

Моделирование трехмерной структуры белков по их аминокислотной последовательности

Анна Абашева¹, Татьяна Бессонова², Анастасия Люлина³, Георгий Столетов⁴, Дарья Стрелкова⁵, Андрей Щекутьев⁶, Наталья Богатырева⁷, Дмитрий Иванков⁸

¹ МБОУ Гимназия, Обнинск; ² МБОУ Гимназия №9, Екатеринбург; ³ Лицей ФТШ, Санкт-Петербург; ⁴ МБОУ Лицей №9, Белгород; ⁵ ГБОУ школа-интернат «Интеллектуал»; ⁶ ГБОУ ЦО №422 «Перово»; ⁷ Институт белка РАН, Пушкино; ⁸ Технический университет Мюнхена, Фрайзинг.

Используемые ресурсы:

PyMol – <http://pymol.org/>

Uniprot – <http://www.uniprot.org>

Blast – <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>

Signalp 4.0 – <http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>

Phobius – <http://phobius.sbc.su.se/>

CASP – <http://predictioncenter.org/>

iTasser – <http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER/>

Quark – <http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/QUARK/>

Phyre2 – <http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/>

RaptorX – <http://raptorx.uchicago.edu/>

SAM_08 – http://compbio.soe.ucsc.edu/SAM_T08/T08-query.html

Guanine nucleotide-binding protein G(o) subunit α

Белок принадлежит *Drosophila melanogaster*. Он содержит 354 аминокислотных остатков. Участвует во внутриклеточных сигнальных каскадах как трансдуктор сигнала. Играет важную роль при дифференцировке нервных клеток.

У него есть две очень схожие изоформы А и В. Ниже приведена последовательность изоформы А. Красным цветом выделены аминокислоты, замененные в изоформе В, синим – замененные на близкие по структуре аминокислоты.

```
>sp|P16378|GNAO_DROME Guanine nucleotide-binding protein G(o) subunit alpha 47A
OS=Drosophila melanogaster GN=G-alpha47A PE=1 SV=1
MGC[SAEERAA[RS[IE[NLKEDGIQAAKDIKLLLLGAGESGKSTIVKQMKIIHESGFTAEDFKYRPPVYSNTIQSLVAILRAMP
TLSIQYSNNERESDAKMVFVQCRMHDPFSEELLAAAMKRLWQDAGVQECFSRSNEYQLNDSAKYFLDLDLRLGAKDYQPTQDILRT
RVKTTGIVEVHFSFKNLNFKLFDVGGQRSEKRWIHCDFEDVTAIIFCVAMSEYDQVLHEDETTNRMQESLKLFDSCNKNKWFDTDSIIL
FLNKKDLFEEKIRKSPITICFPEYTGGEYGEAAAYIQAFKAKNKSTKEIYCHMTTCATDTNNIQFVFDVAVTDVLIANNLRGCGLY
Различия в изоформах: IsA: 1 MGC[SAEERAA[RS[IE[... → IsB: 1 MGC[SAEERAA[RS[IE[...
```

Мы проверили белок на наличие сигнального пептида и сайтов разрезания с помощью SignalP 4.0. Они обнаружены не были. TargetP не выявил также транзитного пептида. По результатам работы Phobius белок нецитоплазматический и не содержит трансмембранных доменов.

Программа BLAST обнаружила у белка гомолог с близкой структурой (e-value=0, identities=82%). Структура гомологов была использована программами для предсказания структуры данного белка.

Были смоделированы по 11 структур каждой изоформы с использованием программ Phyre 2 и RaptorX. (рис.1)

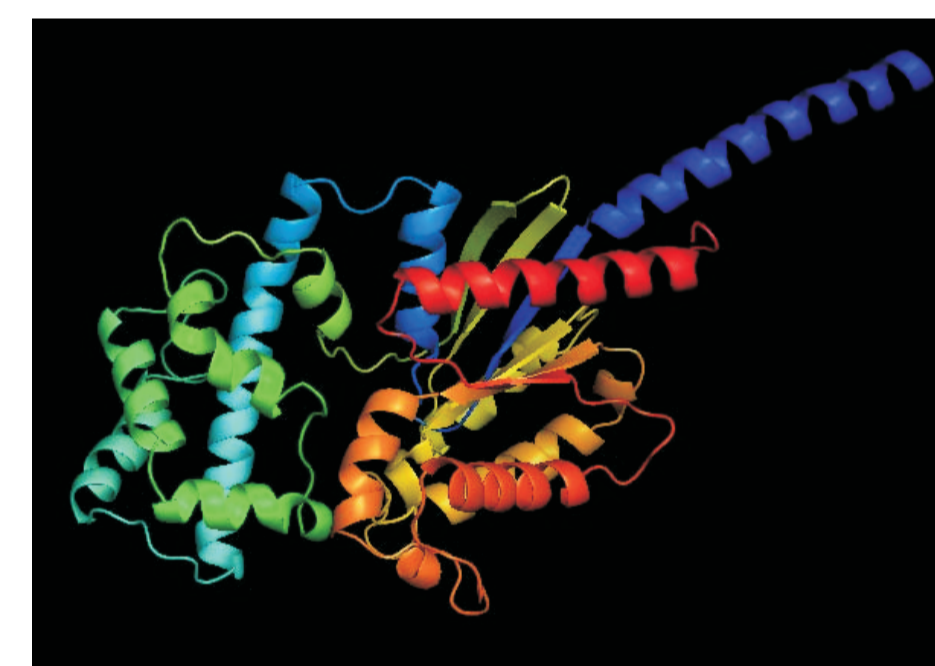


Рис.1. Структура, смоделированная RaptorX

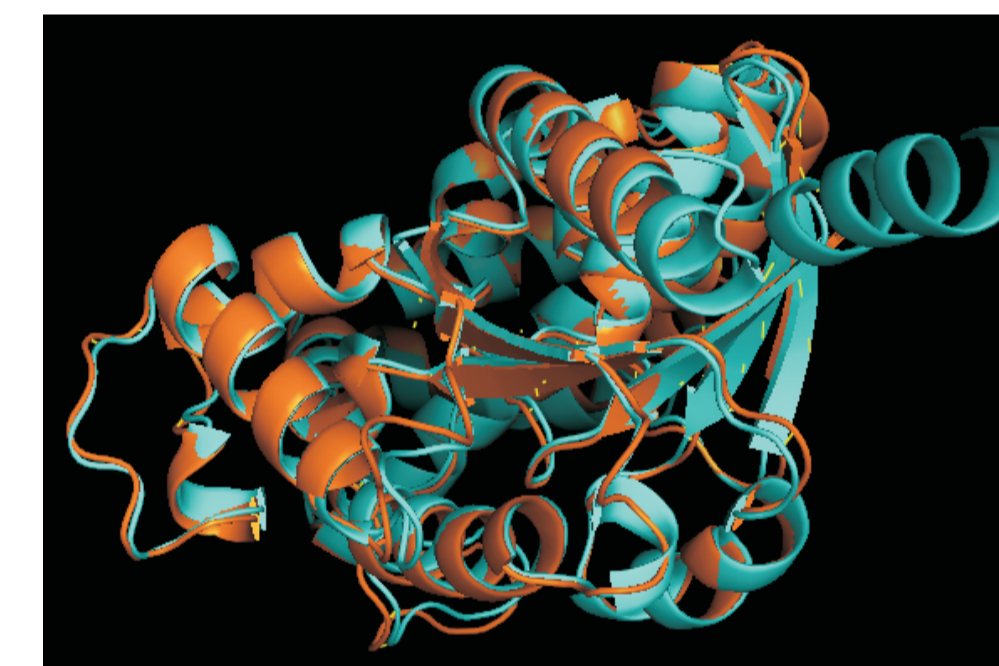


Рис.2. Структурное выравнивание моделей, предсказанных Phyre2 (оранжевый) и RaptorX (голубой).

Результаты работы обеих программ также очень похожи (RMSD = 0,2 – 0,9) (рис.2). Структуры изоформ оказались практически идентичны (RMS 0,1-1,1) (рис.3). RMS были вычислены при помощи PyMol.



Рис.3. Структурное выравнивание изоформ (А – желтый, В – фиолетовый)

Выводы: Белок не содержит в своей структуре сигнальный пептид, т.е. не доставляется к мембране по экскреторному пути. Существует близкий гомолог с известной третичной структурой, что упрощает предсказание. Модели, полученные разными программами, практически идентичны. В его структуре преобладают α -спирали, одна из них заметно выступает и, вероятно, используется для прикрепления к мембране. Структура двух изоформ почти не различается.

Белок Wnt-3A

Wnt-3A – белок человека. Wnt-белки участвуют в регуляции развития онкологических процессов регулируют эмбриогенез и дифференцировку тканей. Наш белок, Wnt-3a, является лигандом для белков семьи Frizzled и играет различные роли в передаче сигналов между клетками в процессе развития нервной трубки.

Wnt-3A состоит из 352 аминокислот. Мы исследовали его на сигнальные и транзитные пептиды а также на трансмембранный домен. Из всего этого в данном белке есть только сигнальный пептид (1 – 18аминокислоты).

Затем мы провели выравнивание для данного белка (без сигнального пептида). BLAST нашел гомолог с известной структурой – домен В белка 4F0A.

Затем мы запустили Wnt-3A на сервера предсказания третичной структуры (Phyre2, RaptorX и SAM_T08) и сравнили полученные результаты.

```
>sp|P56704|WNT3A_HUMAN Protein Wnt-3a
OS=Homo sapiens GN=WNT3A PE=1 SV=2
MAPLGYFLLLSLKOALGSYPIWWSLAVGFPQYSSLSGQPILC
ASIPGLVLPKQLRFRNYVEIMPVSAEGIKIGIQECQHQRGR
RWNCSTVHDSLAIIFGPVLDKATRESAFVHAIASAGVAFVTR
SCAEGTAAICGSSRRHQSGPGKWKGGCSEDIIEFGMVSR
FADARENRPDARSAMNRHNEAGRQAIASHMHLKCKCHLSG
SCEVKTCWWSQPDFRAIGDFLKDXYDASEMVVEKHRESRGW
VETLPRPYTYFKVPTERDLVYEEASPNCPEPNPETGSEFGTRD
RTCNVSSHGIDGCDLLCCGRGHNARAERRREKRCVCFHWCCY
VSCQECTRVYDVHTCK
```



Рисунок 2. Различия в предсказаниях

■ – Phyre2
■ – SAM_T08
■ – RaptorX

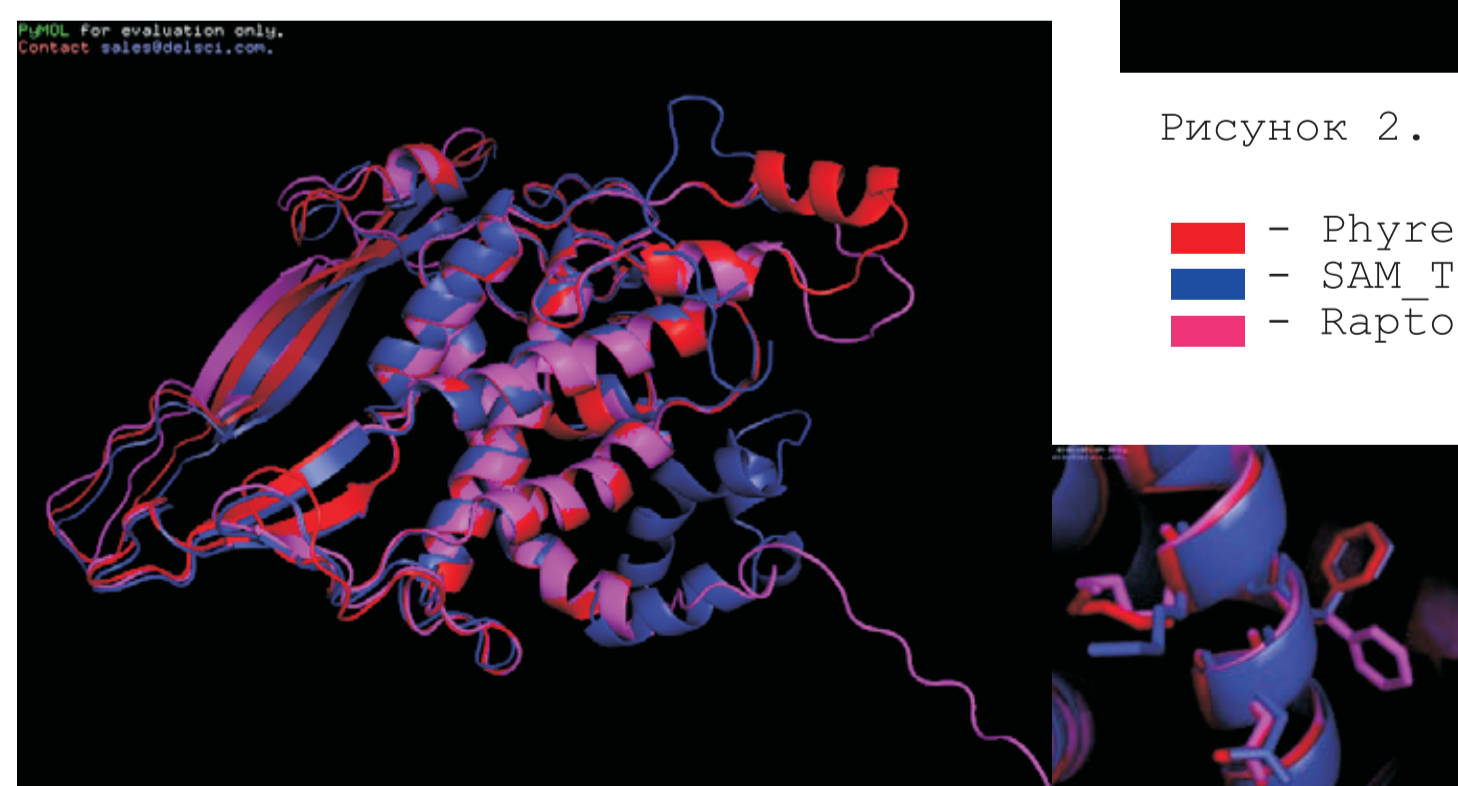


Рисунок 1. Сравнение полученных третичных структур белка

Рисунок 3. Сравнение конформаций боковых групп

Вывод:

В результате исследования были сравнены модели с трех разных серверов. Мы получили достаточно точную третичную структуру белка, потому что все полученные результаты не сильно отличаются друг от друга.