

METASERWERY RAPORT

Sekwencja białka:

MLLAASKVLDRCLKPVIGVNTDPERSEGHLCPLVRYTHSFPEALQKFYRGEFRWLWRQRIRLYL
EGTGINPVPVDLHEQQLSLNQHNRLNIERAHDERSEASGPQLLPVRALNEVFIGESLSSRASYY
EISVDDGPWEKQKSSGLNLCTGTGSKAWSFNINRVATQAVEDVLNIAKRQGNLSLPLNRELVE
KVTNEYNESLLYSPEEPKILFSIREPIANRVFSSSRQRCFSSKVCVRSRCWDACMVVDGGTSFEF
NDGAIASMMINKEDELRTVLLEQ

1. Rozpoznanie białka:

Na początek użyto *blastp* do przeszukania bazy NCBI. *Blastp* rozpoznał sekwencję jako mitochondrialną kinazę NAD pochodzenia ludzkiego. Jest to białko z rodziny transferaz. Występuje ono w mitochondriach a jego funkcją jest fosforylacja NAD(+) do NADP(+).

Jpred również rozpoznaje to białko jako mitochondrialną kinazę NAD (najbardziej trafny hit to PDB ID: 7r4m). Jego struktura drugorzędowa zawiera 12 helis alfa oraz 4 arkuszy beta. Przewidywana przez *Jpred* struktura 2-rzędowa jest inna niż struktura dopasowanej już istniejącej struktury. Według *Jnet* zawiera ona 8 helis oraz 14 odcinków, które mogą brać udział w tworzeniu arkuszy beta (z czego jeden odcinek ma długość jednego aminokwasu, więc raczej nie należy brać go pod uwagę). Korzystając z przewidywań *Jnet_0* i *Jnet_25* można określić ekspozycję reszt na cząsteczki rozpuszczalnika. I tak w przypadku przewidywanej przez nas struktury widać, że zawiera ona dużo reszt o dostępności rozpuszczalnika <25%, natomiast znacznie mniej jest reszt o zerowej ekspozycji.

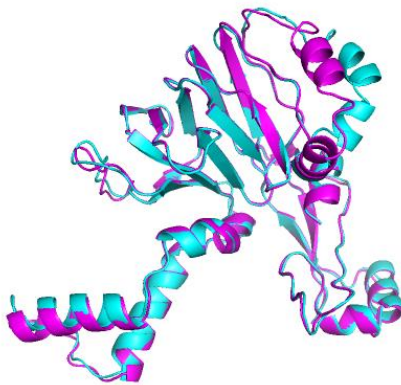
2. Struktura i funkcje wg ITASSER:

- 8 helis (w tym jedna złożona tylko z 2 aminokwasów), 14 beta kartek (w tym dwie z 2 aminokwasów);
- najbardziej prawdopodobnym ligandem struktury jest NADH (C-score 0.71), co zgadza się z wynikami uzyskanymi w *blastp*;
- klasyfikacja EC 2.7.1.23 – kinaza NAD;
- naturalna ruchliwość reszt fluktuuje w okolicach zera, najmniej stabilne są łączniki występujące na początku sekwencji;
- model o najlepszym dopasowaniu charakteryzuje się wartością C-score 0.11;



Rysunek 1. Model uzyskany przy użyciu ITASSER o największej wartości C-SCORE

- nałożenie modelu 1 oraz modelu 2 (C-score -1.6) dało RMSD równe 0.763

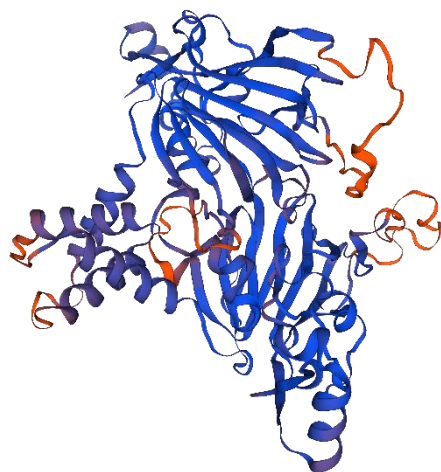


***Rysunek 2.** 2 struktury o najwyższym C-SCORE uzyskane w ITASSER nałożone na siebie*

3. Inne serwery:

Porównanie i weryfikacja struktury względem serwisu *swissmodel*.

Przeprowadzono modelowanie przy użyciu serwisu *SWISS MODEL*. Uzyskana struktura uzyskała ocenę na poziomie 0,86, czyli stosunkowo wysoko.



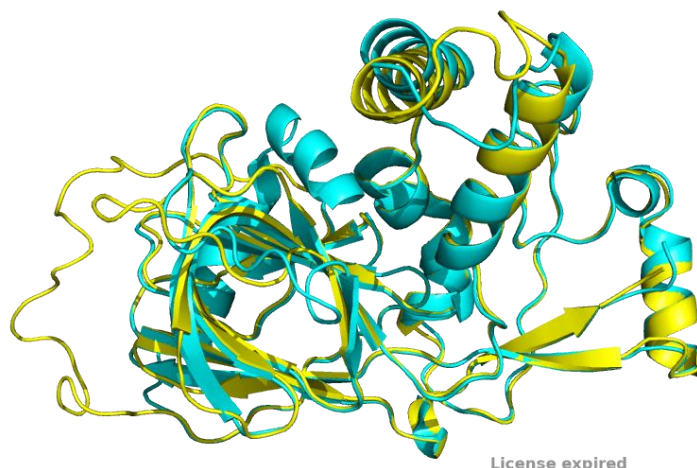
Rysunek 3. Model białka utworzony przy użyciu programu SWISS MODEL

Im cieplejsze barwy tym mniej pewny wynik modelowania, co w przypadku wolnych fragmentów, jest spodziewane, jednak niepokojące w przypadku alfa-helis.

Następnie model pobrano i wykorzystując program *PyMOL* wyodrębniono wyłącznie łańcuch A tej struktury (ponieważ stwierdzono lepsze dopasowanie na podstawie danych na stronie), a następnie porównano do wcześniejszych 2 modeli pobranych z *ITASSERa*.

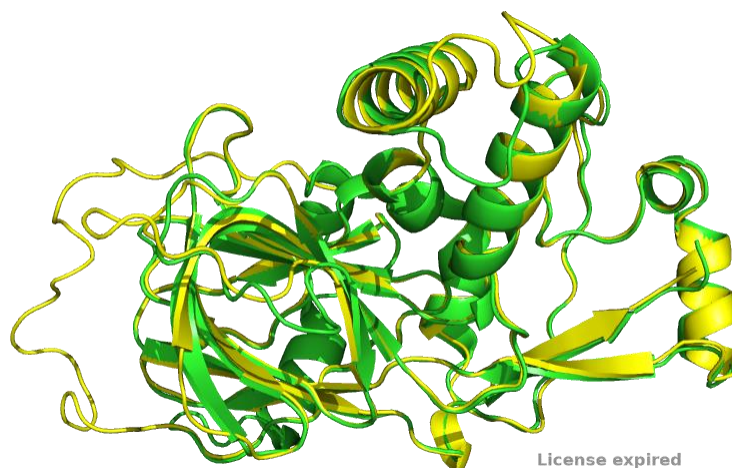
Tabela 1. Uzyskane wartości RMSD.

Porównanie modelu łańcucha A z programu SWISS MODEL z	Porównanie całej struktury	Porównanie łańcucha węglowego
Modelem 1 z ITASSER	0,747	0,405
Modelem 2 z ITASSER	0,703	0,411

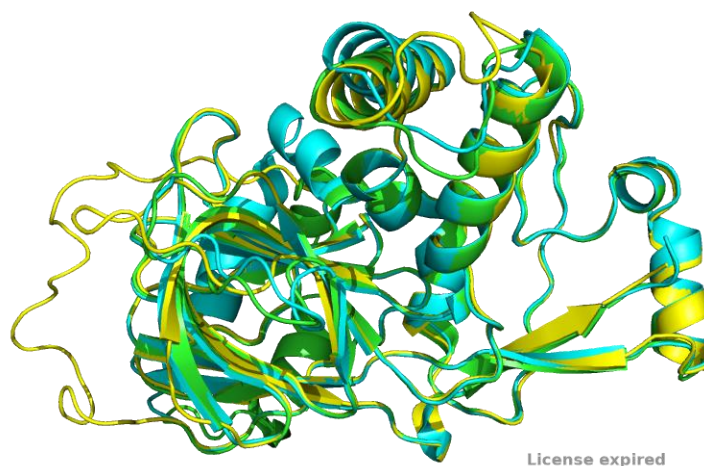


License expired

Rysunek 4. Łańcuch A modelu utworzonego przy pomocy programu SWISS MODEL (żółty) dopasowany z modelem o najwyższej wartości C-SCORE uzyskanym w ITASSER (niebieski)



Rysunek 5. Łańcuch A modelu utworzonego przy pomocy programu SWISS MODEL (żółty) dopasowany z modelem o drugiej najwyższej wartości C-SCORE uzyskanym w ITASSER (zielony)



Rysunek 6. Łańcuch A modelu utworzonego przy pomocy programu SWISS MODEL dopasowany z modelami o dwóch najwyższych wartościach C-SCORE uzyskanym w ITASSER

Widać lepsze dopasowanie dla modeli łańcuchów węglowych, co świadczy, że prawdopodobnie grupy boczne są odstające. Co ciekawe w modelu otrzymanym dzięki SWISS MODEL sam łańcuch węglowy jest bardziej podobny do modelu otrzymanego z ITASSERa o najwyższej wartości C-SCORE, ale model biorący pod uwagę również grupy boczne, jest bardziej zgodny z modelem z ITASSERa, o drugiej najwyższej wartości C-SCORE.

ANALIZA VERIFY 3D

76.70% residuów mają średnie 3D-1D score ≥ 0.2 , wynik to FAIL, ponieważ program przepuszcza wyniki, gdy wynik ten wynosi 80%

ANALIZA PROCHECK

- występują kąty niezgodne z diagramem Ramachandrana;
- parametry dla niektórych łańcuchów bocznych są nieprawidłowe.

WNIOSKI:

- wszystkie analizy wskazują na tę samą funkcję i ligandy;
- struktury są podobne;
- należy wykonać jeszcze modelowanie molekularne w celu obniżenia energii struktury.