

Анализ модели белка металшаперона *copZ Bacillus subtilis*, представленной в банке PDB, код 2QIF.

Попков В.А., 4 курс ФББ МГУ

Введение

copZ – медь связывающий шаперон. Представлен в виде мономера в свободном виде, и различных олигомеров при связывании с медью. Необходим для доставки меди белку *CopY*, который связан с цинком. Замещение цинка на медь приводит к диссоциации *CopY* от промотора и началу транскрипции с *copYZAB* оперона.

Результаты

- Белок представлен димером (в связанном с медью состоянии). Длина цепей 69 и 68 а.о.;
- Структура в 2009, *Biochemistry*.;
- Авторы данной структуры: Stephen Hearnshaw, Claire West, Chloe Singleton, Liang Zhou, Margaret A. Kihlken, Richard W. Strange, Nick E. Le Brun and Andrew M. Hemmings;
- Метод решения фазовой проблемы: SAD. С учетом того, что белок является медь-связывающим, и в его структуре в норме присутствуют 4 связанных (а не свободных, что важно) иона меди, то выбор метода крайне логичен;
- Число измеренных рефлексов: 114794;
- Разрешение: 1.5 Å, 18.92 - минимальное и 1.50 - максимальное разрешение для использованных рефлексов;
- Элементарная ячейка
alpha=90.00, beta=101.55, gamma=90.00
- Полнота данных: 94.1%
- значения R-фактора и свободного R-фактора и свои выводы:
В статье: R-фактор (R) = 0,132; R-free фактор = 0,175. R-фактор показывает насколько хорошо расчетная модель подходит экспериментальным данным. Поскольку полностью случайный набор атомов дает значение R-фактора = 0,63, идеальное соответствие – 0, а средние значения около 0,20, то данная структура является достаточно хорошей.
R-free - R-фактор = 0,43 что ниже порогового значения в 0,5 для хорошей модели.
- Карта Рамачандрана. Принципиально выбивающихся остатков нет. Есть часть остатков, которые попали не в самые оптимальные области, но это, если посмотреть на них, можно объяснить близостью их к поворотам цепи.

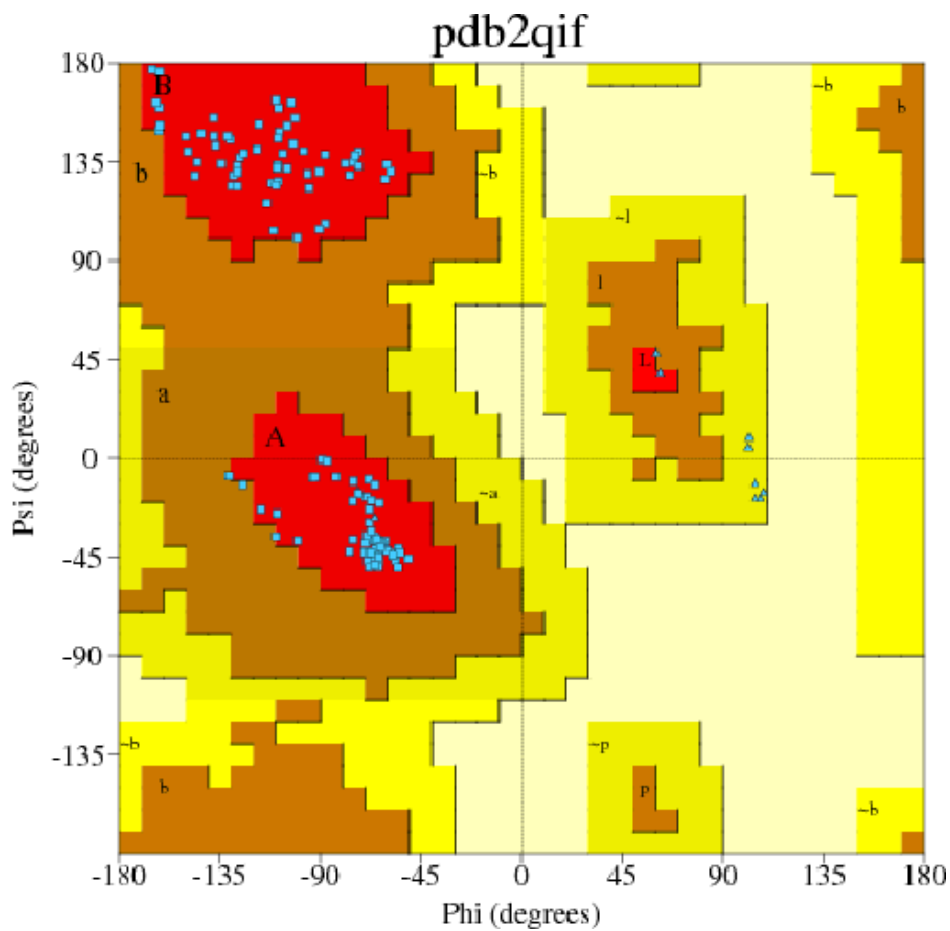
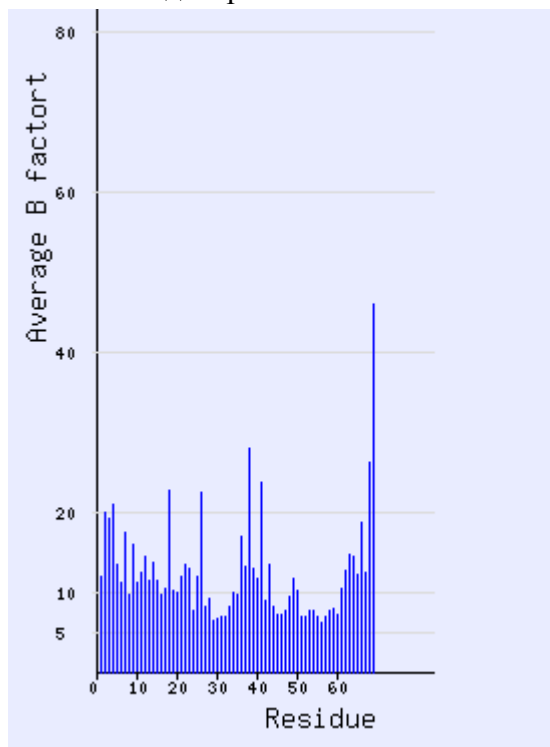


Рис. 1. Карта Рамачандрана.

B-фактор, рассчитываемый для каждого атома, показывает насколько его электронная плотность шире, чем у идеальной модели. В среднем для данной модели <40 (при хорошем разрешении в $1,55 \text{ \AA}$), соответственно, координатам атомов можно доверять.



Значения B-факторов

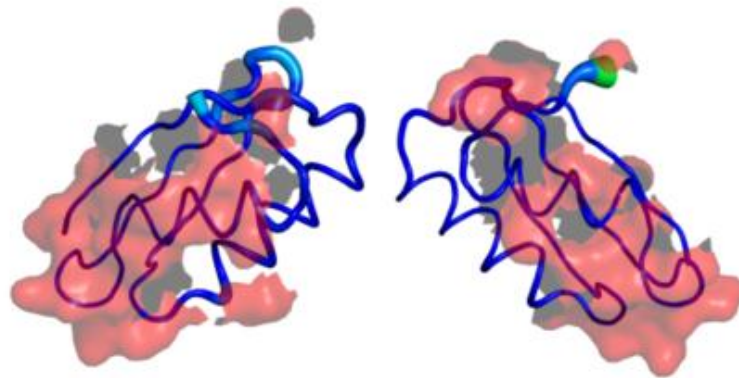
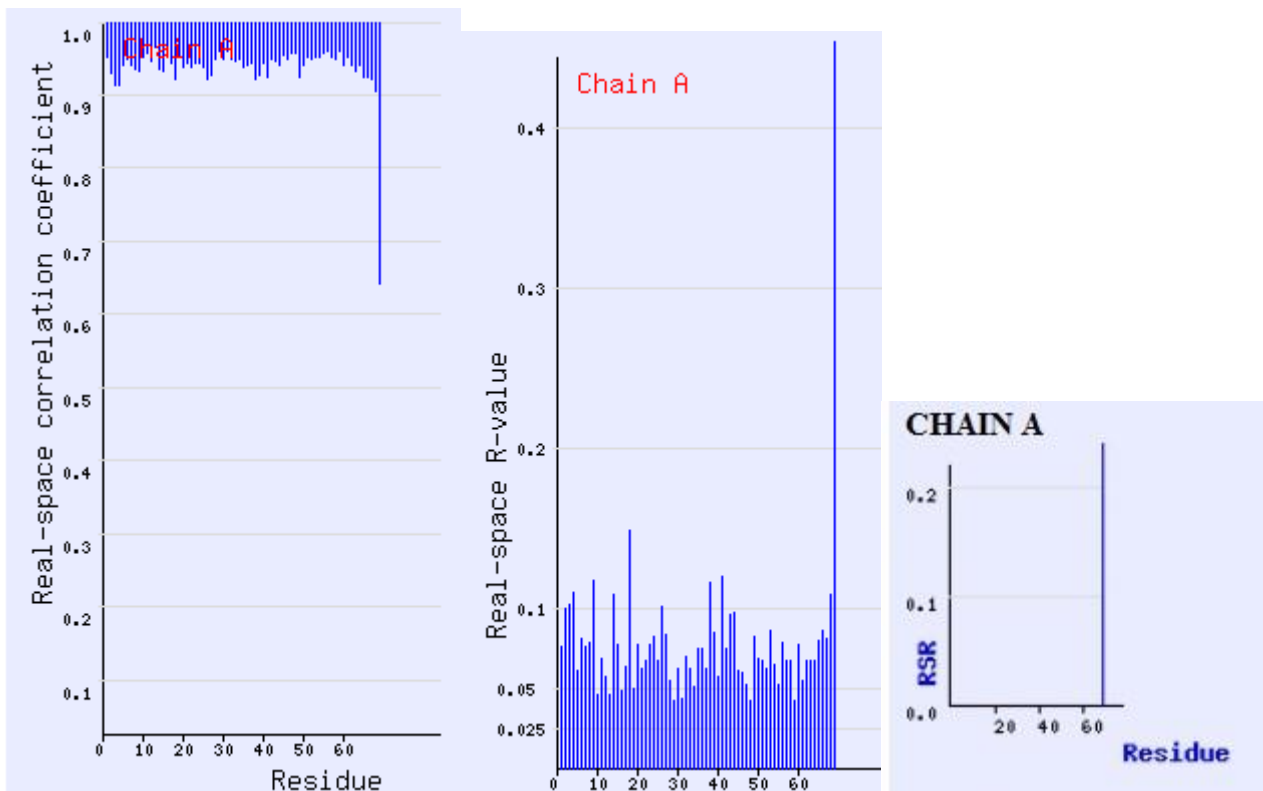
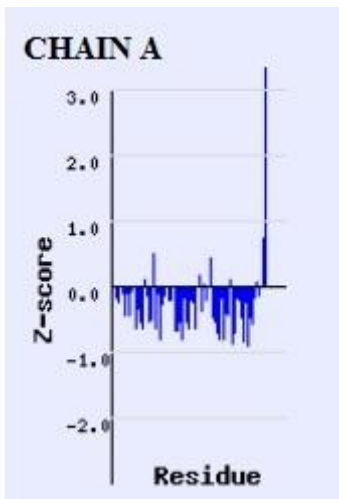


Рис. 2. Остов *copZ*. B-факторы показаны различной толщиной цепи (тонкие = низкие, толстые = высокие). Цвет, варьирующий от синего к красному соответствует величине B-фактора (от 10 до 100 Å²). Красные поверхности показывают регионы, где находятся контакты молекул в кристаллической ячейке (5 Å cut-off).

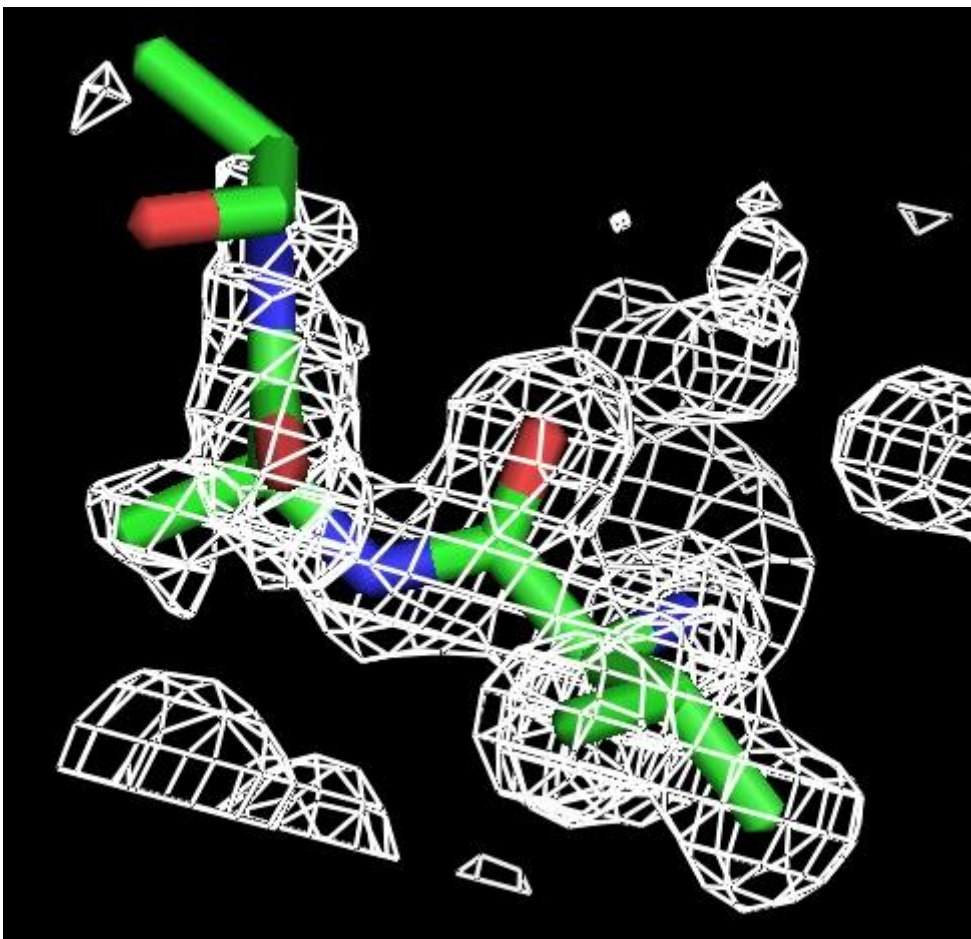
Соответственно, вопросы вызывает только 69 остаток. Как видно ниже, вопросы он вызывает по многим параметрам.





Третий график отражает значимость ($\langle RSR \rangle + 2.00 \cdot \sigma$), Четвертый – z-score $((RSR - \langle RSR \rangle) / \sigma)$ (высокие положительные значения говорят о значимом отклонении в плотности относительно аминокислотных остатков такого же типа в структурах с таким же разрешением).

Как можно заметить, по всем параметрам вопросы вызывает только 69 остаток. Ниже представлена его электронная плотность

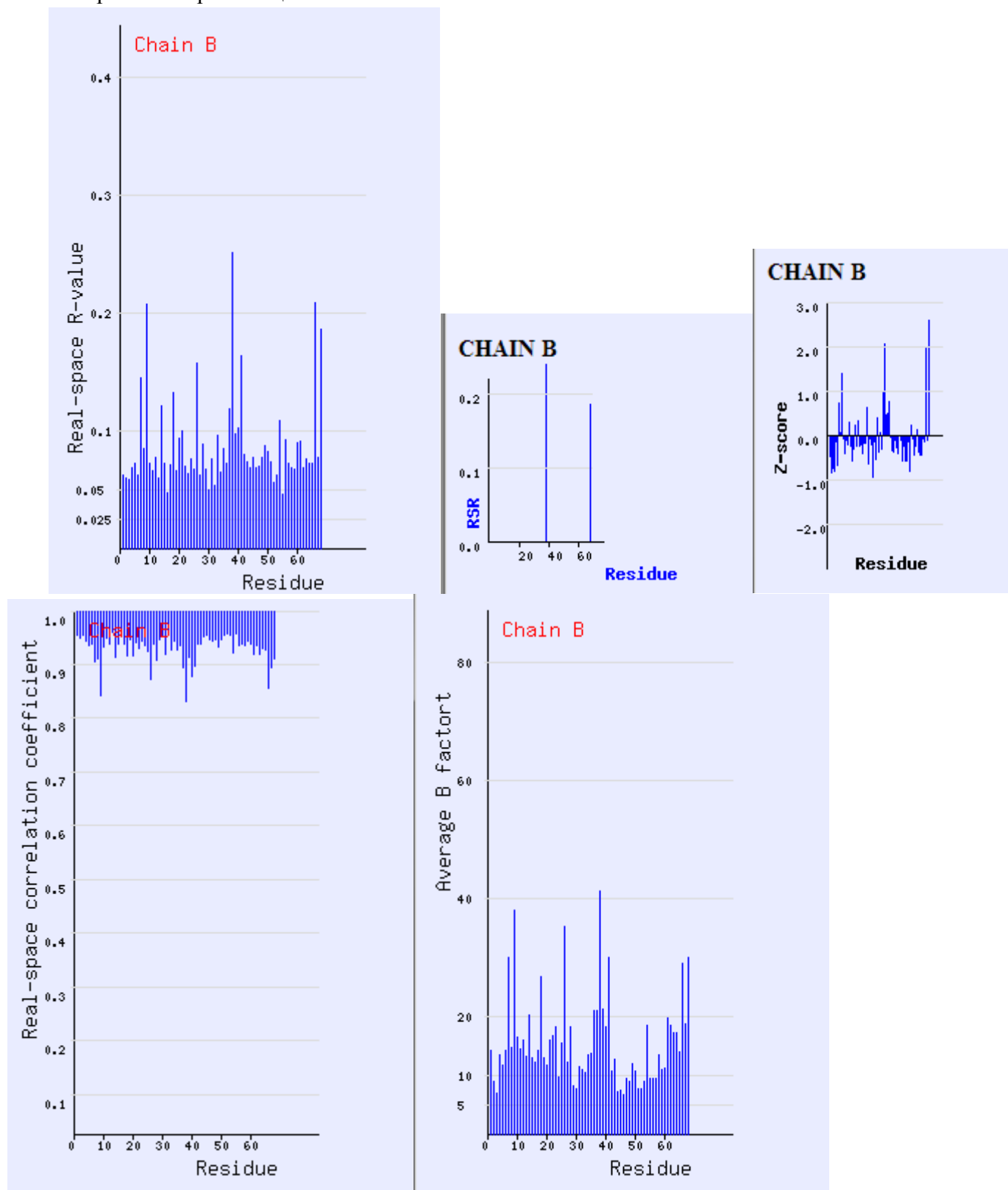


Электронная плотность 67-69 а.о. Слева 69 лизин.

Что можно заметить. В первую очередь то, что этот остаток – не лизин, каковым он должен являться по последовательности... Не похоже, что тут сбита нумерация – остальные два остатка вполне соответствуют, последовательности. Единственное подходящее объяснение: этот лизин ни в

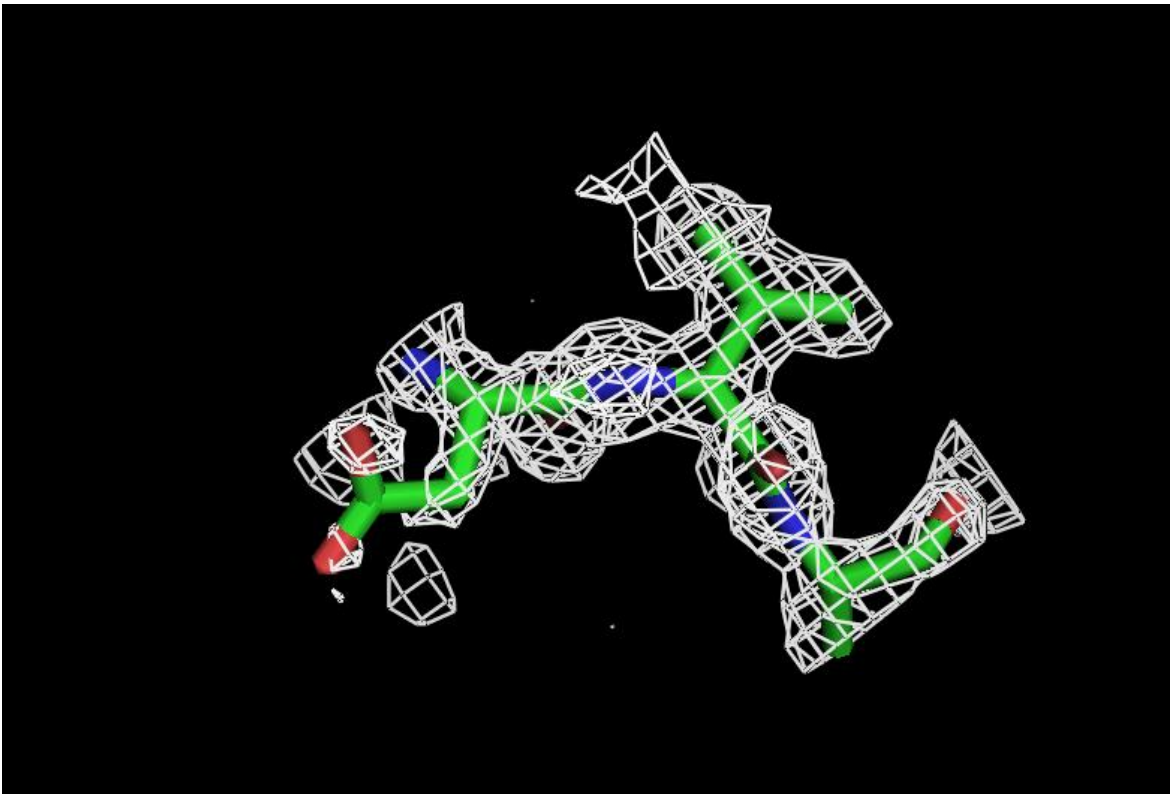
одной ячейке не был закристаллизован полностью и мы везде видим только его «обрубок». Но в целом, некоторые проблемы в разрешении последней аминокислоты в цепи не кажутся мне такими уж странными.

Теперь посмотрим на цепь B



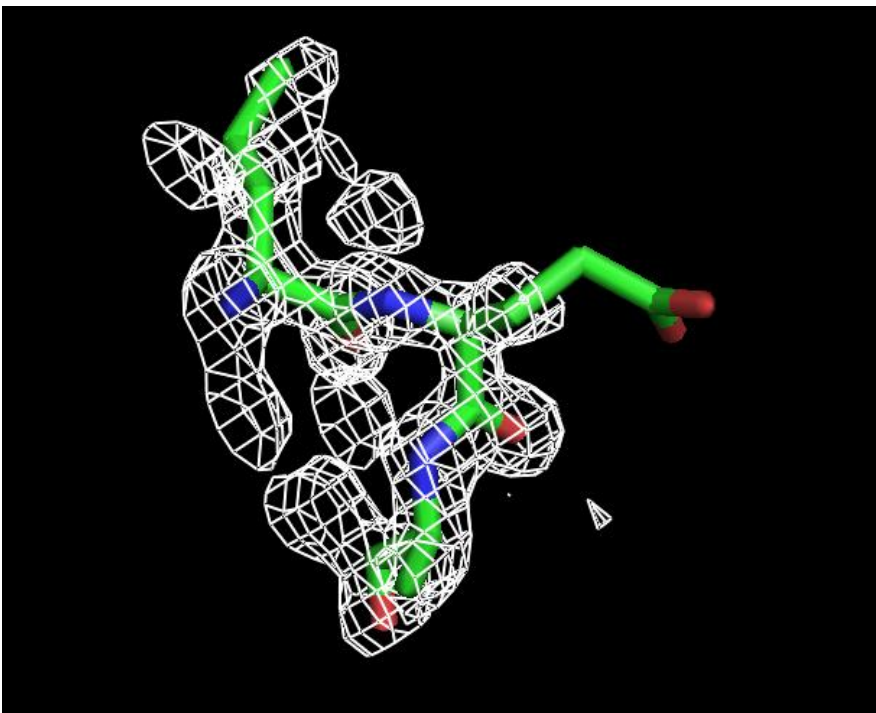
Суммарно из графиков вопросы вызывают 3 остатка: 9, 38, 66.

66 и 68 остатки



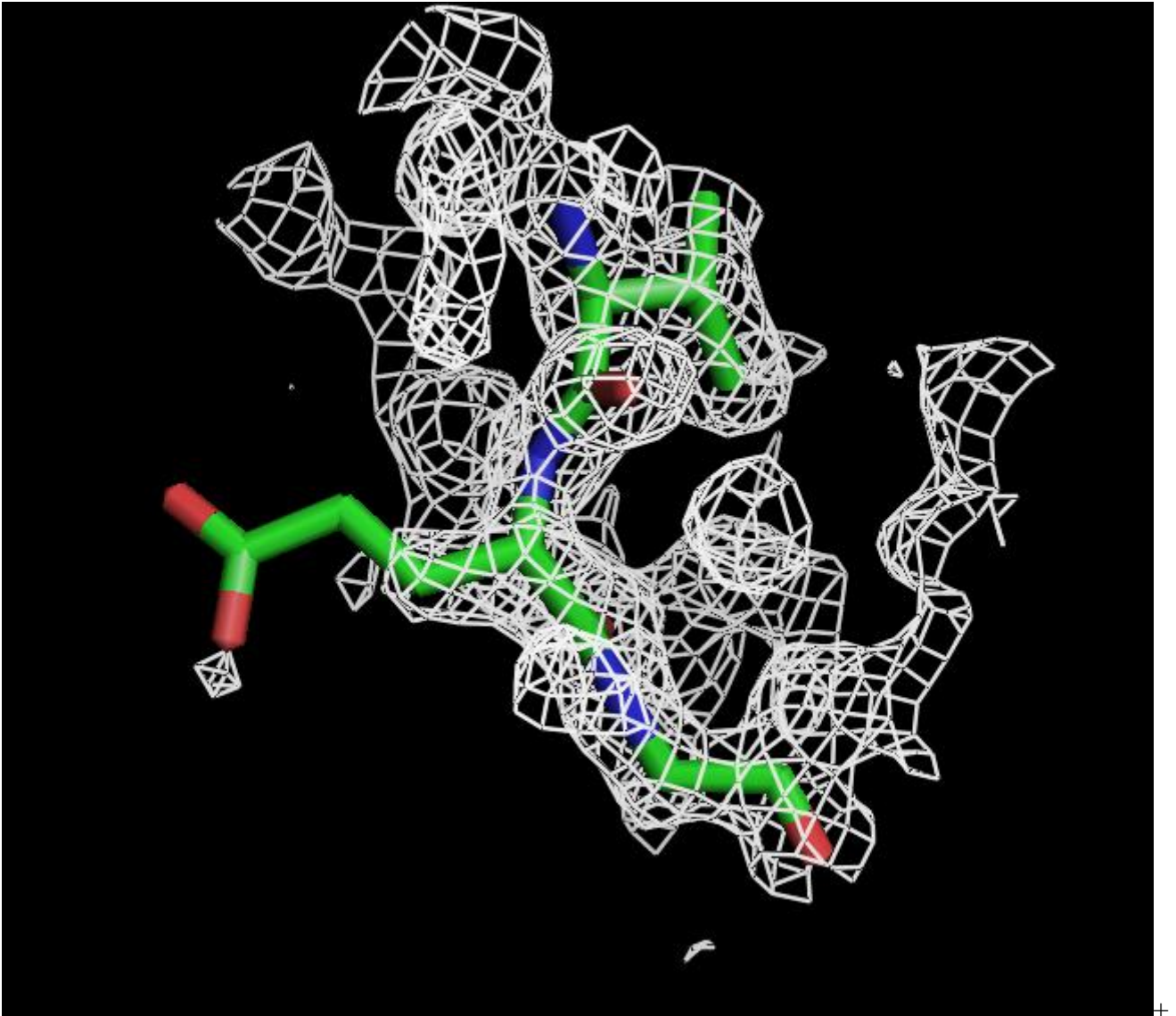
Слева 66 остаток. Как можно заметить, электронная плотность не совсем покрывает его, но там, где она есть, он хорошо вписан. Могу допустить, что располагающееся чуть ниже облачко электронной плотности отвечает второй возможной конформации остатка, где смотрящий вверх кислород аспарагиновой кислоты разворачивается вниз. 68 остаток (аланин) особых вопросов у меня не вызвал.

Второй кандидат 38 глутаминовая кислота



Здесь нет особых вопросов – она явно не вписывается в электронную плотность и рядом не заметно облаков, которые могли бы принадлежать ей. Возможно, особенности эксперимента.

Ну и последний странный остаток опять же глутаминовая кислота (9)



Ситуация примерно аналогична предыдущей. Остаток явно не вписан, подходящих облаков электронной плотности рядом нет.

Заключение.

В общем и целом, структура мне кажется очень хорошей. Главный вопрос вызывает странности в цепи А, где самый маргинальный остаток почему-то не соответствует заявленной последовательности. Второе, что можно заметить: все остальные остатки, с которыми возникли проблемы – остатки кислот (аспарагиновой или глутаминовой). Возможно, эти две аминокислоты всегда определяются чуть хуже остальных, возможно – только в данном методе, а может быть просто случайность.