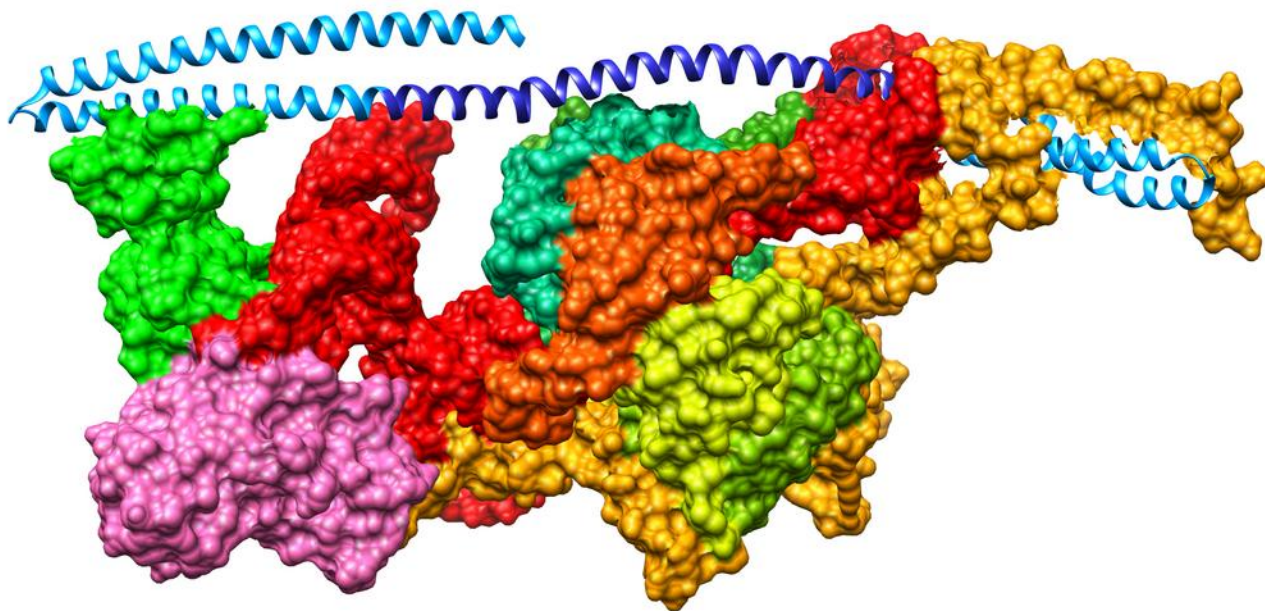


Válaszok a Dr. Paragi Gábor bírálatában feltett kérdésekre

Mindenekelőtt nagyon köszönöm bírálómnak a dolgozat értékelését és a feltett kérdéseket. Az alábbiakban igyekszem megválaszolni ezeket.

1. Az irodalmi áttekintés részben megemlíti, hogy a PDB adatbázisban csak néhány atomi szintű SAH szerkezet érhető el. A krio technika megjelenése segíthet-e a kísérleti kimutatásban? Várható-e nagyobb mennyiségű kísérleti adat megjelenése ennek az új technikának köszönhetően?

Valóban várható, hogy akár nagyobb, RNS-tartalmú komplexek esetében sikerül ezzel a módszerrel is megoldani SAH motívumot tartalmazó fehérjék szerkezetét. Például a 2025 februárjában elérhetővé tett 9GBW kódú PDB szerkezet (Zhao et al. 2025), mely az U11 snRNP komplex modellje, egy coiled coil régió mintegy folytatásaként tartalmaz egy nyújtott, helikális, látszólag más molekulával igazán szoros kapcsolatban nem lévő magányos alfa-hélixet a *Programmed cell death protein 7* nevű fehérjében. Ez a fehérje az egész komplexet hosszában átéri. A magányos helikális régiót az FT_CHARGE algoritmusunk felismeri, bár ehhez az szükséges, hogy ne a legszigorúbb paraméterezést használjuk, hanem azt a beállítást, ami a CAF1 fehérje SAH szakaszát is képes detektálni. Ez a példa is rávilágít arra, hogy a nagyon szigorú beállítások miatt feltehetőleg némileg alulbecsültük a SAH régiók előfordulását, másrészt arra, hogy feltehetőleg nincsen nagyon éles határ az egyes fehérjékben előforduló, különböző nagy stabilitású helikális szerkezetek között.



A szubsztrátkötött U11 snRNP krio-elektronmikroszkópiával meghatározott modellje (PDB kód: 9GBW). A Programmed cell death protein 7 fehérjét világoskék szalagos reprezentációval emeltem ki, ezen belül az FT_CHARGE által felismert SAH régiót sötétkék színnel jelöltem. A komplex többi komponense esetében a molekulafelszínt ábrázoltam, az egyes komponensek esetében más-más színnel.

2. A SAH szerkezet vizsgálatára vonatkozó eredmények között említi, hogy az Asp és Glu aminosavak esetén (tehát a negatív töltésű esetekben) ismert egyfajta preferencia a Glu javára. A pozitív töltésű aminosavak esetében (Arg, Lys) ismer-e ehhez hasonló preferenciát? Ezt azért is kérdezem, mert mintha a 4.1-es ábra és 4.2-es táblázat alapján az Arg gyakrabban fordulna elő a SAH régiókban.

A glutamát aminosavakra vonatkozó preferencia valóban viszonylag egyszerűen magyarázható a magasabb hélixképző hajlam segítségével, ami már a Chou-Fasman paraméterekben is tükröződik. Az Arg/Lys eloszlás kapcsán vannak olyan megfigyelések, miszerint a magasabb Arg gyakoriság nagyobb stabilitást biztosít a SAH régióknak (Wolny et al. 2017). Magunk is azt gondoljuk, hogy az Arg/Lys arány, illetve a töltésmintázat szabályosságának eltérései hozzájárulhatnak a SAH szakaszok változatosságához. Az arginin aminosavak kapcsán, elsősorban a kromatin-összeszerelő fehérjék SAH szakaszának újonnan leírt DNS-kötő funkciójának tükrében a nukleinsavakkal való kölcsönhatáshoz való hozzájárulás is felmerül.

3. A PSPC1/NONO komplex vizsgálata során biztosan, de igazából azt megelőzően is említette a SAH szakaszok kötegeképződési tulajdonságát. Ezt fel lehet fogni egy távolság tartó, pozicionáló szerepkörnek, de akár szerkezetmervítési feladatnak is. Az előbbi feladatot tekintve, lehet-e a + és – töltésű szakaszokra úgy tekinteni, hogy az egymás melletti kötegekben, mint valamiféle egymással komplementerben álló „fogasléc” fogai funkcionálnak ezek a töltött szakaszok? A második szerepkör kapcsán pedig az lenne a kérdésem, hogy egy SAH régió önmagában mennyire merev szerkezet? Vagy a 4.2-es ábra alapján inkább a kötegeképződés segíti az ábrán látható nyújtott konformáció stabilitásának fenntartását?

A SAH szakaszok összerendeződésének gondolata elsősorban abból a megfigyelésből fakad, hogy több esetben is coiled coil szakaszok mellett, mintegy azok folytatásaként detektálhatóak. A miozin X és VI mellett valóban a paraspeckle szerkezeti modellje mutat erre példát. Az ilyen jellegű folytonosság és az ezzel vélhetően szoros kapcsolatban lévő evolúciós összefüggések, valamint a SAH szakaszokra jellemző, azokat coiled coil szakaszoknak becsülő eredmények miatt merült fel, hogy bizonyos esetekben gyenge coiled coil képző hajlammal is rendelkezhetnek. A coiled coil szerkezetek esetében fontosak a kis méretű hidrofób oldalláncok által kialakított kölcsönhatások, a SAH szerkezetek esetében viszont valóban az ionos kölcsönhatások dominanciáját lehet feltételezni, a coiled coil szerkezetek analógiájára talán nem is leginkább a hélixek egymás felé néző felszínén („hidrofil varrat”), hanem a szuperhélix tengelyéhez képest mintegy érintőlegesen elhelyezkedő aminosavak között (vö. a coiled coil szerkezetek *e* és *g* pozícióival). A SAH szakaszok fázisszeparációban betöltött szerepe kapcsán is ez az elképzelés, azzal a továbbgondolással, hogy a kölcsönhatási mintázat a hélixek között többféle módon is kialakulhat, mintegy egy töltéseken alapuló multivalens komplexet létrehozva, ahol az egyes hélixek különböző módokon is kölcsönhatásba léphetnek egymással úgy, hogy az ellentétes töltésű szakaszok egymás mellé kerülnek.

A SAH régiók önmagában is stabil, nagyrészt egyenes szerkezetet vesznek fel, erre leginkább egyértelmű módon kisszögű röntgenszórás (SAXS) eredmények utalnak (pl. Sivaramakrishnan et al. 2009, Batchelor et al. 2019, illetve saját, publikálás alatt lévő eredményeink). Ezek alapján a SAH szakaszokban a hélix megtörése előfordul ugyan, a szerkezet összességében azonban nyújtott. Más

helikális modelleken kapott eredményekkel (Zagrovic et al. 2005) összevetve a SAH szakaszok esetében az egyenes helikális szerkezet megtörése ritkább, és ez a jelleg meg is fogalmazódott az irodalomban mint a SAH szakaszok megkülönböztető vonása (Sivaramakrishnan et al. 2008). Az egyenes helikális jelleget támasztja alá a miozin VI lépéshossza is, amely jól értelmezhető a benne található SAH régió hossza alapján (Spudich et al. 2010).

4. A dolgozat végén, a diszkussziónál elemzi a SAH szerkezet rugalmas/merev voltát, ott is említi egy erőkar jellegű szerepet vele kapcsolatban. Többek között ezt a szerepet is befolyásolja a SAH hélix mérete, aminek nyilván van egy optimális hossza. Milyen elméleti megfontolásokat ismer a hélix szerkezet optimális hosszára vonatkozóan?

Az ismert, kísérleti adatok alapján meghatározott vagy modellezett természetes SAH szerkezetek hossza nagyjából 60 és 110 aminosav közé esik, és ebbe a tartományba esnek egyes szisztematikus elemzések során vizsgált SAH modellszekvenciák is (Wolny et al. 2017). Véleményem szerint SAH szerkezetnek leginkább minimális hosszát lehet megadni, a szükséges helikális fordulatok alapján, ami a kialakuló $i-i+4$ hidrogénkötések és a töltésmintázat alapján lehet becsülhető, illetve szisztematikus molekuladinamikai szimulációkkal lehet feltérképezhető. A motívum hosszára felső korlátot abban az értelemben nem lehet adni, hogy az ismétlődő töltésmintázatú szekvencia elméletben bármennyig ismétlődhet, a – közismerten alacsony megbízhatóságú – UniParc adatbázisban találtunk 10000 aminosavnál is hosszabb ilyen szakaszokat.

Markus J. Buehler kutatócsoportja behatóan foglalkozott alfa-helikális szakaszok mechanikai stabilitásának elméleti jellemzésével, mind atomi szintű, mind alacsony felbontású modelleken végzett szimulációk segítségével. Megközelítésükben lényeges szerepet játszik a Bell modell, amellyel elsősorban a helikális szerkezet húzó erővel szembeni ellenállását értelmezik a hidrogénkötések stabilitásának tükrében. Az alacsony felbontású, mesoscale modelljükkel (melyben egy „monomer” a hélix egy teljes fordulatának, így 3,6 aminosavnak felel meg) kapott egyik legérdekesebb eredmény, hogy a hélix ellenállása annak hosszával csökken, majd a 200-550 Å (kb. 133-366 aminosav) hossztartomány után egy állandó értékre (~180 pN) áll be a hosszától függetlenül. A szerzők szerint az ellenállás csökkenését a hosszabb szerkezetekben található több hidrogénkötés egyedi megtörési valószínűségeinek összeadódása okozhatja. Az aszimptotikus viselkedés magyarázatára a deformációk kisimulását feltételezik a sok interakciót tartalmazó rendszerekben (Bertaud et al. 2010). Megjegyzem, hogy a SAH szakaszok stabilitása az átlagos hélixekénél nagyobb, így a fentebb leírt folyamatok még hosszabb struktúrák esetében jelentkezhetnek.

A hosszú alfa-hélixek esetében a fentebb tárgyalt letekeredésen kívül megjelenik a szerkezet hajlító erővel szembeni ellenállásának kérdése is. Buehler és munkatársai ezt is modellezték a vimentin fehérje egy 52 aminosav hosszú hélixének esetére (Ackbarrow & Buehler, 2007), de elsősorban a megfelelő coiled coil szerkezettel való összevetéshez, és nem írtak le ennek kapcsán a hossza vonatkozó általános következtetéseket. Ugyanakkor az ilyenfajta deformációval szembeni korlátozott ellenállás várhatóan limitálja a nagyon hosszú helikális szerkezetek stabilitását a teljes hosszuk mentén.

5. A *de novo* vizsgálatokra vonatkozó eredmények egy részét a 4.6-os ábra foglalja össze. A bal oldali oszlopot tekintve, logikusnak tűnik a legfelső ábrán látható sorrend ($Z < K < L$) megfordulása az alsó két ábrán, hiszen minél nagyobb a rendezetlen aminosavak aránya egy szakaszon, annál kisebb lehet azon a szakaszon egy rendezettebb transzmembrán vagy aggregálódó aminosav aránya. A kérdés itt a humán proteom fehérjéire vonatkozó görbe értelmezése: Miként lehet, hogy noha a felső ábrán az ismert 40%-60%-os GC arálynak megfelelő humán görbe a lila és zöld görbe között helyezkedik el, addig a középső grafikonon az elején messze felette van a többi görbének? Azaz ott nem a 40%-60%-os esetnek felel meg a viselkedése. Lehet-e ez pusztán az alkalmazott normálás következménye?

A véletlenszerű szekvenciákra és a valós emberi fehérjékre vonatkozó görbék lefutásának a kérdésben leírt különbsége elsősorban két tényezőből adódik: az egyik, hogy a valódi fehérjék szekvenciája nem véletlenszerű, hanem a szelekciós tényezők miatt ettől eltér, még igen hasonló aminosavgyakorosság mellett is (Carugo 2013; Eitner 2010). A másik ok az, hogy itt a teljes humán proteommal dolgoztunk, ami számos redundáns szekvenciát tartalmaz. A redundanciamentesítés elmaradásának oka itt az, hogy az egyes jellegek által meghatározott paraméterter kiterjedésére voltunk elsősorban kíváncsiak. A transzmembrán régiók humán fehérjékben való feldúsulásához feltehetőleg mindkét aspektus hozzájárul, hiszen az ilyen szakaszoknak az aminosav-összetétele mellett a hossza is jellegzetes korlátok közé esik (ez a véletlen szekvenciákban azonosított ilyen szakaszok számát korlátozza pl. a rendezetlenségéhez képest még jobban). Evolúciósan rokon transzmembrán fehérjék az extra- és intracelluláris szakaszaikban nagyobb variabilitást mutatnak, mint a TM régiókban (pl. a GPCR családban; Strotmann et al. 2011), ez pedig a redundanciát befolyásolja.

A humán genom kódoló régióinak GC-tartalma tipikusan magasabb, mint a teljes genomra jellemző ~41% (mRNS szekvenciákon vizsgálva a különbség mintegy 8%; Piovesan et al. 2019), ennek fényében a diagramokon leginkább az alacsony GC-tartalmú véletlen szekvenciákénál alacsonyabb aggregációs hajlam megjelenése lehet említésre méltó. Az aggregációs hajlam ugyanakkor feltehetőleg az evolúció során gondosan szelektált jellemző (de Groot et al. 2012), ami szintén befolyásolja az eloszlást.

6. A sokasági szerkezetet előállító részre vonatkozóan, amikor módosítják a sokaságot alkotó egyes konformerek súlyfaktorát pl. a BME eljárással, vizsgálták-e, hogy az miként befolyásolta az energetikai viszonyokat? Azaz, mennyire szólt bele például a Boltzmann eloszlásba? Ezt azért is gondolom fontos kérdésnek, mert a kísérleti paramétereknek való jobb megfelelés kényszere azt feltételezné, hogy az energetikai viszonyoknak nem volna szabad romlaniuk, azaz a mélyebb energiás konformerek súlya a Boltzmann eloszlásnak megfelelően kellene, hogy alakuljon a sokaságban.

A konkrét munka során mi nem használtuk a BME eljárást, csak annak támogatását építettük be a CoNSEnsX⁺ webszerverbe. A kérdésben felvetett elméleti kérdés a szerkezeti sokaságok területének egyik legfontosabb problémája, nevezetesen, hogy mennyire jól reprezentálja a sokaság a valós energetikai és így populációs viszonyokat. A BME eljárás egy adott, pl. molekulamechanikai módszerrel kapott sokaságot a kísérleti adatoknak való megfelelés érdekében újrásúlyoz oly módon, hogy az eredeti sokaság által reprezentált eloszlást csak a szükséges minimális mértékben változtassa meg. Ennek a megközelítésnek az alapfeltevése, hogy az eredeti konformersokaság előállításához

használt módszer alapvetően már önmagában is nagyon jól becsli az egyes szerkezetek energiáit, és megfelelő a konformációs tér mintavételezése is. Ezen feltételezések jogosságát azonban nem minden esetben könnyű igazolni, sokszor éppen a mért paramétereknek való megfelelés jóságával lehet egyes esetekben becsülni. Az általunk használt szelekciós megközelítés, bár felfogható a súlyozás szélsőséges esetének (a kiválasztott konformerek 1, a többiek 0 súllyal szerepelnek a végső sokaságban) alapvetően nem tesz ilyen feltételezést, hanem közelebb áll a hagyományos NMR-szerkezetszámolás megfontolásaihoz, azaz az egyes konformerektől csak azok geometriailag reális mivoltát várja el, a bejárt konformációs teret pedig a kísérleti paraméterek segítségével határolja be. A CoNSEnsX⁺ szerverbe implementált szelekciós megközelítés elve, hogy az adott sokaságból a lehető legkisebb tagszámú olyan alsokaságot válassza ki, amely a kísérleti adatokat minél jobban tükrözi, mintegy Occam borotvájának elvét követve és reményeink szerint elkerülve a túllillesztés veszélyét, különösen a diverz, nagy tagszámú sokaságok esetében.

7. A szerinproteáz-inhibitorok vizsgálata igen érdekes kérdést vet fel az olvasóban. A 4.10-es ábra mintha azt sugallná, hogy a ligandum kötődése nem egy dinamikus folyamat, melyben a target és az inhibitor fokozatosan, egymást módosítva hozzák létre a kötési geometriát, hanem az oldatban szabadon mozgó ligandum önmaga felveszi időnként a kötési geometriát, és ezt mintegy „kiválasztja” a target fehérje. Értelmezhető-e így a kötési folyamat az eredmények alapján?

A kanonikus szerinproteáz-inhibitorok esete az ezen molekulákra előszeretettel alkalmazott, a kötőhurok merevségét hangsúlyozó modellek miatt érdekes. A mi eredményeink szerint a kötőhurok nem merev, hanem a gyors időskálán jellegzetes dinamikát mutat. Az eredményeink alapján a gyors dinamika által meghatározott konformációs tér magában foglalja a kötött formára jellemző szerkezeteket. A gyors (ps-ns) dinamika során bekövetkező konformációs változások azonban gyorsabbak, mint a kötés becsült időskálája, ezért nem jelentenek sebességmeghatározó tényezőt. Ez a kép, ahogyan a bíráló is rámutat, kétségkívül leegyszerűsített, legnagyobb limitációja, hogy a kötött állapot jellemzése röntgendiffrakcióval meghatározott egyedi konformerek segítségével történt. A valóságban igen fontos, hogy mindkét partner rendelkezik belső dinamikával, és a kölcsönhatás során minden valószínűség szerint mindkét partner dinamikája megváltozik. Az általam tanulmányozotthoz hasonló enzim-inhibitor rendszereken célzottan ennek vizsgálatára végzett molekuladinamikai szimulációk egyértelműen utalnak erre. A dinamika megváltozása nem egységesen érinti a molekulák egyes régióit, van, ahol nő, és van, ahol csökken a flexibilitás a modellekben (Grünberg et al. 2006).

A dolgozatban nem tárgyalt egyik korábbi munkánkban megvizsgáltuk a kötött állapotú SGCI viselkedését is NMR-spektroszkópiával, és azt találtuk, hogy az igen szoros kötés során az inhibitor esetében gyakorlatilag minden aminosav amid NH csoportjának kémiai eltolódása megváltozik (Gáspári et al. 2006). Mivel az enzimekötött állapotról rendelkezésünkre álló szerkezeti adatok nem utalnak nagyobb léptékű szerkezetváltozásra, a kötőfelszíntől térben távolabb eső aminosavak esetében az egyik lehetséges magyarázat a lokális dinamika megváltozása, átrendeződése a kölcsönhatás során.

Összességében az enzim-inhibitor kötés során modellünk szerint valóban zsugorodik az inhibitor kötőhurok régiója által bejárt konformációs tér, emellett azonban bizonyosan egyéb dinamikai változások is szerepet játszanak a komplex kialakulásában és a kölcsönhatások finomhangolásában.

8. A 4.12-es ábra felső sorában szereplő ábrán a 2MM3 kóddal azonosított pontok erősen elkülönülnek a többi szerkezettől. Van-e valami magyarázata ennek a speciális elhelyezkedésnek. Lehetséges-e, hogy ez pont egy példa arra, hogy bizonyos kísérleti értékek olyan esetekhez tartoznak, ami a valóságban nem nagyon fordul elő, inkább valamiféle átlagszerkezettel lehet azonosítani?

A főkomponens-elemzés által kiemelt konformációs különbség a 2MM3 szerkezet és a dinamikus sokaságok között a konkrét esetben viszonylag kicsi, a dolgozat 4.12 ábrájának is megfelelően elsősorban az 1-es főkomponens által is leírt mozgásokban leginkább érintett régiók pl. az E/F és G/H hurkok szerkezete tér el valamennyire, és vesz fel valóban „köztes” helyzetet a szabad és a kötött formára vonatkozó dinamikus sokaságokhoz képest. Tapasztalataink szerint a molekuladinamikai számításokból kapott szerkezetek tipikusan nagyobb konformációs teret járnak be, mint a hagyományos módon meghatározott szerkezeti modellek, és ez igaz a megkötéseket alkalmazó sokaság-alapú szimulációk esetében is. Másként megfogalmazva, a kísérleti szerkezetek sokszor kompaktabbak, mint amiket a szimulációkból kapunk, ennek feltehetően többféle módszertani oka is van, NMR-szerkezetek esetében leginkább az, hogy a hagyományos szerkezetszámolás során olyan konformációk előállítására törekszünk, melyek az összes távolság jellegű kényszerfeltételt egyidejűleg elégítik ki, és egymáshoz is igen hasonlóak. A konkrét esetben az is szerepet játszhat, hogy a távolság jellegű kényszerfeltételek kezelése nem tökéletesen egyforma egy (X-PLOR programmal végzett) „hagyományos” szerkezetszámolás, ill. az általam futtatott sokaság-alapú dinamika során, és az alkalmazott erőter sem ugyanaz. Mindezek alapján ha elfogadjuk, hogy a dinamikus sokaság valamivel jobban modellezi a molekula által bejárt konformációs teret, mint a hagyományos szerkezetszámolás (amit a többféle NMR-paraméternek való jobb megfelelés miatt alapvetően várunk), akkor jelen esetben az utóbbival kapott szerkezetek valóban kisebb valószínűséggel lehetnek jelen, a komplexált forma által bejárt konformációs tér határának közelében lehetnek.

9. Az epesav kötése kapcsán megjegyzi, hogy a kétféle epesav a számítások szerint elég egyértelmű sorrendben kötődhet a fehérjébe. Történtek-e kísérleti igazolások ennek ellenőrzésére?

Nincs tudomásom olyan kísérletről, amely konkrétan ennek a kérdésnek a megválaszolását tűzte volna ki célul. Amire van adat, az az, hogy bár az általunk is vizsgált két epesav mindegyike képes mindkét kötőhelyre bekötni, amennyiben egyszerre vannak jelen, jól meghatározott kötőhelypreferenciával kötnek be a hordó belsejébe (Tochtrop et al. 2004). Az is ismert, hogy két glikokólsav (GCA) molekula egymás utáni bekötése kooperatív (Tochtrop et al. 2002). Ezek az eredmények nyilván nem szolgáltatnak rá bizonyítékot, de jól összeegyeztethetőek az általunk dokkolással kapott GCA, GCDA bekötési sorrenddel.

Ezúton is még egyszer köszönöm Gábornak a dolgozat bírálatát és a kapcsolódó kérdéseket, bízom benne, hogy sikerült ezek kapcsán érdemi válaszokat adnom.

Kerepes, 2025. 02. 13.

Gáspári Zoltán

Hivatkozások

- Ackbarrow T & Buehler MJ. 2007. Superelasticity, energy dissipation and strain hardening of vimentin coiled-coil intermediate filaments: atomistic and continuum studies. *J Mater Sci* 42:8771-8787.
- Batchelor M. et al. 2019. Dynamic ion pair behavior stabilizes single α -helices in proteins. *J Biol Chem* 294:3219 -3234.
- Bertaud J. et al. 2010. Energy landscape, structure and rate effects on strength properties of alpha-helical proteins. *J Phys Condens Matter* 22: 035102
- Carugo O. 2013. Frequency of dipeptides and antidiptides. *Comp Struct Biotech J* 8:e201308001.
- Eitner K. et al. 2010. Statistical distribution of amino acid sequences: a proof of Darwinian evolution. *Bioinformatics* 26:2933-2935.
- Gáspári Z. et al. 2006. Local binding with globally distributed changes in a small protease inhibitor upon enzyme binding. *FEBS J* 273:1831-1842
- de Groot NS et al. 2012. Evolutionary selection for protein aggregation. *Biochem Soc Trans* 40:1032-1037.
- Grünberg R et al. 2006. Flexibility and conformational entropy in protein-protein binding. *Structure* 14:683-693,
- Piovesan A. et al. 2019. On the length, weight and GC content of the human genome. *BMC Res Notes* 12:106
- Sivaramakrishnan S. et al. 2008. Dynamic charge interactions create surprising rigidity in the ER/K α -helical protein motif. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:13356-13361.
- Sivaramakrishnan S. et al. 2009. Combining single-molecule optical trapping and small-angle X-ray scattering measurements to compute the persistence length of a protein ER/K α -helix. *Biophys J* 97: 2993-2999.
- Spudich & SivaRamakrishnan 2010. Myosin VI: an innovative motor that challenged the swinging lever arm hypothesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 11:128-137.
- Strotmann R. et al. 2011. Evolution of GPCR: Change and continuity. *Mol Cell Endocrinol* 331:170-178.
- Tochtrop GP et al. 2002. Energetics by NMR: Site-specific binding in a positively cooperative system. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:1847-1852
- Tochtrop GP et al. 2004. A Single Hydroxyl Group Governs Ligand Site Selectivity in Human Ileal Bile Acid Binding Protein. *J Am Chem Soc* 126:11024-11029
- Wolny M. et al. 2017. Characterization of long and stable de novo single alpha-helix domains provides novel insight into their stability. *Sci Rep* 7:44341
- Zagrovic et al. 2005. How Large is an α -Helix? Studies of the Radii of Gyration of Helical Peptides by Small-angle X-ray Scattering and Molecular Dynamics. *J Mol Biol* 353:232-241.
- Zhao J. et al. 2025. Structural basis of 5' splice site recognition by the minor spliceosome. *Mol Cell* 85:652-664.