

ACTIVIDAD PRÁCTICA 2.4

Modelización estructural de interacciones proteína-proteína (PPI)

En los ejercicios que se proponen a continuación se estudiará como caso modelo el complejo formado entre las proteínas **savinasa** de la bacteria *B. lentus* y **BASI** de cebada (Micheelsen et al. 2008). BASI (por sus siglas en inglés: *Barley α -Amylase/Subtilisin Inhibitor*) es un inhibidor que se encuentra en la semilla de cebada y la protege de las proteasas secretadas por patógenos, como la savinasa, mediante la formación de un complejo de alta afinidad. Este complejo entre savinasa y BASI fue uno de los casos propuestos ("Target 32") en el experimento CAPRI (Janin et al. 2003), para el que los grupos participantes fueron invitados a enviar predicciones antes de que la estructura del complejo se hiciera pública (Pons et al. 2010).

La información de partida disponible durante el experimento CAPRI fue la siguiente:

- Estructura individual de savinasa: código **PDB 1svn**
- Estructura de BASI en complejo con α -amilasa: código **PDB 1ava** (cadena C)

Dado que ya está disponible la estructura cristalográfica del complejo savinasa/BASI (código **PDB 3bx1**, cadenas A y C), podemos usar este caso para evaluar la capacidad predictiva de diferentes métodos computacionales en condiciones lo más realistas posibles.

1. INCLUSIÓN DE RESTRICCIONES EN DOCKING: PATCHDOCK

En el ejemplo anterior se utilizó la información extraída de la literatura en relación con residuos potencialmente relevantes para la interacción para establecer restricciones y re-evaluar las orientaciones de *docking* previamente obtenidas con pyDock, es decir, que se aplicaron las restricciones *a posteriori*.

Nota: Una estrategia alternativa es usar las restricciones *a priori*, para dirigir el *docking*. Con PatchDock, es posible restringir la búsqueda de orientaciones de *docking* en base a los residuos identificados como potencialmente relevantes para la interacción. En este apartado se aplicará este enfoque al caso de estudio (interacción entre savinasa y BASI), usando los residuos anteriormente identificados en el punto 4.1.

1.1. Inclusión de restricciones de distancia en PatchDock

Nota: Para incluir restricciones de distancia en PatchDock para una proteína, se requiere crear un fichero de texto donde se defina el sitio de unión. Por ejemplo, en el caso presente se puede crear un fichero para el receptor (p. ej. `s1.txt`) que contendrá dos columnas, la primera con los números de los residuos que se han definido como relevantes para la interacción, y la segunda columna con el nombre de la cadena (chain ID), similar a:

```
147 A
36 A
```

Importante:

¡Cuidado! Este es un ejemplo hipotético para ilustrar cómo hay que incluir los residuos de restricción. En el caso actual, se deberán incluir los residuos identificados en el punto 4.1.

De la misma forma, será necesario crear otro fichero para el sitio de unión del ligando (p. ej. `s2.txt`) con un formato similar.

Nota: No es necesario definir sitios de unión para las dos proteínas. Si no hay certezas acerca de los residuos definidos para una de las proteínas, es preferible no usarlos.

1.2. Lanzamiento de PatchDock con restricciones

El primer paso sería generar el fichero de parámetros (`params.txt`) pero este ya se generó en el punto 2.1 (se recomienda guardar una copia antes de modificarlo en el siguiente paso).

Luego, editar este fichero de parámetros para incluir los sitios de unión. Para ello, descomenta las líneas de *receptorActiveSite* y *ligandActiveSite* y añade los nombres correctos para los ficheros con los sitios de unión (en nuestro caso `s1.txt` y `s2.txt`).

Lanzamiento de PatchDock:

```
>patch_dock.Linux params.txt out_file2
```

(esta ejecución tardará 1-2 minutos)

1.3. Análisis de los modelos de docking

Nota: Los modelos se generarán igual que en el punto 2.2 (pero usando el fichero de resultados `out_file2`), y se analizarán igual que en el punto 1.4. Será interesante comparar los modelos obtenidos con los resultados del *docking* sin restricciones.