Perfektne, Patrícia 🌟 — presne toto je moment, kedy sa z „námetu“ stáva **skutočný vedecký projekt**.  
Ty už máš všetko podstatné (tému, vizuál, nápady, ciele, literatúru), len to treba **zložiť do jasnej štruktúry** — krok za krokom, aby si vedela **čo robíš, prečo, ako, a čo z toho budeš vedieť povedať na konci.**

Nižšie máš celý tvoj projekt rozdelený do:

* 🎯 **hlavnej výskumnej otázky**,
* 🧠 **cieľov a hypotéz**,
* 🧩 **plánu práce (čo ide po čom)**,
* 💡 **očakávaných výstupov a presahu**.

**🎯 Hlavná výskumná otázka**

**Prečo má α-synukleín prionové šírenie, kým β- a γ-synukleín nie — a nakoľko sa jeho prion-like vlastnosti podobajú skutočnému priónovému proteínu PrP?**

Toto je tvoja kľúčová otázka — jasná, vedecká, presne v duchu bioinformatiky.  
Nepýtaš sa „je α-synukleín prion-like?“ (to vieme),  
ale „*čo ho robí prion-like a ako sa to vyvinulo?*“

**🧠 Ciele projektu**

1. **Porovnať α-, β- a γ-synukleín** – zistiť, ktoré sekvenčné vlastnosti sú špecifické pre α-synukleín a môžu súvisieť s jeho prion-like správaním.
2. **Porovnať α-synukleín s priónovým proteínom (PrP)** – určiť, aké sekvenčné a štrukturálne znaky zdieľajú, a kde sa zásadne líšia.
3. **Preskúmať evolučný kontext** – zistiť, ako sú tieto vlastnosti konzervované naprieč druhmi (ortológia).
4. **Vyhodnotiť úlohu mutácií** (A30P, E46K, A53T) – ako ovplyvňujú stabilitu a prístupnosť NAC domény.

**🧩 Hypotézy**

* 🧩 **H1:** NAC doména je evolučne konzervovaná vo všetkých synukleínoch,  
  ale len α-synukleín má v jej okolí zvýšený **disorder**, **nízku sekvenčnú komplexitu** a **hydrofóbnosť**,  
  čo ju robí „prion-like“.
* 🧩 **H2:** α-synukleín zdieľa s PrP prion-like sekvenčné znaky (disorder + LCR),  
  ale nie doménovú architektúru → *molekulárna analógia, nie homológia*.
* 🧩 **H3:** Mutácie v α-synukleíne menia štruktúrnu stabilitu NAC domény a zvyšujú jej tendenciu k agregácii.

**🔬 Plán projektu (krok za krokom, logicky)**

**1️⃣ Príprava dát**

* Získaj FASTA sekvencie:
  + α-synukleín (SNCA), β-synukleín (SNCB), γ-synukleín (SNCG), PrP (PRNP)
  + Z UniProt (ľudské proteíny)
* Pridaj ortológov z iných druhov (myš, potkan, kura, ryba) pomocou **MMseqs2** alebo **Ensembl Orthologues**.

🎯 *Výstup:* databáza sekvencií pre analýzu (4 proteíny × viac druhov)

**2️⃣ Sekvenčné predikcie**

Pre každú sekvenciu spusti:

* **PLAAC / PAPA** – prion-like skóre
* **IUPred2A** – neštruktúrovanosť (disorder)
* **SEG** – nízka sekvenčná komplexita
* **ProtScale** – hydrofóbnosť

🎯 *Výstup:* štyri profily na pozíciu aminokyseliny (tabuľky alebo grafy).

**3️⃣ Porovnanie v rodine synukleínov**

* Porovnaj α, β, γ pomocou:
  + **Clustal Omega** – viacnásobné zarovnanie
  + **Dot ploty** – α vs β, α vs γ
  + **Heatmapa** – prekryv vlastností (PLAAC + IUPred + SEG + ProtScale)

🎯 *Cieľ:* ukázať, že NAC doména je konzervovaná, ale jej kontext sa mení.

**4️⃣ Porovnanie s priónovým proteínom (PrP)**

* Zarovnaj α-synukleín vs PrP (MSA, dot plot).
* Porovnaj prion-like, disorder, hydrophobicity profily.
* Všimni si, že α a PrP zdieľajú „prion-like podpis“, ale PrP má inú doménovú štruktúru.

🎯 *Cieľ:* určiť, do akej miery je α-synukleín prion-like „analogicky“ k PrP.

**5️⃣ Evolučná analýza (ortológia)**

* Použi **MMseqs2 / Ensembl Compara** na získanie ortológov.
* Sprav MSA pre NAC doménu → zobraz konzerváciu.
* Vytvor jednoduchý **strom** (napr. Clustal Omega → JalView).

🎯 *Cieľ:* zistiť, či sa prion-like znaky zachovávajú naprieč druhmi a rodinami.

**6️⃣ Štrukturálna analýza (AlphaFold)**

* Získaj 3D model α-synukleínu (WT + mutácie A30P, E46K, A53T).
* Zvýrazni NAC doménu, porovnaj stabilitu a povrchovú expozíciu.
* Pridaj vizualizáciu (PyMOL / ChimeraX).

🎯 *Cieľ:* spojiť sekvenčné predikcie s priestorovou interpretáciou.

**7️⃣ Interpretácia a syntéza**

* Vytvor pre α-synukleín **heatmapu** prekryvu všetkých vlastností (PLAAC + IUPred + SEG + ProtScale).
* Porovnaj s β, γ, PrP.
* Vyzdvihni rozdiel v kontexte NAC.

🎯 *Cieľ:* vysvetli, prečo len α-synukleín agreguje prionovo.

**💡 Očakávané výstupy (čo budeš mať v posteri)**

| **Analýza** | **Výstup** | **Význam** |
| --- | --- | --- |
| Sekvenčné predikcie | Grafy alebo heatmapa | Identifikácia prion-like oblastí |
| Porovnanie rodiny | Dot ploty, MSA | Konzervácia NAC domény |
| Porovnanie s PrP | Tabuľka a profil | Zdieľané a odlišné znaky |
| Evolúcia | Strom, MSA výrez | Konzervácia medzi druhmi |
| Štruktúra | 3D model WT + mutácie | Zmena stability a expozície NAC |

**🔮 Záverečný presah (čo tým získavaš)**

* Ukážeš, **prečo len α-synukleín z rodiny synukleínov vykazuje prionové šírenie**.
* Porovnaním s PrP objasníš, že α-synukleín síce **nie je prión**, ale používa **podobné molekulárne princípy**.
* Evolučná analýza ukáže, že tieto vlastnosti sú **mladé** a súvisia s vývojom komplexného nervového systému.
* Vďaka tomu tvoj projekt má **presah do neurodegenerácie, evolúcie aj bioinformatických metód.**

**✅ Zhrnutie – v jednej vete (pre seba aj pre prezentáciu):**

„Porovnávam α-synukleín s jeho príbuznými proteínmi a s priónovým proteínom, aby som pochopila, prečo sa len α-synukleín správa prionovo — a ako sa tieto vlastnosti vyvinuli.“