

Критический анализ модели LOV домена темновой формы белка-рецептора синего света YtvA из *Bacillus subtilis*, представленной в банке PDB, код 2PR5.

Гуляева А. А., 4 курс ФББ МГУ

В отчете приведены результаты анализа качества структуры фрагмента (LOV домен и регион связки между LOV и STAS доменами) темновой формы белка-рецептора синего света YtvA из *Bacillus subtilis*, расшифрованной методом РСА в 2007 году А. Меглих и К. Моффат и содержащейся в PDB под кодом 2PR5.

Введение

Белок-рецептор синего света YtvA из *Bacillus subtilis* состоит из N-концевого сегмента (а. о. 1-24), LOV домена (а. о. 25-126), связки между LOV и STAS доменами (а. о. 127-147) и C-концевого STAS-домена (а. о. 148-258).

Синий свет поглощается кофактором LOV-домена ФМН, LOV-домен передает сигнал на эффекторный домен STAS, STAS запускает клеточные процессы - ответ на воздействие синего света.

Структуры LOV-домена в темноте и при воздействии синего света были расшифрованы методом РСА. Было показано к каким структурным изменениям в LOV-доме приводит поглощение синего света [1].

Результаты

Ниже приведен анализ структуры LOV-домена в темноте.

Фазовая проблема была решена методом молекулярного замещения.

Число измеренных рефлексов — 48050.

Разрешение структуры - 1.45 Å; минимальное разрешение использованного рефлекса - 1.45 Å; максимальное разрешение использованного рефлекса - 14.82 Å.

$R = 19.2\%$ (хорошие значения $R < 25\%$).

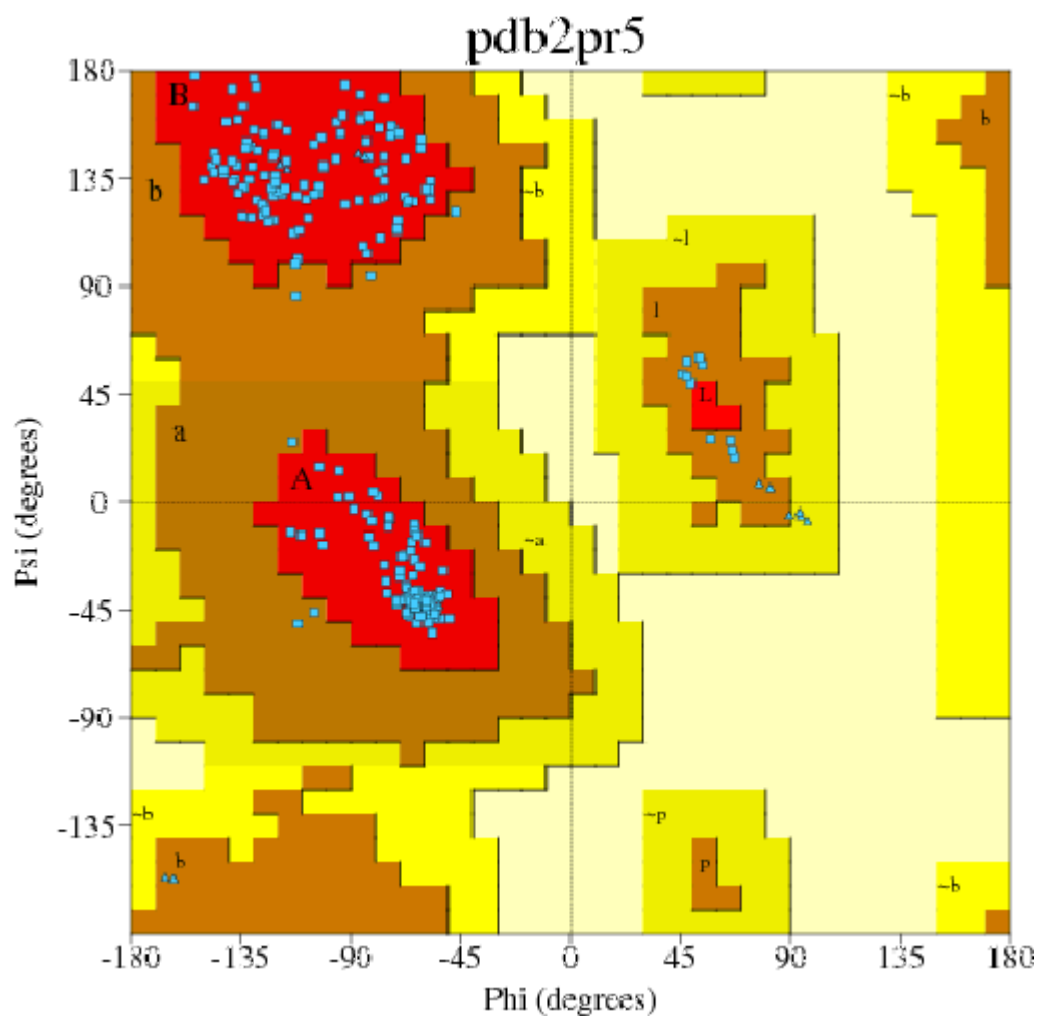
$R_{free} = 22.4\%$ (хорошие значения $R_{free} < 20\%$; плохие значения $R_{free} > 40\%$).

$R_{free} - R = 3.2\%$ (значения $R_{free} - R > 10\%$ настораживают в отношении переоптимизации (overfitting)).

На рис. 1 — карта Рамачандрана для структур LOV-домена в темноте. Остатки, отличные от Gly и Pro: 92.4% остатков попадают в предпочтительные области, 7.6% остатков попадают в разрешенные области, в допустимые/запрещенные области не попадает ни один остаток.

В табл. 1 приведена информация о маргинальных остатках. Интересно, что большая часть маргинальных остатков — N-концевые/C-концевые остатки. Например, на рис. 2 видно, что N-концевые остатки 21-24 цепи В плохо вписываются в электронную плотность. Возможно, это как-то связано с тем, что была получена структура только одного домена белка (21-147 а.о.). Те остатки, которые в полученной структуре находятся на концах, в настоящем белке находятся в середине полипептидной цепи.

Остаток 139 из цепи А (серин) имеет нехарактерное значение торсионного угла χ_1 , OG атом не очень хорошо вписывается в электронную плотность (рис. 3). Возможно, OG в модели расположен немного неправильно.



	HIS, ASN, GLN side chain flips	Abnormal packing environment	Unusual rotamers	RSR Z-score > 2.0
21 A				+
21 B				+
22 A		+		+
22 B		+		
23 B				+
24 A		+		
24 B		+		+
44 A	+			
48 B	+			
55 B				+
84 A		+		
84 B	+	+		
115 B				+
139 A			+	
143 B				+
144 B				+
145 B				+
147 A				+

Таблица 1

Синим отмечены а.о. N-конца, красным — а.о. С-конца.

(Расшифрованная структура включает 21-147 а.о. цепи А и 21-146 а.о. цепи В.)

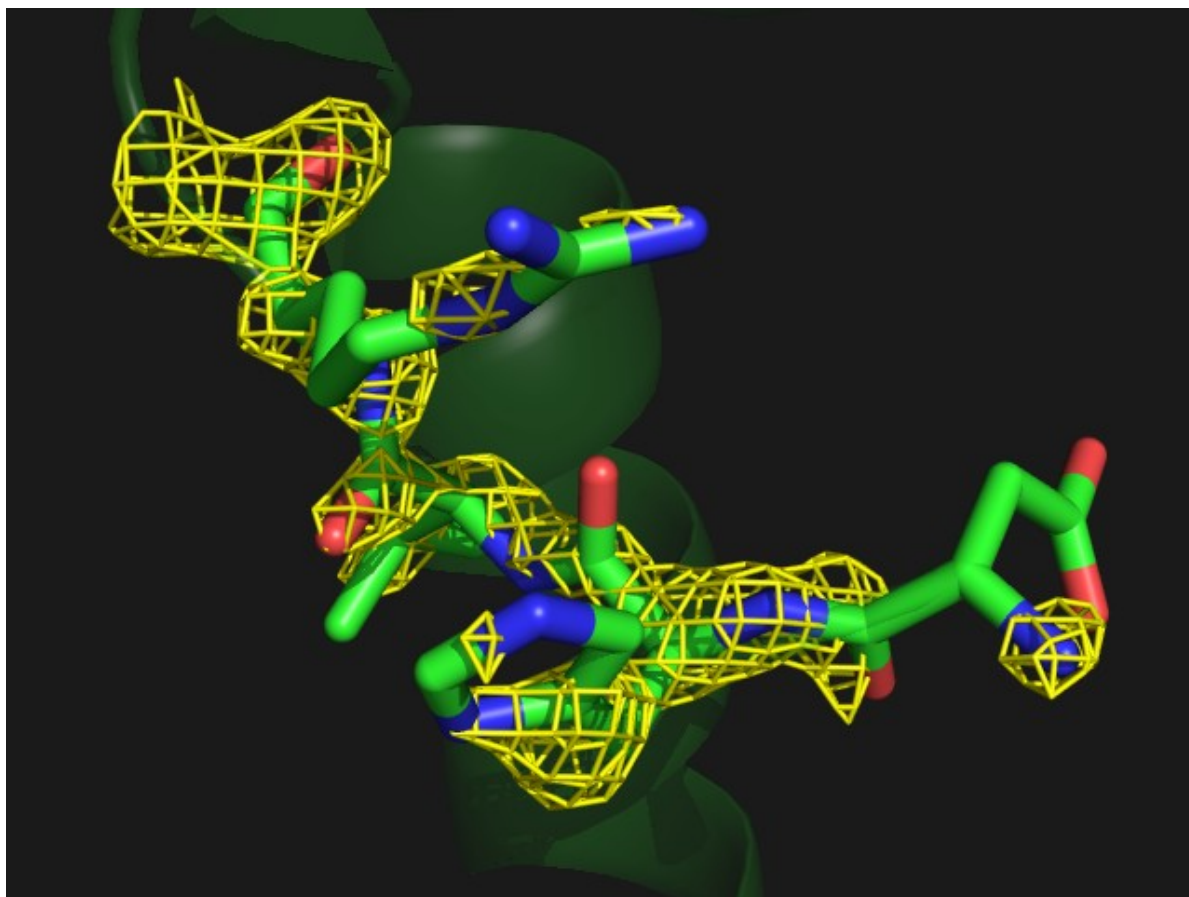


Рисунок 2

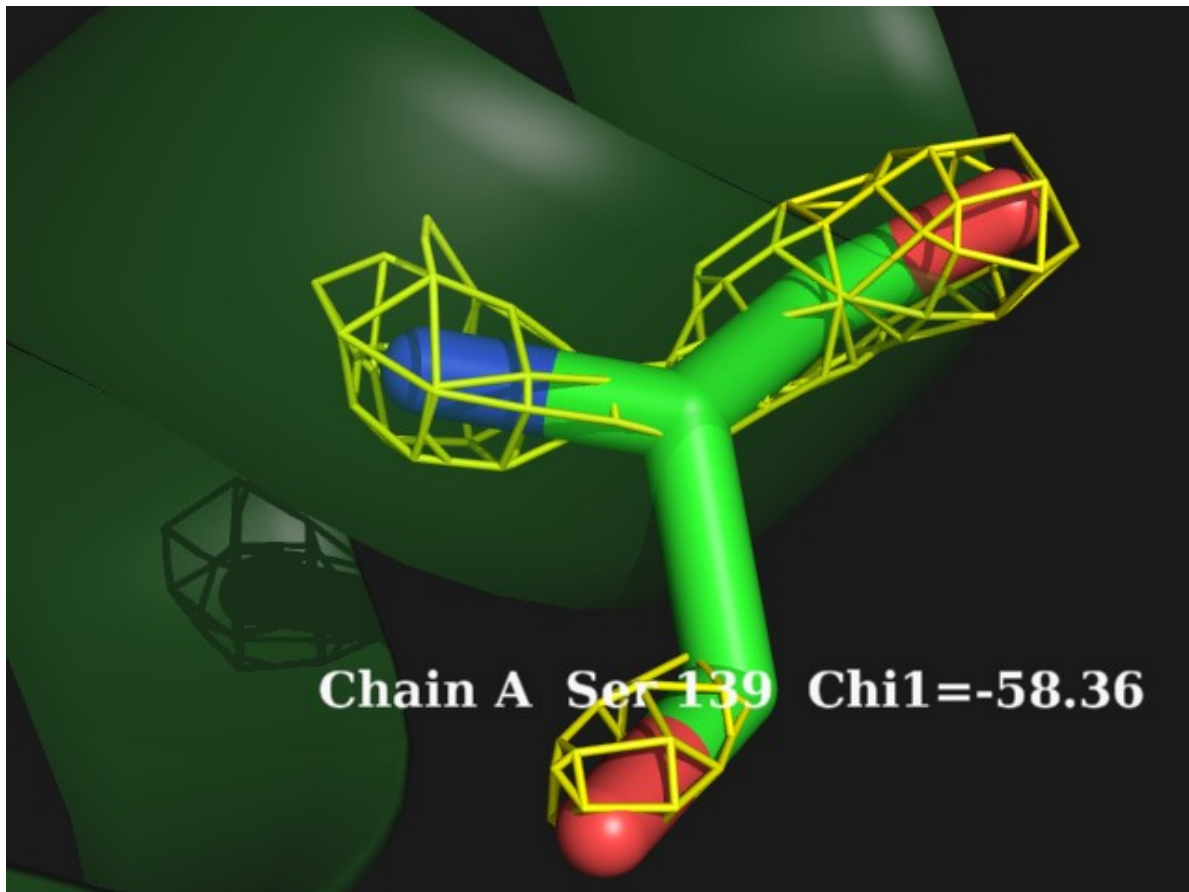


Рисунок 3

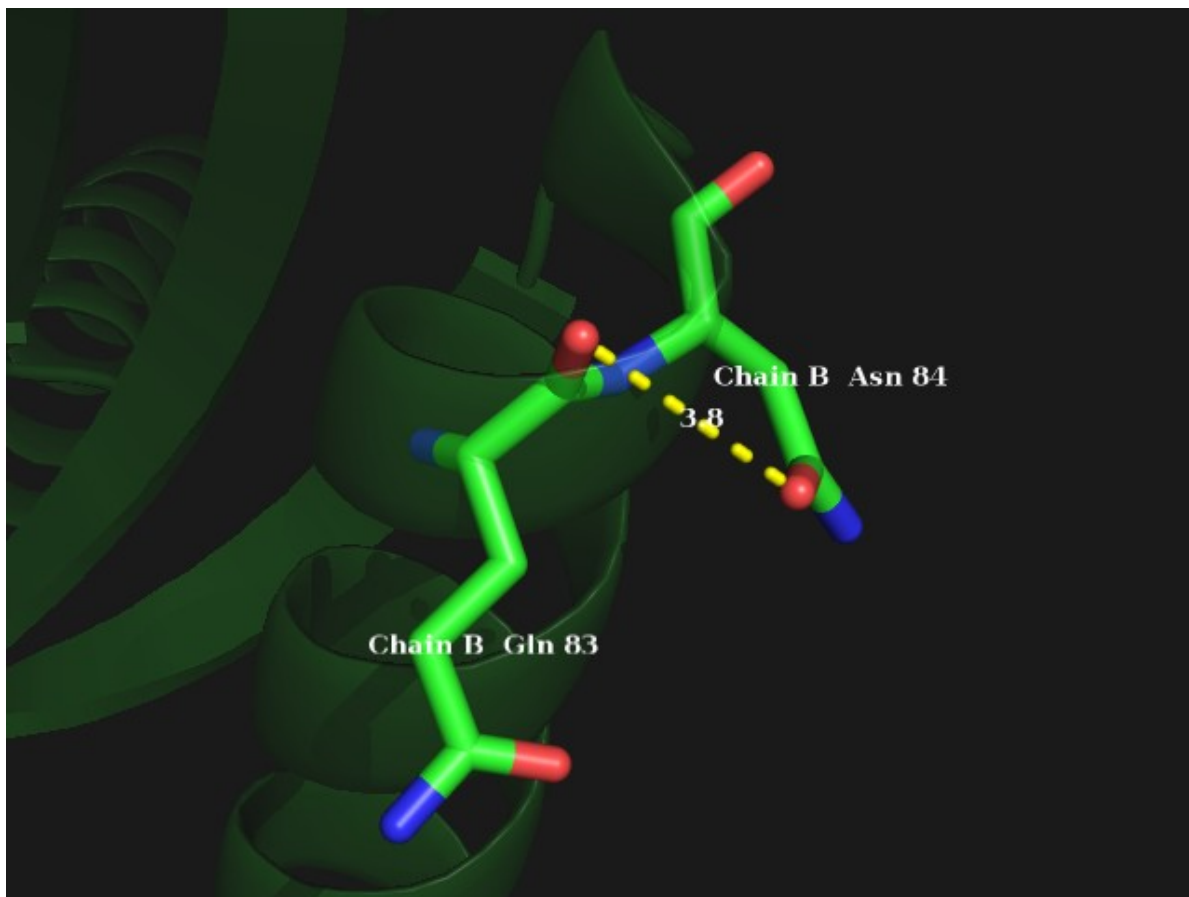


Рисунок 4

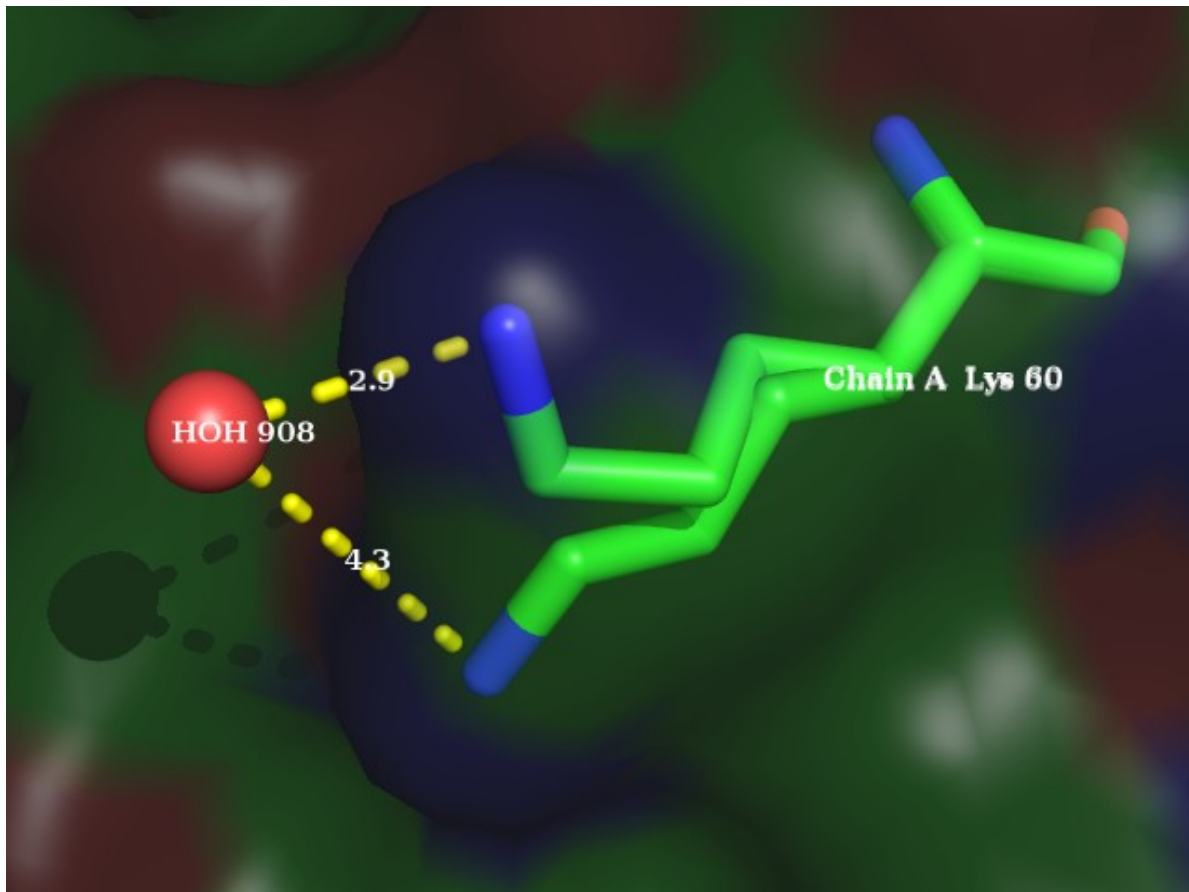


Рисунок 5

На рис. 4 показан остаток 84 из цепи В (аспарагин). Программа WHAT_CHECK указывает, что этот остаток находится в неблагоприятном окружении, возможно произошла инверсия боковой цепи. На рисунке видно, что расстояние между OD1 84-ого остатка и O 83-его остатка всего 3.8 Å.

На рис. 5 показана одна из трех молекул воды, которые, согласно программе WHAT_CHECK, не образуют водородных связей. Как видно из рисунка, положение ближайшего к этой молекуле остатка определено неоднозначно — в одном случае расстояние до NZ атома 2.9 Å (водородная связь), а в другом 4.3 Å (нет водородной связи).

Заключение

Структура имеет высокое разрешение — модель построена на основании экспериментальных данных хорошего качества.

Значения R-фактора и R_{free} показывают, что модель достаточно хорошо соответствует экспериментальным данным. Разность R-фактора и R_{free} не указывает на переоптимизацию.

Большой процент остатков, отличных от Gly и Pro, попадающих в предпочтительные области карты Рамачандрана, говорит о том, что модель хорошо соответствует строению белка.

Число маргинальных остатков небольшое. Значительная часть маргинальных остатков сосредоточена на концах полипептидной цепи.

Данная модель (в особенности LOV-домен, находящийся в середине полипептидной цепи) имеет высокое качество.

Литература

1. Möglich A, Moffat K (2007) Structural Basis for Light-dependent Signaling in the Dimeric LOV Domain of the Photosensor YtvA. *J Mol Biol* 373: 112-126.