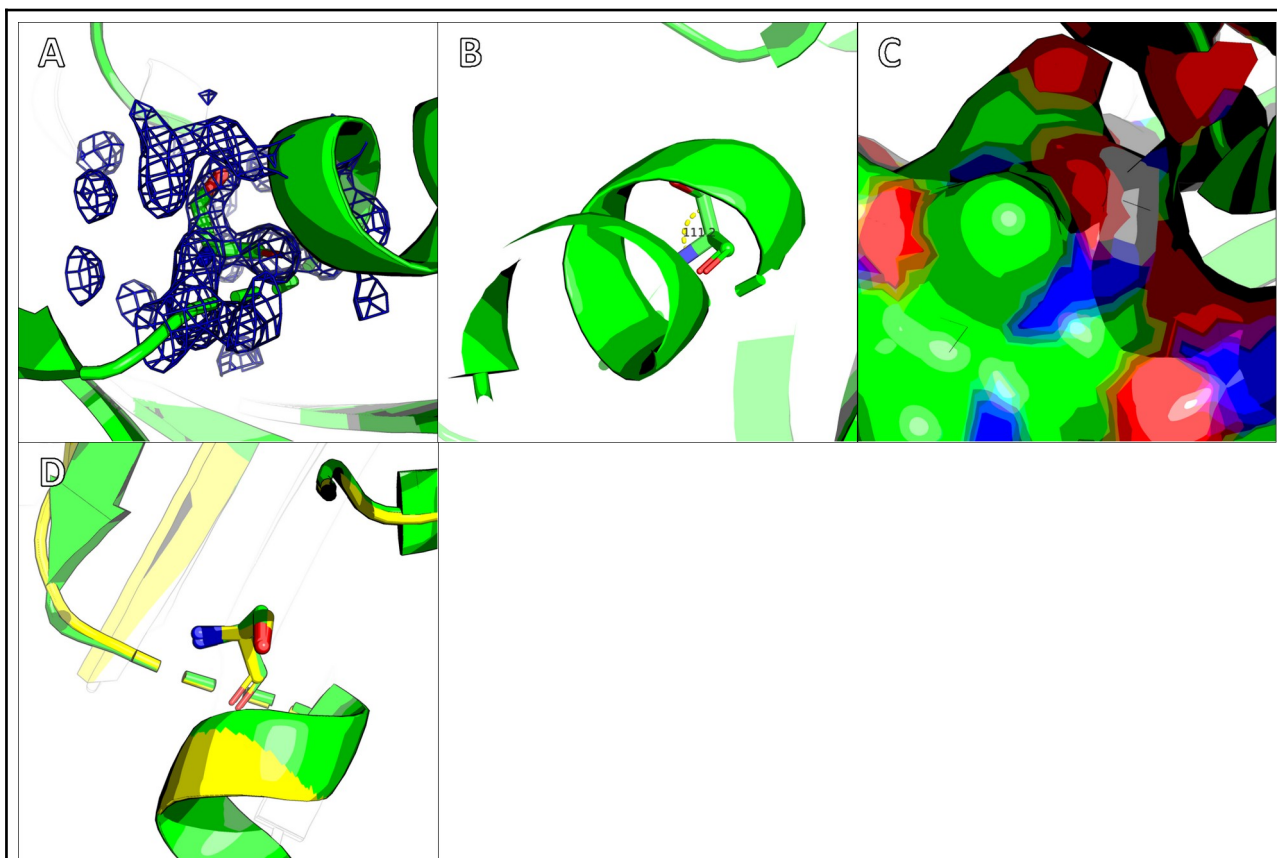
вписан в электронную плотность (рис. 6B), так что нет возможности говорить о его наличии в нативной структуре. Было обнаружено пересечение Ван-дер-Ваальсовых радиусов с молекулой воды 4342, но это не является интересной ситуацией. Таким образом, данный остаток является маргинальным ввиду плохой его расшифровки.

### Ser-359

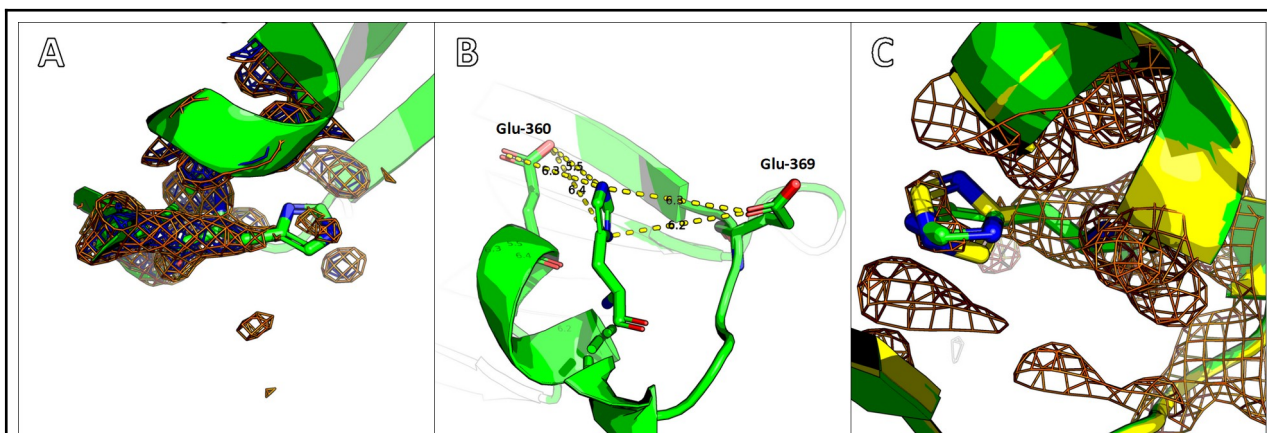
Остаток хорошо вписан в электронную плотность (рис. 7A). У данного остатка показан плохой угол между связями N-CA-C:  $98^\circ$  (RMSZ =  $-4.4$ , рис. 7B). Также данный остаток определён как плохой полярный: он доступен растворителю скелетом на  $0.16 \text{ \AA}^2$ , боковой цепью на  $3.7 \text{ \AA}^2$  (рис. 7C). Полярный атом визуально недоступен растворителю. Остаток не вовлечён ни в какие взаимодействия с кофакторами или другим мономером. Таким образом, маргинальность остатка не обусловлена плохой его расшифровкой.

### His-364

Остаток плохо вписан в электронную плотность, кольцо боковой цепи не соответствует доступной электронной плотности (рис. 8A). Данный остаток является неротамером, RSRZ = 4.0. Также этому остатку показана инверсия для улучшения локального

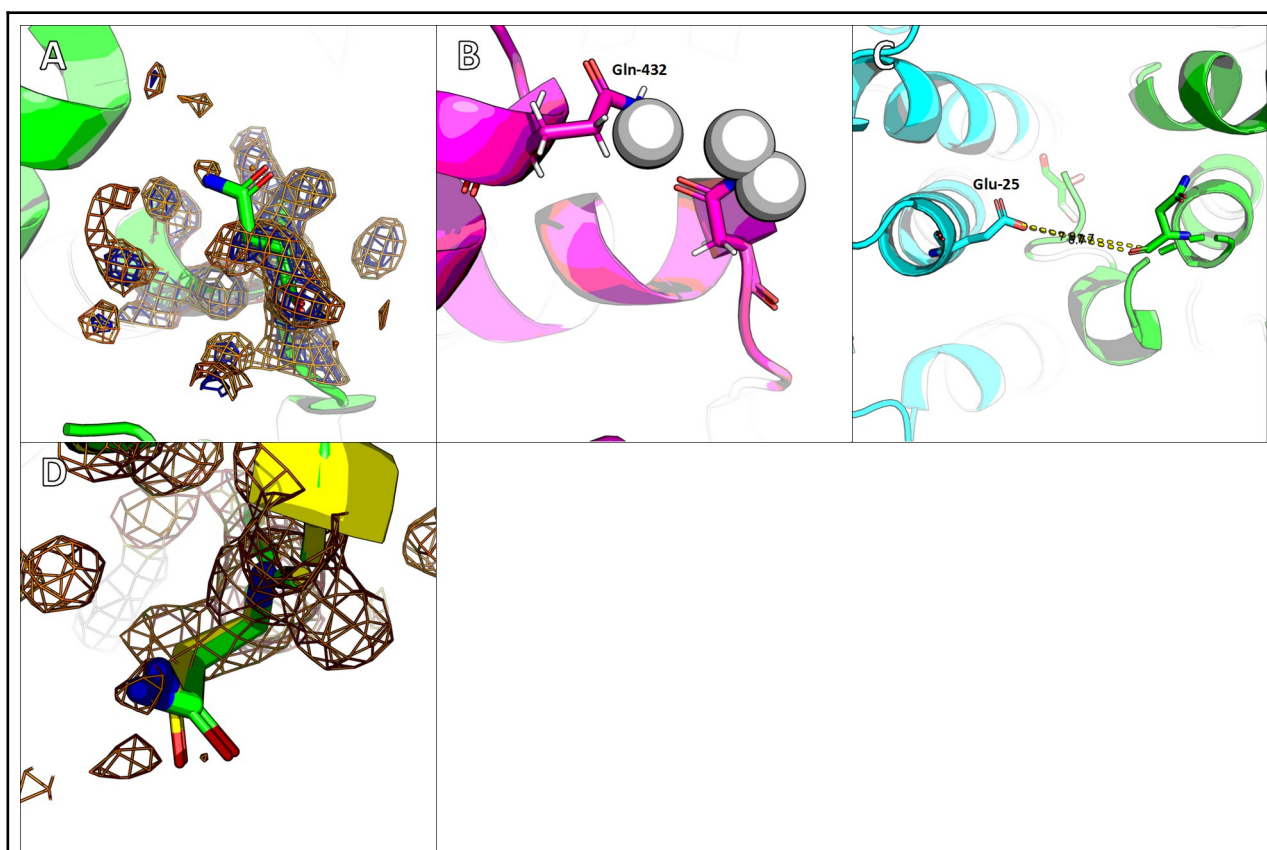


**Рисунок 7.** Структура Ser-359. **A.** Электронная плотность вокруг остатка. **B.** Неправильный угол. **C.** Поверхность белка с отмеченной поверхностью остатка. **D.** Сравнение с моделью из PDB-REDO.

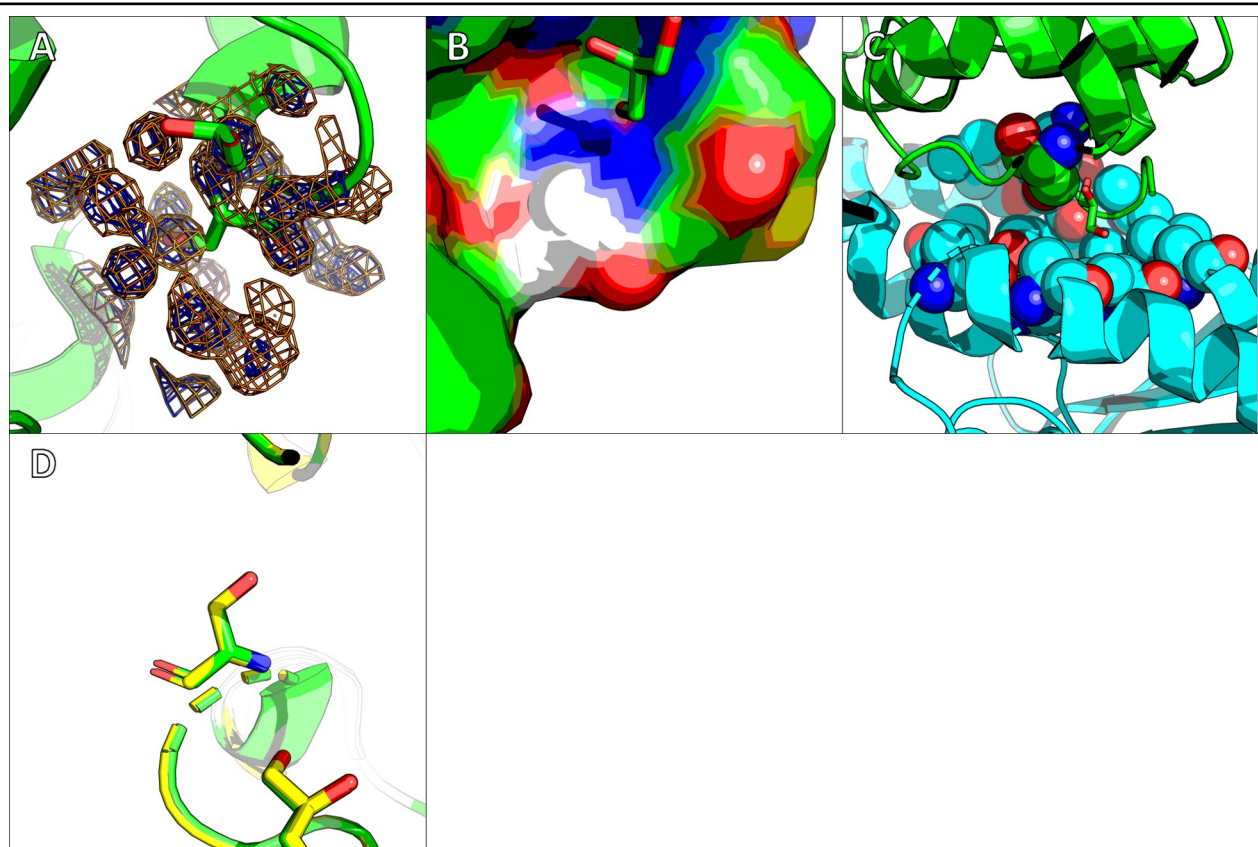


**Рисунок 8.** Структура His-364. **А.** Электронная плотность вокруг остатка. **В.** Солевые мостики атомов NE2 и ND1 His-364 и атомов OE1 и OE2 Glu-360 и Glu-369. **С.** Сравнение с моделью из PDB-REDO.

окружения и сети водородных связей. Предсказано, что данный остаток образует солевые мостики с Glu-360 и Glu-369 (рис. 8В), но, скорее всего, эти мостики не являются нативными.



**Рисунок 9.** Структура Asn-456. **А.** Электронная плотность вокруг остатка. **В.** Пересечение Ван-дер-Ваальсовых радиусов атомов HD21 Asn-456 и HE21 Gln-432. **С.** Взаимодействие с другим мономером. **Д.** Сравнение с моделью из PDB-REDO.



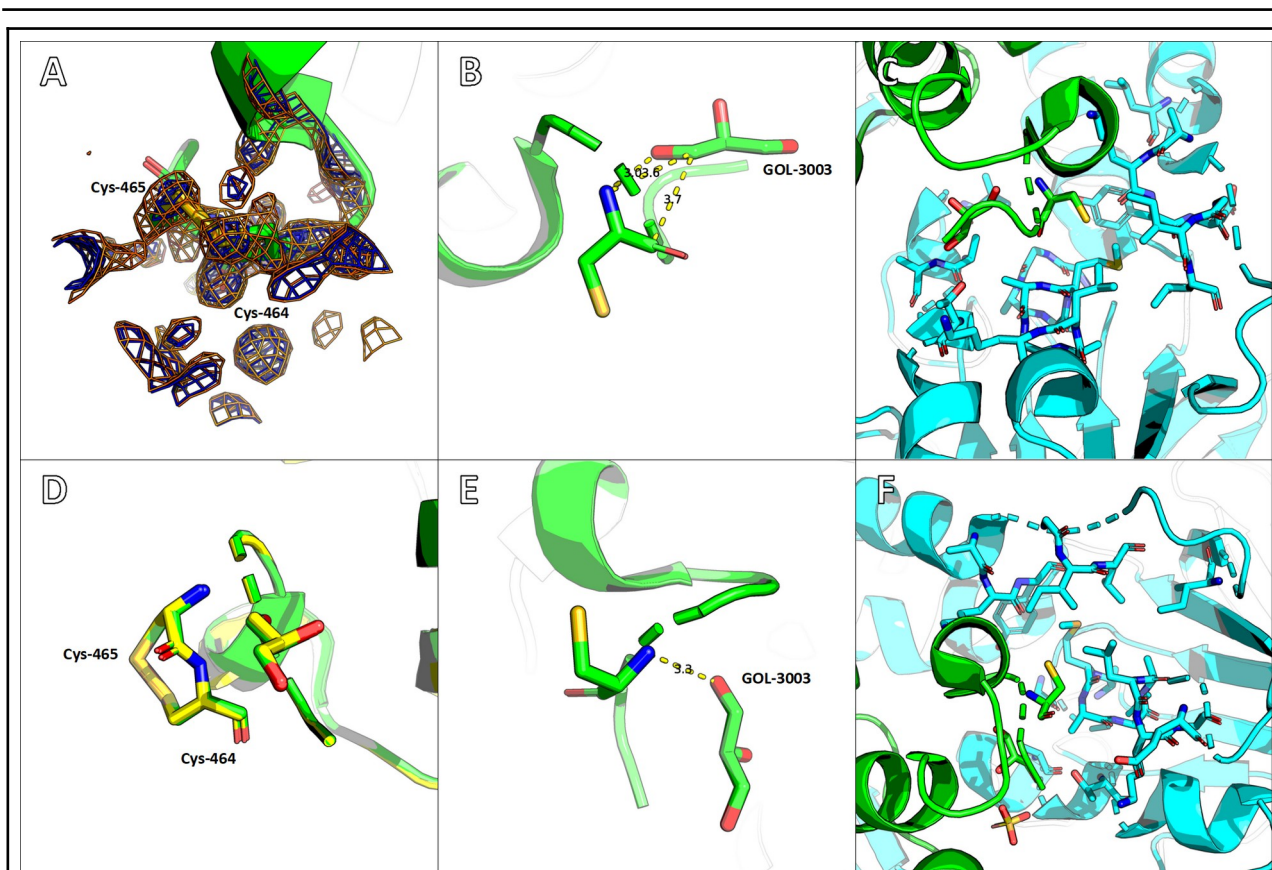
**Рисунок 10.** Структура Ser-463. **А.** Электронная плотность остатка. **В.** Поверхность белка с отмеченной поверхностью остатка. **С.** Взаимодействие с другим мономером. **Д.** Сравнение с моделью из PDB-REDO.

### Asn-456

Остаток плохо вписан в электронную плотность (рис. 9А). Данный остаток является неротамером, RSRZ = 2.6. Данному остатку показана необходимость инверсии. Было показано пересечение Ван-дер-Ваальсовых радиусов атомов Asn-456 и Gln-432, однако визуально это не было обнаружено. Данный остаток взаимодействует с Glu-25 другого мономера. Маргинальность остатка обусловлена плохой расшифровкой его структуры: амидная группа оказалась очень подвижной в кристалле.

### Ser-463

Остаток плохо вписан в электронную плотность (рис. 10А), RSRZ = 2.1. Остаток определен как плохой полярный: он доступен растворителю на  $10.6 \text{ \AA}^2$  своим скелетом и на  $6 \text{ \AA}^2$  боковой цепью (рис. 10В). Остаток взаимодействует с 12 остатками другого мономера (рис. 10С). Большинство из них гидрофобные, Ser-463 взаимодействует в основном с их боковыми цепями своим скелетом, что намекает на гидрофобную природу взаимодействий в составе димера. Таким образом, плохое качество остатка обусловлено тем, что он находится в петле и в разных ячейках его положение различно.



**Рисунок 11.** Структура Cys-464 и Cys-465. **А.** Электронная плотность остатков. **В.** Взаимодействие Cys-464 и GOL-3003. **С.** Взаимодействие Cys-464 с другим мономером. **Д.** Сравнение с моделью из PDB-REDO. **Е.** Взаимодействие Cys-465 и GOL-3003. **Ф.** Взаимодействие Cys-465 с другим мономером.

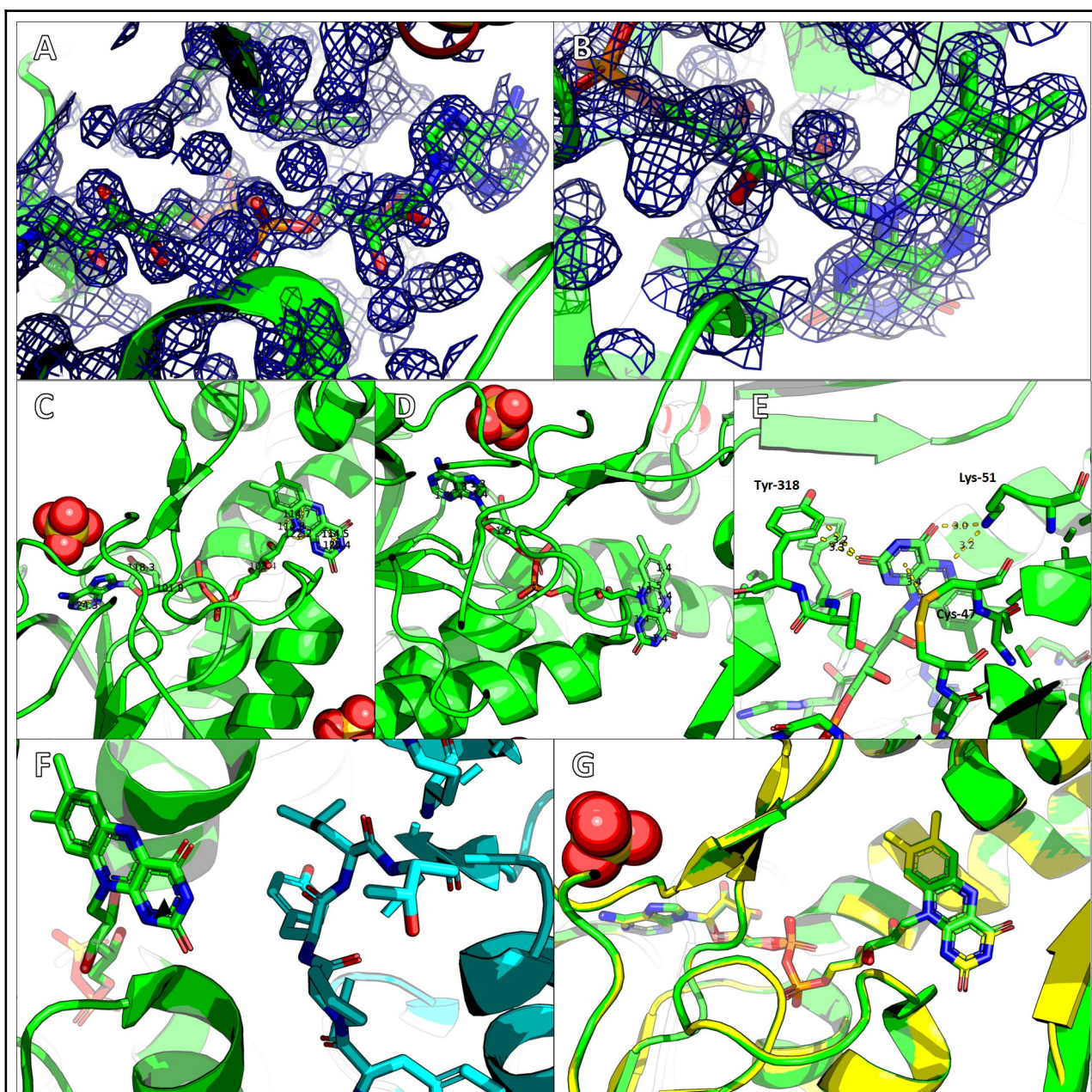
### Cys-464

Остаток вполне удовлетворительно вписан в электронную плотность (рис. 11А), RSRZ = 4.6. Остаток является неротамером и единственным маргинальным по карте Рамачандрана. Cys-464 взаимодействует с GOL-3003 (рис. 11В). Указано, что этот остаток образует дисульфидную связь с Cys-465, хотя предполагается, что в нативном состоянии цистеины должны быть восстановлены, чтобы принять ион  $Hg^{2+}$ . На электронной плотности нет достоверного свидетельства для образования дисульфидной связи. Остаток взаимодействует с 22 остатками другого мономера (рис. 11С), преимущественно гидрофобными. Взаимодействия преимущественно скелетом Cys-464 со скелетом и боковыми цепями гидрофобных остатков. Маргинальность остатка обусловлена тем, что он находится в цепи белка с С-конца. Предполагается, что эта петля подвижна для переноса иона  $Hg^{2+}$  в каталитический центр белка.

### Cys-465

Остаток удовлетворительно вписан в электронную плотность (рис. 11А), RSRZ = 7.8. Остаток является неротамером, образует дисульфидную связь с Cys-464. Остаток взаимодействует с GOL-3003 (рис. 11Е). Cys-465 взаимодействует с 20 остатками другого





**Рисунок 12.** Структура FAD-666. **А.** Электронная плотность вокруг адениновой части. **В.** Электронная плотность вокруг флавиновой части. **С.** Неправильные углы между связями. **Д.** Неправильные длины связей. **Е.** Взаимодействие соседних остатков с FAD-666. **Ф.** Взаимодействие с другим мономером. **Г.** Сравнение с моделью из PDB-REDO.

мономера таким же гидрофобным способом, как и Cys-464. Маргинальность остатка обусловлена теми же причинами, что и Cys-464.

## FAD-666

Кофактор очень хорошо вписан в электронную плотность (рис. 12А и 12В). 9 углов между связями (рис. 12С) и 16 длин связей (рис. 12Д) сильно отличаются от статистики PDB. 4 остатка белка взаимодействуют с FAD-666 на расстоянии меньше 4 Å: Cys-47, Lys-51, Ser-166, Tyr-318 (рис. 12Е). Первый остаток входит в каталитический центр белка, второй остаток по-

---

видимому стабилизирует положение FAD, а четвёртый, кажется, поддерживает NADPH при реакции. Роль Ser-166 неясна. FAD взаимодействует с боковыми цепями 6 остатков другого мономера (рис. 12F). Эти остатки преимущественно полярные или ароматические. Маргинальность FAD обусловлена, по-видимому, его каталитической функцией в белке.

## Сравнение с моделью из PDB-REDO

В модели PDB-REDO было улучшено несколько показателей: R-фактор (0.1598), R-free (0.1882), показатели карты Рамачандрана, комфортность окружения остатков, удовлетворённость водородными связями. Было изменено 4 ротамера, удалена 51 молекула воды, улучшилось вписывание в электронную плотность 154 остатков.

Вписывание маргинальных остатков значительно не изменилось. Так, хорошо вписанные участки, особенно с биологическими функциями, не изменили своих положений. Это остатки Cys-47 (рис. 3F), Tyr-100 (рис. 4E), Tyr-163 (рис. 5D), Cys-464 (рис. 11D), Cys-465 (рис. 11D), FAD-666 (рис. 12G). Слегка изменилось вписывание Ser-359 (рис. 7D). Из плохо вписанных остатков Arg-213 (рис. 6C) и Ser-463 (рис. 10D) не поменяли своего положения. Вписывание Asn-456 изменилось, но это не было продиктовано, на первый взгляд, биологическими причинами (рис. 9D). His-364 оказался лучше вписан в электронную плотность (рис. 8C), возможно, для лучшего удовлетворения сети водородных связей.

Таким образом, по общим показателям качества модель из PDB-REDO оказалась лучше исходной, но пересчёт структуры не смог справиться с нехваткой данных об электронной плотности в подвижных участках белка.

## Заключение

В целом, исходная структура расшифрована хуже, чем большая часть структур похожего разрешения. Однако все важные элементы вписаны хорошо, в то время как подвижные участки типа петель не дали хорошего сигнала. Учитывая то, что кристаллы целого белка были непригодны для дифракционного эксперимента, такая расшифровка каталитического ядра является вполне приемлемой для 2005 года.

## Источники

1. Запись о структуре 1ZK7 в PDBe <https://www.ebi.ac.uk/pdbe/entry/pdb/1zk7/experiment>
2. Запись о структуре 1ZK7 в RCSB PDB <https://www.rcsb.org/structure/1zk7>
3. Веб-сервис MolProbity <http://molprobity.biochem.duke.edu/index.php>
4. Отчёт по валидации структуры 1ZK7 в PDBe [https://www.ebi.ac.uk/pdbe/entry-files/1zk7\\_full\\_validation.pdf](https://www.ebi.ac.uk/pdbe/entry-files/1zk7_full_validation.pdf)
5. Веб-сервис WHAT IF <https://swift.cmbi.umcn.nl/servers/html/>

- 
6. Запись о структуре 1ZK7 в PDB-REDO <https://pdb-redo.eu/db/1zk7>
  7. Ledwidge, Richard, et al. "NmerA, the Metal Binding Domain of Mercuric Ion Reductase, Removes Hg<sup>2+</sup> from Proteins, Delivers It to the Catalytic Core, and Protects Cells under Glutathione-Depleted Conditions<sup>†,‡</sup>." *Biochemistry*, vol. 44, no. 34, 2005, pp. 11402–11416., doi:10.1021/bi050519d.
  8. Schiering, N., Kabsch, W., Moore, M. et al. Structure of the detoxification catalyst mercuric ion reductase from *Bacillus* sp. strain RC607. *Nature* 352, 168–172 (1991) doi:10.1038/352168a0