Tarea 4: Modelado de proteínas por homología

Lucía Graña
Programa de doctorado en ciencias Biomédicas

El objetivo de esta tarea es conocer la estructura trimidensional de una proteína a partir de su secuencia aminoacídica. Esto se realiza estimando las coordenadas de los átomos de la proteína a partir de la estructura de proteínas homólogas.
Los pasos a seguir son los siguientes:

1. Búsqueda de estructuras proteicas relacionadas
2. Selección de uno o más *templates*
3. Alinear *target-template*
4. Construir un modelo
5. Evaluar el modelo

Para realizar la tarea se escogió uno de los dominios trabajado en la Tarea 3, el dominio 1auz A de la bacteria *Bacillus subtilis*. La secuencia de este dominio va a ser el *query* en este trabajo, se intentará predecir su estructura tridimensional a partir de la secuencia de aminoácidos.

El primer paso fue buscar un dominio homólogo cuya estructura sea conocida. Para esto se utilizó HHpred. Este *software* es uno de los más eficientes en encontrar *templates* y alinear el *target* con el *template*. Esta búsqueda detectó 100 dominios con diferentes porcentajes de identidad con el *target*, de los cuales se escogió como *template* el dominio 1sbo A de *Mycobacterium avium*.

El alineamiento *target-template* se realizó y se utilizó el programa MODELLER (Sali and Blundell, 1993) para generar dos modelos. MODELLER es un programa muy popular para modelar proteínas, funciona intentando satisfacer las restricciones espaciales impuestas dada la supuesta homología con el *template* (Sali and Blundell, 1993). Este programa requiere como *input* el alineamiento *target-template* en formato .pir y los archivos .pdb de cada uno. El output son los dos modelos generados. Ambos modelos se muestran en las figuras 1 y 2.

Figura 1. Modelo 1 predicho por MODELLER

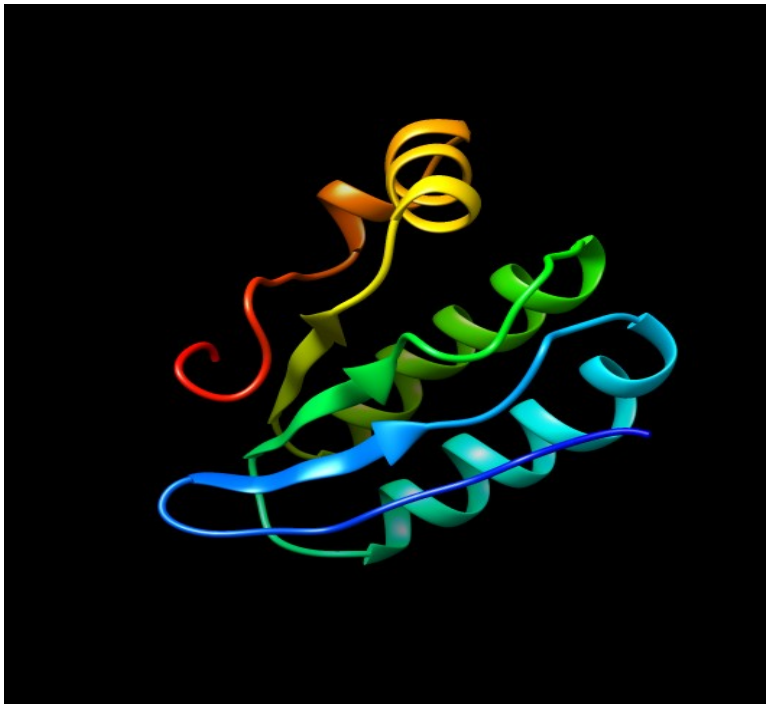


Figura 2. Modelo 2 predicho por MODELLER.

Los modelos generados realmente no muestran variación apreciable a simple vista entre ellos.

Estos dos modelos fueron comparados con MAMMOTH (Ortiz et al., 2002), este programa permite evaluar los modelos usando DOPE (**D**iscrete **O**ptimized **P**rotein **E**nergy), que es una función de energía derivada de el análisis de estructuras proteicas conocidas del Protein Data Bank, por lo que también se lo conoce como potencial estadístico (Shen and Sali, 2006). DOPE permite valorizar la predicción de la estructura proteica basada en homología.
DOPE se presenta como un Z-score (*normalized DOPE method*); los scores positivos indican modelos pobres, mientras que si el score es menor a -1, el modelo es posible que esté prediciendo la estructura nativa (<https://salilab.org/modeller/tutorial/basic.html>).
En este caso ambos modelos presentan un Z-score amplimente positivo: para el modelo 1 el Z-score es 16.106750 y para el modelo 2 es el mismo. Realmente es sorpresivo encontrar este resultado, incluso Modeller se volvió a correr y esta vez para generar tres modelos, nuevamente no se detectaron diferencias entre los modelos generados.
El programa prog3.1.py (<https://github.com/eead-csic-compbio/bioinformatica_estructural/>) calcula la superposicion en 3D equivalente a un alineamiento de secuencia de dos proteinas del PDB. Genera un fichero PDB con la superposicion obtenida. Este archivo se visualizó con chimera.
Se utilizó MAMMOTH (Ortiz et al., 2002)para comparar los modelos generados con Modeller, con la estructura terciaria conocida del dominio. Estos son los resultados:

Modelo 1 vs Estructura Experimental

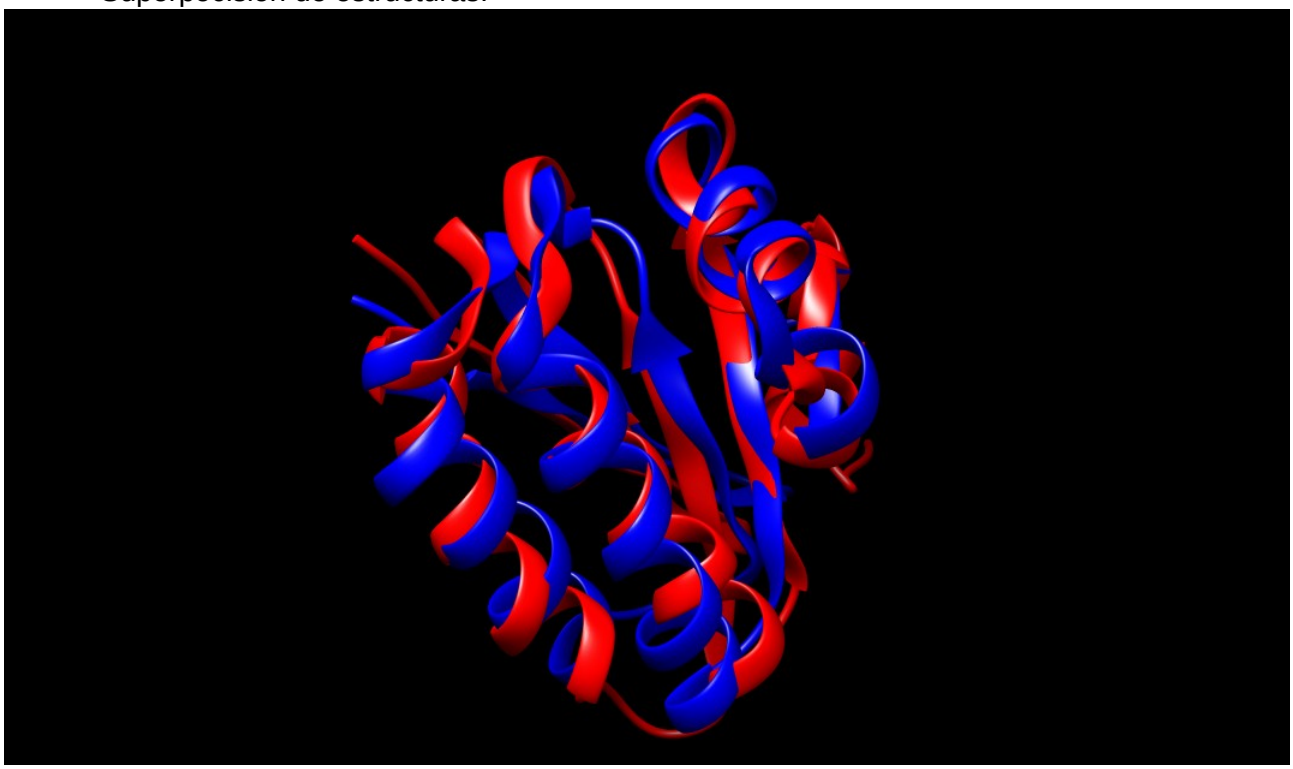
- Alineamiento**:**

```
 ----------------------------
  Final Structural Alignment
 ----------------------------

         ********** ********** ********** ********** **********
Prediction SLGIDMNVKE SVLCIRLTGE LDHHTAETLK QKVTQSLEKD DIRHIVLNLE
Prediction SSSSSSS--- --SSSSS--S S---HHHHHH HHHHHHHHH- ---SSSSSS-
         |||||||||| |||||||||| |||||||||| |||||      ||||||||||
Experiment SSSSSSSS-- --SSSSSS-- ---HHHHHHH HHHHHHHHH- ----SSSSSS
Experiment SLGIDMNVKE SVLCIRLTGE LDHHTAETLK QKVTQSLEKD DIRHIVLNLE
         ********** ********** ********** ********** **********

         ********** ********** ********** ********** **********
Prediction DLSFMDSSGL GVILGRYKQI KQIGGEMVVC AISPAVKRLF DMSGLFKIIR
Prediction ---HHHHHHH HHHHHHHHHH H----SSSSS SS---HHHHH HH-SSSS--S
         |||||||||| |||||||||| |||||||||| |||||||||| ||||||||
Experiment ---SSS-HHH HHHHHHHHHH H----SSSSS SS---HHHHH HH-SSSS--S
Experiment DLSFMDSSGL GVILGRYKQI KQIGGEMVVC AISPAVKRLF DMSGLFKIIR
         ********** ********** ********** ********** **********

         **** **
Prediction FEQSEQQALL TLGVA
Prediction SS---HHHHH H----

Experiment SS-------- -----
Experiment FEQSEQQ... .....
         **** **
```

- RMSD = 2.37 Angstrom

Este es un valor de similitud moderada.

- Superpocisión de estructuras:



Modelo 2 vs Estructura Experimental

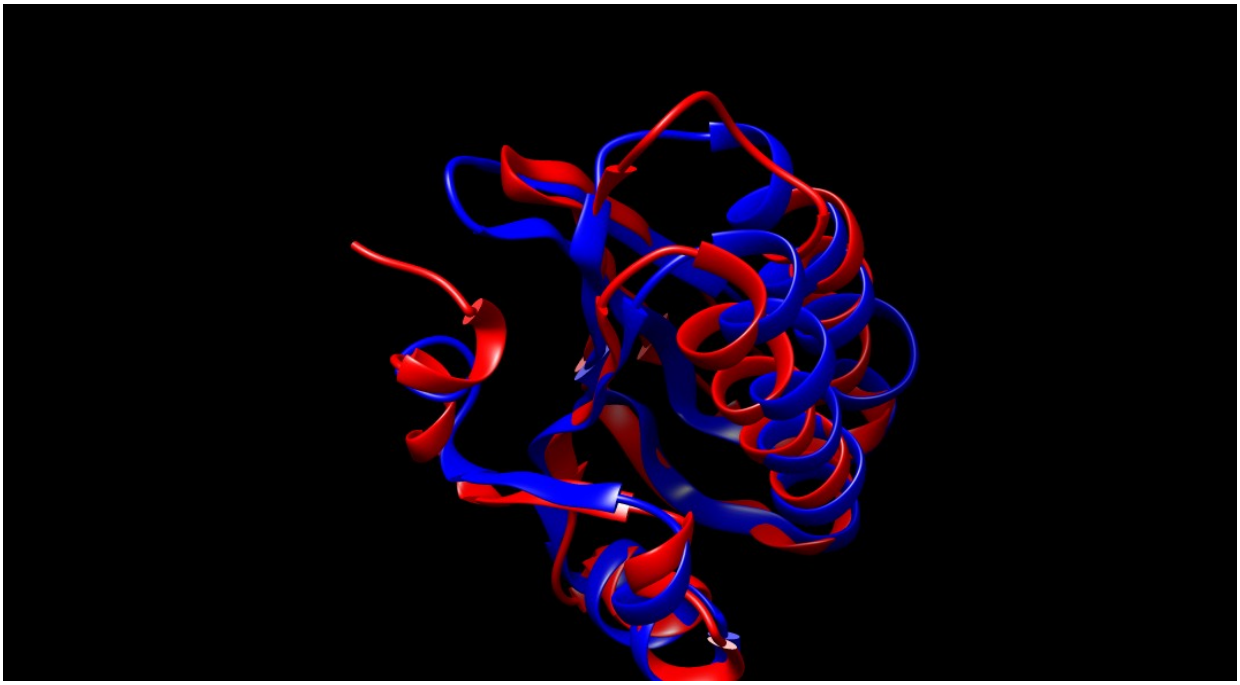
- Alineamiento:

```
 ----------------------------
  Final Structural Alignment
 ----------------------------

         ********** ********** ********** ********** **********
Prediction SLGIDMNVKE SVLCIRLTGE LDHHTAETLK QKVTQSLEKD DIRHIVLNLE
Prediction SSSSSSS--- --SSSSS--S S---HHHHHH HHHHHHHHH- ---SSSSSS-
         |||||||||| |||||||||| |||||||||| ||||       ||||||||||
Experiment SSSSSSSS-- --SSSSSS-- ---HHHHHHH HHHHHHHHH- ----SSSSSS
Experiment SLGIDMNVKE SVLCIRLTGE LDHHTAETLK QKVTQSLEKD DIRHIVLNLE
         ********** ********** ********** ********** **********

         ********** ********** ********** ********** **********
Prediction DLSFMDSSGL GVILGRYKQI KQIGGEMVVC AISPAVKRLF DMSGLFKIIR
Prediction ---HHHHHHH HHHHHHHHHH H----SSSSS SS---HHHHH HH-SSSS--S
         |||||||||| |||||||||| |||||||||| |||||||||| ||||||||
Experiment ---SSS-HHH HHHHHHHHHH H----SSSSS SS---HHHHH HH-SSSS--S
Experiment DLSFMDSSGL GVILGRYKQI KQIGGEMVVC AISPAVKRLF DMSGLFKIIR
         ********** ********** ********** ********** **********

         **** **
Prediction FEQSEQQALL TLGVA
Prediction SS---HHHHH H----

Experiment SS-------- -----
Experiment FEQSEQQ... .....
         **** **
```

- RMSD = 2.35 Angstrom

Este valor indica una similitud moderada entre el modelo propuesto y la estructura real de la proteína.

- Superpocisión de estructuras:



Los dos modelos hipotéticos generados son realmente muy similares, no se los puede distinguir con DOPE, o sea, no se puede decir que uno es mejor que otro. En la visualización de la superpocisión de sus estructuras, con la estructura experimental del *target*, que fue descargada del Protein Data Bank, parece que el modelo no difiere mucho de la estructura original. Aún así, los valores de RMSD (que mide las desviaciones en las posiciones de los residuos a partir de las secuencias y los archivos de coordenadas), indican una similitud moderada.