

Задание 1

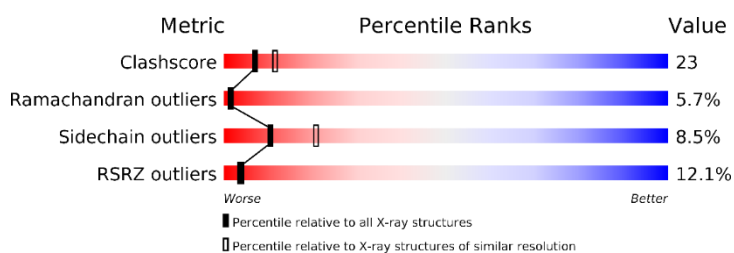
В ходе данного практикума анализировали структуру 1ZEN, принадлежащую фруктозо-1,6-бисфосфат альдозаза *E. coli*. Ее метрики качества приведены ниже. Видно, что качество модели сильно хуже чем в среднем по всему pdb или по структурам того же разрешения.

Resolution: 2.50 Å

R-Value Free: 0.326

R-Value Work: 0.243

R-Value Observed: 0.243



Рассмотрим, насколько хорошо структура покрыта электронной плотностью (рис.1А). Видно, что пара петель имеет очень слабую поддержку электронной плотностью или не имеет вообще - в таком случае данные аминокислотные остатки отсутствуют в модели. Очевидно, данные петли подвижны, поэтому плохо кристаллизуются. Это дополнительно подтверждается отсутствием соответствующих фрагментов на других структурах того же белка (рис.1В). Обе петли закристаллизованы только в одной структуре, но качество у нее тоже не очень. При этом многие альтернативные структуры имеют хорошее качество, таким образом, для изучения данного белка вполне разумно использовать другую структуру, а не 1ZEN.

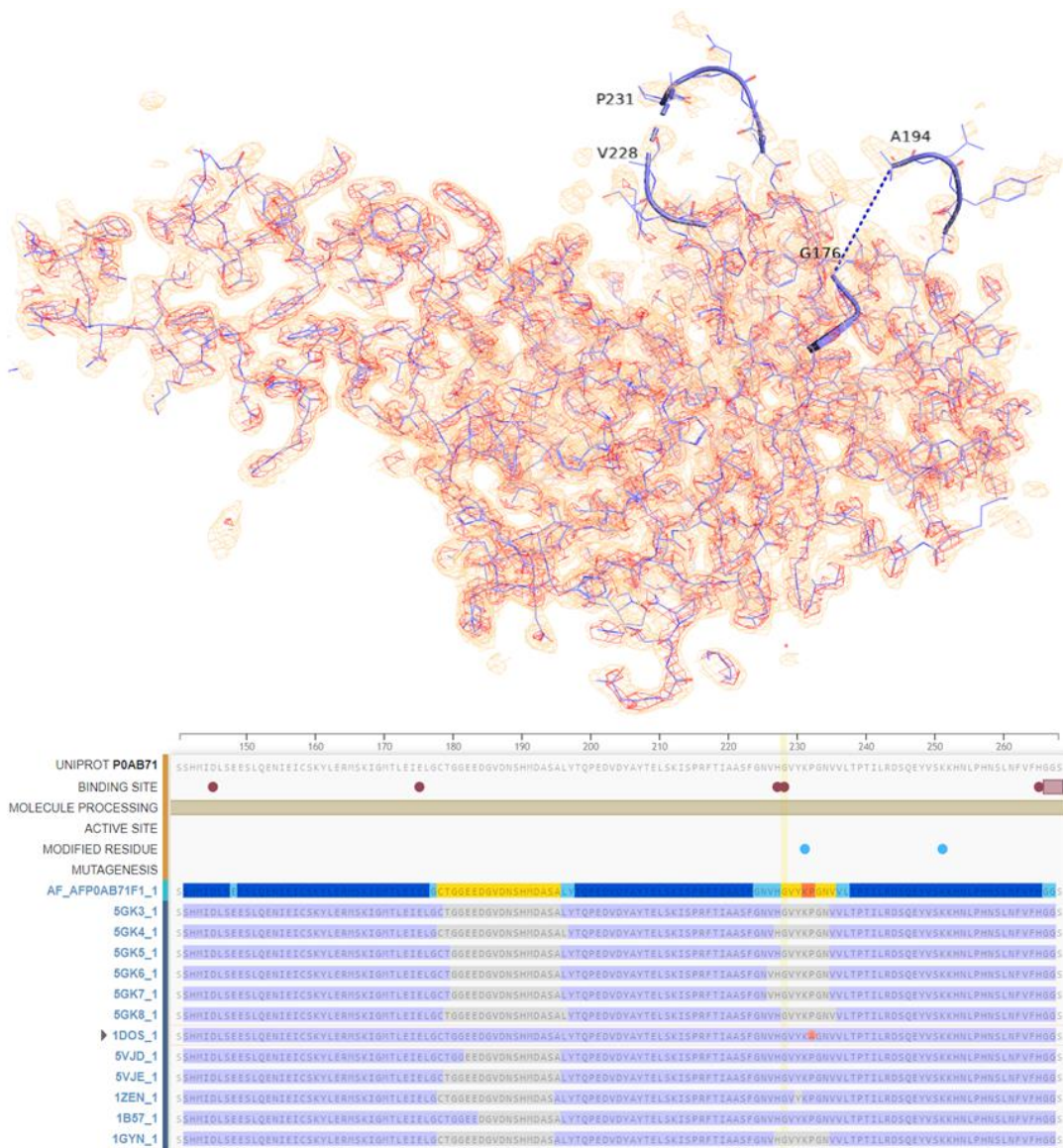


Рисунок 1 Структура 1ZEN и ее электронная плотность: красным - уровень подрезки 1, оранжевым - уровень подрезки 2. Неразрешенные и плохо поддерживаемые петли показаны в виде cartoon. – А. Аннотация неразрешенных петель в различных структурах на последовательности (показана желтым) – В.

Задание 2,3

Качество данной структуры было дополнительно оценено с помощью онлайн-сервиса <https://swissmodel.expasy.org/assess>, который выдает маргинальные по различным характеристикам остатки. На рис.2А, например, представлены карты Рамачандрана для остатков данной структуры. Часть аутлаеров, выделенная красным на рисунке, находится в петлях, обсуждавшихся выше, т.е причина их маргинальности ясна. Остальные случаи требуют индивидуального рассмотрения. Ограничимся выбором 2 аутлаеров по углам: His110 и Leu310. Первый из них координирует атом цинка. Также рассмотрим Gln198, для которого возможна неверная ориентация амидной группы, согласно анализу с помощью онлайн-сервиса

<https://flipper.services.came.sbg.ac.at/cgi-bin/flipper.php>.

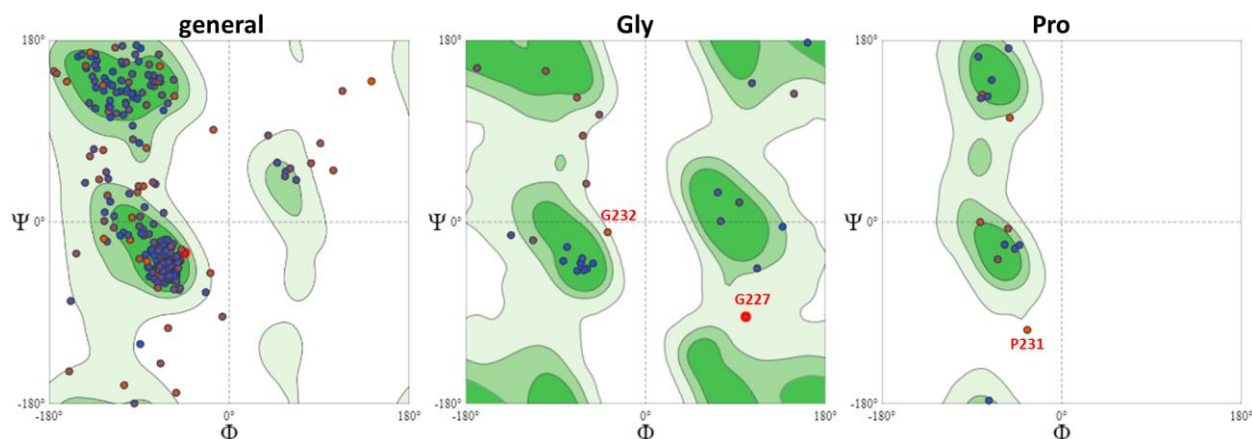


Рисунок 2 Остатки 1ZEN на карте Рамачандрана. Надписаны красным глицины и пролины, находящиеся около неразрешенных участков.

Оценим для каждого маргинального остатка соответствие плотности и окружению (рис.3). Начнем с глутамина (рис.3А). Данный остаток может взаимодействовать только с карбонильным кислородом серина 221, поскольку полярные группы других остатков находятся слишком далеко от него. На мой взгляд, при текущей ориентации амидной группы единственная водородная связь выглядит нормально. Если поменять местами азот и кислород амидной группы, тоже будет неплохо, но в первом случае водородная связь короче и лежит ближе к плоскости двойной связи карбонильного кислорода, так что я бы данную амидную группу не переворачивал. С другой стороны, она в целом не очень хорошо вписана в электронную плотность. Положение соответствующего остатка в улучшенной модели из PDB Redo слабо отличается от оригинала (рис.3А, справа).

Переходим к гистидину из сайта связывания цинка (рис.3В). Он вместе с другими двумя гистидинами и аспаратом формирует тетраэдрическую координационную сферу цинка. Данный остаток нормально соответствует своей электронной плотности и хорошо выглядит в контексте его роли в связывании цинка. В модели из PDB Redo этот остаток занимает примерно такое же положение. Таким образом, маргинальность выбранного гистидина объясняется его ролью в координации цинка.

Последний остаток, причину маргинальности которого исследовали, - лейцин 310 (рис.3С). Он находится на поверхности белка. Его боковой радикал очень плохо покрыт плотностью (ее едва можно видеть на уровне подрезки 0.5). К слову, боковой радикал соседнего тирозина вообще не видно. В улучшенной модели боковой радикал лейцина оказался повернут относительно своей плотности. Есть подозрение, что не стоит сильно верить положению этого остатка, поскольку петля, в которой он находится, тоже подвижная, судя по В-фактору. Так что его маргинальность скорее всего объясняется неточностью в электронной плотности из-за большой подвижности.

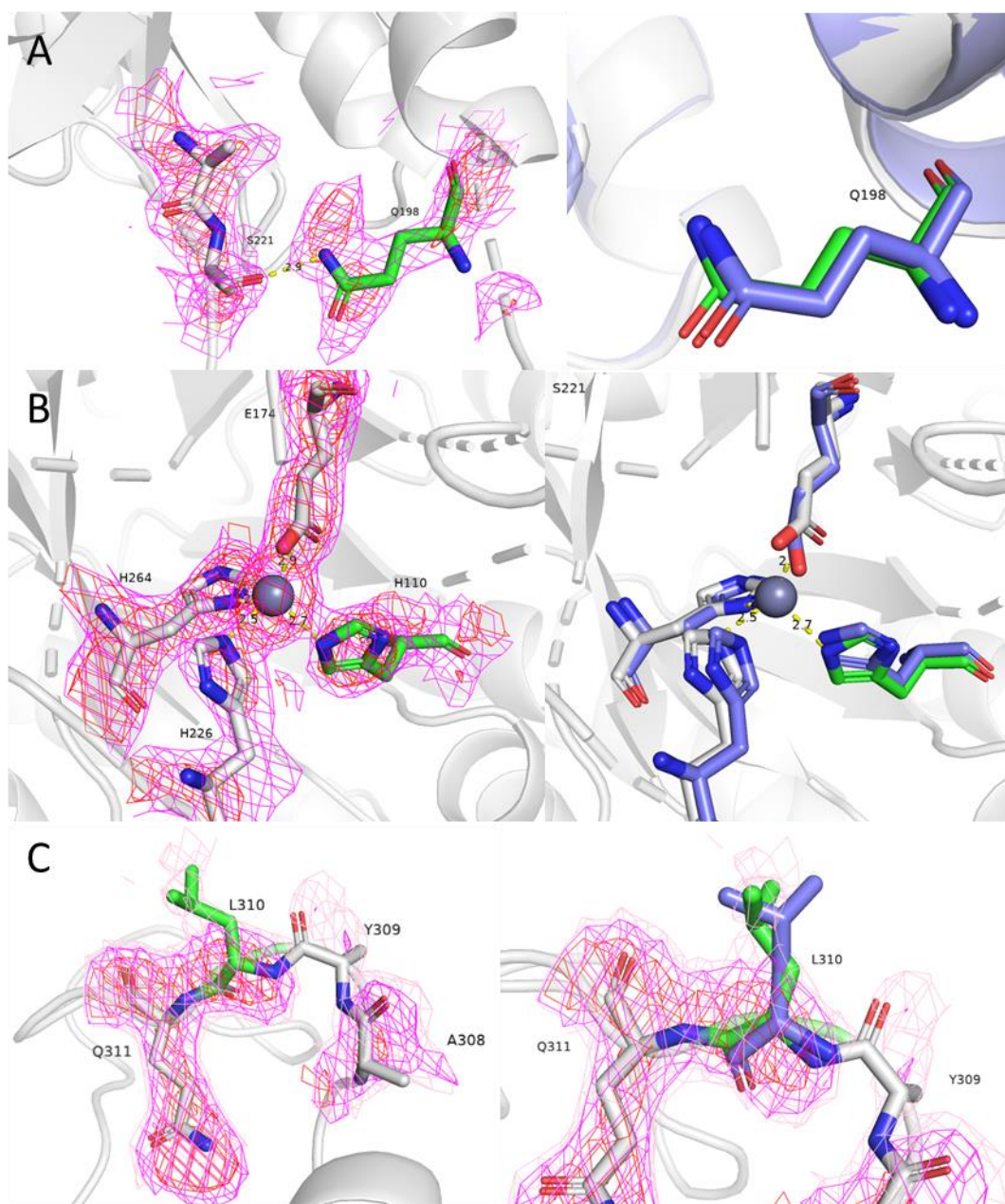


Рисунок 3 Структура маргинальных остатков и их окружения: А – глутамин 168, В – гистидин 110, С – лейцин 310. Рассматриваемые маргинальные остатки покрашены зеленым. Справа показана суперпозиция этого участка в оригинальной и улучшенной модели из PDB Redo. Электронная плотность покрашена по уровню подрезки: красный – 2, сиреневый – 1, розовый – 0.5 (показан только для С).

Ранее упоминалось, что в структуре присутствует цинк. На самом деле даже два. Поэтому также оценили соответствие данных ионов электронной плотности и их окружению с помощью онлайн-сервиса CheckmyMetal (<https://cmm.minorlab.org>). Выдача сервиса представлена на рис.4. Как видно из рисунка, выбор первого иона плохо соответствует наблюдаемому окружению, а второй – лучше. Но мы точно знаем, что в обеих позициях должен быть цинк, так что предлагаемые альтернативные ионы (в случае первого иона в качестве наилучшего варианта предлагается марганец, в случае второго – натрий, но не сильно лучше цинка) нам не очень интересны.

CheckMyMetal(CMM) Home				Report a Problem								
Validation						Model						
Nr	ID	Res.	Metal	Occupancy	B factor (env.) ¹	Atomic Contacts	Valence ²	nVECSUM ³	Geometry ^{1,4}	gRMSD(°) ¹	Vacancy ¹	Bidentate
1	A:359	ZN	Zn	0.6	34.6 (25.7)	O ₂ N ₁	0.3	0.42	Square Planar	25.1°	25%	0
2	A:360	ZN	Zn	1	38.6 (38.7)	O ₁ N ₃	0.6	0.2	Tetrahedral	18.4°	0	0

Nr	ID	Res.	Metal	Aproximated Ranking (Points)	Metal to model	Radius of refinement [Å]	Change occupancy to 1
1	A:359	ZN	Zn	Mn(9), K(8), Hg(8), Na(7), Cu(7), Ca(6), Fe(6), Co(6), Ni(6), Mg(5), Zn(5)	Mn ▾	Restrain ▾	<input type="checkbox"/>
2	A:360	ZN	Zn	Na(13), Zn(12) , Mn(11), Fe(11), Cu(11), Hg(11), K(10), Co(10), Ni(10), Mg(9), Ca(9)	Na ▾	Restrain ▾	<input type="checkbox"/>

Рисунок 4 Выдача CheckMyMetal для двух ионов цинка в структуре