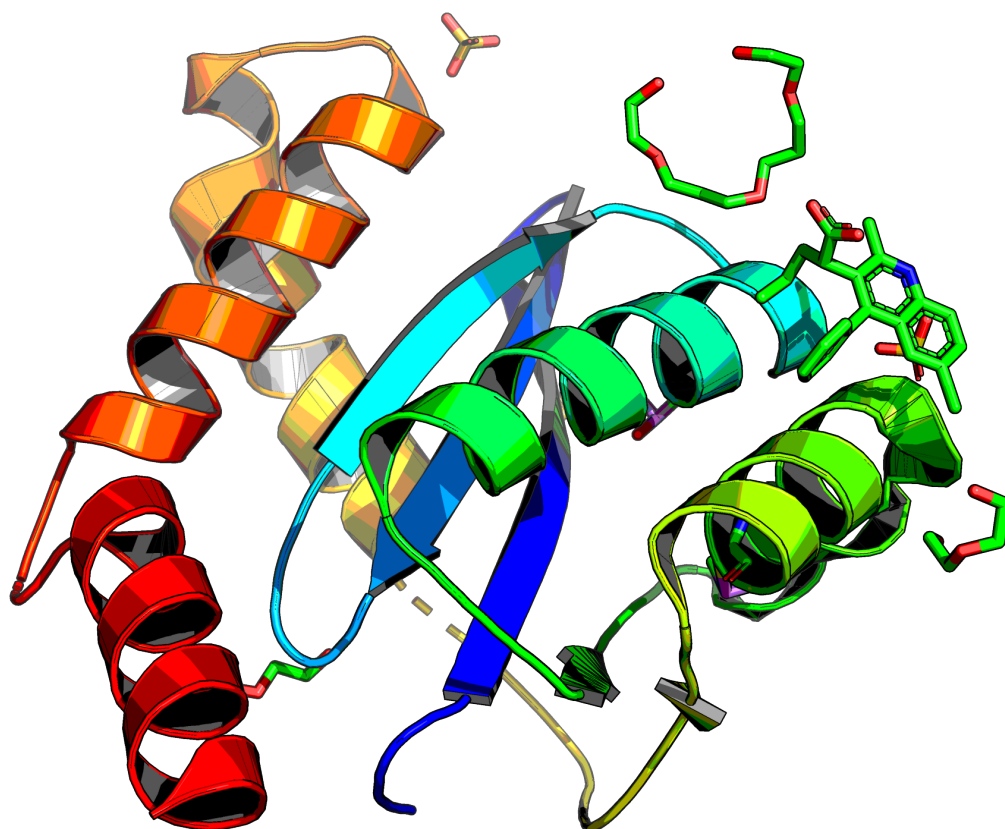


Отчет по качеству РСА расшифровки структуры интегразы ВИЧ-1 (PDB ID: 3lpu)



*Московский государственный университет
имени М.В. Ломоносова*

Факультет биоинженерии и биоинформатики

Галкин Семен

2019

Оглавление

Аннотация	3
Введение	3
Результаты и обсуждение	4
Общая информация о модели	4
Значения индикаторов качества модели в целом	4
Анализ маргинальных остатков	6
Сравнение модели PDB и PDB_redo	9
Заключение	11
Список литературы	12

Аннотация

В данной работе была проведена оценка качества расшифровки структуры интегразы ВИЧ-1 широким спектром биоинформатических методов. По результатам работы были сделаны выводы и дана оценка качества рассматриваемой структуры.

Введение

Интегразы ВИЧ-1 — фермент, основной функцией которого является осуществление интеграции лентивирусной кДНК в геном человека. Помимо этой функции, интегразы также способны взаимодействовать с клеточными белками, которые способствуют её импорту в ядро и репарации пост-интеграционных повреждений ДНК [1, 2, 3]. К сожалению, интегразы ВИЧ-1 плохо кристаллизуются и на сегодняшний день её полная структура остаётся неизвестной. Однако получена структура её каталитического домена, который соответствует аминокислотам 55-209. На рисунке 1 приведено изображение изучаемого объекта — интегразы 3lpu.

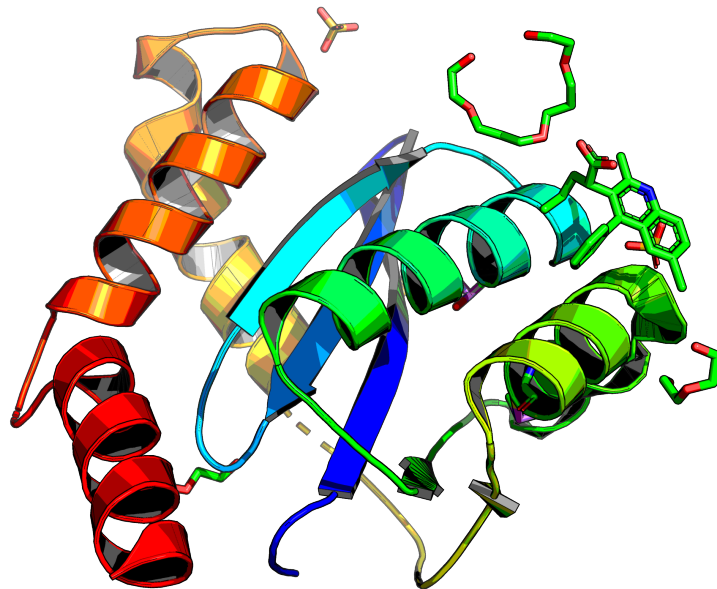


Рис. 1. Структура каталитического домена интегразы 3lpu.

Результаты и обсуждение

Общая информация о модели

Данные для этого и последующих разделов во многом опираются на развернутый отчет по валидации структуры из базы данных PDB [4]. Самая базовая информация о структуре представлена в Таблице 1.

Таблица 1. Общая информация о структуре 3lpu

Значение	Параметр
Состав комплекса	Одна полипептидная цепь
Год	2010
Авторы	Nicolet, S.; Christ, F.; Voet, A.; Marchand, A.; Strelkov, S.V.; de Maeyer, M.; Chaltin, P.; Debyzer, Z.
Статья	Christ, F., Voet, A., Marchand, A. et al. Rational design of small-molecule inhibitors of the LEDGF/p75-integrase interaction and HIV replication. Nat Chem Biol 6, 442–448 (2010) doi:10.1038/nchembio.370
Метод решения фазовой проблемы	Direct
Число измеренных рефлексов	14135
Разрешение	1.95Å
Полнота набора структурных факторов	99.95%
Параметры кристаллографической ячейки	$a = 72.05\text{Å}$, $b = 72.05\text{Å}$, $c = 66.35\text{Å}$ $\alpha = 90.00^\circ$, $\beta = 90.00^\circ$, $\gamma = 120.00^\circ$
Кристаллографическая группа	P 31 2 1
Наличие некристаллографических симметрий в асимметрической ячейке	Нет (асимметрическая ячейка содержит одну полипептидную цепь)

Значения индикаторов качества модели в целом

В этом разделе мы обратим внимание на основные показатели качества модели. Начнём с самых характерных параметров — R и R_{free} , которые описывают соответствие нашей модели экспериментальным данным. Значение R составляет 20.3%, что в целом является хорошим значением. Значение R_{free} — 22,06%. Разница между R_{free} и R составляет всего 1.76%,

что позволяет утверждать, что модель хорошая, а переоптимизации не произошло. Из 14135 рефлексов, 746 использовались для расчёта R_{free} .

Что касается маргинальных остатков (Рис. 2), то картина выглядит весьма приятно: 138/140 остатков (98.6%) находятся в благоприятных областях (по углам пси и фи), а 139/140 (99.3%) находятся в разрешенных областях. Имеется один аутлаер: 56CYS. На рисунке 2 его положение отмечено красной точкой.

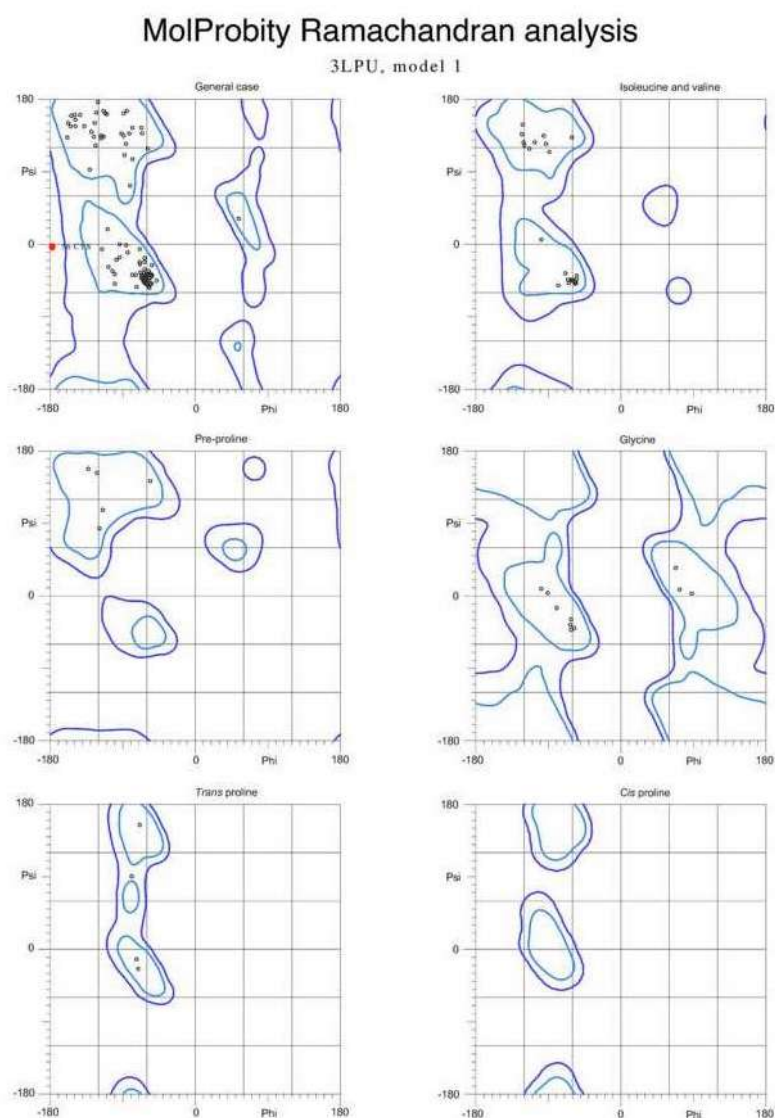


Рисунок 2. Карты Рамачандрана для структуры 3lpu [5].

Теперь пройдемся по другим параметрам: Clashscore составил 14.43, то есть на 1000 атомов структуры в среднем приходится 14.43 недопустимых наложений атомов. У 57% других структур Clashscore хуже. Каких-то серьезных отклонений длин ковалентных связей или валентных углов от

теории обнаружено не было (Bad bonds = Bad angels = 0). С C β атомами тоже всё хорошо. Все пролины структуры находятся в транс положении. 17 остатков имеют RSRZ > 2, то есть не очень хорошо вписываются в электронную плотность. Также, сервис MolProbity нашёл 3 плохих ротамера [6].

Анализ маргинальных остатков

В Таблице 2 приведен список маргинальных остатков (не всех). Часть остатков из этой таблицы будут взяты для дальнейшего анализа.

Таблица 2. Маргинальные остатки

Остаток	Показатель, по которому отобран остаток
56CYS	Аутлаер по карте Рамачандрана Перекрывается атомом HB3 с атомом O 55ASP (0.55Å) RSRZ = 6.0
63LEU	Сильно перекрывается атомом HD11 с атомом HD21 74LEU
66THR	Плохой ротамер
102LEU	Плохой ротамер
103LYS	Плохой ротамер
209GLN	RSRZ = 5.1
139PHE	RSRZ = 5.0
55ASP	RSRZ = 4.8 Перекрывается атомом O с атомом HB3 56CYS
194TYR	RSRZ = 4.4

Начнём с самого «ужасного» по всем параметрам остатка — **56CYS**.

Значения углов ϕ и ψ для этого остатка составляют -178.0° и -3.5° соответственно. Электронная плотность выглядит правда не очень (Рис. 3). Что-то разумное начинает проявляться при уровне отсечки в полторы сигмы. Можно заметить, что сходные проблемы с электронной плотностью наблюдаются у 55 аспартата, что может говорить о том, что эти проблемы связаны скорее с тем, что эти остатки находятся на N-концевом неструктурированном loop'е. Ровно этим, кстати, можно объяснить и перекрывание атомов HB3 56CYS и атома O 55ASP (Рис. 4).

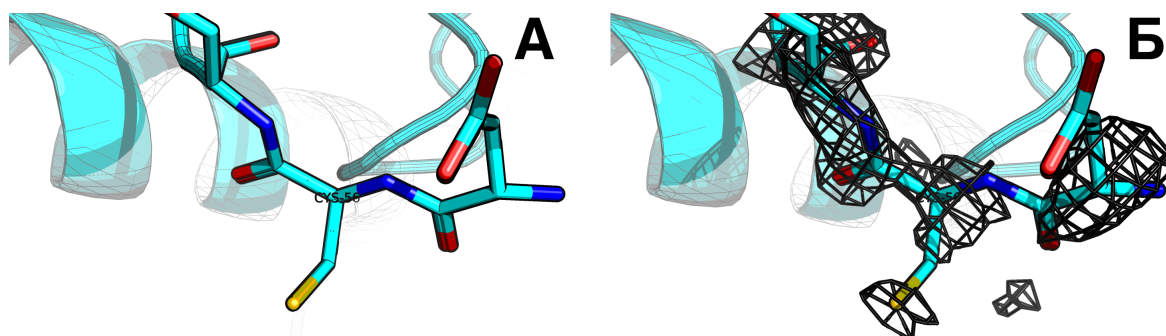


Рисунок 3. А: 56CYS интегразы 3лпу. Б: Электронная плотность на уровне отсечки 1.5 сигмы вокруг 56CYS и соседних остатков.

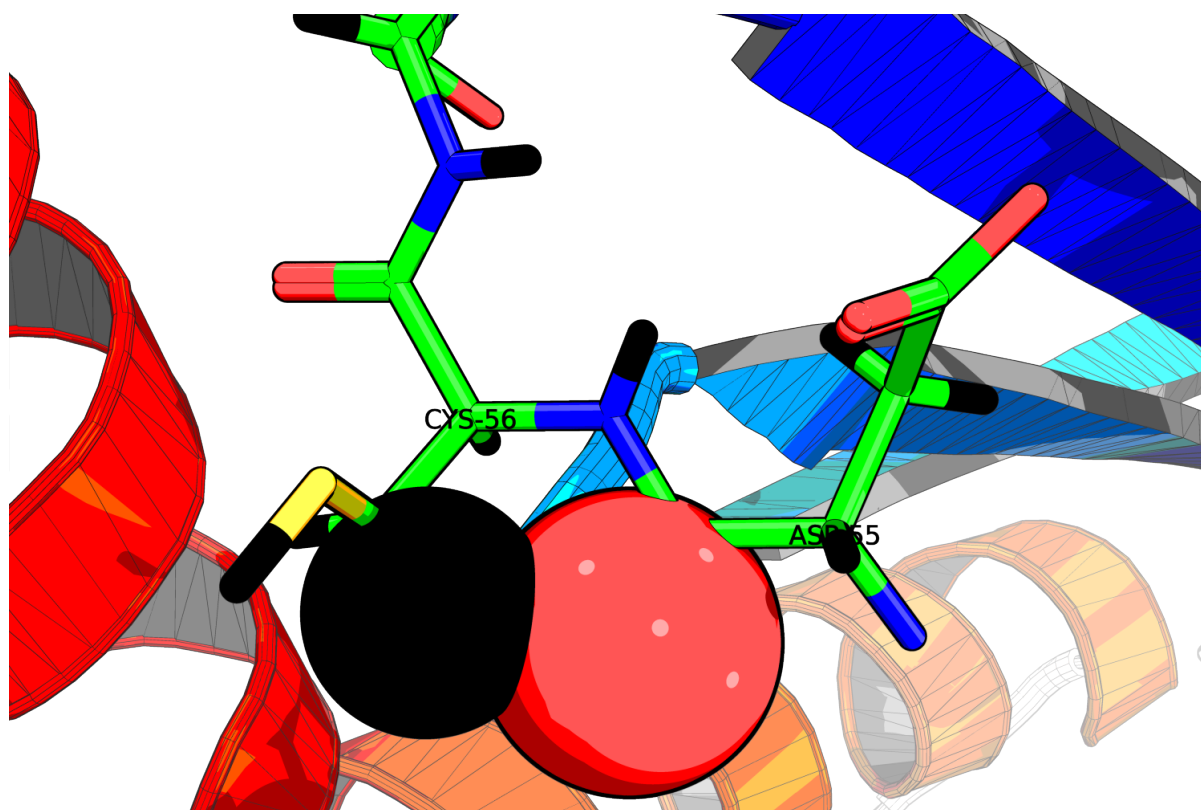


Рисунок 4. Перекрывание атома НВ3 56CYS с атомом О 55ASP.

Далее обратим внимание на частично разобранный остаток **55ASP**. На рисунке 3Б видно, что при уровне отсечки в полторы сигмы его электронная плотность выглядит совсем печально. И только при снижении уровня отсечки до 0.5 сигмы, 55ASP начинает более-менее нормально вписываться в электронную плотность (Рис. 5).

Что касается **63LEU**, то сервис MolProbity показал, что атом HD11 этого остатка сильно перекрывается с атомом HD21 74LEU (Рис. 6). Интересно, что авторы модели предлагают два варианта расположения 63LEU.

Результаты выдачи MolProbity позволяют сказать, что не перекрывающийся вариант 63LEU является более предпочтительным.

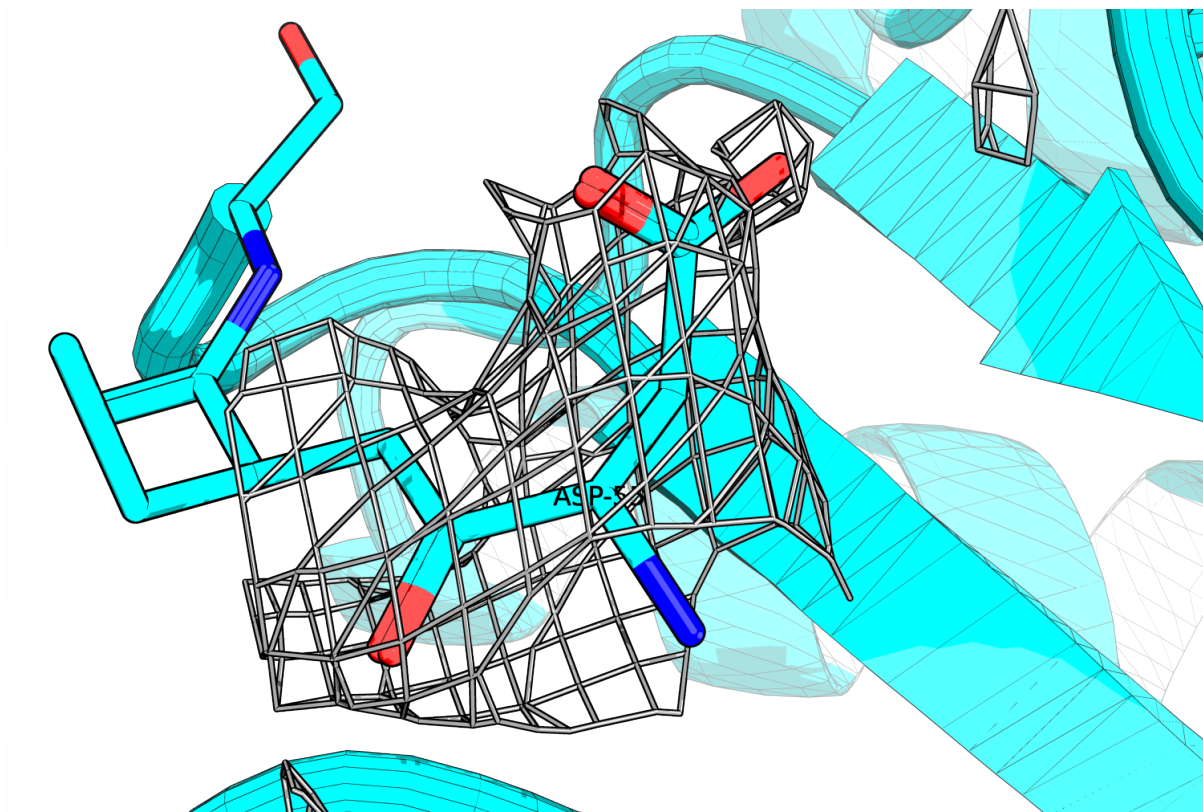


Рисунок 5. Электронная плотность 55ASP на уровне отсечки 0.5 сигмы.

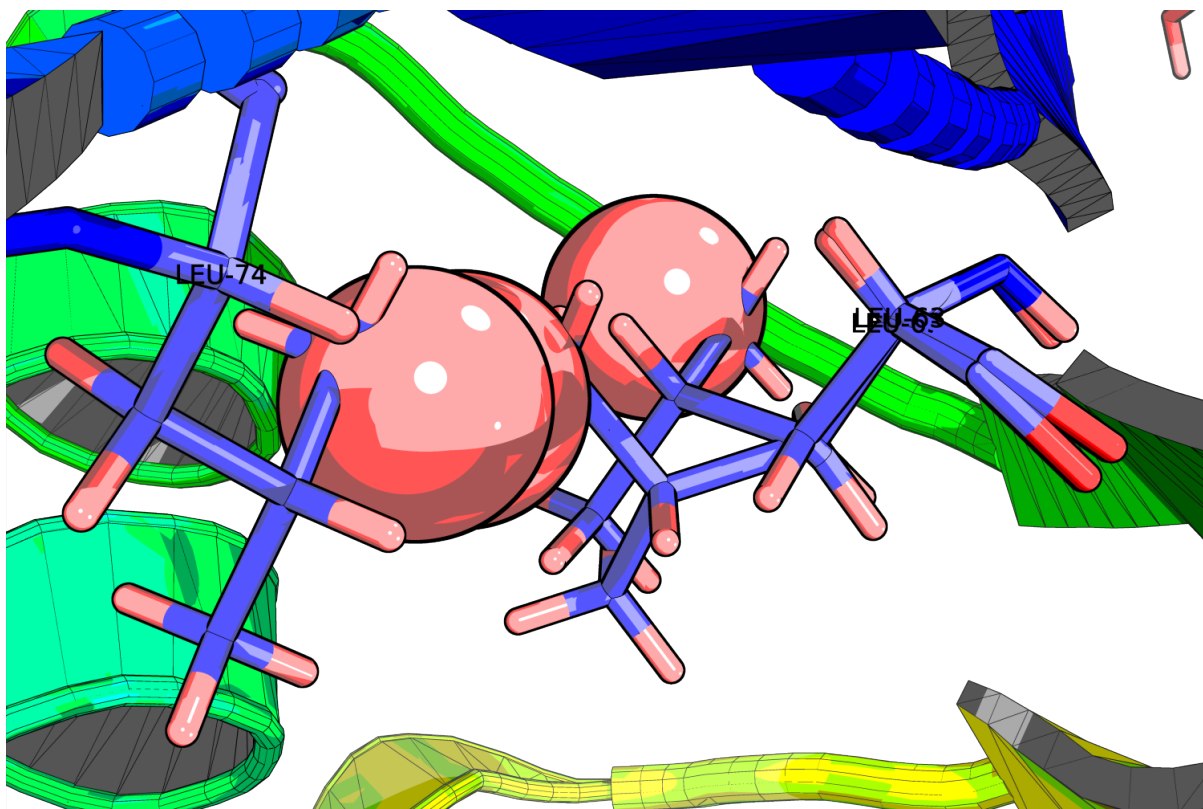


Рисунок 6. Перекрывание атома HD11 63

Теперь рассмотрим плохой ротамер **103LYS**. Он испытывает трудности с χ_1 углами. Выглядит правда не очень, он как-то странно согнут (Рис. 7А). Однако при рассмотрении электронной плотности (Рис. 7Б) видно, что остаток вполне хорошо в неё вписывается.

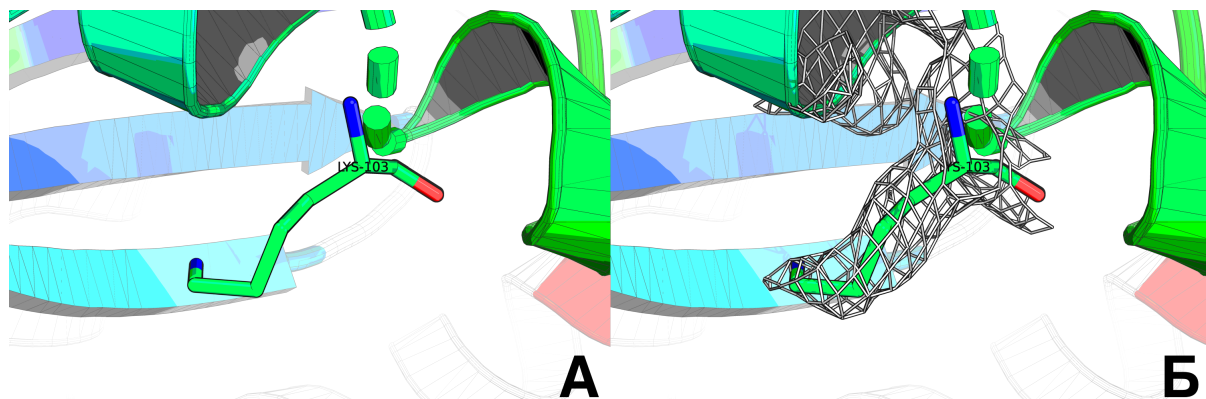


Рисунок 7. А: 103LYS. Б: 103LYS и его электронная плотность при уровне отсечки 1.5 сигмы.

Теперь обратим внимание на **209GLN**. Этот остаток имеет очень высокое значение RSRZ, то есть плохо вписывается в электронную плотность. Это и правда так (Рис. 8). Однако это скорее всего связано с тем, что он является последним остатком полипептидной цепи.

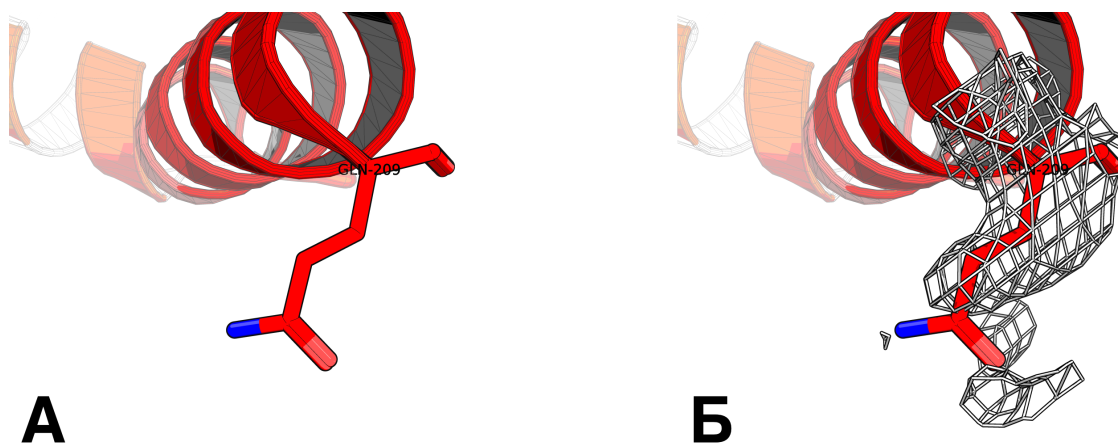


Рисунок 8. А: 209GLN. Б: 209GLN и его электронная плотность при уровне отсечки 0.5 сигмы.

Сравнение модели PDB и PDB_redo

В базе данных PDB_redo хранятся оптимизированные модели структур из PDB банка. В целом, оптимизация пошла на пользу: значение R снизилось с 0.2024 до 0.1688, R_{free} также снизился с 0.2188 до 0.1843.

56CYS перестал лежать в запрещенной области карты Рамачандрана. Положение плохих ротамеров стало лучше (Рис. 9). Далее мне стало интересно посмотреть на Clashscore новой структуры. Он очень сильно изменился! Вместо 14.43 он составил всего 4.54, что закинуло новую структуру аж в 98й перцентиль! Забавный результат.

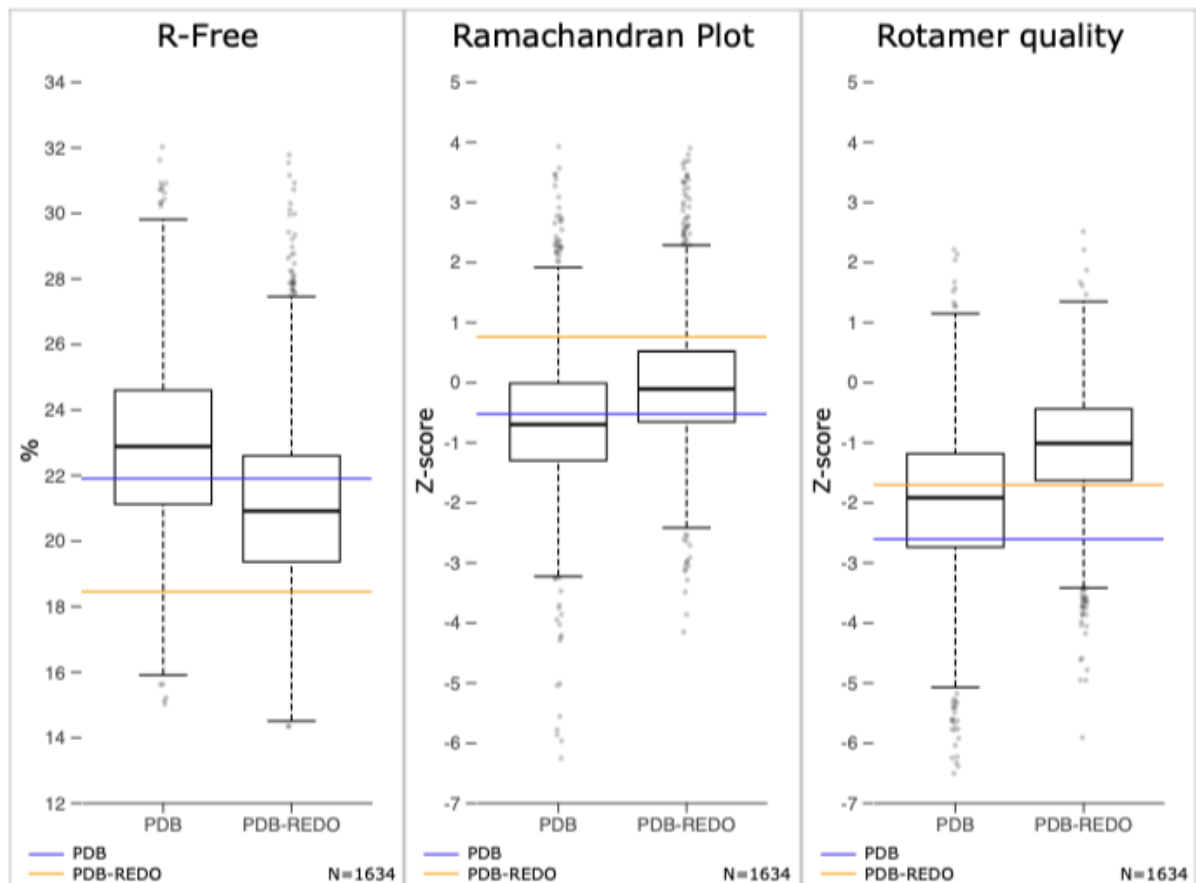


Рисунок 9. Сравнение основных параметров качества структуры 3lri из PDB и PDB_redo [7].

Заключение

В данной работе был проведён анализ качества структуры каталитического домена интегразы ВИЧ-1 3lpu из базы данных PDB. По результатам анализа трудно назвать структуру отличной, я бы охарактеризовал её как хорошую, но со сдвигом в сторону удовлетворительной. Интересно, что сервис PDB_redo смог улучшить структуру почти по всем параметрам и помог избавиться от плохих ротамеров, аутлаера по карте Рамачандрана, а также помог сильно снизить количество перекрывающихся атомов в структуре.

Список литературы

1. Craigie R. The molecular biology of HIV integrase. *Future Virol.* 2012;7(7):679–686. doi:10.2217/FVL.12.56
2. Poeschla, E.M. Integrase, LEDGF/p75 and HIV replication. *Cell. Mol. Life Sci.* 65, 1403–1424 (2008) doi:10.1007/s00018-008-7540-5
3. Zheng Y, Ao Z, Wang B, Jayappa KD, Yao X. Host protein Ku70 binds and protects HIV-1 integrase from proteasomal degradation and is required for HIV replication. *J Biol Chem.* 2011;286(20):17722–17735. doi:10.1074/jbc.M110.184739
4. http://files.rcsb.org/pub/pdb/validation_reports/lp/3lpu/3lpu_full_validation.pdf
5. https://cdn.rcsb.org/etl/ramachandran/img/lp/3lpu/3lpu_rama.jpg
6. <http://molprobit.biochem.duke.edu/index.php>
7. <https://pdb-redo.eu/db/3lpu>