

# Совмещение структур

Для поиска структурных гомологов белка Ze9a был использован PDBeFold Ze9a – структура 2-дегидро-3-деоксифосфооктонат альдолазы из *Vibrio cholerae*.

При выборке четырех гомологов для цепи A из выдачи PDBeFold необходимо было придерживаться критериев:

- 1) RMSD между 0,8 и 2,5
- 2) длина выравнивания более 50%

Также были взяты только цепи A и выбранные гомологи должны были обладать той же функцией (трансферазы).

Результаты поиска представлены в таблице.

Следует отметить, что около 90% из списка гомологов PDBeFold являются 3-деокси-D-манно-октулосонат 8-фосфат синтазами (KDO8PS) из *Neisseria meningitidis*.

**Таблица 1.** Характеристика выбранных структур

PDB	Функция	Организм	Длина белка	Длина выравнивания	RMSD
Ze9a	2-дегидро-3-деоксифосфооктонат альдолаза	<i>Vibrio cholerae</i>	286		
3fy0	3-деокси-D-манно-октулосонат 8-фосфат синтаза (KDO8PS)	<i>Neisseria meningitidis</i>	280	249	0.93
4jtf	3-деокси-D-манно-октулосонат 8-фосфат синтаза (KDO8PS)	<i>Neisseria meningitidis</i>	280	246	0.94
4jti	3-деокси-D-манно-октулосонат 8-фосфат синтаза (KDO8PS)	<i>Neisseria meningitidis</i>	280	248	0.95
3qq1	3-деокси-D-манно-октулосонат 8-фосфат синтаза (KDO8PS)	<i>Neisseria meningitidis</i>	280	245	1.0

С помощью PDBeFold было получено структурное выравнивание и кросс-структурная статистика (приведены RMSD и sequence identity).

Следует отметить, что друг против друга структуры немного более консервативны, чем против 3e9a.

RMSD						Sequence Identity					
structure:	1	2	3	4	5	structure:	1	2	3	4	5
1	PDB 3e9a:A	0.968	0.945	0.933	0.986	1	PDB 3e9a:A	0.669	0.669	0.661	0.678
2	PDB 3fyo:A	0.968	0.318	0.332	0.357	2	PDB 3fyo:A	0.669	0.992	0.984	0.984
3	PDB 4jtf:A	0.945	0.318	0.252	0.331	3	PDB 4jtf:A	0.669	0.992	0.992	0.984
4	PDB 4jti:A	0.933	0.332	0.252	0.355	4	PDB 4jti:A	0.661	0.984	0.992	0.976
5	PDB 3qq1:A	0.986	0.357	0.331	0.355	5	PDB 3qq1:A	0.678	0.984	0.984	0.976

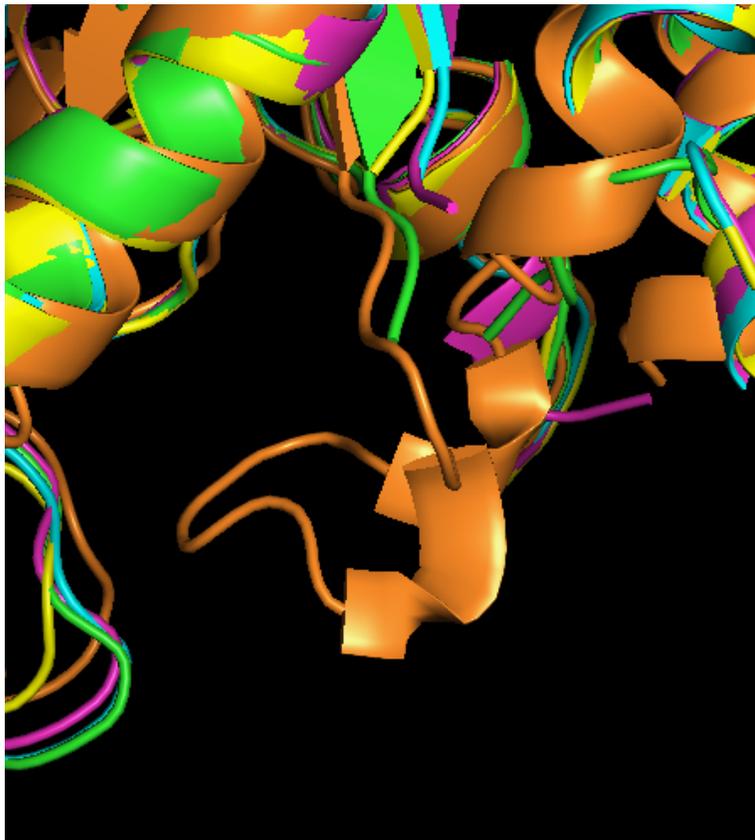
*Кросс-структурная статистика для пяти структур.*

Далее пять структур были совмещены с использованием плагина CONSCRIPT для PyMol.

При совмещении структур было обнаружено что в структуре 1qq1 есть небольшая альфа-спираль, отсутствующая в остальных структурах.

В остальном структуры белков достаточно хорошо согласуются и накладываются друг на друга. Основные отличия наблюдаются в участках петель (у структуры 3qq1 наблюдаются участки петель, не представленные в других структурах).

Необходимо было оценить качество структурного выравнивания и разницу между структурным выравниванием и обыкновенным множественным выравниванием. Для этого было построено выравнивание последовательностей программой Muscle с параметрами по умолчанию.



Результат совмещения 5 структур в Rutol (справа). Альфа-спираль, присутствующая только в 3q1 (слева).

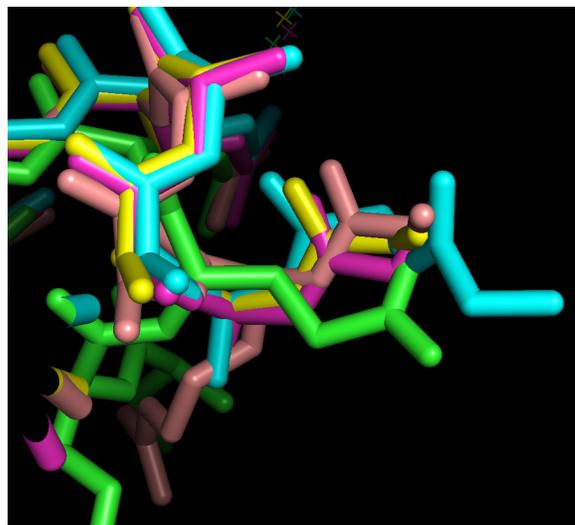
В целом выравнивания очень похожи, однако наблюдаются некоторые отличия.

На рисунках ниже представлен один из таких участков выравнивания и соответствующие аминокислотные остатки в наложении структур.

	200		210		220																										
PDB:3e9a:A/1-275	I	I	F	D	V	T	H	S	L	Q	-	-	R	R	E	Q	T	V	E	L	A	K	A	G	L	A	T	G	I	A	
PDB:3fyo:A/1-255	V	I	F	D	V	T	H	S	L	Q	G	-	G	R	R	A	Q	A	L	D	L	A	L	A	G	M	A	T	R	L	A
PDB:4jtf:A/1-250	V	I	F	D	V	T	H	S	L	Q	-	-	G	R	R	A	Q	A	L	D	L	A	L	A	G	M	A	T	R	L	A
PDB:4jti:A/1-253	V	I	F	D	V	T	H	S	L	Q	T	R	G	R	R	A	Q	A	L	D	L	A	L	A	G	M	A	T	R	L	A
PDB:3qq1:A/1-249	V	I	F	D	V	T	H	S	L	Q	-	-	G	R	R	A	Q	A	L	D	L	A	L	A	G	M	A	T	R	L	A

	200		210		220																										
PDB:3e9a:A/1-275	I	I	F	D	V	T	H	S	L	Q	r	-	R	E	-	Q	T	V	E	L	A	K	A	G	L	A	T	G	I	A	
PDB:3fyo:A/1-255	V	I	F	D	V	T	H	S	L	Q	g	-	g	R	R	a	Q	A	L	D	L	A	L	A	G	M	A	T	R	L	A
PDB:4jtf:A/1-250	V	I	F	D	V	T	H	S	L	Q	g	-	-	R	R	a	Q	A	L	D	L	A	L	A	G	M	A	T	R	L	A
PDB:4jti:A/1-253	V	I	F	D	V	T	H	S	L	Q	t	r	g	R	R	a	Q	A	L	D	L	A	L	A	G	M	A	T	R	L	A
PDB:3qq1:A/1-249	V	I	F	D	V	T	H	S	L	Q	g	-	-	R	R	a	Q	A	L	D	L	A	L	A	G	M	A	T	R	L	A



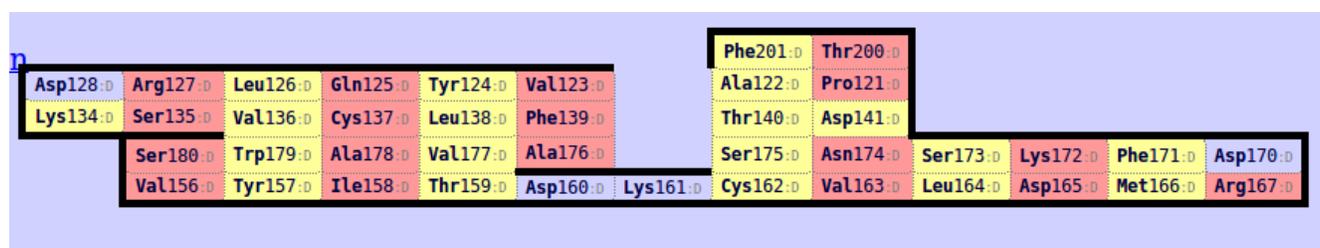
Пример несоответствия выравниваний №1



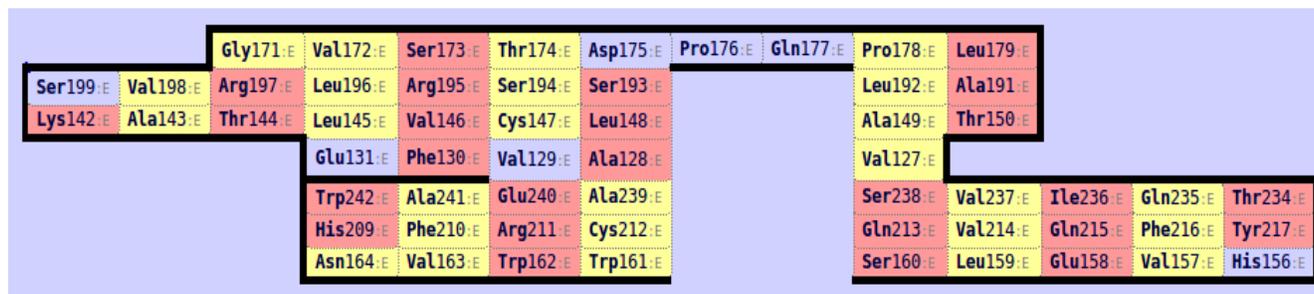


Совмещение  $\alpha$ -цепи 2BNQ (зеленая) и  $\beta$ -цепи 1QSE (синяя) командой align в PyMOL.

Для выбранных доменов с помощью программы SheeP для данных доменов были получены карты бета-листов для выбранных доменов.



Карта  $\beta$ -листов для  $\alpha$ -цепи T-клеточного рецептора.



Карта  $\beta$ -листов для  $\beta$ -цепи T-клеточного рецептора.

В каждой карте был найден консервативный остаток цистеина: Cys137 в цепи  $\alpha$  структуры 2bnq и Cys147 в цепи  $\beta$  структуры 1qse. Эти остатки были использованы для построения выравнивания доменов (были взяты три остатка до и три после цистеина).

Для совмещения структур по бета-листам использовались команды:

```
select a, 2bnq and chain D and resi 134+135+136-138+139-140 and name CA
select b, 1qse and chain E and resi 144+145+146-148+149-150 and name CA
pair_fit a, b
```

Структуры выровнялись лучше, чем с помощью pair-fit. Ход бета-тяжей совпадает, хотя в местах, по которым было произведено совмещение (показаны розовым), бета-тяжи ближе друг к другу чем для других бета-тяжей внутри того же бета листа. Некоторые петли расположены примерно одинаково. Однако большинство элементов вторичной структуры не совпадают у выравниваемых доменов. Например, в  $\alpha$ -цепи присутствует альфа-спираль и несколько  $\beta$ -тяжей, отсутствующих в  $\beta$ -цепи. В целом положение петель и некоторых элементов вторичной структуры не позволяет говорить о сходстве топологий.

Было бы интересным сравнить совмещение  $\beta$ -листов двух гомологичных структур и структур сходного размера и содержания элементов вторичной структуры, выбранных произвольным образом. Это дало бы понять, наблюдаемый эффект является следствием сходства топологии или вызван случайными причинами.

Примечательно, что если провести поиск бета-листов на полных структурах 2BNQ и 1QSE то данные карты бета-листов также находятся. SheeP смог найти все бета-листы в каждой из двух структур. Однако иногда наблюдаются расхождения между наблюдаемыми структурами в pdb файле, и результатом работы SheeP.

Например, в структуре 1QSE есть бета-тяж, вроде бы не принадлежащий соседнему бета-листу (выделен синим на картинке). Однако согласно аннотации SheeP, он входит в тот же бета-лист, что и соседние бета-тяжи, несмотря на то что у него другая ориентация.



*Расположение бета-тяжа (синим) в структуре 1QSE*

	Tyr65:E	Asn66:E	Val67:E	Ser68:E	Arg69:E		
Leu80:E	Leu79:E	Arg78:E	Leu77:E	Pro76:E	Phe75:E	Asp74:E	Glu73:E
Ser18:E	Met19:E	Thr20:E	Leu21:E	Gln22:E	Cys23:E	Ala24:E	Gln25:E
				Thr7:E	Gln6:E	Thr5:E	Val4:E

*Карта  $\beta$ -листов для соответствующего  $\beta$ -листа.*



*Полученное совмещение структур  $\alpha$ -цепи 2BNQ (зеленая) и 1QSE (синяя). Участки  $\beta$ -листов, использовавшиеся в качестве затравки выравнивания, выделены красным и розовым.*