





研究报告

Research Report

硫氧化循环中 *Allochrochromatium vinosum* 的 SoxB 蛋白和 SoxYZ 复合物交互模式的结构分析

Sujay Ray , Angshuman Bagchi 

卡利亚尼大学生物化学与生物物理学系, 卡利亚尼, 纳迪亚, 印度;

 通讯作者: angshuman_bagchi@yahoo.com;  作者

计算分子生物学, 2013 年, 第 2 卷, 第 9 篇 doi: 10.5376/cmb.cn.2013.02.0009

本文首次以英文发表在 Computational Molecular Biology 上。现依据版权所有人授权的许可协议, 采用 Creative Commons Attribution License 协议对其进行授权, 用中文再次发表与传播。只要对原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。如果读者对中文含义理解有歧义, 请以英文原文为准。



推荐引用:

Bagchi et al., 2013, Structural Analysis of the Mode of Interactions of SoxB Protein with SoxYZ Complex from *Allochrochromatium vinosum* in the Global Sulfur Oxidation Cycle, Computational Molecular Biology, Vol.3, No.1 1-5 (doi: 10.5376/cmb.2013.03.0001)



摘要 微生物氧化还原反应是一种通过维持硫的再循环以达到维持环境硫平衡的非常必要的反应, 这些氧化过程由大量的各种各样的硫氧化细菌进行。 α -变形菌 *Allochrochromatium vinosum* (*A. vinosum* 或 *A. vino*) 的 sox 基因簇主要负责微生物的氧化还原反应。这个过程的主要蛋白质是 SoxY, SoxZ 和 SoxB。SoxY 在 SoxS 的帮助下与硫阴离子结合, SoxB 是异源二聚体蛋白, 水解释放一分子硫酸盐后产生 SoxY-过硫化物。在目前的研究中, 同源建模已被用于构建 SoxY 和 SoxZ 的三维结构, 由于序列长度很大, 仅 SoxB 的 5'-核苷酸酶 C 末端结构域已经通过同源性建模建模, 通过蛋白质-蛋白质的对接形成了 SoxYZB 的复合物, 并且使用蛋白质相互作用计算机(P.I.C)网络服务器鉴定了参与相互作用的蛋白质的氨基酸残基。SoxY, SoxZ 和 5'-核苷酸酶之间的相互作用和 SoxB 蛋白的 C-末端结构域主要通过氢键介导。SoxB 与 SoxYZ 复合物相互作用可能的生物物理机制已经得到了鉴定。

关键词 对接模拟, 环境硫平衡, 同源建模, Sox 操纵子, 硫氧化

Structural Analysis of the Mode of Interactions of SoxB with SoxYZ Complex from *Allochrochromatium vinosum* in the Global Sulfur Oxidation Cycle

Sujay Ray , Angshuman Bagchi 

Department of Biochemistry and Biophysics University of Kalyani, Kalyani, Nadia, India;

 Corresponding author, angshuman_bagchi@yahoo.com;  Authors

Abstract Microbial redox reaction is a very essential reaction to maintain for the recycling of sulphur to maintain the environmental sulphur balance. These oxidation process is conducted by a large number of phylogenetically diversified sulphur oxidizing bacteria. The sox gene cluster of α -proteobacteria, *Allochrochromatium vinosum* (*A. vinosum* or *A. vino*) are mainly responsible for microbial redox reaction. The main proteins of this process are SoxY, SoxZ and SoxB. SoxY binds to sulfur anions with the help of SoxZ. SoxB is a heterodimeric protein, which then hydrolytically releases one molecule of sulfate to yield a SoxY-persulfide. In the present work, homology modeling has been used to build the three dimensional structures of SoxY, SoxZ. Due to large sequence length only 5'-nucleotidase C-terminal domain of SoxB has been modelled by homology modeling. With the help of protein-protein docking complex structure of SoxYZB is formed and using Protein interaction calculator (P.I.C) webserver

收稿日期: 2013 年 06 月 12 日
接受日期: 2013 年 06 月 19 日
发表日期: 2013 年 08 月 30 日
基金项目: 无

the amino acid residues of these proteins involved in the interactions have been identified. The interactions between the SoxY, SoxZ and 5'-nucleotidase, C-terminal domain of SoxB proteins are mediated mainly through hydrogen bonding. The

probable biophysical mechanism of SoxB interaction with SoxYZ complex has been identified.

Keywords Docking simulations, Environmental sulphur balance, Homology modelling, Sox operon, Sulphur oxidation

氧化还原反应是维持天然硫循环的重要反应, 硫代硫酸盐, 连四硫酸盐, 硫化物是氧化还原反应的硫的主要来源。硫代硫酸盐在环境中的储量丰富, 在维持环境硫平衡方面发挥重要作用, 硫代硫酸盐氧化主要由存在于微生物不同发育系统中的多酶复合体(Sox)控制(Meyer et al., 2007; Freidrich et al., 2005), 但是, Sox 多酶复合物调控的硫氧化过程的生物分子机制尚不清楚。

vino 是一种 α -变形细菌, 在还原的硫化物中, 例如硫代硫酸盐或硫化物的氧化期间在周质内积累水不溶性硫。由 Sox, SoAK 和 SoxYZ 基因编码的三种周质 Sox 蛋白主要负责 *A.vino* 中硫代硫酸盐氧化, 硫代硫酸盐在 *A.vino* 中氧化分子机制揭示了硫代硫酸盐偶联到了与 SoxZ 结合的 SoxY 的羧基末端半胱氨酸残基上并且整个过程由 SoxXA 促成, 然后 SoxB 开始作用裂解 SoxY-硫代硫酸盐水解加合物以释放硫酸盐分子(Bagchi, 2012)。据记载, *A.vino* 的 SoxB 与 SoxYZ 复合物产生有效反应(Welte et al., 2009), 但是, 在残留水平上的 Sox 和 SoxYZ 蛋白复合物之间的相互作用的细节尚待探索。

通过同源建模获得的 SoxY, Socks 和来自 *A.vino* 的 SoxB 的 5'-核苷酸酶 C 末端结构域的三维结构在目前的研究中已经有所描述。分子对接模拟已被用来发现这些蛋白质的可能的结合模式。SoxY, SoxZ 和 SoxB 的结合位点已经通过了预测和分析。这些研究提供了这些蛋白质在硫氧化反应循环中的可接受的残留水平相互作用的详细结构视图。

1 结果与分析

1.1 SoxY 结构描述

SoxY 的建模结构是 111 个氨基酸残基的长蛋白, 其预测的结构非常类似于来自 *Chlorobium limicola* F 硫代硫酸盐卟啉的硫载体蛋白 SoxY 的结构(PDB 码: 用于 SoxY 的 2NNC A 链)。大部分结构由 β 链和线圈区组成(7~12, 23~26, 37~44, 51~56, 64~68, 78~83, 91~94 和 107~111 位置主要是 β 链结构), 其余部分是与线圈区域分散的螺旋结构(图 1)。

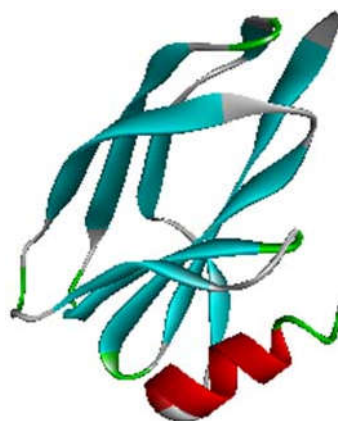


图1 *A.Vinosum*的SoY蛋白的模型结构

注: 显示为 α -螺旋, β 折叠和无规卷曲三种不同的二级结构

Figure 1 Model structure of SoxY protein from *A. Vinosum*

Note: With distinct secondary structure showing as α -helix, β sheet and random coil

1.2 SoxZ的结构描述

SoxZ的建模结构是104个氨基酸残基的长蛋白, 其预测的结构与来自脱氧副球菌(*Paracoccus denitrificans*)的SoxYZ复合物(PDB码: 20XG; SoxZ的Z链)的SaxS蛋白的结构非常相似, 该蛋白主要由 β 链和螺旋结构组成(图2)。

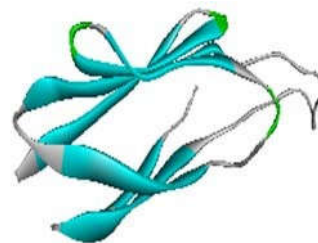


图2来自*A.Vinosum*的SoxZ蛋白的模型结构

注: 显示为 α -螺旋, β 折叠和无规卷曲三种不同的二级结构

Figure 2 Model structure of SoxZ protein from *A. Vinosum*

Note: With distinct secondary structure showing as α -helix, β sheet and random coil

1.3 SoxB C端结构域的结构描述

5'-核苷酸的蛋白质结构模型, SoxB的C-末端结构域是138个氨基酸残基的长蛋白, 预测的结构与SoxB的结构非常相似。嗜热硫杆菌硫酸水解酶的蛋白(PDB代码: 2WDC; Sox B结构域的A链)的残基显示对螺旋, β 链和螺旋构象的构象适应性。在模拟的蛋白质结构中有四个螺旋和五个 β 链区域(14~24,

63~68, 71~81, 114~122为螺旋结构, 26~31, 36~40, 46~50, 95~99, 133~136为 β 链结构)。螺旋和 β 链区域主要散布在线圈区域(图3)。

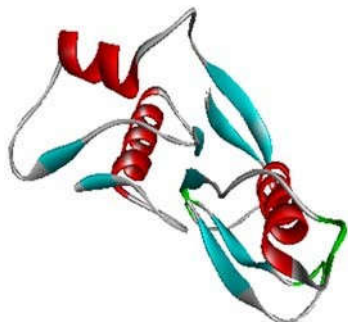


图3 *A. Vinosum*的SoxB蛋白的C末端结构域和5'-核苷酸酶的模式结构

注: 显示为 α -螺旋, β 折叠和无规卷曲三种不同的二级结构

Figure 3 Model structure 5'-nucleotidase, C-terminal domain of SoxB protein from *A. Vinosum*

Note: With distinct secondary structure showing as α -helix, β sheet and random coil

1.4 SoxB C末端结构域与SoxYZ复合物的相互作用

为了找到SoxB C端结构域与SoxYZ之间的相互作用, 蛋白质的三维结构由软件工具cluspro 2.0对接得到, 发现SoxYZ和SoxB结构域之间存在强烈的相互作用。两种蛋白质的主链和侧链都存在着广泛的H键合相互作用, 并且两个蛋白质之间也存在疏水作用, 除此之外, 还有蛋白质-蛋白质离子和芳香族-芳香族相互作用。表1表示SoxYZ蛋白复合物和5'-核苷酸酶, SoxB蛋白的C末端结构域侧链之间广泛的蛋白质-蛋白质氢键相互作用, SoxYZ和5'-核苷酸酶的复杂结构模型, SoxB蛋白的C端结构域(图4)。



图4 SoxYZ复合物(黄色)和5'-核苷酸酶的相互作用, 显示在复合物中SoxB的C末端结构域(蓝色)

Figure 4 Interaction of SoxYZ complex (yellow) and 5'-nucleotidase, C-terminal domain of the SoxB (blue) are shown in the complex

2讨论

本研究尝试阐明SoxY, SockZ和5'-核苷酸酶的基础结构, 与SoxB C端结构域的结合及其在硫氧化中的作用。对蛋白质SoxY, SockZ和5'-核苷酸酶三维结构的分析, 构建和分析了SoxB的C末端结构域。由于SoxB只有5'-核苷酸酶的大氨基酸残基, SoxB的C末端结构域已建模, SoxB蛋白中的结构域位置已经用Pfam预测, 并且结果也通过blast运行验证。结构域为蛋白质功能结构的保守部分, 但是没有关于SoxB和SoxYZ复合蛋白的残留水平相互作用的有据可查的报道。简而言之, 我们的研究结果对SoxYZ蛋白复合物的三维结构和SoxB的C末端结构域有新理解, 也可能继这些蛋白质的分子功能之后阐明其结构基础。这个模型为实验设计确定SoxY, SoxZ和SoxB蛋白中各种氨基酸残基的作用进而预测其相互作用的分子基础提供了一个合理的平台。

3材料与方法

3.1 SoxY, SockZ和SoxB蛋白C末端结构域的序列分析和同源性建模

每个个体模型蛋白质结构的RMSD通过在每个晶体模板上分别叠加在每个晶体模板上的主链构象来计算(SoxY的2NNC链, Sox的20XG的Z链和SoxB的2WDC的A链5'-核苷酸酶, C末端结构域)。叠加的RMSD对于SoxY为0.255Å, 对于Sox为1.117Å, 对于5'-核苷酸酶为C末端结构域SoxB为0.477。

*A. vino*的SoxY, SoxZ和SoxB蛋白的氨基酸序列从NCBI核苷酸数据库(Acc. No. NC_013851)获得, 这些氨基酸序列用于实验室构建同源模型, 对蛋白质数据库进行BLAST以找到用于同源性建模的合适模板。Chlorobium Limicola F Thiosulfate Phylum的结果显示来自Paracoccus Pantotrophus (PDB代码: 用于Sox的20XG Z链)的X射线晶体结构(PDB码: 用于SoxY的2NNC A链)。SoxY和SoxZ的序列分别与模板序列具有49%和36%的序列同一性, 由于SoxB蛋白序列只有C末端结构域(5'-核苷酸酶, C末端结构域)已被建模, Pfam用于鉴定该蛋白的保守结构域。BLAST也验证了相同的结构域。该结构域具有146个氨基酸残基。对于SoxB结构域, 最佳模板是

表1蛋白质-蛋白质侧链氢键

Table 1 Protein-protein side chain-side chain hydrogen bonds

POS	CHAIN	RES	ATOM	POS	CHAIN	RES	ATOM
41	Y	THR	OG1	49	X	GLU	OE1
81	Y	ARG	NH1	50	X	HIS	NE2
81	Y	ARG	NH1	50	X	HIS	NE2
81	Y	ARG	NH2	50	X	HIS	NE2
81	Y	ARG	NH2	50	X	HIS	NE2
81	Y	ARG	NH2	53	X	ASP	OD1
81	Y	ARG	NH2	53	X	ASP	OD1
81	Y	ARG	NH2	53	X	ASP	OD2
81	Y	ARG	NH2	53	X	ASP	OD2
18	Z	LYS	NZ	68	Y	GLU	OE1
18	Z	LYS	NZ	68	Y	GLU	OE2
62	Z	SER	OG	53	X	ASP	OD1

来自嗜热硫杆菌硫酸水解酶SoxB (PDB代码: SoxB 结构域的2WDC A链)的X射线晶体结构, 序列同一性为44%。均方根偏差(RMSD)用于研究球状蛋白构象, 然后使蛋白质的模型的能量在两个步骤中最小化, 第一步, 使用最速下降技术, 第二步, 使用Discovery工作软件共轭梯度技术来最小化三维结构的总体结构, 直到达到0.0001 RMS梯度。所有的能量最小化都使用CHARMM力场和蛋白质的固定主链完成(Brooks et al., 1983)。

3.2模型验证

使用Prosa web服务器计算每个个体模型蛋白的z评分, Z-评分显示在天然结构内有不错的预测模型结构(Sippl, 1993)。保存服务器用于验证模型化蛋白质的主链特性, 没有发现大的不良接触或C α 四面体失真。VERIFY3D用于检查三维模型的氨基酸残基概况(Eisenberg et al., 1997)。使用PROCHECK网络服务器分析模型和Ramachandran图的立体化学质量(Laskowski et al., 1993)。在Ramachandran图中, 在不允许的区域没有发现残基(Ramachandran and Sashisekharan, 1968)。

3.3分子对接模拟

为了研究SoxYZ复合蛋白和5'-核苷酸酶之间的相互作用, 使用软件Cluspro 2.0对接SoxB C末端结构域、SoxY和SoxZ蛋白的模型(Comeau et al., 2004)。Cluspro 2.0是一个完全自动化的基于网络的蛋白质蛋白质对接程序(Comeau et al., 2004)。SoxY和SoxZ蛋白的对接结构再次与5'-核苷酸酶的结构模型对接, A.vino的SoxB蛋白的C-末端结构域使用Cluspro 2.0蛋白质-蛋白质对接服务器对接, 使用

Cluspro 2.0的高级选项去除来自受体和配体的非结构化残基。模型“0”从不同的显示模型结构中选择, 因为它在所有可能的对接结构中具有最佳的簇尺寸被收集和分析。通过使用CHARMM力场的最速下降技术使蛋白质复合物固定骨架复杂的结构能量最小化(Brooks et al., 1983)。

3.4蛋白质-蛋白质相互作用的计算

我们使用蛋白质相互作用计算机(P.I.C)网络服务器探索SoxY, SoxZ 和SoxB结构域之间的相互作用。P.I.C 网络服务器是在其中提供蛋白质三维结构以计算各种相互作用的在线网络服务器, 例如二硫键、疏水相互作用、离子相互作用、氢键、芳香族-芳香族相互作用、芳香-硫相互作用和蛋白质内或蛋白质之间的阳离子- π 相互作用(Tina et al., 2007)。

作者贡献

SR主要负责实验操作, 实验方案的制定和文章的撰写由AB和SR共同完成。

致谢

感谢卡利尼亚大学生物化学与生物物理系2012年~2015年的DST-PURSE计划, 提供工具和基础设施支持以及DBT赞助的生物信息学基础设施。

参考文献

Meyer B., Imhoff J.F., and Kuever J., 2007, Molecular analysis of the distribution and phylogeny of the soxB gene among sulfur-oxidizing bacteria-evolution of the Sox sulfur oxidation enzyme system, Environ. Microbiol., 9(12): 2957-2977

- Freidrich CG., Bardischewsky F., Rother D., Quentmeier A., and Fischer J., 2005, Prokaryotic sulfur oxidation, *Curr. Opin. Microbiol.*, 8(3):253-259
- Bagchi A., 2012, Structural insight into the mode of interactions of SoxL from *Allochromatium vinosum* in the global sulfur oxidation cycle, *Mol. Biol. Rep.*, 39(12): 10243-10248
- Welte C., Hafner S., Krätzer C., Quentmeier A., Friedrich G C., and Dahl C., 2009, Interaction between Sox proteins of two physiologically distinct bacteria and a new protein involved in thiosulfate oxidation, *FEBS Lett.*, 583(8): 1281-1286
- Comeau S.R., Gatchel D.W., Vajda S., and Camacho C.J., 2004, ClusPro: an automated docking and discrimination method for the prediction of protein complexes, *Bioinformatics*, 20(1): 45-50
- Brooks B.R., Bruccoleri R.E., Olafson B.D., States D.J., Swaminathan S., and Karplus M., 1983, CHARMM: a program for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations, *J. Comp. Chem.*, 4(2): 187-217
- Sippl M.J., 1993, Recognition of errors in three-dimensional structures in proteins, *Proteins*, 17(4): 355-362
- Eisenberg D., Luthy R., and Bowie J.U., 1997, VERIFY3D: assessment of protein models with three-dimensional profiles, *Methods Enzymol.*, 277: 396-404
- Laskowski R.A., MacArthur M.W., Moss D.S, and Thornton J.M., 1993, PROCHECK: a program to check the stereochemistry of protein structures, *J. Appl. Cryst.*, 26: 283-291
- Ramachandran G.N., and Sashisekharan V., 1968, Conformation of polypeptides and proteins, *Adv. Protein Chem.*, 23: 283-438
- Tina K.G., Bhadra R., and Srinivasan N., 2007, PIC: Protein Interactions Calculator, *Nucleic Acids Research*, 35: W473-W476