

Задание 1

В данном задании необходимо провести валидацию структуры фосфоенолпируват карбоксикиназы *E.coli*. Для этого изучим запись о данной белке в PDB. Мы видим, что разрешение структуры равно 1.6 Å, что означает, что разрешение хорошее. Значения R-free и R-work соответственно равны 0.198 и 0.175. Также я решил посмотреть, как распределены данные параметры для всех лиаз *E.coli*. Полученные результаты представлены на графиках (Рис. 1-3). Как можно видеть, записей о подобных белках этого организма, в принципе, не так много, а наша структура попадает в множество хорошо разрешенных моделей.

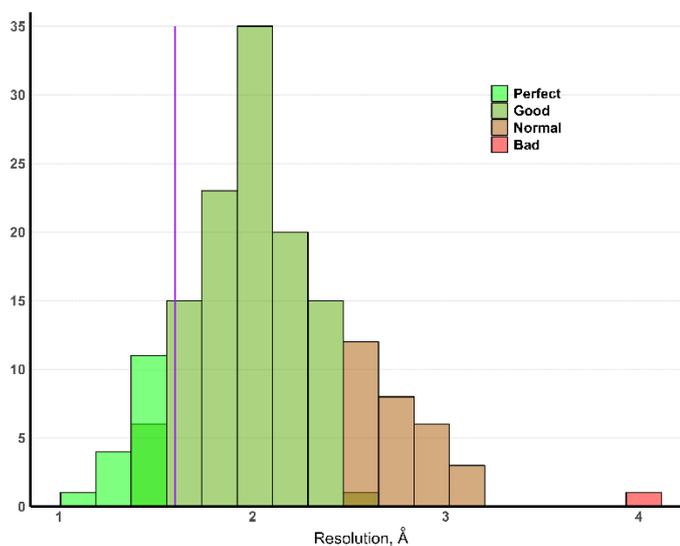


Рис. 1. Распределение разрешения для всех лиаз *E.coli* (фиолетовым отмечен наш белок).

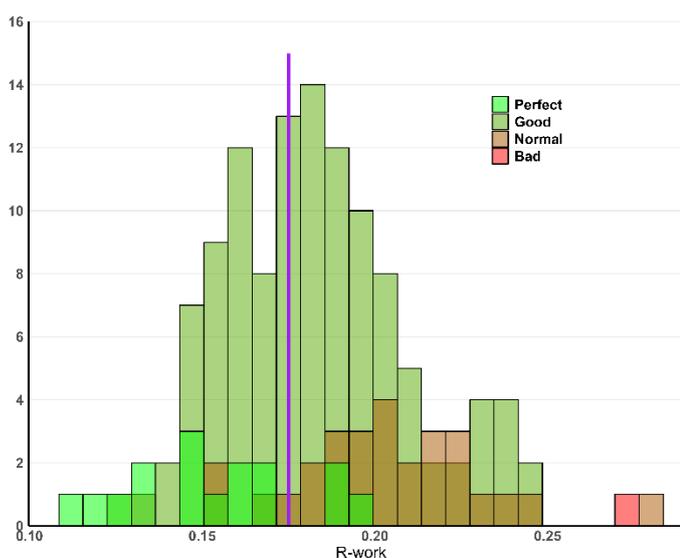


Рис. 2. Распределение R-work для всех лиаз *E.coli* (фиолетовым отмечен наш белок).

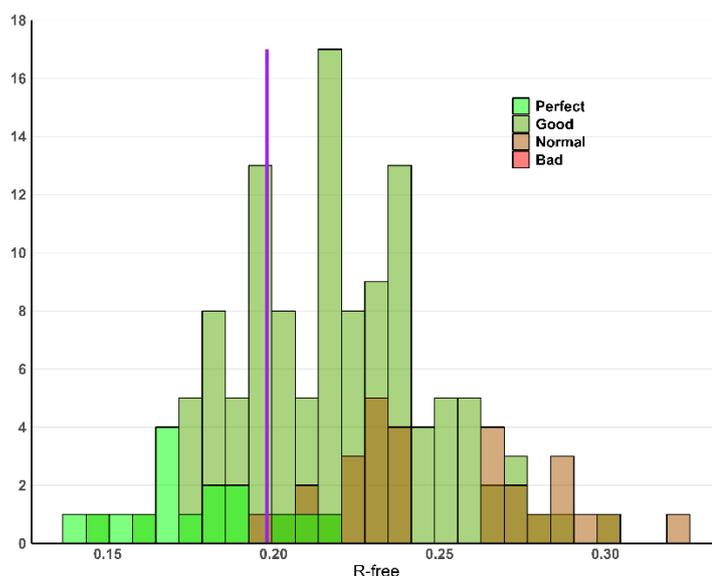


Рис. 3. Распределение R-free для всех лиаз E.coli (фиолетовым отмечен наш белок).

Далее загрузим структуру 2OLR в PyMol и посмотрим на нее и на то, как она покрыта электронной плотностью. При рассмотрении данной структуры были сделаны выводы о том, что модель хорошо отображает структуру белка и электронной плотностью не покрыты только концевые участки, что в целом ожидаемо для любого белка (Рис. 4,5). Поэтому можно смело говорить о том, что данная модель вполне пригодна для анализа структуры белка.

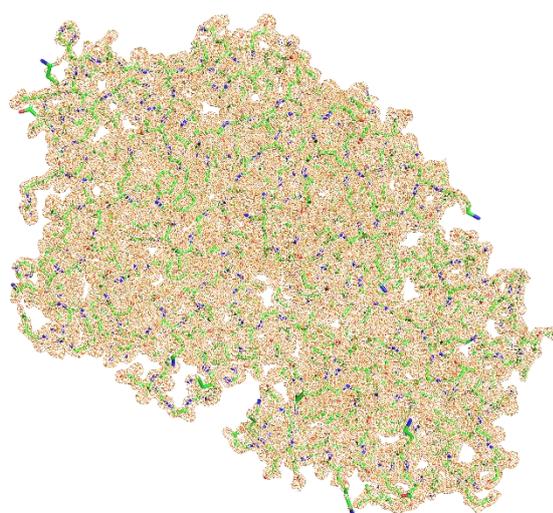


Рис. 4. Электронная плотность всего белка.

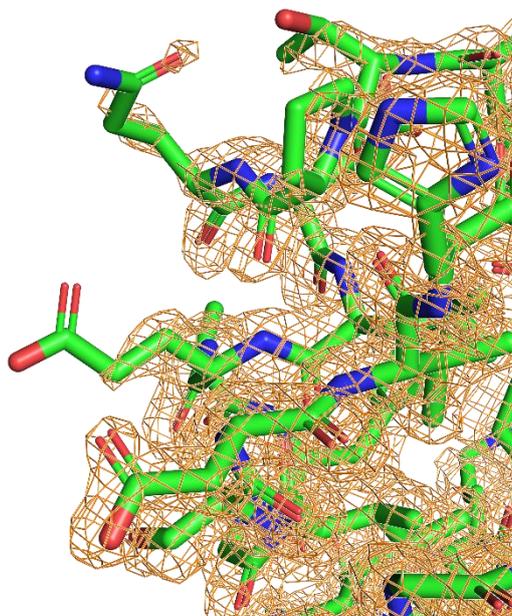


Рис. 5. Участок, плохо покрытый электронной плотностью.

Задание 2

В данной задаче перед нами стоит цель определения маргинальных аминокислотных остатков в нашей модели белка. Для этого обратимся к полному отчету о валидации данной структуры. Исходя из этой записи можем сказать о маргинальности аминокислот ASN94, PHE82, ARG305 и GLY410, а также лиганда АТР. Для дальнейшего обнаружения маргинальных соединений воспользуемся Molprobity. Используя далее инверсию остатков His, Asn и Gln, получаем модель с более хорошим их положением. В итоге к маргинальным аминокислотам можно отнести любые из аминокислот, для которых была выполнена инверсия (Рис. 6). Результаты оценки структуры в Molprobity представлены в Таблице 1. Как можно видеть, в результате работы программы модель стала немного лучше.

Chain	Res#	Alt	Res ID	Orig	Flip	Flip-Orig	Code	Explanation
A	94		ASN	-0.37	2.4	2.77	FLIP	Clear evidence for flip.
A	103		GLN	0.38	1	0.62	FLIP	Some evidence recommending flip.
A	112		GLN	-0.063	2.2	2.263	FLIP	Clear evidence for flip.
A	128		ASN	1.2	2.2	1	FLIP	Some evidence recommending flip.
A	144		GLN	1.2	4.7	3.5	FLIP	Clear evidence for flip.
A	183		GLN	-4.2	1.6	5.8	FLIP	Clear evidence for flip.
A	189		ASN	-1.4	1.4	2.8	FLIP	Clear evidence for flip.
A	200		GLN	-1.7	0.23	1.93	FLIP	Some evidence recommending flip.
A	236		ASN	-4.9	0.71	5.61	FLIP	Clear evidence for flip.
A	280		ASN	-5.3	1.4	6.7	FLIP	Clear evidence for flip.
A	312		ASN	-0.95	3.6	4.55	FLIP	Clear evidence for flip.
A	331		ASN	-2.7	3	5.7	FLIP	Clear evidence for flip.
A	378		GLN	-2.6	1.2	3.8	FLIP	Clear evidence for flip.
A	420		GLN	0.43	2	1.57	FLIP	Some evidence recommending flip.
A	469		ASN	-0.89	-0.0093	0.8807	FLIP	Some evidence recommending flip.

Рис. 6. Аминокислоты, которые были подвергнуты инверсии.

Параметр	До добавления водородов	После добавления водородов
Clashscore	3.31	1.96
Плохие ротамеры	4 (0.93%)	3 (0.69%)
Ramachandran выбросы	1 (0.19%)	1 (0.19%)
Плохие длины связей	4 (0.09%)	4 (0.09%)
Плохие углы	7 (0.12%)	7 (0.12%)

Таблица 1. Оценки моделей до и после обработки программой.

Задание 3

В данном задании необходимо найти в PDBRedo свой белок и сравнить с той структурой, с которой мы работали в предыдущих заданиях. Для этого загрузим обе структуры в PyMol и выполним их выравнивание (Рис. 7). Далее сравним маргинальные молекулы в исходной модели и в обновленной версии. Из выравнивания видно, что отдельные участки стали относиться к той или иной вторичной структуре, а другие перестали. Однако в целом модель изменилась не сильно. Поэтому рассмотрим отдельно каждую маргинальную молекулу, которую выбрали ранее (Рис. 8-12). В результате обработки модели в PDBRedo плохие длины связей или углы были улучшены и не появилось ничего странного или неправильного.

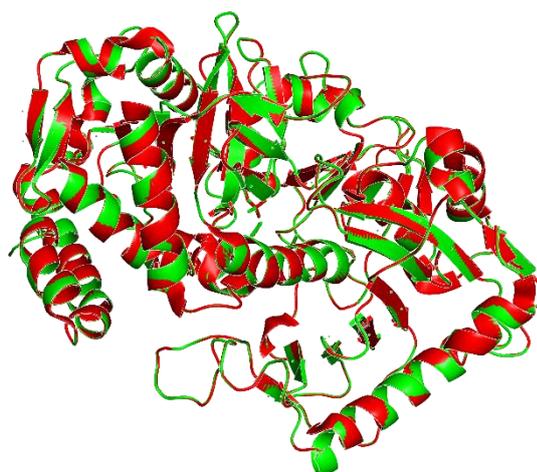


Рис. 7. Выравнивание двух моделей.

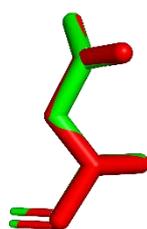


Рис. 8. Сравнение ASN94

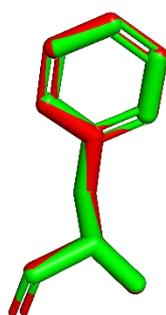


Рис. 8. Сравнение PHE82

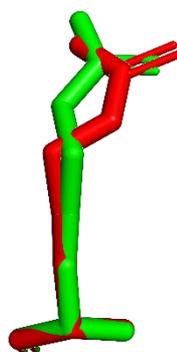


Рис. 8. Сравнение ARG305

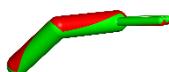


Рис. 8. Сравнение GLY410

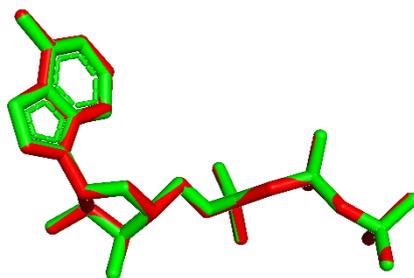


Рис. 8. Сравнение АТФ

[Ссылка на PyMol-сессию с электронной плотностью](#)

[Ссылка на PyMol-сессию с выравнивание двух моделей](#)

[Ссылка на полный отчет о валидации структуры](#)