

Θέμα 4

Αναζητήστε τον κωδικό **PDB-code: 7NEH**, στην πρωτεϊνική βάση δεδομένων : <https://www.rcsb.org/>
Πρόκειται για την τριδιάστατη δομή του συμπλόκου ενός αντισώματος με μια πρωτεΐνη ακίδα.

Προετοιμασία:

- Παρατηρήστε τα στοιχεία που δίνει η PDB για αυτήν τη δομή
- Χρησιμοποιώντας πάνω δεξιά την επιλογή «Download Files» → PDB format αποθηκεύστε τη δομή στον υπολογιστή σας (είναι αρχείο plain text)
- Εγκαταστήστε στον υπολογιστή σας το λογισμικό Chimera-X από την ιστοσελίδα <https://www.rbvi.ucsf.edu/chimerax/download.html>
- Δείτε τις διαφάνειες του μαθήματος 19.05.2021 για λεπτομέρειες σχετικά με τη χρήση του λογισμικού Chimera-X και σε ό,τι αφορά τις εντολές συμπληρωματικό υλικό – σε περίπτωση που θέλετε να ενημερωθείτε περαιτέρω- μπορείτε να βρείτε στις αντίστοιχες σελίδες του Chimera.

Ερώτημα 1:

- α) Δείτε τα στοιχεία που παρουσιάζονται στην πρωτεϊνική βάση δεδομένων και προσδιορίστε τη μέθοδο με την οποία έχει προσδιορισθεί η δομή του συμπλόκου;
- β) Ποιο το resolution (διακριτική ικανότητα) στο οποίο προσδιορίστηκε η δομή;
- γ) Παραθέστε το Ψηφιακό αναγνωριστικό (Digital Object Identifier, DOI) της σχετικής επιστημονικής δημοσίευσης

Ερώτημα 2:

- α) Πόσες διακριτές πρωτεϊνικές αλυσίδες (molecular entities, macromolecules) περιλαμβάνει η εν λόγω δομή;
- β) Για κάθε μια από αυτές σημειώστε το πλήθος των αμινοξέων (sequence length)
- γ) Πόσους ολιγοσακχαρίτες περιλαμβάνει η δομή του συμπλόκου;
- δ) Η δομή του συμπλόκου έχει ένα άτομο χλωρίου (Cl⁻). Παραθέστε την αλυσίδα την οποία ανήκει

Ερώτημα 3:

- α) Με χρήση του λογισμικού Chimera-X «διαβάστε» το αρχείο 7neh.pdb για να απεικονίσετε τη δομή. Παραθέστε με τη μορφή πίνακα τα στοιχεία που εμφανίζονται στο Log αρχείο και δείχνουν τις επί μέρους αλυσίδες της γλυκοπρωτεΐνης και του αντισώματος (heavy and light chain) καθώς και των επιπλέον στοιχείων (non-standard residues) που εμφανίζονται στο αρχείο
- β) Επιλέξτε την αλυσίδα που αντιστοιχεί στην πρωτεΐνη ακίδα είτε μέσω του log αρχείου είτε χρησιμοποιώντας τη γραμμή εντολών στο κάτω μέρος της οθόνης
Command: select /E
Ή εναλλακτικά
Command: select /E:332-527
Στη συνέχεια χρησιμοποιώντας τη γραμμή εργαλείων :
Actions → colour → all options
Επιλέξτε μόνο το **Cartoons** και χρωματίστε την αλυσίδα με το χρώμα της αρεσκειάς σας. Ακυρώστε την επιλογή χρησιμοποιώντας τη γραμμή εργαλείων :
Select → clear
Επαναλάβετε για τις υπόλοιπες πρωτεϊνικές αλυσίδες (βλ. ερώτημα 2^α)
Αποθηκεύστε την εικόνα που δημιουργήσατε
File → save → (επιλέξτε το format)
Παρουσιάστε την εικόνα που δημιουργήσατε- Απάντηση για το (3β)

Ερώτημα 4:

α) Σε συνέχεια του ερωτήματος 3: Επιλέξτε όπως και πριν μια μια τις αλυσίδες π.χ.

Command: select /E

Στη συνέχεια χρησιμοποιώντας τη γραμμή εργαλείων που βρίσκεται το ίδιο το παράθυρο των γραφικών:

Molecule Display → hydrophobic

Εμφανίστε την επιφάνεια πρωτεΐνης για κάθε μία αλυσίδα της πρωτεΐνης (επαναλάβετε δηλαδή εκτός από την E και για τις υπόλοιπες)

Αποθηκεύστε την εικόνα που δημιουργήσατε

File → save → (επιλέξτε το format)

Παρουσιάστε την εικόνα που δημιουργήσατε- Απάντηση για το (3β)

Ερώτημα 5:

α) Σε συνέχεια του ερωτήματος 3: Επιλέξτε όπως και πριν μια μια τις αλυσίδες π.χ.

Command: select /E

Στη συνέχεια χρησιμοποιώντας τη γραμμή εργαλείων

Tools → Sequence → Show Sequence viewer

Εκεί με διαφορετικό χρώμα φαίνονται τα δευτεροταγή στοιχεία της πρωτεΐνης. Επιλέξτε μόνο τους β-κλώνους (β-strands) με το ποντίκι σας ως εξής:

Επιλέξτε με το ποντίκι μια ζώνη όπως υποδεικνύεται και κρατώντας πατημένο το shift προσθέστε επιπλέον ζώνες ώστε να επιλέξετε όλες τις περιοχές που έχουν την ίδια απόχρωση και αντιστοιχούν σε β-stands.

Στη συνέχεια χρησιμοποιώντας τη γραμμή εργαλείων :

Actions → colour → all options

Επιλέξτε μόνο το Cartoons και χρωματίστε την αλυσίδα με το χρώμα της αρεσκείας σας.

Επαναλάβετε για τις α-έλικες επιλέγοντας τις περιοχές με το άλλο χρώμα.

Παρουσιάστε την εικόνα που δημιουργήσατε- Απάντηση για το (5α)

β) Σε συνέχεια του ερωτήματος 3: Επιλέξτε το σάκχαρο που είναι προσδεδεμένο στην πρωτεΐνη ακίδα.

Command: select :NAG

Στη συνέχεια χρησιμοποιώντας τη γραμμή εργαλείων που βρίσκεται το ίδιο το παράθυρο των γραφικών:

Molecule Display → Ball and stick

Θα παρατηρήσετε ότι ένα μέρος του σακχάρου δεν έχει εφαρμόσει την εντολή. Αν περάσετε τον cursor πάνω από αυτό θα δείτε ότι το «όνομα» του σακχάρου δεν είναι NAG αλλά FUC είναι δηλαδή ένα άλλο είδος σακχάρου συνδεδεμένο με το πρώτο. Συνεπώς για να το φτιάξετε όλο με την ίδια αναπαράσταση :

Command: select :FUC

Molecule Display → Ball and stick

Παρουσιάστε την εικόνα που δημιουργήσατε- Απάντηση για το (5β)

γ) Σε συνέχεια του ερωτήματος 5β:

Επαναλάβετε ό,τι και στο 5β) μόνο που τώρα τα δύο σάκχαρα θα τα «ζωγραφίσετε» με την επιλογή “sphere” δηλαδή με σφαίρες Van der Waals

Παρουσιάστε την εικόνα που δημιουργήσατε- Απάντηση για το (5γ)

Σημείωση : Σε περίπτωση που θέλετε να αλλάξετε τα χρώματα για την αναπαράσταση των σακχάρων

Command: select :FUC μετά Actions → colour → all options

Επιλέξτε μόνο το **Atoms/Bonds** και χρωματίστε τα άτομα με το χρώμα της αρεσκειάς σας. Θα έχουν όλα το ίδιο χρώμα. Αν θέλετε να δείξετε το άζωτο με μπλέ και το οξυγόνο με κόκκινο όπως συνηθίζεται στη συνέχεια χρησιμοποιήστε την επιλογή **By Heteroatom** ή εναλλακτικά **By Element**