**תרגיל אנזימים ו-RMSD**

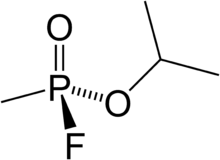
**חלק א'**

1. למדנו בכתה על השלשה הקטליטית של הסרין אסטרזות. בתרגיל זה נבחן מבנה של סרין אסטרזה מפורסמת. פתחי את האנזים הנטיבי אצטילכולין אסטרז 3LII. השאירי רק את החומצות של הטריאדה

מה המרחק בין החמצן הכהלי של Ser לחנקן הקרוב ביותר של ההיסטידין?

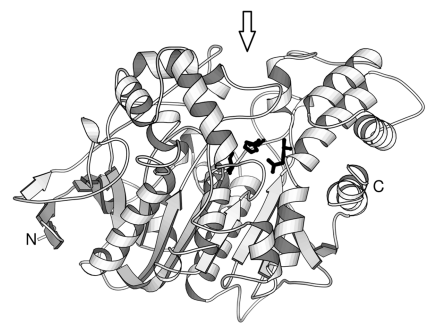
הוציאי תמונה של השלשה וצרפי לתרגיל.

1. החלבון 2WHP הוא האנזים אצטיל כולין אסטרז אחרי עיכוב קוולנטי ע"י Sarin (ראי מבנה מצורף) שמהווה גז עצבים ידוע ומשמש כנשק להשמדה המונית. פתחי את המבנה בתכנת צפיה ואתרי את האתר הפעיל.
2. מה מיוחד הפעם בסרין הקטליטית? מה שם השייר שלה ב pdb? למה הפלואור לא מופיע במבנה?



1. מדדי את המרחקים בין החנקנים של ה oxyanion hole (החנקנים שייכים לbackbone סימון "N") לקרבוניל של הפוספט האם אכן יש שם מרחק מתאים ל-3 קשרי מימן?

|  |  |
| --- | --- |
| מרחק | oxyanion hole residues |
|  | Gly121 |
|  | Gly122 |
|  | Ala204 |

****

שרטוט של האנזים עם ה 3 הקטליטית מודגשת

**חלק ב'**

האנזימים טריפסין (Trypsin) וסבטיליזין ((subtilisinהם אנזימים שעושים הידרוליזה לאסטרים ופפטידים (פרוטאזות) וחולקים את אותה שלשה קטליטית שראינו בכתה. בתרגיל זה נראה תופעה מפתיעה בקשר לשני האנזימים הנ"ל.

1. עד כמה דומה ה 3 הקטליטית בשני האנזימים?

מצורף בנספח קוד פייתון שמבצע superimposition. עברו על הקוד והבינו אותו. שנו אותו כך שהוא יבצע superimposition **רק של הטריאדה הקטליטית בשני האנזימים הנ"ל**.

(יש לקחת להשוואה את כל האטומים של הטריאדה). חשבו את ה RMSD והציגו תמונה יפה וברורה של ה superimposition.

הערות:

* הגדירו את המבנה של הטריפסין כקבוע (reference) ואת המבנה של סבטיליזין שעליו מפעילים את ה superimposition.
* צרו בסופו של דבר קובץ pdb שמכיל 3 חומצות של השלשה הקטליטית של טריפסין ושלוש הקטליטיות של סבטליזין כשהמילה TER ביניהם.
* פתחו את הקובץ הזה בתכנת צפיה (נניח discovery) וממנו תוציאו את התמונה.
* צרפו את הקובץ עם 6 החומצות לתרגיל יחד עם הקוד.
* מומלץ לעבוד בסביבת לינוקס (נוח מאד לחתוך או לעבד קבצים עם פקודות לינוקס).
* לעיתים כדאי להוריד מה pdb את כל השורות שהם לא ATOM לפני העבודה עם הביופייתון.
* בעזרת הסקריפט אפשר למדוד RMSD של 0.70720 של בין החלבונים 5FUM,2JEY (אחרי הורדה של השורות שלא מתחילות ב ATOM).

מספור החומצות של הטריאדה וה pdb של 2 האנזימים:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Asp** | **His** | **Ser** |  |
| 32 | 64 | 221 | **1AK9 subtilisin** |
| 102 | 57 | 195 | **1TAW trypsin** |

1. עד כמה דומה המבנה הכללי בשני האנזימים? בדקי ב SCOP איפה מקוטלגים 2 האנזימים ומלאי את הטבלה הבאה:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Super-family** | **Fold** | **Class** |  |
|  |  |  | **Trypsin** |
|  |  |  | **subtilisin** |

1. בצעי sequence aligment מהו %identity?

**סכמי את 3 הסעיפים בשאלה הבאה: האם האנזימים הללו הם הומולוגים??**

**Script for superimposition and RMSD calculation**

import sys

import Bio.PDB

# Start the parser

pdb\_parser = Bio.PDB.PDBParser(QUIET = True)

# Get the structures

ref\_structure = pdb\_parser.get\_structure("reference", "5FUMA.pdb")

sample\_structure = pdb\_parser.get\_structure("samle", "2JEYA.pdb")

# Ref - constant structure

# sample - this is the structure that we will superpose on the Ref

# Use the first model in the pdb-files for alignment

ref\_model = ref\_structure[0]["A"]

sample\_model = sample\_structure[0]["A"] # take chain A in both strctures

# Make a list of the atoms (in the structures) you wish to align.

ref\_atoms = []

sample\_atoms = []

# Iterate of all residues in each model in order to find proper atoms

for res in ref\_model:

ref\_atoms.append(res['CA'])

for sample\_res in sample\_model:

sample\_atoms.append(sample\_res['CA'])

# Now we initiate the superimposer:

super\_imposer = Bio.PDB.Superimposer()

super\_imposer.set\_atoms(ref\_atoms, sample\_atoms)

super\_imposer.apply(sample\_model.get\_atoms())

# Print RMSD:

print super\_imposer.rms

# Save the aligned version of 1UBQ.pdb

io = Bio.PDB.PDBIO()

io.set\_structure(sample\_structure)

io.save("2JEYA\_aligned.pdb")