

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА
ФАКУЛЬТЕТ БИОИНЖЕНЕРИИ И БИОИНФОРМАТИКИ

Отчет по качеству расшифровки РСА структуры
CAP-Gly домена белка DCTN1 в комплексе
с доменом цинкового пальца белка CLIP-170
(PDB ID: 3E2U).

Выполнил студент 4-го курса
Раздобарин Захар Евгеньевич
в рамках курса
структурной биоинформатики

Москва, 2020 г.

Содержание

Содержание

Аннотация

Введение

Результаты и обсуждение

Общая информация о модели

Значения индикаторов качества модели в целом

Маргинальные остатки

Сравнение модели PBD и PDB REDO

Заключение

Список литературы

Аннотация

В работе были оценены качество модели структуры белка, полученной методом рентгеноструктурного анализа. В том числе проанализированы основные показатели качества структуры в целом и описаны отдельные маргинальные остатки.

Введение

CAP-Gly - небольшой белковый домен, состоящий примерно из 80 остатков и консервативен в организмах от дрожжей до человека. Домен как правило выполняет важные функции в белках, таких, как например DCTN1 или p150glued ^[1]. Однако молекулярные механизмы, лежащие в основе работы CAP-Gly плохо изучены. В данной работе ^[2] авторы изучали работу этого мотива на примере его взаимодействия с доменом белка CLIP-170.

Результаты и обсуждение

Общая информация о модели

В этом разделе приведена основная информация о модели.

- Состав комплекса

Структура состоит из 4 цепей DCTN1 и 4 цепей CLIP1 со связанным ионом цинка.

- Дата публикации модели

Дата депозита модели 6 августа 2008.

Дата публикации - 19 августа 2008.

- Авторы

Weisbrich, A., Honnappa, S., Capitani, G., Steinmetz, M.O.

- Статья

Weisbrich A, Honnappa S, Jaussi R, et al. Structure-function relationship of CAP-Gly domains. *Nat Struct Mol Biol.* 2007;14(10):959-967.

doi:10.1038/nsmb1291

- Метод решения фазовой проблемы

Фазовая проблема решена методом молекулярного замещения с использованием MOLREP ^[3].

- Число измеренных рефлексов

Измерено 16 915 рефлексов

- Разрешение, полнота набора структурных факторов, диапазон разрешений структурных факторов

Разрешение: 2.60 Å.

Полнота: 99.5 %

Диапазон: 2.60 до 47.02 Å

- Параметры кристаллографической ячейки и кристаллографическая группа

116.220 Å 116.310 Å 79.880 Å

90.00° 90.00° 90.00°

C 2 2 2 1

- Наличие некристаллографических симметрий в асимметрической ячейке

В модели отсутствуют некристаллографические симметрии.

Значения индикаторов качества модели в целом

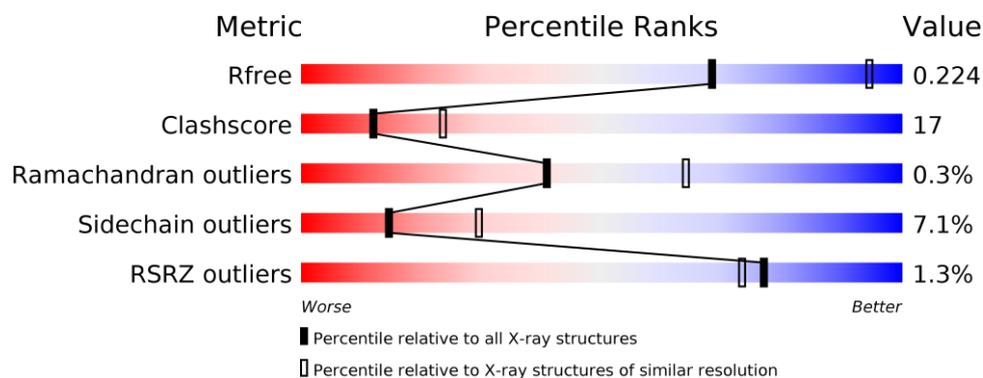


Рисунок 1. Общие параметры качества, полученные с помощью wwPDB Validation [4].

R-фактор

R-value показывает, насколько хорошо дифракционная картина, посчитанная по модели, соответствует экспериментально наблюдаемой. R-value рабочих рефлексов (R-value work) - 0.191, R-value free - 0.238 (для 5.04% рефлексов). Это очень хорошие значения, сильно превосходящие среднее по структурам с таким же разрешением.

Clash-score

Clash-score отражает количество пар атомов, расположенных слишком близко, нормированное на 1000 атомов. В данной структуре этот показатель - 17, что достаточно много и соответственно плохо.

Карты Рамачандрана

Для построения карт Рамачандрана использовался сервис MolProbity [5].

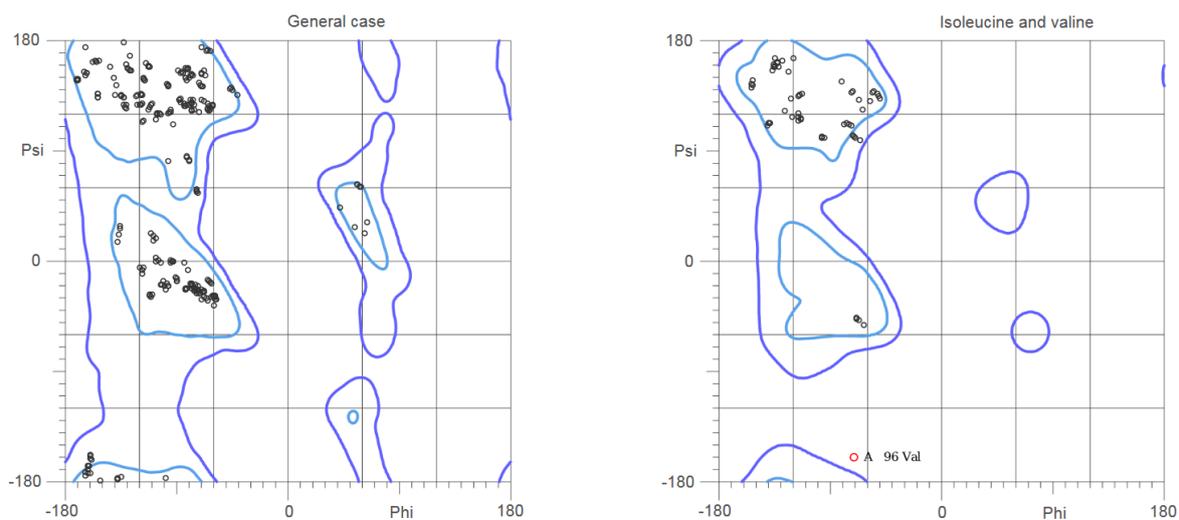


Рисунок 2. Карты Рамачандрана для общего случая (слева), и для изолейцина и валина (справа).

Сразу замечаем аутлайер A-Val-96. В остальном подавляющая часть остатков расположена в благоприятном положении.

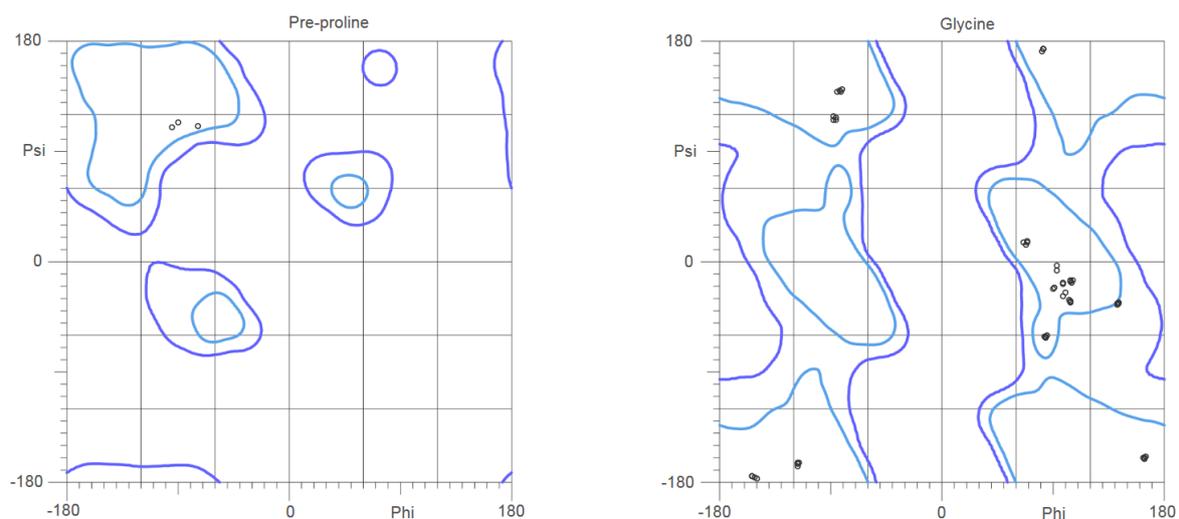


Рисунок 3. Карты Рамачандрана для препролиновых остатков (слева), и для глицина (справа).

Тут нет аутлайеров. Никаких отклонений не видно.

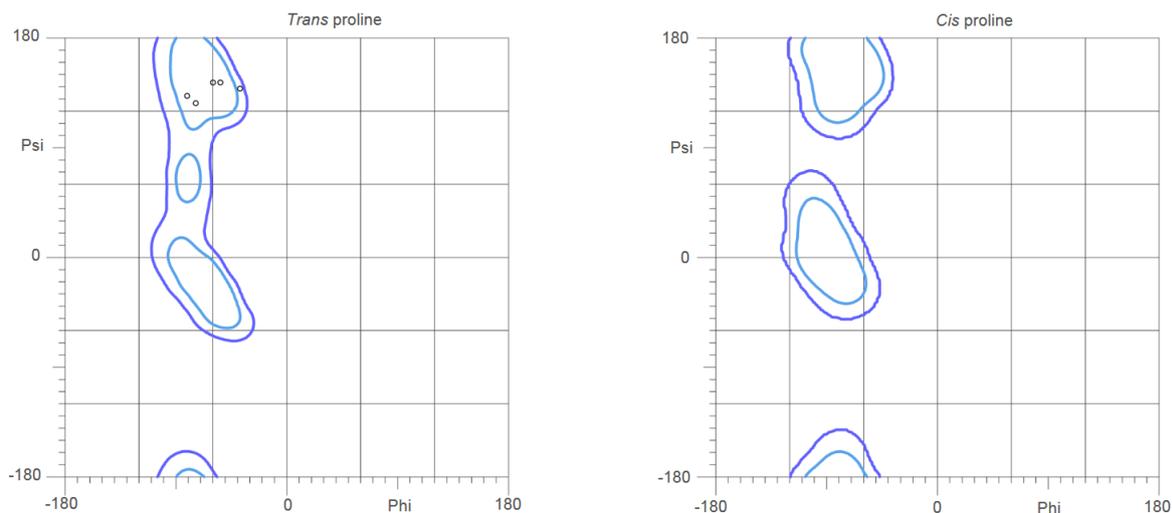


Рисунок 4. Карты Рамачандрана для транс и цис пролина.

Видим, что цис-пролинов в структуре нет. В целом 93.5% (348/372) остатков расположены в благоприятной области и 99.7% (371/372) остатков - в разрешённой. Это отличные показатели, хоть и с одним аутлайером.

RSRZ

RSRZ - показатель того, насколько хорошо остаток вписывается в электронную плотность. В нашей структуре 1.3% остатков в $RSRZ > 2$. Это хороший показатель, выше среднего среди структур с тем же разрешением.

Маргинальные остатки

Маргинальными называют отстатки сильно отклоняющиеся от стандартных значений по каким-либо параметрам. Далее мы рассмотрим некоторые такие остатки.

Таблица 1. Список некоторых маргинальных остатков в структуре.

Название остатка	Причина маргинальности
B 91 GLN	Возможная инверсия боковой цепи
A 96 VAL	Аутлаер из запрещённой зоны карты Рамачандрана, Clash = 0.88Å, неротамерный радикал
A 97 PHE	RSRZ = 4.91, Clash = 0.88Å
C 66 LYS	RSRZ = 2.51
C 27 LEU	RSRZ = 2.51
B 97 PHE	RSRZ = 2.52

G 1427 PHE	RSRZ = 2.5
C 35 VAL	Clash = 0.90Å
C 94 ILE	Clash = 0.90Å
C 44 VAL	Нарушение угла C-C _a -C _β .
A 28 ARG	Неротамерный радикал, Clash = 0.72Å
D 94 ILE	Неротамерный радикал, Clash = 0.62Å

A 96 VAL и A 97 PHE

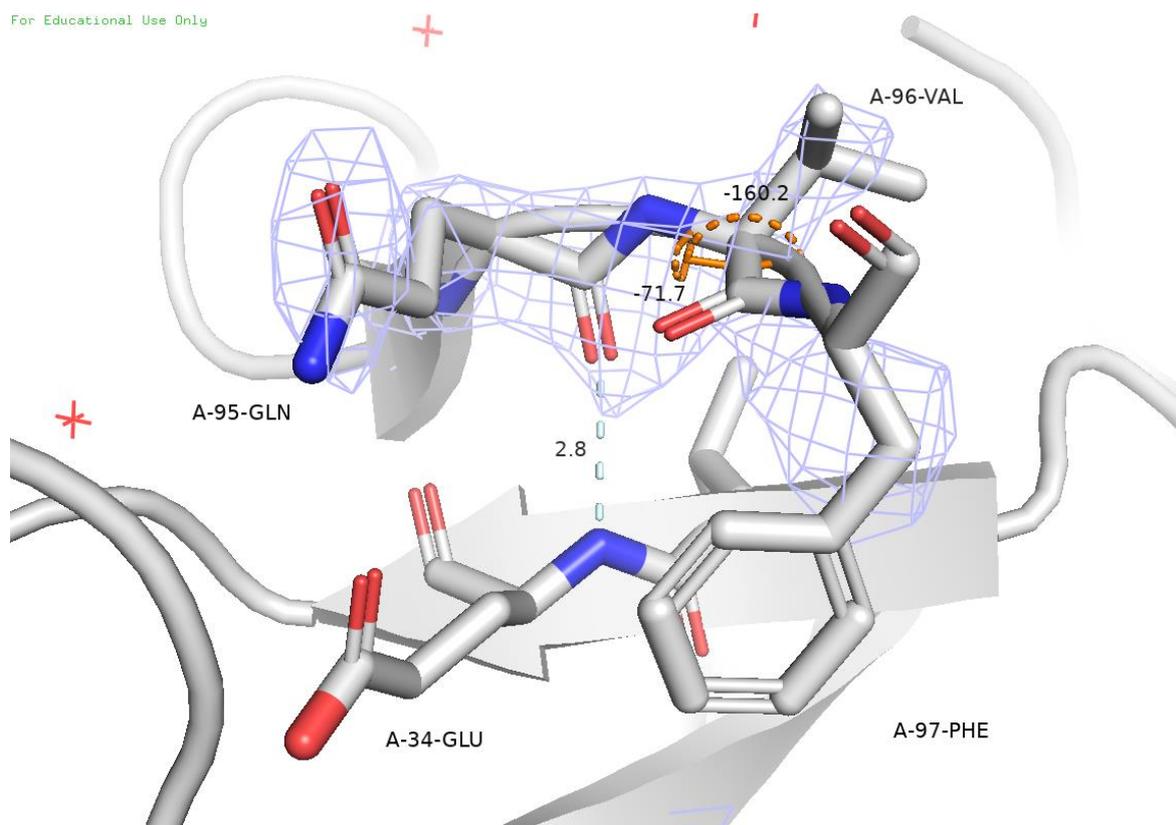


Рисунок 5. Часть структуры 3E2U (цепь А, аа 34 ,аа 95-97). Сиреневым показана электронная плотность на уровне подрезки 2 сигма. Рыжим отмечены торсионные углы валина. Голубым показана водородная связь между атомами кислорода валина и азота глутамата.

Два маргинальных остатка оказались рядом друг с другом. Рассмотрим их по очереди. Валин обладает странными торсионными углами. Они были бы хороши, если бы угол -71.7° был ближе к -90° . Однако кислород глутамина 95 очень хорошо лежит в плотности, и образует водородную связь. Выходит, такие углы структурно обусловлены, хоть и структура в этом месте сильно напряжена.

Фенилаланин обладает очень высоким RSRZ. На картинке видно, что в электронную плотность вписаны только первые атомы радикала. Видимо дело в том, что остаток С-концевой и смотрит в раствор. В таком положении

у фенилаланина множество возможных благоприятных ротамеров. Выходит, что в реальной структуре остаток может быть расположен не так.

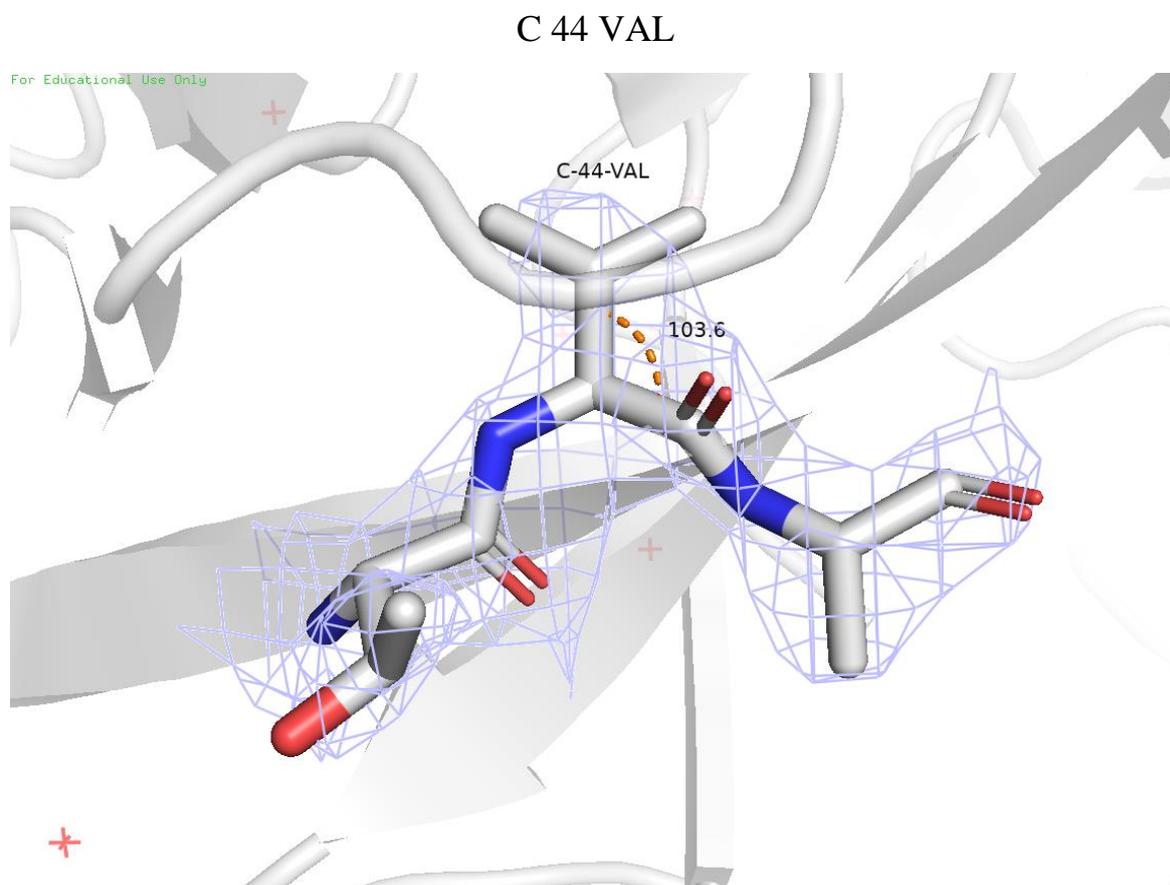


Рисунок 6. Часть структуры 3E2U (цепь С, аа 43-45). Сиреневым показана электронная плотность на уровне подрезки 2 сигма. Рыжим отмечен угол C-C_a-C_b валина.

Угол боковой цепи валина не оптимален. Учитывая, что он не далёк от идеального, электронная плотность вокруг остатка позволяет вписать его чуть лучше. Это не столько ошибка, сколько похоже на неточность.

A 28 ARG

For Educational Use Only

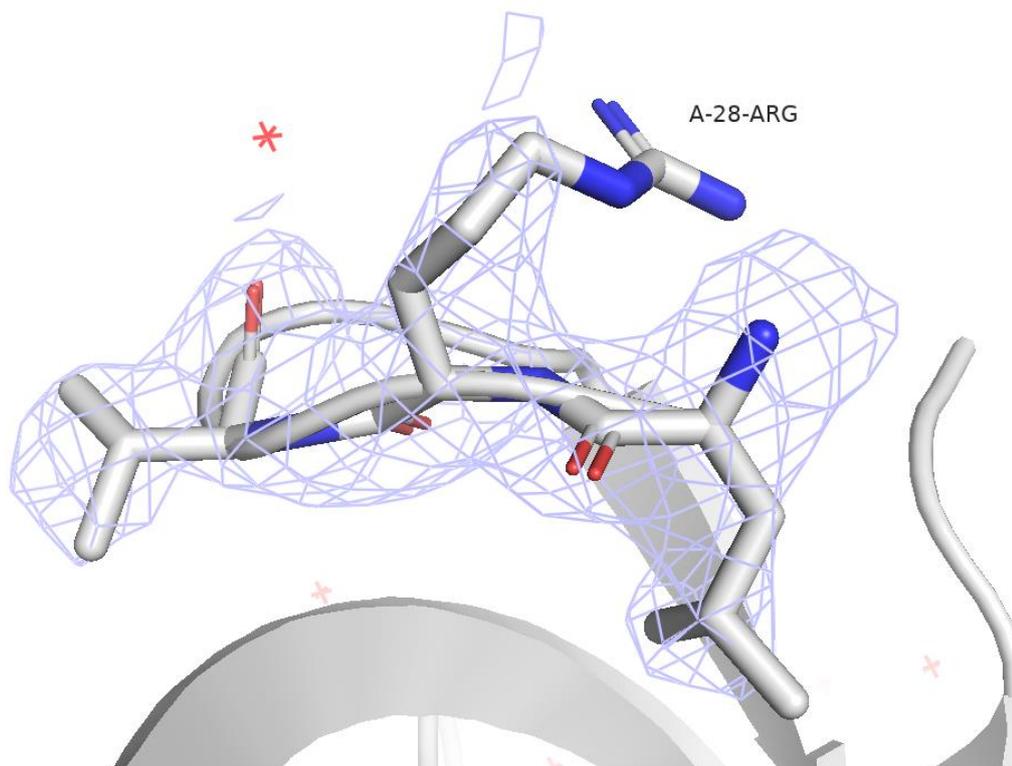


Рисунок 7. Часть структуры 3E2U (цепь A, aa 27-29). Сиреневым показана электронная плотность на уровне подрезки 1 сигма.

Остаток аргинина со странной боковой цепью. Даже на уровне подрезки 1 сигма обусловлены только первые пара атомов. Реальную структуру определить по такой плотности невозможно, но она точно на такая, какая выбрана в модели.

Нефиксированные молекулы воды

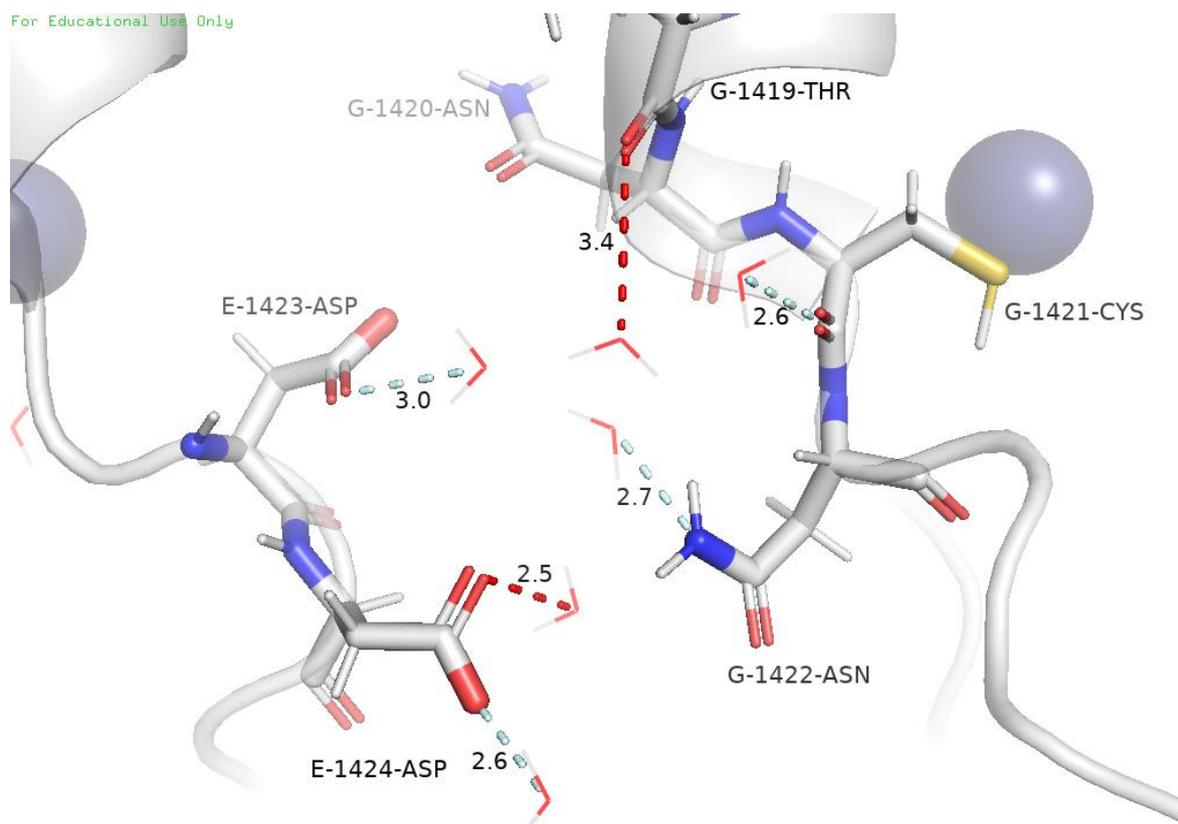


Рисунок 8. Часть структуры 3E2U (цепь E, aa 1423-1424, цепь G, aa 1419-1422). Голубым показаны возможные водородные связи. Красным показаны расстояния от нефиксированных молекул воды до ближайших полярных атомов.

Данный участок расположен почти в центре комплекса, так что с этими молекулами не могут взаимодействовать остатки из соседних ячеек. Две молекулы воды нефиксированы: нижняя расположена под слишком острым углом, а верхняя слишком далеко. Такое могло произойти из-за ошибки программы по расшифровке электронной плотности.

Сравнение модели PDB и PDB REDO

PDB-redo ^[6] — это протокол оптимизации с частичным перестроением структур. Он призван улучшить сборку.

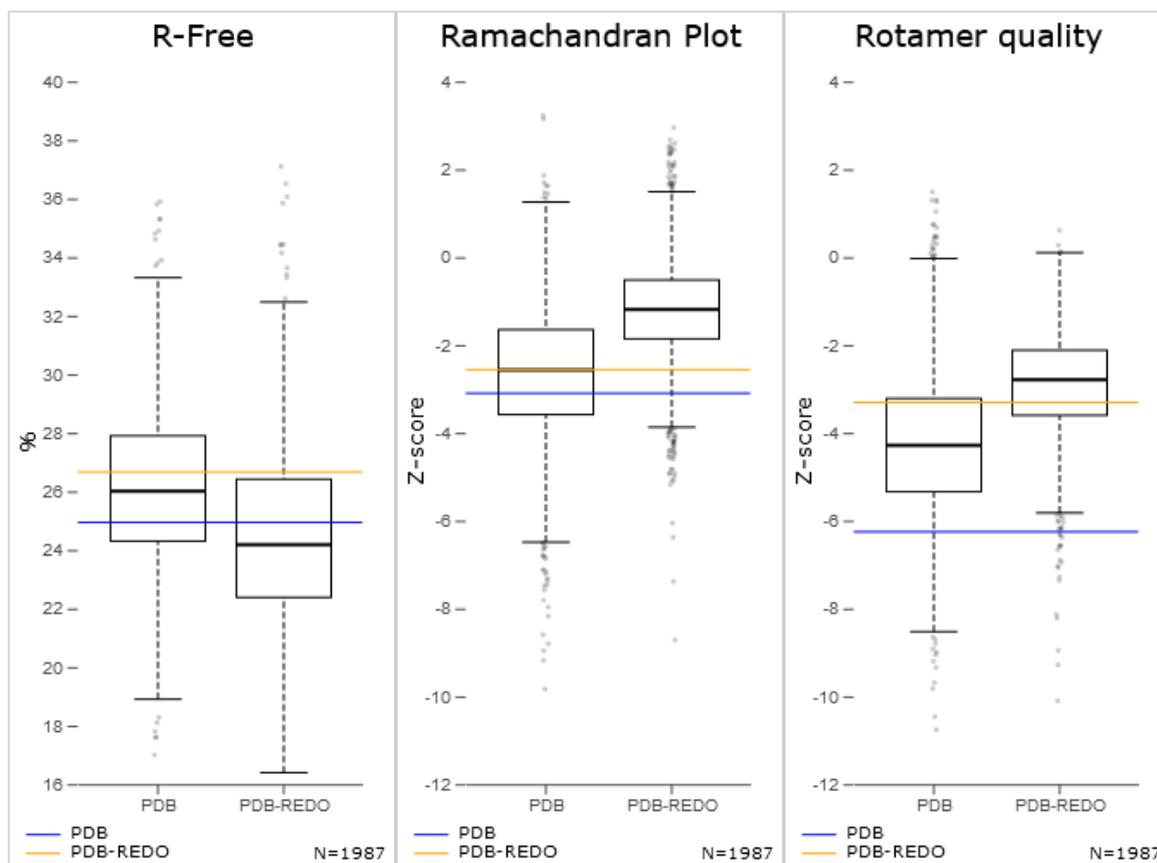


Рисунок 9. Сравнение основных показателей качества расшифровки структуры.

Как мы видим, несмотря на повышение значения R-Free, остальные показатели улучшились. Особенно сильно изменилось качество ротамеров. В исходной структуре, видимо из-за плохого качества электронной плотности, многие остатки были расшифрованы странно. Они обладали не реалистичными конформациями боковых цепей или просто не были обусловлены электронной плотностью. Протокол PDB-redo больше опирается на здравый смысл, чем на плотность, потому исправил такие остатки.

Заключение

Несмотря на присутствие некоторых ошибок и неточностей, структура приемлемого качества. Все найденные маргинальные остатки обладают довольно незначительными отклонениями, и что важнее расположены в нефункциональных регионах. Это говорит о том, что данная структура хорошо подходит именно для тех целей, для которых была получена.

Список литературы

1. Zhapparova ON, Bryantseva SA, Dergunova LV, et al. Dynactin subunit p150Glued isoforms notable for differential interaction with microtubules. *Traffic*. 2009;10(11):1635-1646. doi:10.1111/j.1600-0854.2009.00976.x
2. Weisbrich A, Honnappa S, Jaussi R, Okhrimenko O, Frey D, Jelesarov I, Akhmanova A, Steinmetz MO. Structure-function relationship of CAP-Gly domains. *Nat Struct Mol Biol*. 2007 Oct;14(10):959-67. doi: 10.1038/nsmb1291. Epub 2007 Sep 9. PMID: 17828277.
3. Collaborative Computational Project, Number 4. The CCP4 suite: programs for protein crystallography. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*. 1994;50(Pt 5):760-763. doi:10.1107/S09074444994003112
4. <https://www.rcsb.org>
5. <http://molprobiy.biochem.duke.edu>
6. <https://pdb-redo.eu>