



Институт мирового океана

Биоинформатическое предсказание структуры и свойств белка RoIB/RoIC из природно-трансгенного растения сладкого картофеля *Ipomoea batatas*

Авторы

Чухломина Е.Н.^{1,2}, Югай Ю.А.¹, Шкрыль Ю.Н.²

Аффилиация

¹Кафедра биохимии, микробиологии и биотехнологии ИМО ДВФУ

² Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН

Введение

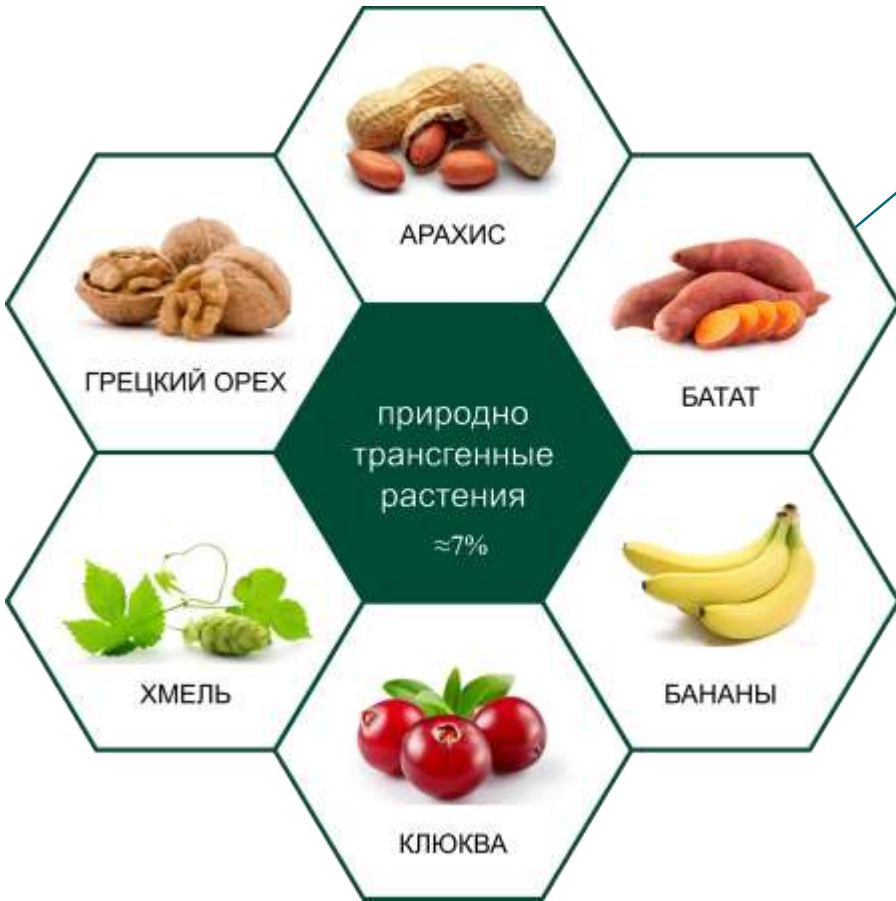


Рисунок 1 – Природно-трансгенное растение сладкий картофель *Ipomoea batatas*.

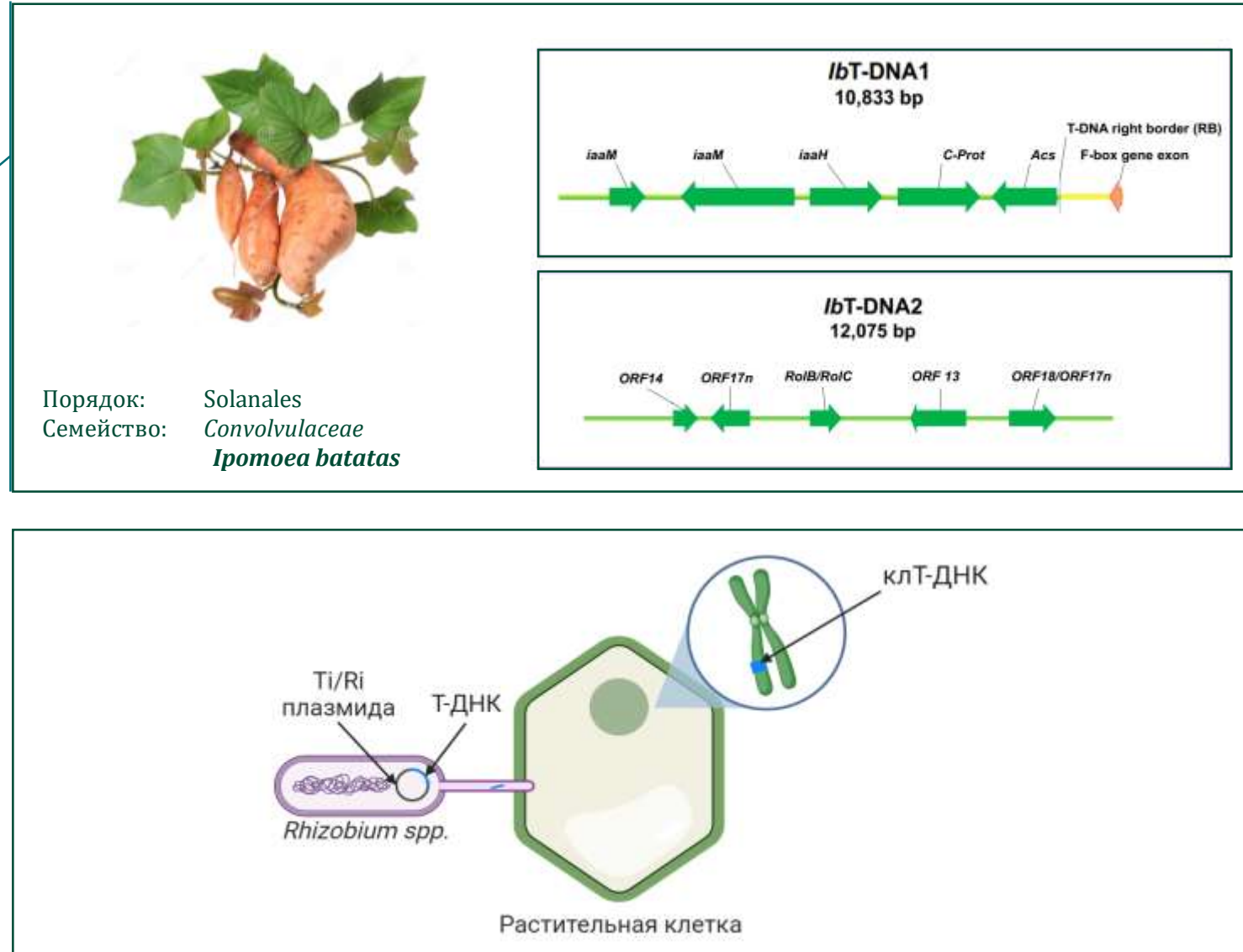


Рисунок 2 – Механизм агробактериальной трансформации

Цель и задачи

Цель – определение функциональных свойств гена *RolB/RolC* из природно-трансгенного растения сладкого картофеля *I. batatas* и молекулярных аспектов функционирования его белкового продукта на основе пространственной модели белка RolB/RolC.

Задачи:

- Определить физические и химические свойства первичной последовательности белка RolB/RolC;
- Построить, оптимизировать и оценить пространственную модель белка RolB/RolC;
- Сравнить пространственные структуры модели белка RolB/RolC с его ближайшими гомологами – белками RolB, RolC и 6b;
- Определить ключевые домены белка RolB/RolC, обладающие каталитической активностью.

Материалы и методы



Аминокислотная последовательность белка RolB/RolC была получена из GenBank (AIM47586.1). Первичная структура, физические и химические характеристики были рассчитаны с помощью ресурса ProtParam. Моделирование трехмерной структуры выполнялось с помощью серверов моделирования по гомологии (CI-TASSER, SWISS-MODEL, PHYRE2) и de novo (AlphaFold2). Уточнение и построение модели было выполнено с помощью инструмента 3Drefine. Окончательные модели были оценены серверами проверки структуры, такими как ProQ3, ProSA, SAVES (ERRAT, VERIFY3D). Структурное сравнение белка RolB/RolC с его потенциальными гомологами RolB, RolC, 6b и визуализация пространственных структур осуществлялись с помощью приложения PyMOL.

Рисунок 3 – Инструменты и ресурсы, использованные для построения пространственной модели белка RolB/RolC, его оценки и визуализации

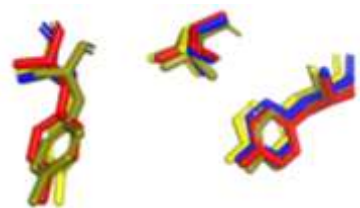
Результаты

✓ **Предсказанные физико-химические свойства:** гидрофильный, нейтральный, нестабильный.

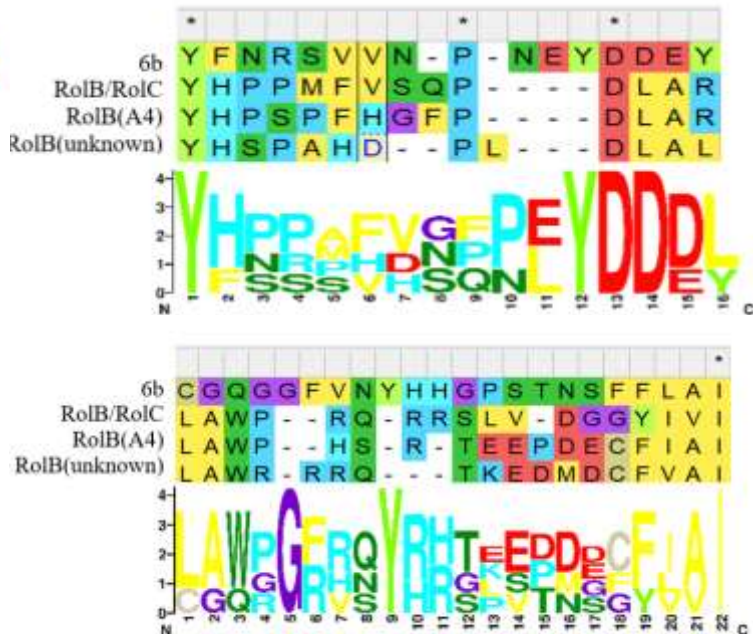
Молекулярный вес, Да	Длина последовательности, п.н.	IP	AI	GRAVY	-R	+R
26811.5	236	7.65	51	-0.214	23	24

Таблица 1 – Физико-химические свойства первичной аминокислотной последовательности белка RolB/ RolC

✓ **Поиск доменов:** АДФ-рибозилирующий домен



6b: Y₆₆ – T₉₃ – Y₁₅₃
 RolB/RolC: Y₁₀₃ – T₁₂₈ – Y₁₉₀
 RolB: Y₁₀₃ – T₁₂₈ – Y₁₉₀
 RolC: Y₆₄ – T₉₀ – Y₁₅₄



✓ **Построение модели белка RolB/ RolC и его сравнение с вероятными гомологами:**

- Шаблон – белок 6b
- Идентичность 18–19%
- Покрытие 72–86%
- 3 α-спирали по периферии, 5-7 β-листов в центре



Рисунок 5 – Сравнение моделей белков RolB/ RolC, RolB, RolC, 6b
 А) Предсказанные модели белков RolB/ RolC, RolB, RolC (AlphaFold2), кристаллографическая модель белка 6b, Б) Общая схема строения белков RolB/ RolC, RolB, RolC, 6b

Программа	Шаблон (RCSB PDB ID)	Исходная последовательность	Идентичность, %	Покрытие, %
CI-Tasser	6b 3AQ2 (<i>A. vitis</i>)	RolB	19	66
		RolC	26	87
		RolB/RolC	19	72
Phyre2	6b 3AQ3 (<i>A. tumifaciens</i>)	RolB	18	86
		RolC	22	78
		RolB/RolC	18	86
Swiss model	6b 3AQ3 (<i>A. tumifaciens</i>)	RolB	19	59
		RolC	26	82
		RolB/RolC	18	72

Рисунок 4 – АДФ-рибозилирующий домен белков 6b, RolB/ RolC, RolB.

А) Каталитические остатки, Б) Выравнивание аминокислотной последовательности

Таблица 2 – параметры 3D-моделей белка RolB/ RolC

Заключение

В результате работы была построена 3D-модель белка RolB/RolC и обнаружено сходство его пространственной организации с белком 6b и вероятными гомологами – белками RolB и RolC. Было установлено, что белок RolB/RolC имеет нейтральную природу, отличается значительной гидрофильностью и является относительно нестабильным. Кроме того, для белков RolB/RolC, RolB, RolC было обнаружено значительное сходство аминокислотных последовательностей и домены, аналогичные каталитическим доменам АДФ-рибозилирования белка 6b.