RAPORT

Sekwencja białka: MLLAASKVLDRLKPVIGVNTDPERSEGHLCLPVRYTHSFPEALQKFYRGEFRWLWRQRIRLYLEGTGINPVPVDLHEQQLSLNQHNRALNIERAHDERSEASGPQLLPVRALNEVFIGESLSSRASYYEISVDDGPWEKQKSSGLNLCTGTGSKAWSFNINRVATQAVEDVLNIAKRQGNLSLPLNRELVEKVTNEYNESLLYSPEEPKILFSIREPIANRVFSSSRQRCFSSKVCVRSRCWDACMVVDGGTSFEFNDGAIASMMINKEDELRTVLLEQ

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.

1. Struktura i funkcje wg ITASSER

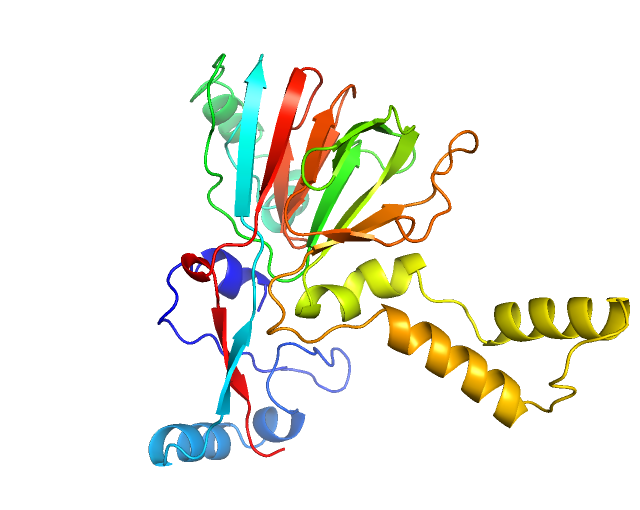
- 8 helis (w tym jedna złożona tylko z 2 aminokwasów), 14 beta kartek (w tym dwie z 2 aminokwasów),

- 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,

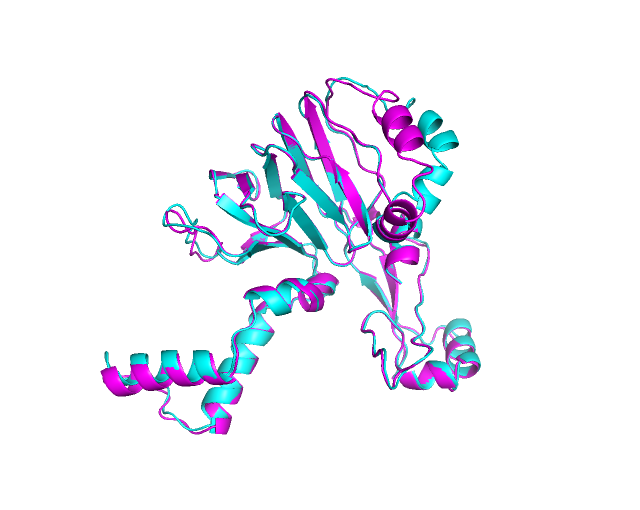
- naturalna ruchliwość reszt fluktuuje w okolicach zera, najmniej stabilne są łączniki występujące na początku sekwencji,

- 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

1. 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 całkiem wysoko.



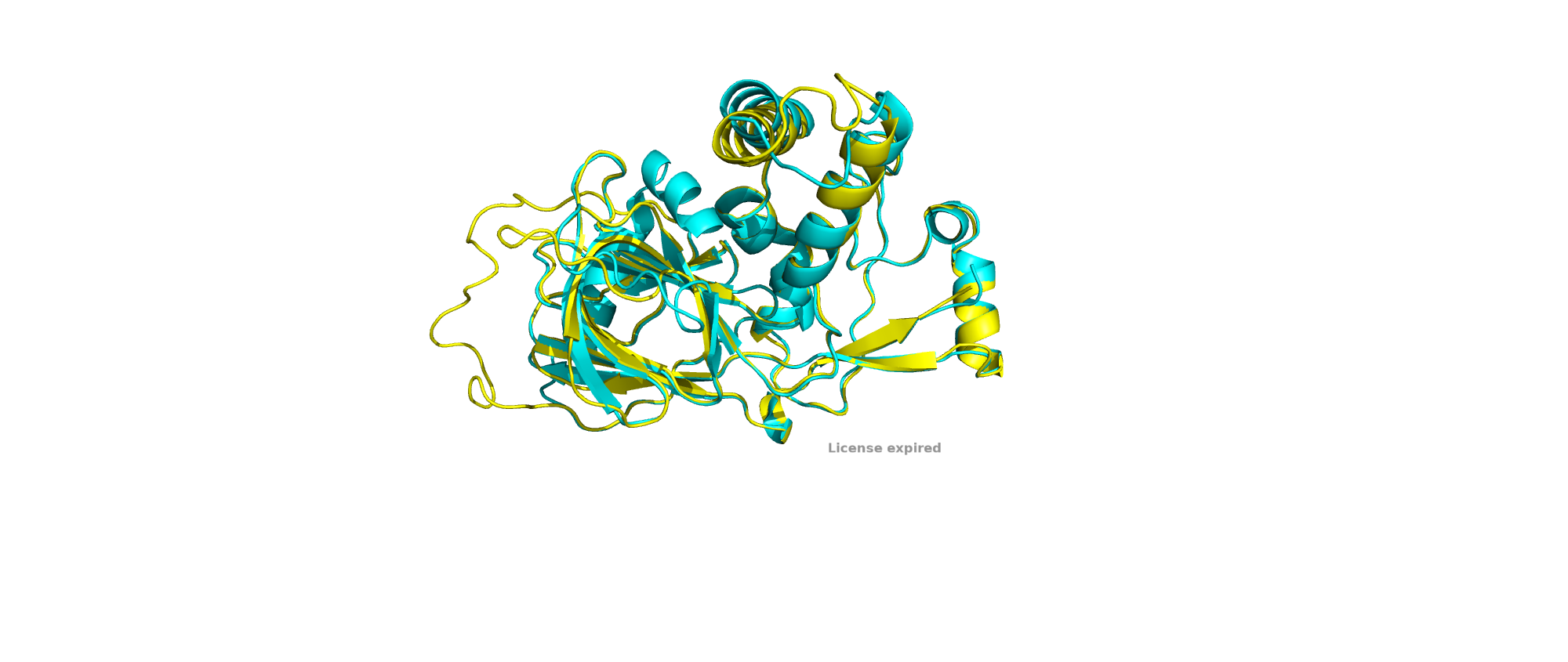
Rysunek 3 Model białka utworzony przy użyciu programu SWISS MODEL

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.

Uzyskane wartości RMSD:

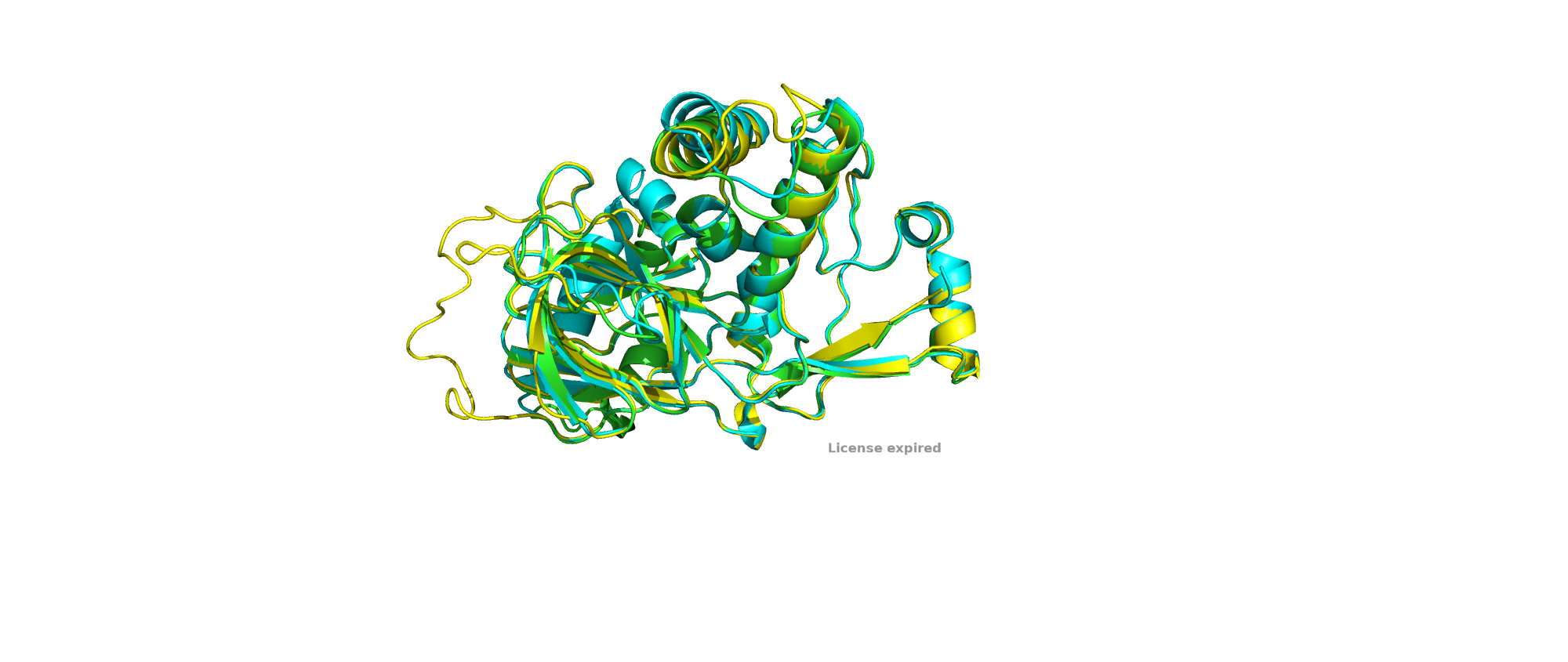
|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Porównanie modelu łańcucha A z programu SWISS MODEL z | Porównanie całej struktury | Porównanie łańcucha węglowego |
| Modelem 1 z ITASSER | 0,747 | 0,405 |
| Modelem 2 z ITASSER | 0,703 | 0,411 |



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 dwóh 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