



УДК 548.737

© 1993 А. А. Федоров, М. М. Черная,  
Б. В. Строкопытов\*, А. В. Никитенко\*, Ю. Д. Фонарев\*\*,  
А. П. Кузин\*\*

### РЕНТГЕНОСТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КРИСТАЛЛИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПРОГАСТРИКСИНА ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОГО ЗАМЕЩЕНИЯ

*Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва;*

*\*\* Институт кристаллографии им. А. В. Шубникова РАН, Москва;*

*\*\* Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина РАН, Москва*

Методом молекулярного замещения определена кристаллическая структура прогастринина человека. Набор дифрагированных кристаллом нативного белка рентгеновских интенсивностей, соответствующий разрешению  $4\text{\AA}$ , собран  $\omega$ -методом в автоматическом режиме на четырехкружном дифрактометре Nicolet P3. Расчеты по определению ориентации и трансляции молекулы прогастринина в элементарной ячейке проведены на ЭВМ MicroVAX-II по программам комплексов MERLOT и BRUTE. До определения трансляционной компоненты проведено уточнение угловых параметров нескольких пиков функции вращения относительно коэффициента корреляции. Этот подход позволил однозначно определить ориентацию молекулы. Решения, полученные из BRUTE-карт функции трансляции, в дальнейшем уточнены с помощью шестимерного корреляционного поиска и по программе CORELS. Описана упаковка молекул прогастринина в кристаллической ячейке.

Пепсиногены А и С человека являются зимогенами желудочных аспартатных протеиназ соответственно пепсина А (КФ 3.4.23.1) и пепсина С или гастринина (КФ 3.4.23.3) [1]. При понижении рН происходит автокаталитическая активация обоих зимогенов до активных ферментов путем ступенчатого отщепления пропептидов с N-конца молекул пепсиногенов.

К настоящему времени определена и уточнена при высоком разрешении структура свиного пепсиногена А [2—4] и свиного пепсина А [5—7]. Пепсиноген С человека, или прогастринин, стал первым представителем аспартатных протеиназ человека, для которого получены кристаллы, пригодные для рентгеноструктурного анализа [8]. В предлагаемой работе описаны результаты рентгеноструктурного исследования кристаллической структуры прогастринина человека методом молекулярного замещения при разрешении  $4,0\text{\AA}$ .

Использование метода молекулярного замещения состоит в нахождении ориентации и положения в ячейке заданной модели гомологичного белка с последующим определением начальных фаз рентгеновских отражений и уточнением искомой структуры при высоком разрешении. При расчетах структуры прогастринина человека мы использовали в качестве модели атомные координаты свиного пепсиногена — файл IPSPG [3] из Брукхевенского банка белковых структур [9].

Полипептидная цепь прогастринина человека содержит 372 аминокислотных остатков, из них 185 (49,7%) одинаковы со свиным пепсиногеном. Обе молекулы имеют по три дисульфидных моста. По сравнению со свиным пепсиногеном цепь

	p1		p44	5
PSG	-LVKVPLVRKKSLRQNLIKDGBLKDFLKTHKHNPASKYFPEAAALIGDEP			
HPGN	AVVKVPLKKFKSIRETMKEKGLLGEFLRTHKYDFAWKYRFGDL--SVTYEP			
	***** ** * * * * * * * * * * * * * * * * * *			**
	6			55
PSG	LENYLDTEYFGTIGIGTPAQDFTVIFDTGSSNLWVPSVYCSSLACSDHNR			
HPGN	M-AYMDAAYFGEISIGTTPQNFLLVLFDTGSSNLWVPSVYQSSQACTSHSR			
	* *			*
	56			105
PSG	FNFDDSSSTFEATSQELSITYGTGSMTGILGYDVTQVGGISDTNQIFGLSE			
HPGN	FNPSESSTYSTNGQTFSLQYGSBGLTGFFGYDTLTVGSIQVFNQEFGLSE			
	*** ** *			
	106			155
PSG	TEPBSFLYAPFDGILGLAYPSISASGATPVFDNLWDQGLVSDQLFSVYL			
HPGN	NEFGTNVVYAGFDGIMGLAYPALSVDEATTAMQGMVQEGALTSPVFSVYL			
	*** ** *			
	156			204
PSG	SSND-DSGSVLLGGIDSSYYTGSLNWFVSVVEGYWQITLDSITMDGETI			
HPGN	SNQQGSSGGAVVFGVDSSLYTGQIYWAPVTQELYWQIGIEEFLIGGQAS			
	* ** *			*
	205			253
PSG	-ACSGGCGAIVDTGTSLLTGPTSAIANIQSDIGASENSDGMVISCSSID			
HPGN	GWCSEGCQAIIVDTGTSLLTVPQQYMSALLOATGAQEDYGGFLVNCNSIQ			
	** *			**
	254			302
PSG	SLPDIVFTIDGVQYPLSPSAYILQDDSDCTSGFEGMDVPTSSGGE-LWILG			
HPGN	NLFSLTFIINGVEFFLPPSSYILSNNGYCTVGVEPTYLSSQNGQLWILG			
	** *			* ** * * * *
	303		326	
PSG	DVFIHQYYTVFDRANNKVG LAPVA			
HPGN	DVFLRSYYSVYDLGNRRVGFATAA			
	*** *			*

Рис. 1. Аминокислотные последовательности свиного пепсиногена (PSG) и прогастрексина человека (HPGN). Звездочками помечены идентичные для обеих последовательностей аминокислотные остатки

прогастрексина человека длиннее на два остатка. На рис. 1 представлены последовательности обоих белков [10, 11], выравненные на основе нумерации аминокислотных остатков свиного пепсиногена. Остатки просегмента p1—p44 (рис. 1), отщепляемые в ходе превращения пепсиногена в пепсин, вместе с 326 остатками активного фермента составляют в сумме 370 остатков зимогена.

Вследствие довольно высокого подобия последовательностей обоих белков (49,7%) вполне оправданно в данном случае использование молекулярного замещения для начальной фазировки искомой структуры. В расчетах использовались комплексы программ MERLOT [12] и BRUTE [13], которые были поставлены на ЭВМ MicroVAX-II.

В рамках комплекса MERLOT имеются два способа нахождения ориентации модельной молекулы (рис. 2) в ходе расчета функции вращения. Первый способ предполагает использование программы CROSUM — быстрой функции вращения Кроутера [14], второй основан на использовании медленной, но более точной программы LATSUM, использующей при построении функции вращения алгоритм Латмана [15].

Программа CROSUM использовалась для получения грубой ориентации мо-

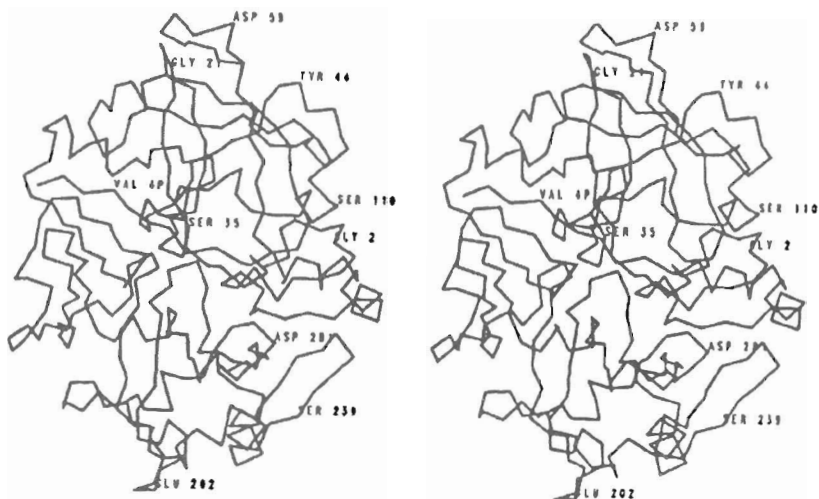


Рис. 2. Стереизображение полипептидной цепи молекулы свиного пепсиногена, построенное по  $C^\alpha$ -координатам файла 1PSG и брукхевенского банка белковых структур [3]

лекулы пепсиногена в элементарной ячейке прогастриксина. В расчете использовались все отражения в зоне разрешения  $4,0 \text{ \AA}$ . Модельная молекула помещалась в элементарную ячейку пространственной группы  $P1$  и размерами  $100 \times 100 \times 100 \text{ \AA}$ . Для 2692 атомов модели рассчитывались структурные факторы до разрешения  $4,0 \text{ \AA}$  при общем температурном факторе  $15 \text{ \AA}^2$ . Поиск решения проводился в области углов Эйлера  $\alpha = 0-90$ ,  $\beta = 0-90$ ,  $\gamma = 0-360^\circ$  с шагом  $\Delta\alpha = 2,5$ ,  $\Delta\beta = 1,0$ ,  $\Delta\gamma = 5,0^\circ$ . Шаг по углу  $\beta$  был с самого начала выбран наименьшим, так как это лишь слегка замедляло время счета, позволяя добиться большей точности. Шаги по углам  $\alpha$  и  $\gamma$  нельзя было уменьшить, поскольку они жестко определяются алгоритмом программы и постоянны для данной пространственной группы. Чтобы добиться наиболее контрастной карты вращения, было проведено множество вариантов расчета, различающихся размерами зоны разрешения, величиной радиуса интегрирования, степенью полноты модели. Наибольший контраст получен для полной модели пепсиногена при включении в расчет рефлексов в зоне разрешения  $10-4 \text{ \AA}$  при радиусе интегрирования  $21 \text{ \AA}$ . На рис. 3 представлены два сечения этой карты, одно из которых содержит самый большой пик ( $\alpha = 70$ ,  $\beta = 55$ ,  $\gamma = 40^\circ$ ) с весом  $5,8\sigma$  (рис. 3а), а второе — следующий по величине пик ( $\alpha = 75$ ,  $\beta = 60$ ,  $\gamma = 60^\circ$ ) с весом  $4,0\sigma$  (рис. 3б), где  $\sigma$  — среднеквадратичная величина функции вращения по всей карте. Высоты других пиков на этой карте не превышают 60% высоты основного пика. Присутствие двух указанных пространственно сближенных пиков являлось консервативной чертой всех построенных карт функции вращения.

Для более точной локализации пиков функции вращения использовали программу LATSUM. Расчеты проводились по всей области, содержащей два указанных пика (рис. 3) с шагом  $\Delta\alpha = 2,0$ ,  $\Delta\beta = 1,0$ ,  $\Delta\gamma = 2,0^\circ$ . Для модельной структуры при расчете функции вращения по Латману использовалась непрерывная трансформанта, рассчитанная в группе  $P1$  для ячейки размером  $100 \times 100 \times 100 \text{ \AA}$ . Результаты этих расчетов существенно не изменили общую картину функции вращения (рис. 3). По-прежнему на всех картах присутствовали два указанных пика, лишь на  $1-2^\circ$  сдвинутых в результате использования более тонкого разбиения по углам Эйлера.

Для определения трансляционного вектора в рамках комплекса MERLOT

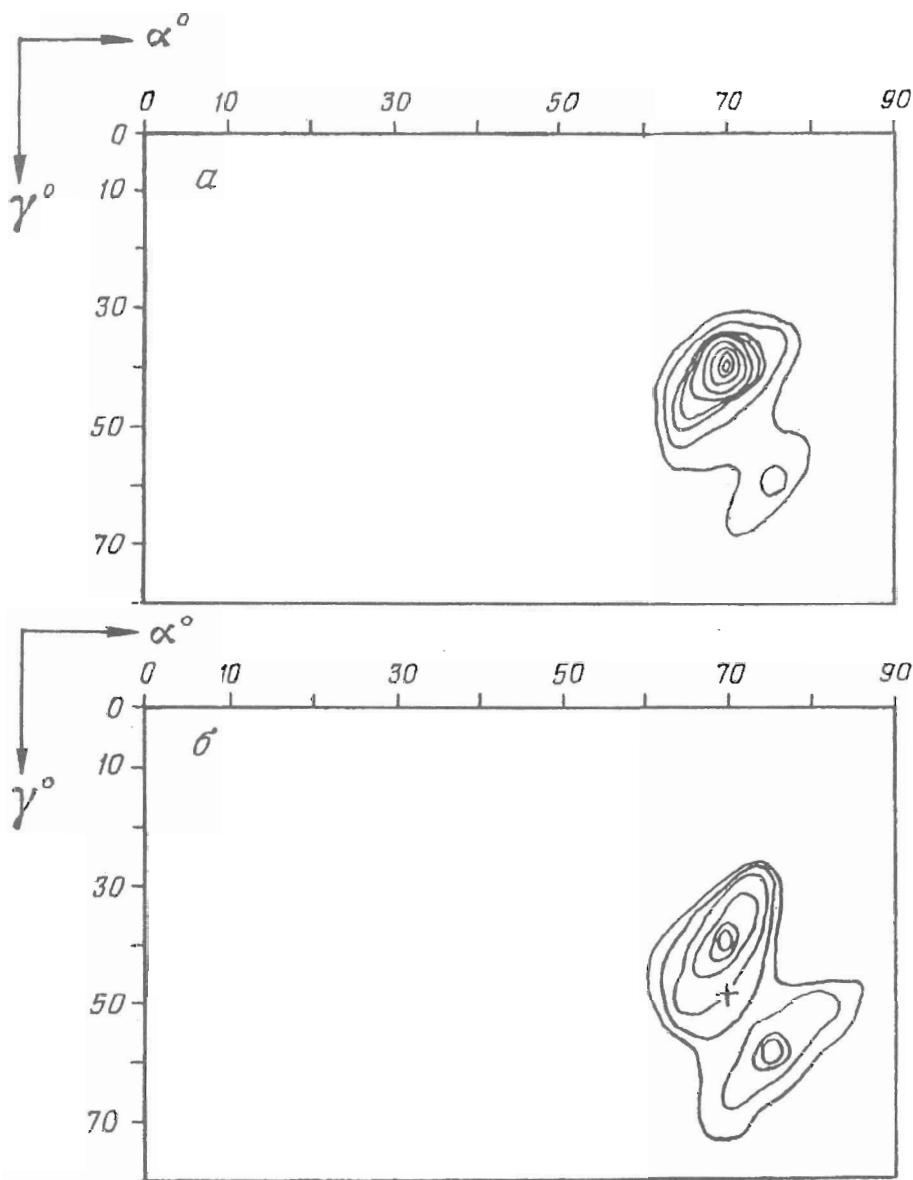


Рис. 3. Сечения карты функции вращения Кроутера. Угол  $\beta = 55^\circ$  (а) и  $\beta = 60^\circ$  (б). Крестом помечена точка, имеющая наивысший коэффициент корреляции и соответствующая верному решению

существуют три программы: TRNSUM — функция трансляции Кроутера — Блоу [16], RVAMAP — поиск по  $R$ -фактору [12], PAKFUN — функция упаковки [12]. Все три программы являются взаимно дополняющими путями для нахождения позиции в элементарной ячейке правильно ориентированной модельной молекулы.

Попытки определения трансляционной компоненты модельной молекулы в ячейке прогастриксина с помощью программы TRNSUM с использованием обеих возможных ориентаций (рис. 3) не привели к положительному результату. Оказалось невозможным определить трансляционную компоненту и с использованием программы RVAMAP, осуществляя поиск по  $R$ -фактору при движении по независимой части элементарной ячейки модельной мо-

лекулы, ориентированной двумя способами. Элементарная ячейка разбивалась при этом сеткой с шагом  $1 \text{ \AA}$  и рассчитывались значения  $R$ -фактора в узлах сетки. Результирующие  $R$ -карты оказались очень размытыми и не согласовывались с упаковкой модельных молекул при двух возможных ориентациях. Оказалось очень трудно определить трансляционную компоненту из таких  $R$ -карт, так как последние, как правило, не имели глобального минимума и содержали множество областей с примерно одинаковым значением  $R$ -фактора в узлах сетки.

Известно, что успех расчетов функций трансляции во многом зависит от точности предыдущего нахождения правильной ориентации модельной молекулы в элементарной ячейке. Наиболее перспективным в настоящее время подходом к нахождению точной правильной ориентации до определения трансляции является алгоритм паттерсоновского корреляционного уточнения, предложенный А. Брюнгером [17—19] и реализуемый в написанной им программе X-PLOR [20]. Однако расчеты по программе X-PLOR требуют десятков часов процессорного времени на суперкомпьютерах типа CONVEX [19].

Для уточнения ориентации модельной молекулы в ячейке прогастриксина мы использовали программу BRUTE [13] и проводили расчеты лишь в зоне разрешения  $5\text{--}4 \text{ \AA}$ , как это рекомендуется авторами программы [13]. Беря за отправную точку координаты одного из пиков на функции вращения (рис. 3), рассчитывали коэффициенты корреляции [13, 17] в точках сетки, разбивающей все пространство углов Эйлера с шагом  $\Delta\alpha = 1$ ,  $\Delta\beta = 1$ ,  $\Delta\gamma = 1^\circ$  в окрестностях данного пика в пространственной группе  $P1$ . Затем указанная процедура была повторена для другого пика. Интересно, что, несмотря на высокий контраст карты функции вращения относительно главного пика (рис. 3), коэффициент корреляции в точке данного пика оказался очень малым (0,03). Аналогичная картина повторилась и для второго по величине пика на функции вращения. И лишь при сканировании всего пространства углов Эйлера в окрестности указанных двух пиков был найден единственный максимум в этой области  $\alpha = 70,4$ ,  $\beta = 60$ ,  $\gamma = 45^\circ$  (рис. 3), имеющий коэффициент корреляции 0,13.

При найденной таким образом ориентации модельной молекулы была построена корреляционная функция трансляции в независимой части элементарной ячейки кристалла прогастриксина человека с помощью программы BRUTE. В целях экономии процессорного времени в расчете участвовали лишь отражения в зоне разрешения  $5\text{--}4 \text{ \AA}$ , независимая часть ячейки была разбита сеткой с шагом  $1 \text{ \AA}$ . На выходе получена трансляционная карта, содержащая коэффициент корреляции и значение  $R$ -фактора в каждом узле указанной сетки. Карта содержала несколько точек с максимальным коэффициентом корреляции 0,32, но лишь одна из этих точек согласовывалась с картой упаковки молекул в ячейке.

Для данного решения с помощью программы BRUTE был проведен шестимерный корреляционный поиск вблизи найденных угловых и трансляционных координат при шагах по углам Эйлера  $0,5^\circ$  и по компонентам трансляции  $0,3 \text{ \AA}$ . Окончательное решение имело параметры  $\alpha = 69,12$ ,  $\beta = 60,68$ ,  $\gamma = 47,85^\circ$ ;  $x = 0,252$ ,  $y = 0,019$ ,  $z = 0,274$  ( $x$ ,  $y$ ,  $z$  — координаты центра масс, выраженные в долях элементарной ячейки). Коэффициент корреляции достиг 0,38 при  $R$ -факторе 44% в зоне разрешения  $5\text{--}4 \text{ \AA}$ . При многочисленных попытках шестимерного корреляционного уточнения других максимумов на трансляционной карте коэффициент корреляции не поднимался выше 0,32 и координаты этих максимумов не согласовались с картой упаковки молекул в ячейке при данной ориентации.

После шестимерного уточнения найденного решения полная корреляционная трансляционная карта была пересчитана при новых значениях угловых параметров и имела очень высокое отношение пик/фон. Она содержала лишь единственный максимум с коэффициентом корреляции 0,38, другой, ближайший по высоте максимум имел значение 0,32.

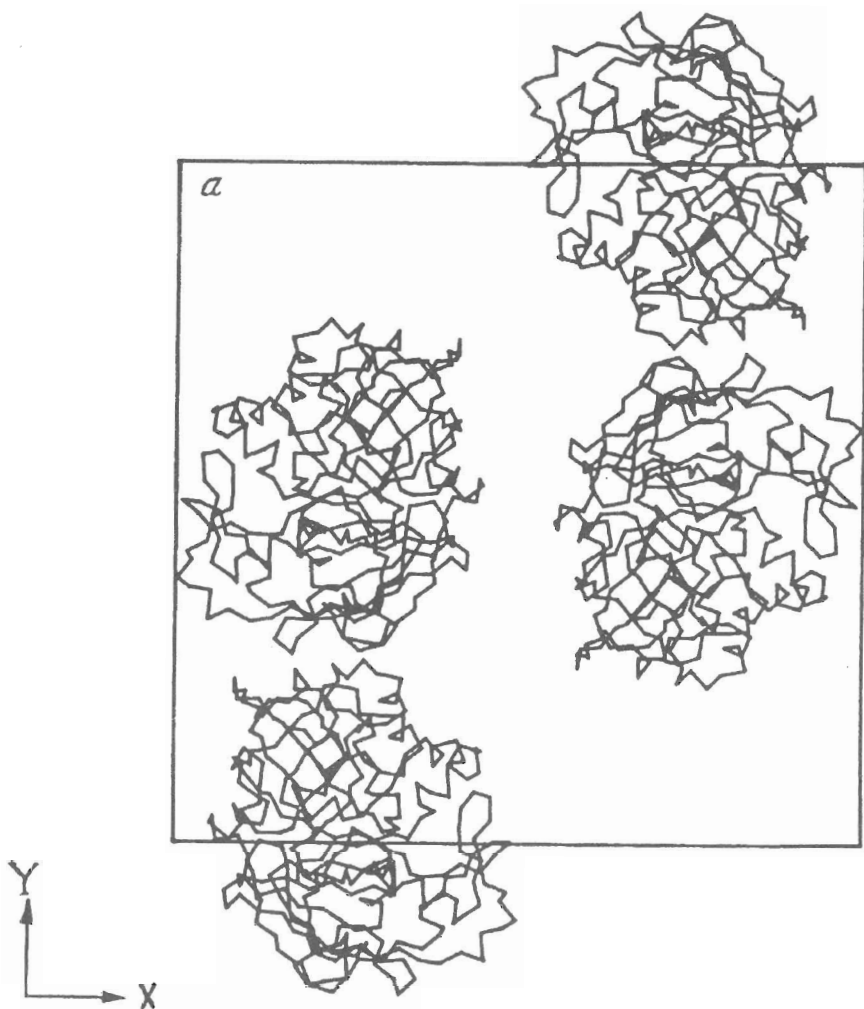


Рис. 4а

При сравнении окончательных угловых параметров ориентации  $\alpha = 69,12$ ,  $\beta = 60,68$ ,  $\gamma = 47,85^\circ$  и углов Эйлера главного максимума, определенных из первоначальных карт функции вращения Кроутера и Латмана,  $\alpha = 70$ ,  $\beta = 55$ ,  $\gamma = 40^\circ$  (рис. 3), видно отклонение в двух углах на 6 и  $8^\circ$  соответственно. Именно это отклонение и не позволило рассчитать верные трансляционные карты с помощью комплекса MERLOT.

При найденных новых угловых параметрах мы пересчитали трансляционные карты Кроутера и Блоу [16] в рамках комплекса MERLOT и получили три самосогласующихся сечения на карте функции T1, причем на двух сечениях пики, соответствующие верному решению, были максимальными, а на третьем сечении пик не был максимальным, хотя и неизменно присутствовал.

Примененное нами уточнение корреляционных коэффициентов на различных этапах решения структуры методом молекулярного замещения наиболее эффективно осуществляется в настоящее время в рамках программы X-PLOR [20], использование которой, однако, для нас недоступно из-за отсутствия подходящих мощных компьютеров.

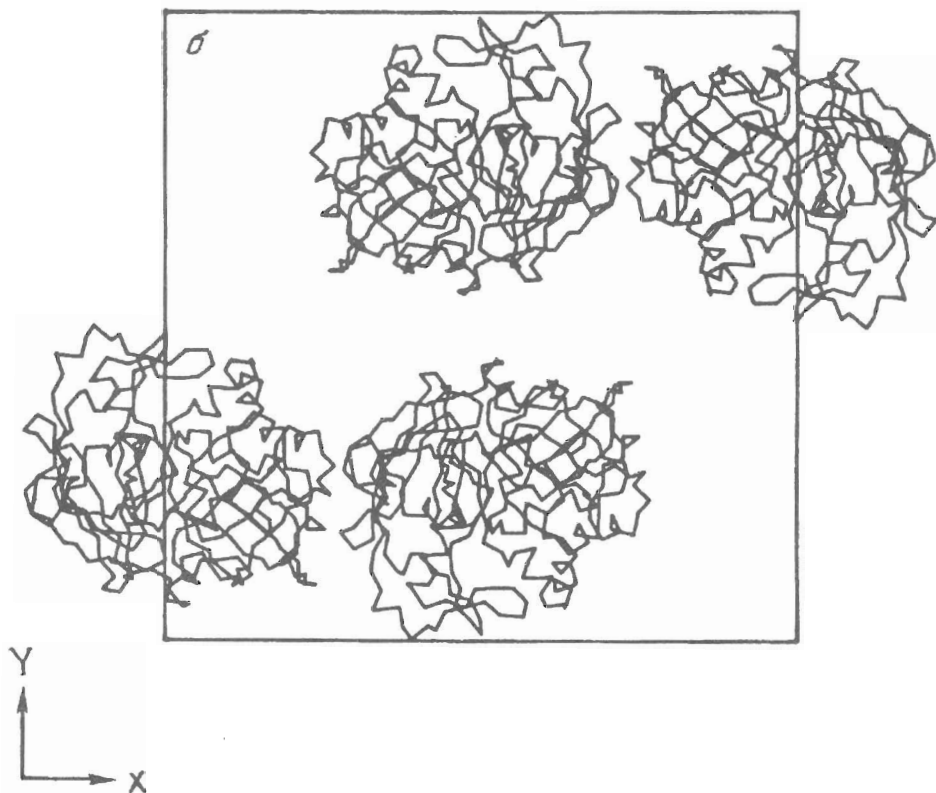


Рис. 4. Упаковка молекул прогастринина человека в кристаллографической ячейке. Проекция вдоль направления  $Z$ . Первый слой состоит из молекул, центры масс которых находятся на высотах  $z = 0,274$  и  $0,226$  (а). Второй слой состоит из молекул, центры масс которых находятся на высотах  $z = 0,726$  и  $0,774$  (б)

На рис. 4а, б показана двухслойная упаковка молекул в тетрагональной элементарной ячейке прогастринина человека. В одном слое направление наибольшей вытянутости молекул длиной  $65 \text{ \AA}$  приблизительно параллельно направлению ребра  $b$  элементарной ячейки (рис. 4а). Во втором слое, смещенном относительно первого примерно на  $35 \text{ \AA}$  вдоль ребра  $c$ , направление наибольшей вытянутости молекул приблизительно параллельно ребру  $a$  элементарной ячейки (рис. 4б). Таким образом, цепи молекул в двух слоях расположены примерно перпендикулярно друг другу, так что цепи молекул одного слоя попадают в бороздки между цепями молекул следующего слоя.

На стереоизображении всех восьми молекул в элементарной ячейке прогастринина человека (рис. 5) видны каналы, заполненные растворителем и расположенные вдоль двойных поворотных и четверных винтовых осей элементарной ячейки.

Для предварительного кристаллографического уточнения модели использовалась программа CORELS [21], позволяющая уточнять структуру при низком разрешении. При этом уточняемая модель была разбита на несколько жестких доменов; стереохимия на междоменных участках поддерживалась за счет введения специальных геометрических ограничений.

На первых этапах уточнения использовали непосредственно модель свиного пепсиногена IPSPG [3], состоящую из 2692 неводородных атомов (370 аминокислотных остатков). Первые циклы уточнения были проведены в области разрешения  $10\text{--}6 \text{ \AA}$  для всей молекулы целиком в приближении твердого тела. Затем

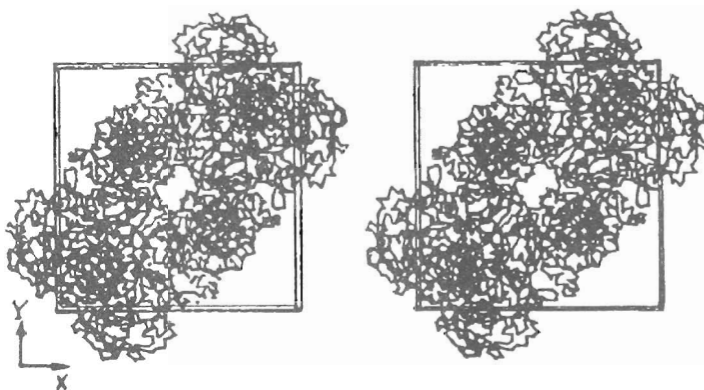


Рис. 5. Стереоразложение упаковки восьми молекул прогастринина человека в кристаллографической ячейке. Молекулы из соседних ячеек не указаны

уточняемая модель была разбита на два жестких домена: расширенный N-концевой домен, содержащий аминокислотные остатки p1 — 192, 213—222, 299—326, и малый C-концевой домен, содержащий остатки 193—212, 223—298 (рис. 1). Такое первоначальное разбиение на домены молекул аспаргатных протеиназ и их зимогенов общепринято в настоящее время и основано на экспериментально наблюдаемом взаимном движении обоих доменов друг относительно друга [5, 7].

Затем постепенно молекула была разбита на большее число жестких сегментов с одновременным увеличением зоны разрешения до 4 Å. Этот подход позволил снизить величину *R*-фактора до 39% в зоне разрешения 8—4 Å. В настоящее время проводится сбор данных высокого разрешения от кристаллов прогастринина для последующего уточнения структуры по программе Хендриксона и Коннерта [22] с привлечением средств компьютерной графики.

### Экспериментальная часть

Пространственная группа ( $P4_22_1$ ) и параметры элементарной ячейки кристаллов прогастринина человека, определенные по прецессионным рентгенограммам [8], уточнены на четырехкружном дифрактометре Nicolet P3 (США):  $a = b = 104,84$ ,  $c = 70,09$  Å. Интенсивности, дифрагированные кристаллами нативного белка, были измерены на дифрактометре Nicolet P3 при температуре 20° С. Съемка проведена  $\omega$ -методом с использованием  $\text{CuK}\alpha_1$ -излучения и графитового монохроматора. Съемка осуществлялась в автоматическом режиме под контролем управляющих программ, написанных Ю. В. Некрасовым [23]. Полный набор данных для разрешения 4 Å собран с одного кристалла и содержал 7400 отражений. При этом экспонировались две независимые части обратного пространства. Дрейф интенсивностей шести контрольных отражений из различных областей обратного пространства в конце съемки составил лишь 1%. Затем сбор рентгеновских дифракционных интенсивностей был повторен на втором кристалле нативного белка с тем же разрешением 4 Å. Второй набор составил 7170 отражений (две независимые части обратного пространства); дрейф интенсивностей 9%. Обработка интегральных интенсивностей проводилась на ЭВМ VAX 11/730 по программам комплекса BLANC [24]. Усреднение структурных факторов между обеими независимыми частями обратного пространства привело к *R*-фактору 0,06 для первого кристалла (3804 независимых отражения) и  $R = 0,04$  для второго кристалла (3625 независимых отражений).

Авторы благодарны П. Фитцджеральд (США) и Р. Риду (Канада) за любезное предоставление программ MERLOT и BRUTE, Ю. В. Некрасову за



ценные советы при сборе экспериментальных данных на дифрактометре Nicolet, А. С. Жданову и А. В. Бочкареву за обеспечение проведения расчетов на ЭВМ MicroVAX-II.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Foltmann B.//Pepsinogens in Man: Clinical and Genetic Advances/Eds J. Kreuning, I. M. Samloff, J. I. Rotter, A. W. Erickson. N. Y.: Alan R. Liss, 1985. P. 1—13.
2. James M. N. G., Sielecki A. R.//Nature. 1986. V. 319. № 6078. P. 33—38.
3. Hartsuck J. A., Remington S. J.//18th Linderstrom-Lang Conference Proceedings. 1988. P. 28.
4. Sielecki A. R., Fujinaga M., Read R. J., James M. N. G.//J. Mol. Biol. 1991. V. 219. № 4. P. 671—692.
5. Sielecki A. R., Fedorov A. A., Boodhoo A., Andreeva N. S., James M. N. J.//J. Mol. Biol. 1990. V. 214. № 1. P. 143—170.
6. Cooper J. B., Khan G., Taylor G., Tickle I. J., Blundell T. L.//J. Mol. Biol. 1990. V. 214. № 1. P. 199—222.
7. Abad-Zapatero C., Rydel T., Erickson J.//Proteins: Structure, Function and Genetics. 1990. V. 8. № 1. P. 62—81.
8. Ivanov P. K., Chernaya M. M., Gustchina A. E., Pechik I. V., Nikonov S. v., Tarasova N. I.//Biochim. et biophys. acta. 1990. V. 1040. № 2. P. 308—310.
9. Bernstein F. C., Koetzle T. F., Williams G. J. B., Meyer E. F., Jr., Brice M. D., Rodgers J. R., Kennard O., Shimanouchi T., Tasmui M.//J. Mol. Biol. 1977. V. 112. № 3. P. 535—542.
10. Tang J., Wong N. S.//J. Cell. Biochem. 1987. V. 33. № 1. P. 53—63.
11. Foltmann B.//18th Linderstrom-Lang Conference Proceedings. 1988. P. 7—20.
12. Fitzgerald P. M. D.//I. Appl. Crystallogr. 1988. V. 21. № 3. P. 273—278.
13. Fujinaga M., Read R. J.//I. Appl. Crystallogr. 1987. V. 20. № 6. P. 517—521.
14. Crowther R. A.//The Molecular Replacement Method/Ed. M. E. Rossmann. N. Y.: Gordon and Breach, 1977. P. 173—178.
15. Lattman E. E., Nickolds C. E., Kretsinger R. H., Low W. E.//J. Mol. Biol. 1971. V. 60. № 2. P. 271—277.
16. Crowther R. A., Blow D. W.//Acta Crystallogr. 1967. V. 23. № 5. P. 544—549.
17. Brunger A. T.//Acta Crystallogr. 1990. V. A46. № 1. P. 46—57.
18. Brunger A. T.//Acta Crystallogr. 1991. V. A47. № 3. P. 195—204.
19. Brunger A. T., Leahy D. J., Hynes T. R., Fox R. Q.//J. Mol. Biol. 1991. V. 221. № 1. P. 239—256.
20. Brunger A. T.//X-PLOR Manual, Version 2.1.1990.
21. Susman J. L., Holbrook S. R., Church G. M., Kim S. H.//Acta Crystallogr. 1977. A33. № 5. P. 800—804.
22. Hendrickson W. A., Konnert J. H.//Biomolecular Structure, Function, Conformation and Evolution. V. 1/Ed. R. Srinivasan. Oxford: Pergamon Press, 1981. P. 43.
23. Некрасов Ю. В.//Кристаллография. 1988. Т. 33. № 3. С. 795—797.
24. Вагин А. А. Использование некристаллографической симметрии в структурной кристаллографии белков. Дис. ... канд. физ.-мат. наук. М., Институт кристаллографии РАН, 1983.

Поступила в редакцию  
20.4.1992

А. А. FEDCROV, М. М. CHERNAYA, В. В. STROKOPYTOV\*, А. В. NIKITENKO,\*  
Yu. D. FONAREV\*\*, А. Р. KUZIN\*\*

## X-RAY STUDY OF HUMAN PROGASTRICIN CRYSTAL STRUCTURE BY MOLECULAR REPLACEMENT METHOD

W. A. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow;  
\* A. V. Shubnikov Institute of Crystallography, Russian Academy of Sciences, Moscow;  
\*\* M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow

The human progastriclin crystal structure has been solved by the molecular replacement method. The intensities of reflections from native progastriclin crystals were measured at the 4.0 Å resolution by the

$\omega$ -scan method with a Nicolet P3 diffractometer operated in automatic regime. To determine the orientation and position of progastricin molecules in the unit cell, programme packages MERLOT and BRUTE were applied running on a MicroVAX-II computer. Prior to the translation search, several rotation function peaks were subjected to a rigid body refinement against the correlation coefficient between the observed and calculated structure factors. This approach clearly identified the correct orientation of the molecule. The solution obtained from the BRUTE translation function map was refined by the 6-dimensional correlation search and then by programme CORELS. The human progastricin molecules packing in the crystal unit cell is described.