

UNIVERZITET U BEOGRADU
MATEMATIČKI FAKULTET

MASTER RAD

Razvoj metaprediktora za utvrđivanje neuređenosti proteina

Autor:
Una STANKOVIĆ

Mentor:
Jovana KOVAČEVIĆ

ČLANOVI KOMISIJE:

dr Jovana Kovačević
prof. dr Gordana Pavlović-Lažetić
dr Nina Radojičić



Beograd, 2018

Sažetak

Coming soon!

Zahvalnica

Sadržaj

Sažetak	ii
Zahvalnica	iii
1 Uvod	2
2 Biološke osnove	3
2.1 Proteini	3
2.1.1 Funkcije i osobine proteina	3
2.1.2 Struktura proteina	4
2.1.3 Savijanje proteina	8
2.1.4 Denaturacija proteina	8
2.2 Neuređenost proteina	9
3 Predikcija neuredjenosti proteina	10
3.1 Prediktori	10
3.1.1 SPINE-D/ SPOT-D	10
3.1.2 PONDR	10
3.1.3 s2D	10
3.1.4 IUPred	10
3.1.5 ESpritz	10
3.1.6 SEG	10
3.1.7 Disopred2	10
3.2 Baza podataka DisProt	10
4 Aplikacija	11
4.1 Arhitektura	11
4.2 Funkcionalnosti	11
4.3 Korišćenje aplikacije	11
4.4 Primer upotrebe	11
5 Zaključak	12
Bibliografija	13

Tati, mami i Olgi...

Glava 1

Uvod

Glava 2

Biološke osnove

U ovoj sekciji biće ukratko predstavljene biološke osnove neophodne za razumevanje rada i motivacije koja stoji iza određenih njegovih elemenata.

Najpre, biće opisano šta su proteini koje su njihove osnovne funkcije i kakva im je struktura. Potom, biće opisana svaka od struktura ponaosob, uz priložen grafički prikaz istih. Na kraju, posebno će biti opisani neuređeni proteini, njihova uloga i uzroci koji mogu dovesti do njihove pojave.

2.1 Proteini

Proteini (grč. *protos* - "zausimam prvo mesto") su najvažniji sastojak žive materije i utiču na brojnost i raznolikost živih bića. Specifičnost proteina je toliko da svaka biljna i životinjska vrsta ima svoje proteine, a kod viših organizama oni se razlikuju i na individualnom nivou. Broj proteina u živim bićima je ogroman, a kao primer uzmimo *E.coli* sa 3000 i čoveka sa 5 miliona proteina. [1]

Proteini i peptidi su linearni polimeri izgrađeni od 22 *L* – *aminokiseline*¹ koje se javljaju u prirodi i povezani su peptidnim vezama. [2] Poznavanje i razumevanje funkcija proteina je esencijalno u istraživanju bilo kog biološkog procesa, sa posebnim naglaskom na oboljenja ljudi, s obzirom da se mnoga od njih mogu pojaviti zbog funkcionalnih mutacija. [3]

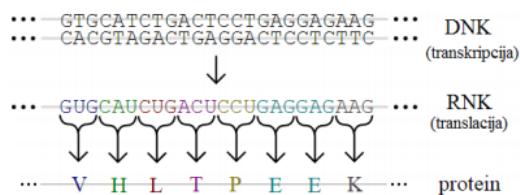
Svaki molekul proteina nastaje u ćeliji živog organizma. Redosled aminokiselina u proteinskom lancu određen je redosledom nukleotida u dezoksiribonukleinskoj kiselini (DNK). Informacija o broju, vrsti i redosledu aminokiselina zapisana je na delovima DNK koji se nazivaju geni. Svakoj trojci nukleotida u genu na osnovu genetskog koda jedinstveno je pridružena po jedna aminokiselina. U procesu genske ekspresije, posredstvom glasničke (eng. messenger) ribonukleinske kiseline (RNK) i transportne (eng. transfer) RNK, enkodirana informacija iz DNK se prevodi u niz aminokiselina u proteinskom lancu. [3] Proces sinteze proteina predstavlja *centralnu dogmu molekularne biologije*, čiji se grafički prikaz može videti na slici 2.1.

2.1.1 Funkcije i osobine proteina

Proteini su biološki najaktivniji molekuli sa velikim brojem esencijalnih uloga koje se dele na:

- dinamičke, od kojih su najvažnije:

¹*L* – *aminokiseline* su one sa levom prostornom konfiguracijom, analogno, postoje i *D* – *aminokiseline*, sa desnom



SLIKA 2.1: Prikaz centralne dogme molekularne biologije [3]

1. transportna - prenos molekula (kiseonika, gvožđa, lipida) i hormona od mesta sinteze do mesta delovanja,
 2. biološka - regulacija metaboličkih procesa u ćeliji, kontrola i regulacija transkripcije gena i translacija,
 3. katalizatorska - biološka katalizacija ²,
 4. zaštitna - keratin, koagulacija krvi,
 5. održavanje zapremine tečnosti u organizmu,
- strukturne
 1. obezbeđivanje čvrstine i elastičnosti organa,
 2. davanje oblika organizmu,
 3. izgradnja strukturnih elemenata ćelije i
 4. bitna uloga u kontraktilnim i pokretnim elementima organizma.

Postoji nekoliko osobina koje karakterišu proteine, to su:

- izgradnja kompleksnih jedinjenja sa različitim supstancama po principu strukturne komplementarnosti i
- visoka osetljivost na različite agense koji ih denaturišu ³. Neki od agenasa su: visoka temperatura, pritisak, mehaničko tretiranje, dejstvo kiselina, baza, organskih rastvarača, materija, itd. [1]

2.1.2 Struktura proteina

Proteini imaju specifičnu trodimenzionalnu strukturu koja se formira presavijanjem polipeptidnog lanca na različite načine. Unutrašnjost takve strukture ima visoku gustinu, pa takav lanac ne dopušta promene u sastavu i zahteva prisustvo aminokiselina tačno određene veličine. Uobičajena raspodela aminokiselina u proteinima je daleko od ravnomerne. Neke aminokiseline se javljaju mnogo češće od ostalih, tako se, na primer, leucin pojavljuje devet puta više od triptofana.

Niska aminokiselina sadrži sve potrebne informacije kako bi se formirala trodimenzionalna struktura proteina, za koju se smatra da je najstabilnija. Proteinsku strukturu održavaju različite vrste kovalentnih i nekovalentnih interakcija između hemijskih skupina, npr. vodonične, jonske, elektrostatičke, dipolne, itd. Nabiranjem i uvijanjem

²Katalizacija predstavlja proces povećavanja brzina reakcija

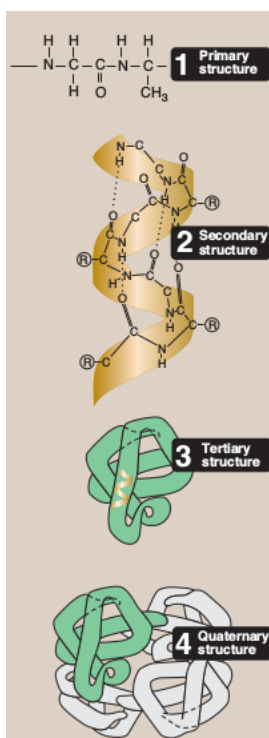
³Denaturizacija proteina je proces koji izaziva promene u strukturi proteina menjajući i njihovo fiziološko dejstvo.

lanaca nastaju različiti oblici proteina: vlaknasti, globularni ili eliptični. [4] Ako mutacija dovede do toga da aminokiselina sa malim bočnim lancem bude zamenjena aminokiselinom sa velikim, pojaviće se problem sa formiranjem trodimenzionalne strukture. Ako bi se, pak, velika aminokiselina zamenila sa malom pojavio bi se prazan prostor, što bi moglo dovesti do destabilizacije molekula proteina.

U molekulima proteina postoji hijerarhijska strukturalna organizacija u četiri nivoa:

1. primarna,
2. sekundarna,
3. tercijarna i
4. kvaternarna. [1]

Na slici 2.2 se može videti opšti prikaz mogućih struktura proteina, a na drugoj 2.3 šematski prikaz.

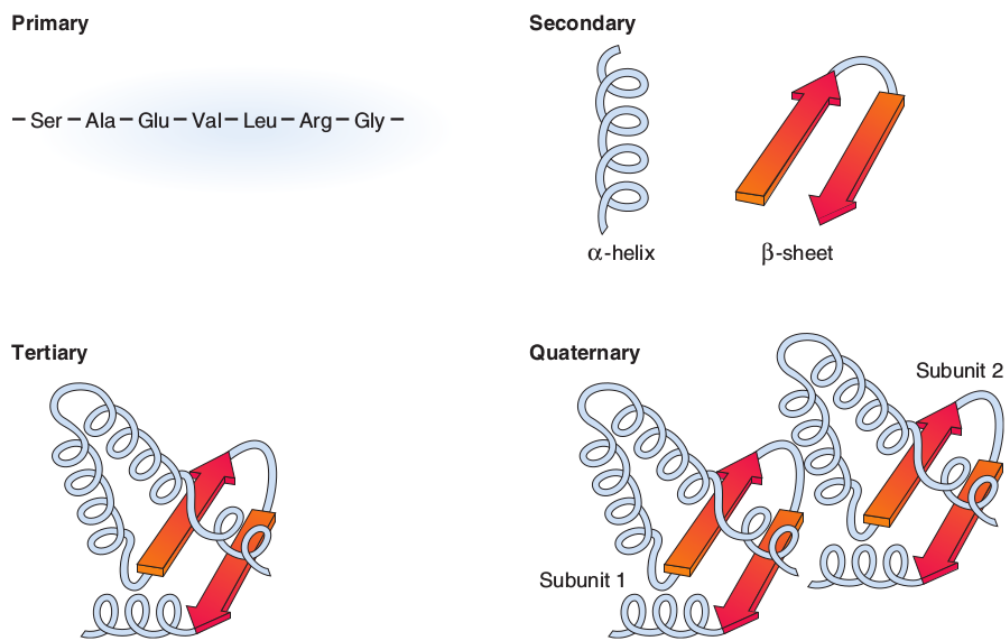


SLIKA 2.2: Prikaz struktura proteina [5]

Primarna struktura Predstavlja samu sekvencu aminokiselina⁴. Ona je od ključnog značaja za funkciju proteina zbog interakcija između bočnih lanaca aminokiselina koji određuju trodimenzionalnu strukturu. Proteini koji imaju sličnu sekvencu aminokiselina su *homologi*, a poređenje sekvenci među takvim proteinima može ukazati na genetsku relaciju između različitih vrsta.

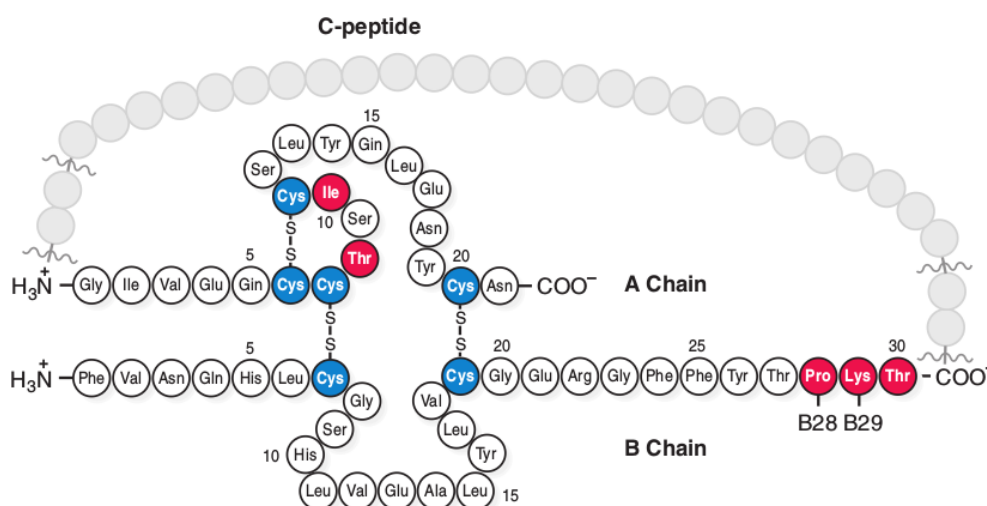
Mnoge genetske bolesti rezultuju u proteinima sa abnormalnim redosledom aminokiselina, što uzrokuje nepravilno presavijanje i gubitak ili nemogućnost normalnog

⁴Redosled kojim su aminokiseline poređane u nekom polipeptidu se zove sekvenca aminokiselina. [1]



SLIKA 2.3: Šematski prikaz struktura proteina [6]

funkcionisanja. Ukoliko su nam poznate strukture normalnih i mutiranih proteina te informacije možemo iskoristiti za dijagnostifikovanje ili proučavanje bolesti. [5] Primarna struktura će sa mutacijama, u najmanju ruku, izmeniti unos, brisanje ili menjanje aminokiselina. Promene u primarnoj strukturi mogu imati uticaja i na više nivoje proteinskih struktura. Takve promene često dovode do lošeg presavijanja proteina i mogu dovesti do njegovog gubitka funkcije. [7] Prikaz izgleda primarne strukture na primeru insulina kod čoveka se vidi na slici 2.4.

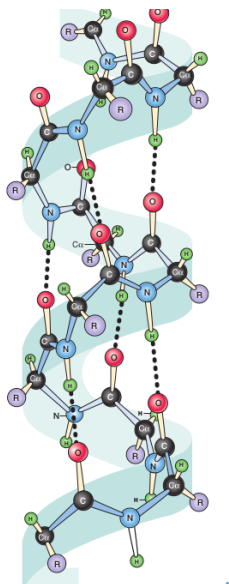


SLIKA 2.4: Prikaz primarne strukture [6]

Sekundarna struktura Označava pravilno pojavljivanje ponavljanoog prostornog rasporeda primarne strukture u jednoj dimenziji. [4] Ovu strukturu čini nekoliko različitih oblika od kojih su najčešći α -heliks i β -presavijena ploča ili β -struktura, a

čest je i tzv. β -okret.

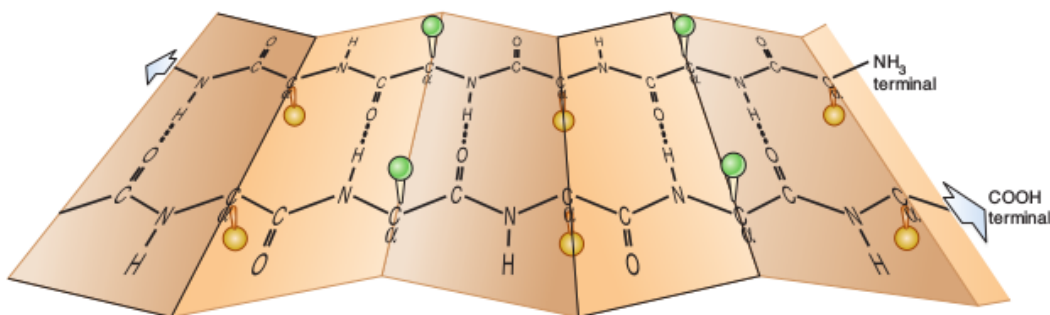
α -heliks - tip sekundarne strukture kod kog se gusto pakovani polipeptidni lanac spiralo uvrće. Karakteriše se brojem peptidnih jedinica po okretu i rastojanjem između dva okreta. Spada pod energetski najsiromašniji, a time, i najstabilniji strukture proteina. Heliks mogu obrazovati i *L*- i *D*- aminokiseline. Postoje dva tipa heliksa: levostrani i desnostrani. Prikaz izgleda α -heliksa se vidi na slici 2.5.



SLIKA 2.5: Prikaz α -heliksa [6]

β -struktura - Za razliku od α -heliksa sastoji se od dva ili više peptidnih lanaca ili segmenata polipeptidnih lanaca, a obrazuje se kada ovakvi tipovi lanca povežu uzdužno. Postoje dva tipa β -struktura: paralelna i antiparalelna. [1]

Prikaz izgleda β -strukture se vidi na slici 2.6. **β -okreti** - obrću pravac polipeptidnog



SLIKA 2.6: Prikaz β -strukture [6]

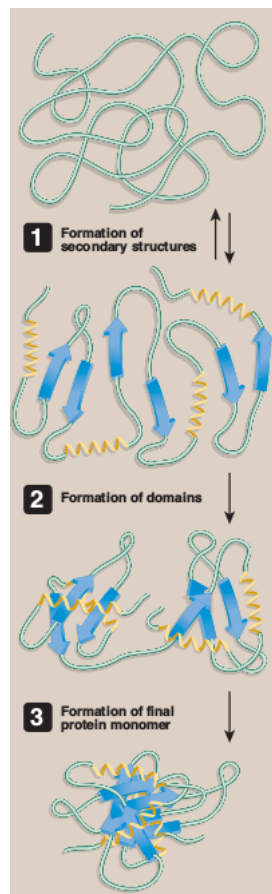
lanca praveći kompaktan globularan oblik. [5]

Tercijarna struktura Podrazumeva unutarmolekularno slaganje polipeptidnog lanca u kompaktnu trodimenzionalnu strukturu specifičnog oblika. [4] Takva trodimenzionalna konformacija nastaje prostornim organizovanjem polipeptidnog lanca koji već ima sekundarnu strukturu. Na taj način, ostaci aminokiselina koji su udaljeni u primarnoj strukturi dolaze blizu. Proteini koji imaju ovakvu strukturu su globularni i kompaktni sa velikom gustinom u središtu. [1]

Kvaternarna struktura Predstavlja agregaciju više peptidnih lanaca u molekulu proteina. [4] Mnogi proteini, posebno oni velike mase, izgrađeni su od nekoliko polipeptidnih lanaca. Svaka takva komponenta naziva se *podjedinica* ili *protomer*. Oni mogu biti identični⁵ ili se razlikovati prema strukturi. Ovakav raspored dovodi do brzog i efikasnog transfera substrata od jednog aktivnog centra enzima do drugog. [1]

2.1.3 Savijanje proteina

Interakcije između lanaca aminokiselina, koji se nalaze sa strane, određuju kako se dugački polipeptidni lanac presavija u trodimenzionalni oblik funkcionalnog proteina. Presavijanje proteina koje se događa u ćeliji traje od nekoliko sekundi do nekoliko minuta. Na slici 2.7 se može videti opšti prikaz savijanja proteina.



SLIKA 2.7: Prikaz savijanja proteina [5]

2.1.4 Denaturacija proteina

Denaturisanje proteina rezultuje u odvijanju i dezorganizaciji proteinskih sekundarne i tercijarne strukture. Pod idealnim uslovima, denaturisanje proteina može biti *reverzibilno*. To znači da bi se protein, pri prestanku delovanja agenasa, vratio u normalno stanje. Međutim, većina proteina ostaje trajno *neureena*. O neuređenosti proteina biće više reči u nastavku.

Jedno od objašnjenja zašto se protein ne vraća u originalno stanje se sastoji u tome

⁵Tada takve proteine nazivamo *oligomerima*

da protein počinje sa savijanjem pre nego što se izvrši sinteza celog lanca. Osim toga, specijalizovana grupa pomoćnih proteina (engl. *chaperones*) su neophodni za pravilno savijanje mnogih vrsta proteina. Ovi pomoćni proteini interaguju sa polipeptidima u nekoliko faza tokom procesa savijanja, imaju ulogu u tome da održavaju protein nesa-
vijenim dok sinteza nije gotova ili imaju ulogu katalizatora. [5] Loše savijanje proteina može dovesti do različitih bolesti kao što su: amiloidna bolest ili Prionova bolest.

2.2 Neuređenost proteina

Glava 3

Predikcija neuredjenosti proteina

3.1 Prediktori

3.1.1 SPINE-D/ SPOT-D

3.1.2 PONDR

3.1.3 s2D

3.1.4 IUPred

3.1.5 ESpritz

3.1.6 SEG

3.1.7 Disopred2

3.2 Baza podataka DisProt

Glava 4

Aplikacija

4.1 Arhitektura

4.2 Funkcionalnosti

4.3 Korišćenje aplikacije

4.4 Primer upotrebe

Glava 5

Zaključak

Bibliografija

- [1] Vesna Spasojević-Kalimanovska Slavica Spasić Zorana Jelić-Ivanović. *Opšta biohemija*. 2002.
- [2] Gerhard Michal Dietmar Schomburg. *Biochemical Pathways: An Atlas of Biochemistry and Molecular Biology*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2012. ISBN: 9780470146842.
- [3] Jovana J. Kovačević. *Strukturna predikcija funkcije proteina i odnos funkcionalnih kategorija proteina i njihove neuređenosti*. on-line na: <http://www.math.rs/files/DoktoratJK2015.pdf>. 2015.
- [4] Ivana Čepelak Dubravka Čvorišćec. *Štrausova medicinska biokemija*. Medicinska naklada, 2009.
- [5] Denise R. Ferrier Richard A. Harvey. *Lippincott Illustrated Reviews: Biochemistry, 5th edition*. 351 West Camden Street, Baltimore, MD 21201, Two Commerce Square, 2001 Market Street, Philadelphia, PA 19103: Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business, 2011. ISBN: 978-1-60831-412-6.
- [6] Michael Lieberman. *Biochemistry, molecular biology, and genetics. — 6th edition*. 351 West Camden Street, Baltimore, MD 21201, Two Commerce Square, 2001 Market Street, Philadelphia, PA 19103: Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business, 2014. ISBN: 978-1-4511-7536-3.
- [7] Bradford A. Jameson Denise R. Ferrier. *Lippincott's Illustrated Reviews Flash Cards*. 2001 Market Street, Philadelphia, PA 19103: Wolters Kluwer Health, 2015. ISBN: 978-1-4511-9111-0.