

Отчет по качеству расшифровки структуры 4ТМА,  
полученной методом РСА

Работу выполнил:

Сутормин Д.А., 4 курс

Москва

2015



## Общая информация о структуре

Структура 4ТМА была получена в 2014 году международной группой авторов из Калифорнийского Института в Беркли, США и из Индийского Научного Института в Бангалоре, Индия<sup>1</sup>. Некоторые характеристики структуры суммированы в **Таблице 1**.

**Таблица 1.** Основные характеристики структуры 4ТМА

Параметр	Значение	
Состав комплекса	(GyrAB) <sub>2</sub> YacG <sub>2</sub>	
Метод решения фазовой проблемы	Молекулярное замещение с помощью структуры 3NUH	
Число измеренных рефлексов	67314	
Разрешение	3,3 Å	
Диапазон разрешений	49,32 – 3,30 Å	
Полнота данных	78,0 %	
Кристаллографическая группа	P 21 21 21	
R-фактор	0,238 <sup>1</sup>	
Свободный R-фактор	0,284 <sup>1</sup>	
<b>Параметры ячейки</b>	Стороны (Å)	Углы (°)
	a= 107.2	α=90
	b= 114.5	β=90
	c= 462.1	γ=90

Согласно эмпирическому правилу, R-фактор не превышает разрешение/10:  $0,238 < 0,33$ . Также,  $(R - R\text{-free})=0,046$ , что примерно равно 5%. Данные оценки говорят о том, что структура достаточно хороша для своего разрешения. Однако, RSR для структуры (получен в EDS) составляет 0,245, что является довольно большой величиной (значения выше 0,2 говорят о плохом соответствии экспериментальной ЭП модельной ЭП).

## Результаты

### Анализ структуры сервисами [MolProbity](#) и [EDS](#)

С помощью сервиса MolProbity<sup>4</sup> к структуре были добавлены водороды, определены стерически-затрудненные боковые цепи Asn, Gln, His. После редакции всех инверсий радикалов, был проведен полный анализ взаимодействий атомов в структуре.

**Clashscore** структуры составил 18,26, что является 97% перцентилью среди моделей с уровнем разрешения хуже 3 Å. Можно сказать, что для своего разрешения, структура довольно хорошая.

Для поиска маргинальных остатков по торсионным углам φ и ψ были построены карты Рамачандрана (**Рисунок 2**). Всего сервисом было обнаружено 8 маргинальных остатков, 5 из которых перечислены в **Таблице 2** (выделены красным).

Также к маргиналам были причислены несколько, исправленных на предыдущем этапе, остатков (**Таблица 2**, выделены желтым).

Были найдена пара остатков с максимальным уровнем перекрытия – более 1,5 Å (**Таблица 2**, выделены зеленым).

Группа остатков (A 378-389) была включена в таблицу из-за экстремальных значений RSR (>0.3), они выделены синим (значения получены при помощи EDS<sup>5</sup>).



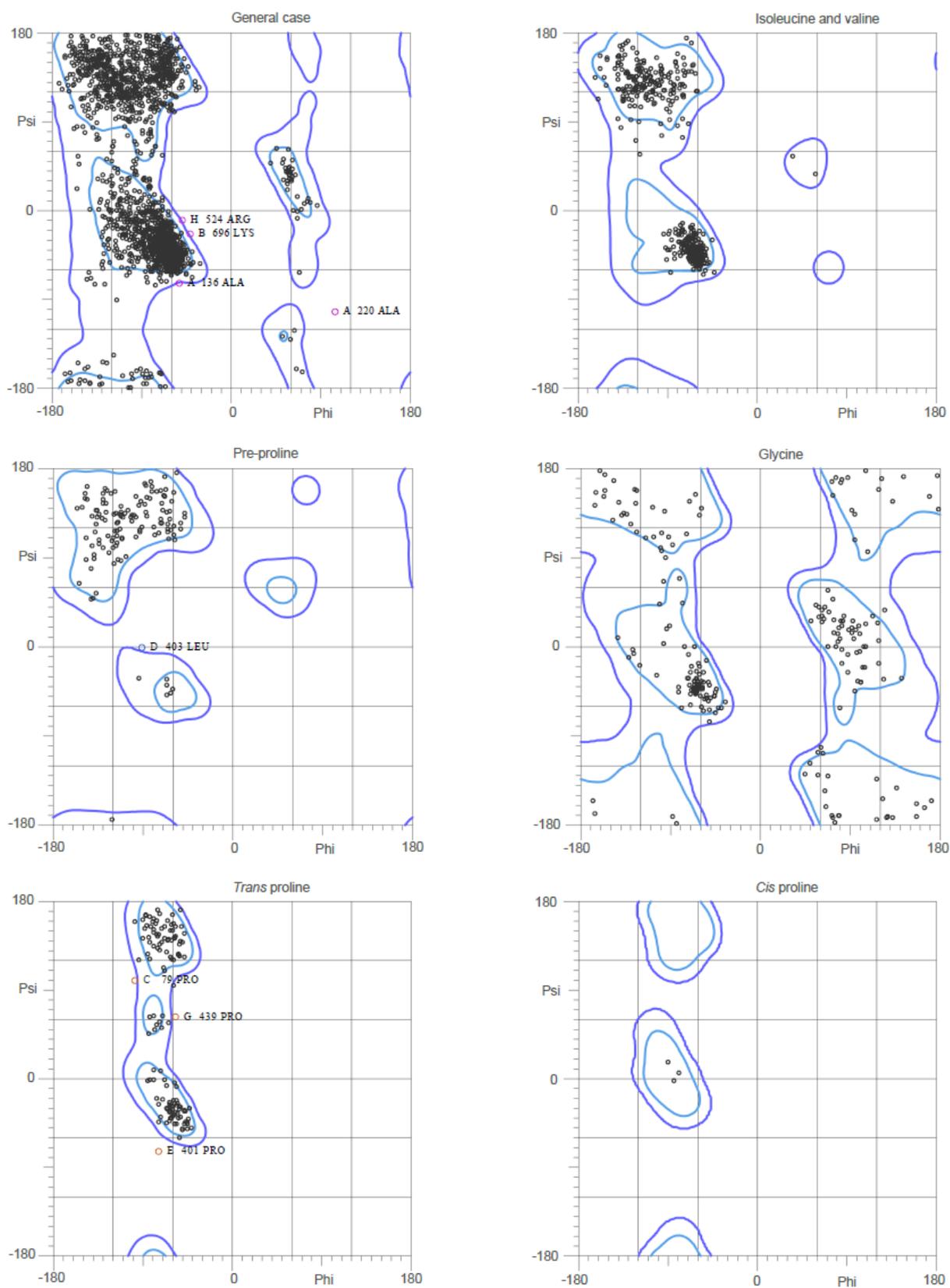


Рисунок 2. Карты Рамачандрана для структуры 4ТМА.

## Анализ отдельных маргинальных остатков

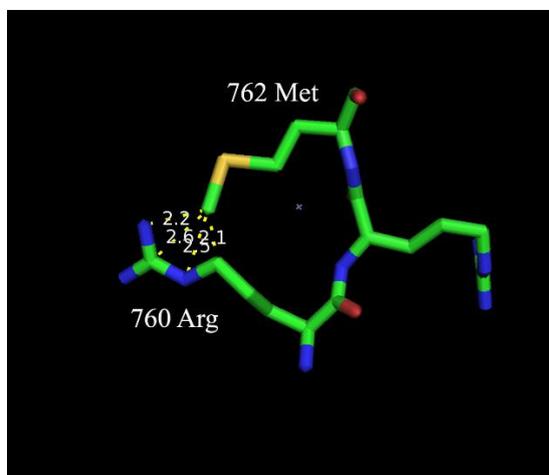
Для детального анализа были выбраны остатки или группы остатков, перечисленные в **таблице 3**, в ней же перечислены маргинальные свойства, по которым проводился отбор.

**Таблица 3.** Остатки, отобранные для детального анализа; цветовой код такой же, как и в **таблице 2**.

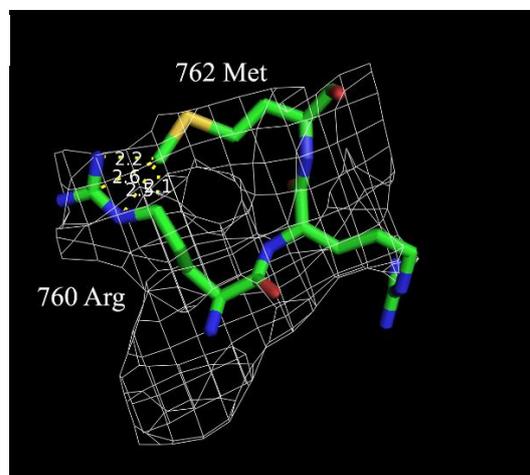
Позиция остатка	Остаток	( $\phi$ , $\psi$ ) ( $^\circ$ )	Clash > 0.4Å	Rotamer	Bond angles	RSR
D 760	ARG	-	1.52Å HD3 with D 762 MET CE	-	-	0.219
D 762	MET	-	1.52Å CE with D 760 ARG HD3	-	-	0.137
A 378-389						>0.3
A 220	ALA	(104.3, - 102.9)	0.45Å O with A 221 ALA HB3	-	-	0.203
B 460	LYS	-	0.74Å HE2 with I 46 ARG HD2	OUTLIER (0%) chi angles: 64.4,177,172,355.5	OUTLIER(S) worst is N-CA-C: 5.8 $\sigma$	0.250

### 1. Анализ трипептида D760-762 (ArgArgMet) (**Рисунок 3а,б**).

а.



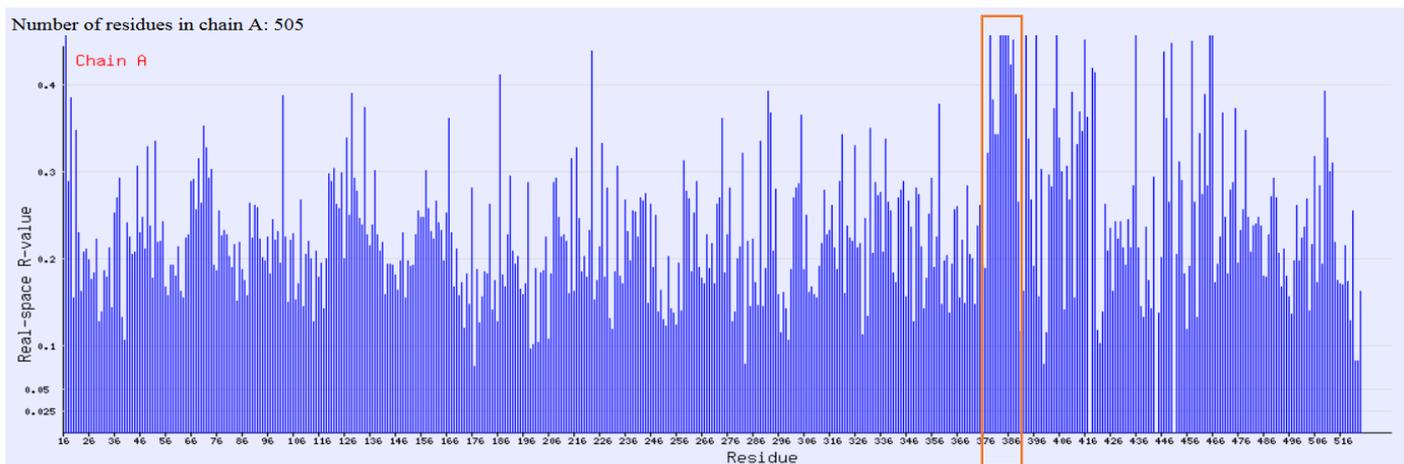
б.



**Рисунок 3.** а. Трипептид с экстремально высоким перекрытием боковых радикалов 760 Arg и 760 Met. Пунктирами показаны расстояния между атомами. б. Наложение электронной плотности на трипептид (уровень подрезки 0.7)

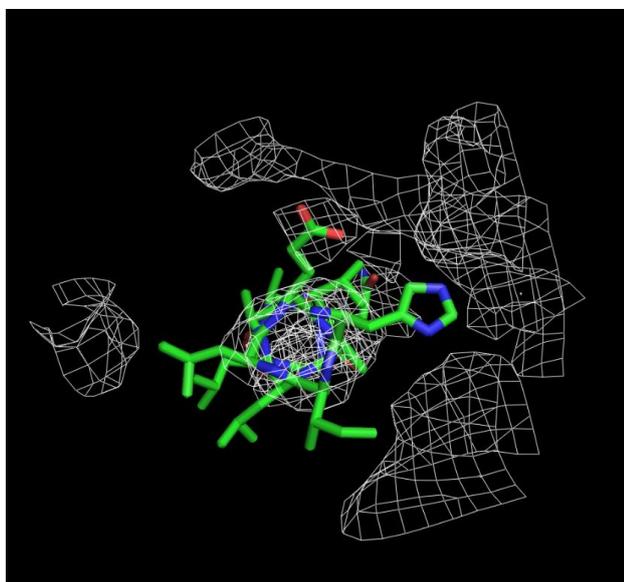
Видно, что радикалы аргинина и метионина очень сильно сближены (расстояние хорошей водородной связи), хотя гуанидиновая группа аргинина высоко полярна, а терминальный метил метионина – неполярен (**Рисунок 3а**). Такое поведение радикалов сложно объяснить особенностью структуры, видимо, дело в ошибке расшифровки. К тому же, RSR аргинина достаточно высок (0,219), и положение его радикала можно слегка оптимизировать в функции ЭП (**Рисунок 3б**).

## 2. Область с экстремально высоким RSR (>0,3): А 378-389 (Рисунок 4)

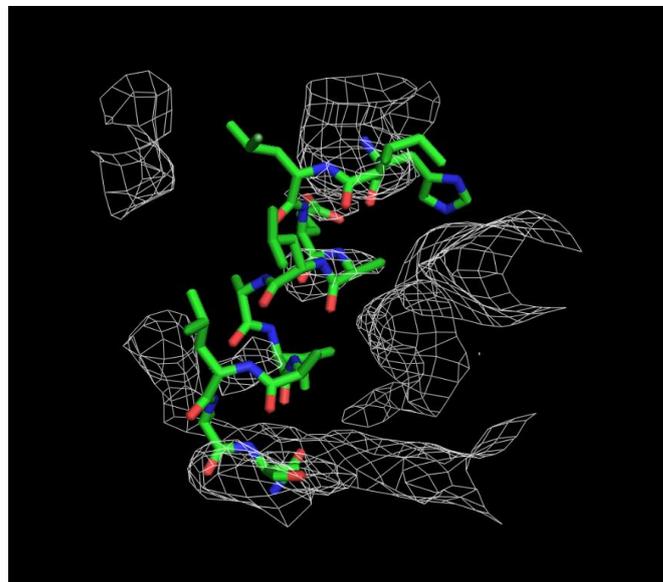


**Рисунок 4.** Распределение RSR по остаткам цепи А. Оранжевым прямоугольником выделен блок с экстремальными значениями RSR.

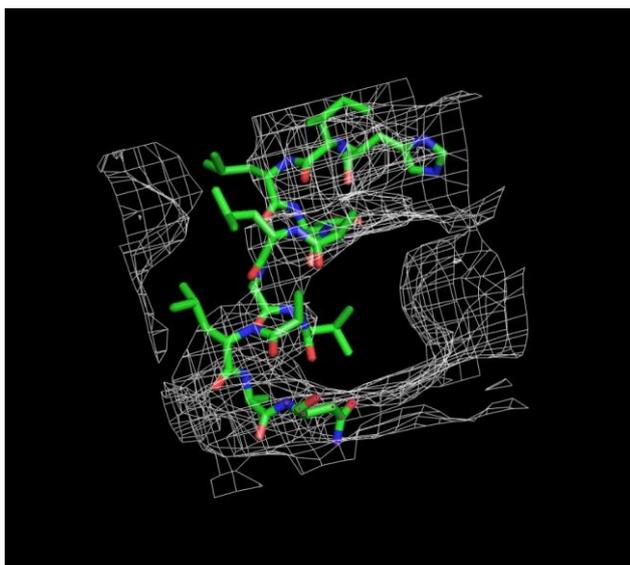
а.



б.



в.



**Рисунок 5.** Участок цепи А с 378 по 389 остатки. а.  $\alpha$ -спиральная организация фрагмента, б. ЭП региона, уровень подрезки 1.5, в. ЭП региона, уровень подрезки 0.7

Указанный регион имеет  $\alpha$ -спиральную организацию (**Рисунок 5а**), для которой можно ожидать высокую ЭП вдоль остова, однако, в данном случае, это не так (**Рисунок 5б**). При уровне подрезки

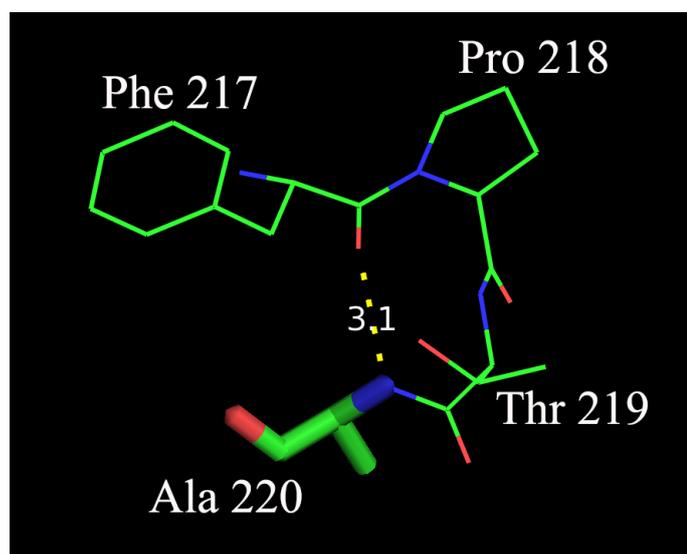
1.5, лишь несколько отрезков участка покрыты ЭП, хотя вокруг можно видеть много «шума», относящегося к соседним участкам структуры.

При уровне подрезки 0.7, ЭП покрывает ось спирали, однако радикалы аминокислотных остатков остаются свободными.

Можно заключить, что данный регион оказался удивительно электронно-дефицитным, и очень плохо разрешает детали структуры, отсюда и высокие значения RSR.

### 3. Маргинальный по торсионным углам $\phi$ , $\psi$ аланин А 220 (Рисунок 6).

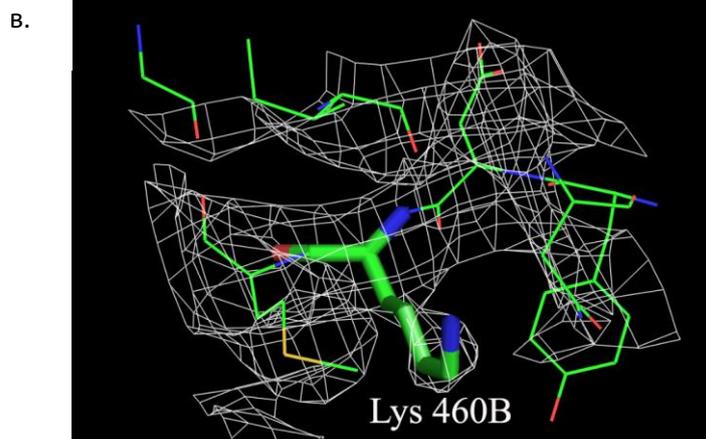
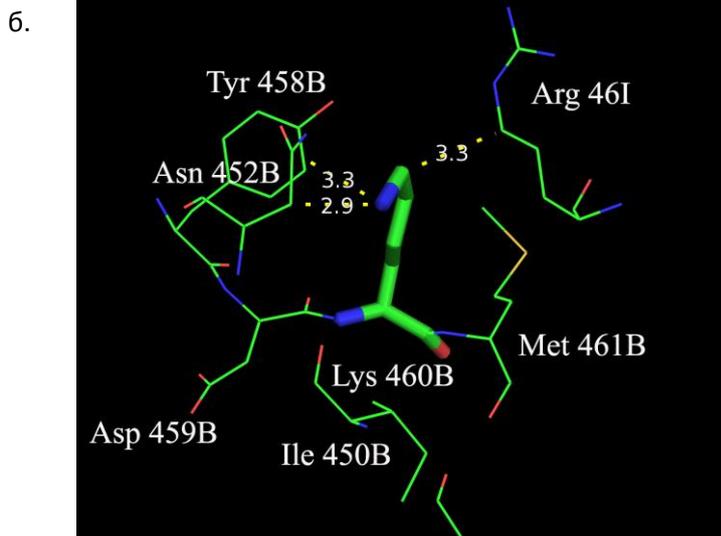
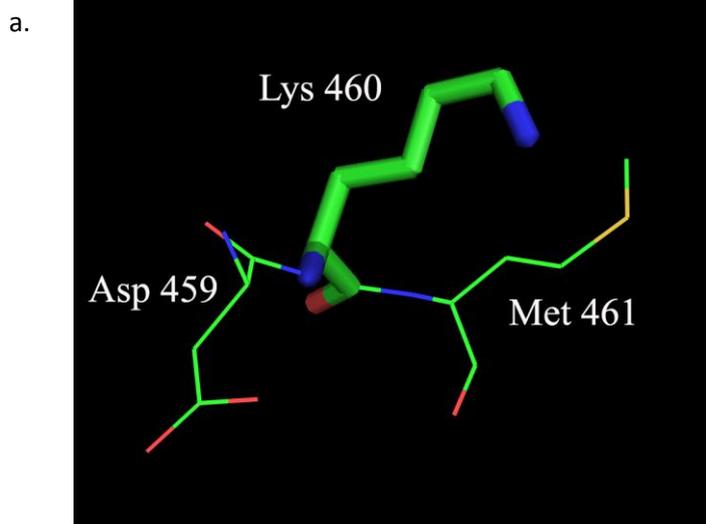
Данный аминокислотный остаток входит в состав  $\beta$ -поворота, чем и объясняются экстремальные значения углов (Рисунок 6).



**Рисунок 6.**  $\beta$ -поворот, в состав которого входит Ala 220, образующий водородную связь с Phe 217.

Следует заключить, что маргинальное положение аланина вызвано особенностями структуры.

4. Маргинальный, по конформации радикала, лизин В 460 (Рисунок 7).



**Рисунок 7.** Лизин В 460 и его окружение. а. Положение радикала лизина; б. Ближайшее окружение лизина; в. Лизин и его ЭП, уровень подрезки 1.0.

Лизин 460 имеет странно загнутый, как-бы в «цис-конформации», боковой радикал (Рисунок 7а). Если выявить всех близко расположенных соседей лизина, то окажется, что он заключен между аргинином I 46 и аспарагином В 452. (Рисунок 7б). Вероятно, положительно заряженные радикалы аргинина и лизина отталкиваются друг от друга, что и обеспечивает странную конформацию аминокислотного остатка.

Следует отметить, что лизин достаточно хорошо вписывается в ЭП (Рисунок 7в), так что данный случай, скорее,- особенность структуры.

## Выводы

Позиция остатка	Остаток	( $\phi$ , $\psi$ ) ( $^\circ$ )	Clash > 0.4Å	Rotamer	Bond angles	RSR	Вывод
D 760	ARG	-	1.52Å HD3 with D 762 MET CE	-	-	0.219	Ошибка расшифровки
D 762	MET	-	1.52Å CE with D 760 ARG HD3	-	-	0.137	Ошибка расшифровки
A 378-389						>0.3	Плохо разрешенный участок
A 220	ALA	(104.3, -102.9)	0.45Å O with A 221 ALA HB3	-	-	0.203	Особенность структуры (β-поворот)
B 460	LYS	-	0.74Å HE2 with I 46 ARG HD2	OUTLIER (0%) chi angles: 64.4,177,172,355.5	OUTLIER(S) worst is N- CA-C: 5.8 σ	0.250	Особенность структуры – соседний Arg

В двух случаях, на мой взгляд, были допущены неточности при расшифровке. Также два случая удалось объяснить особенностями структуры. Оставшийся участок, который был подвергнут анализу, отличается в целом очень плохим разрешением (визуально хуже, чем в среднем по структуре) и сложно сказать, с чем это связано.

Можно заключить, что структура имеет много изъянов, поскольку достаточно сложна и обладает средним разрешением (3.3 Å).

## Список литературы

1. Vos, S. M. *et al.* Direct control of type IIA topoisomerase activity by a chromosomally encoded regulatory protein. *Genes Dev.* **28**, 1485–97 (2014).
2. Gubaev, A. & Klostermeier, D. Reprint of ‘The mechanism of negative DNA supercoiling: A cascade of DNA-induced conformational changes prepares gyrase for strand passage’. *DNA Repair (Amst)*. **20**, 130–141 (2014).
3. Collin, F., Karkare, S. & Maxwell, A. Exploiting bacterial DNA gyrase as a drug target: Current state and perspectives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **92**, 479–497 (2011).
4. Chen, V. B. *et al.* MolProbity: all-atom structure validation for macromolecular crystallography. *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.* **66**, 12–21 (2010).
5. Kleywegt, G. J. *et al.* The Uppsala Electron-Density Server. *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.* **60**, 2240–2249 (2004).