Predikce struktury proteinů

C2131 Úvod do bioinformatiky

Jaro 2024

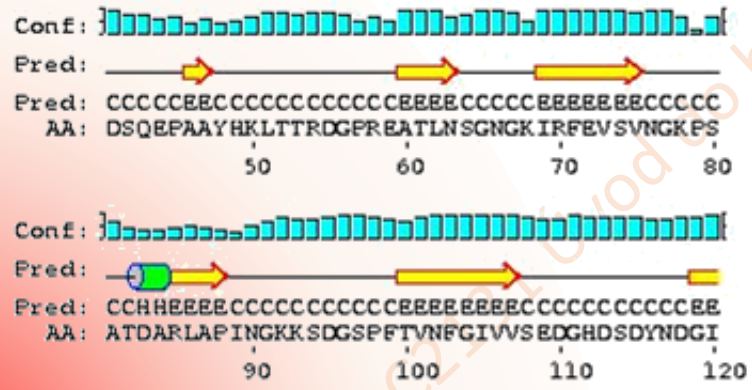
Mgr. Josef Houser, Ph.D.

Struktura proteinů

1D

ADSQTSSNRAGEFSIPPNTDFRAIFFANAAE
QQHIKLFIGDSQEPAAYHKLTTRDGPREATL
NSGNGKIRFEVSVNGKPSATDARLAPINGK
KSDGSPFTVNFGIVVSEDGHDSDYNDGIVV
LQWPIG

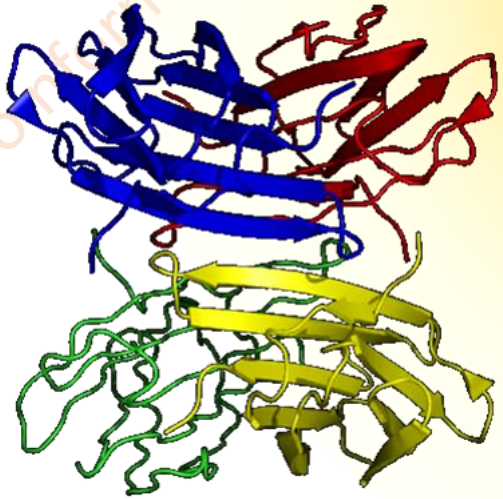
primární (sekvence)



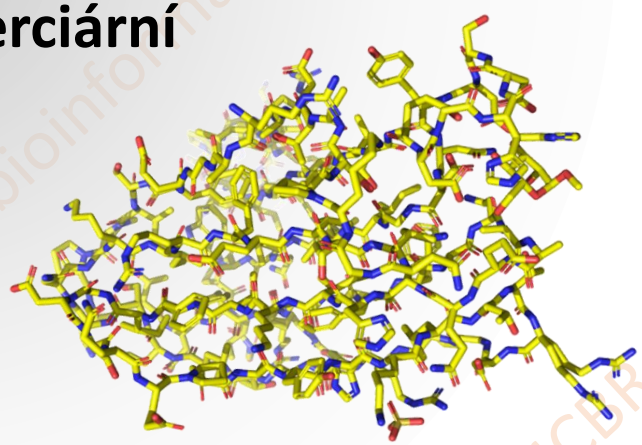
sekundární

2D

kvartérní



terciární

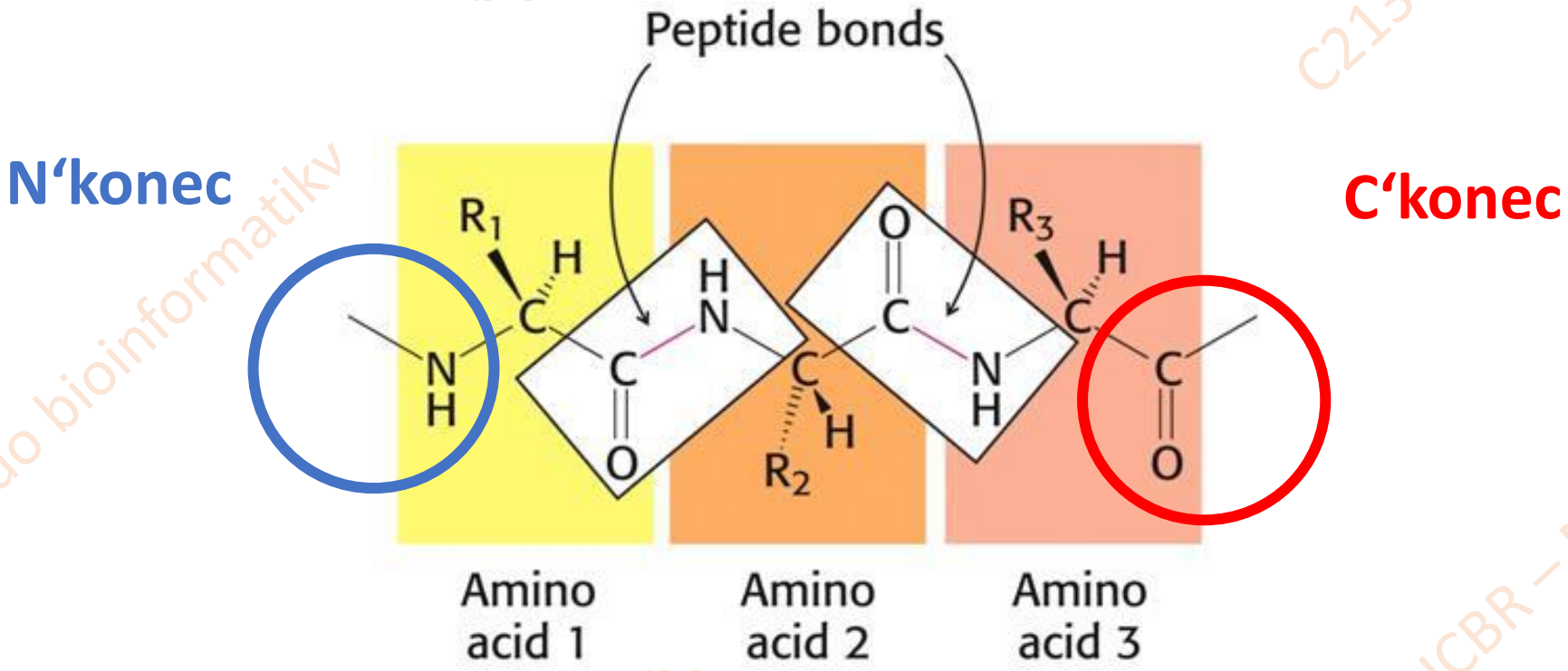


4D

3D

Primární struktura

- Sekvence aminokyselin zapsaná **od N‘ konce k C‘ konci**



Sekundární struktura

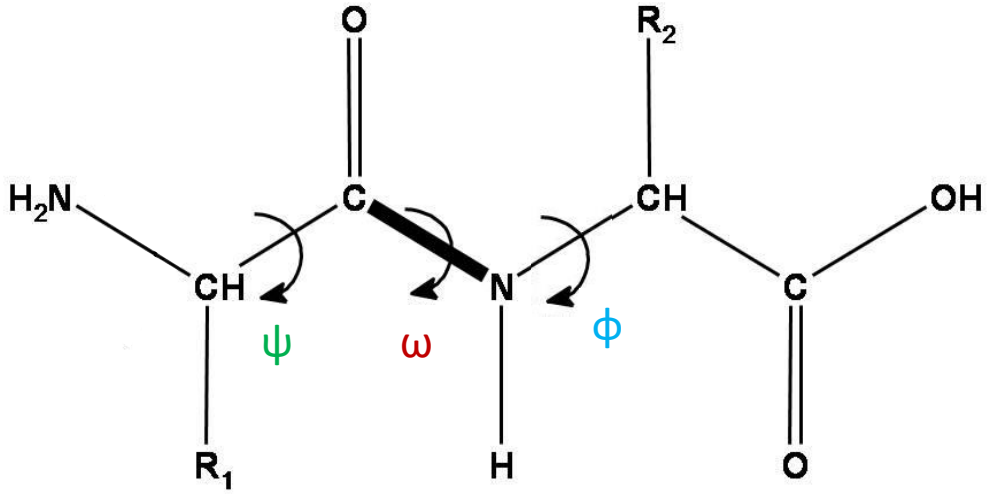
2D

Definována pomocí **torzních úhlů** peptidové páteře

Pro každou aminokyselinu lze definovat tři úhly:

- ϕ – úhel kolem vazby N-Cα
- ψ – úhel kolem vazby Cα-$C_{(karbonyl)}$
- ω – úhel kolem peptidové vazby (180°, výjimečně 0°)

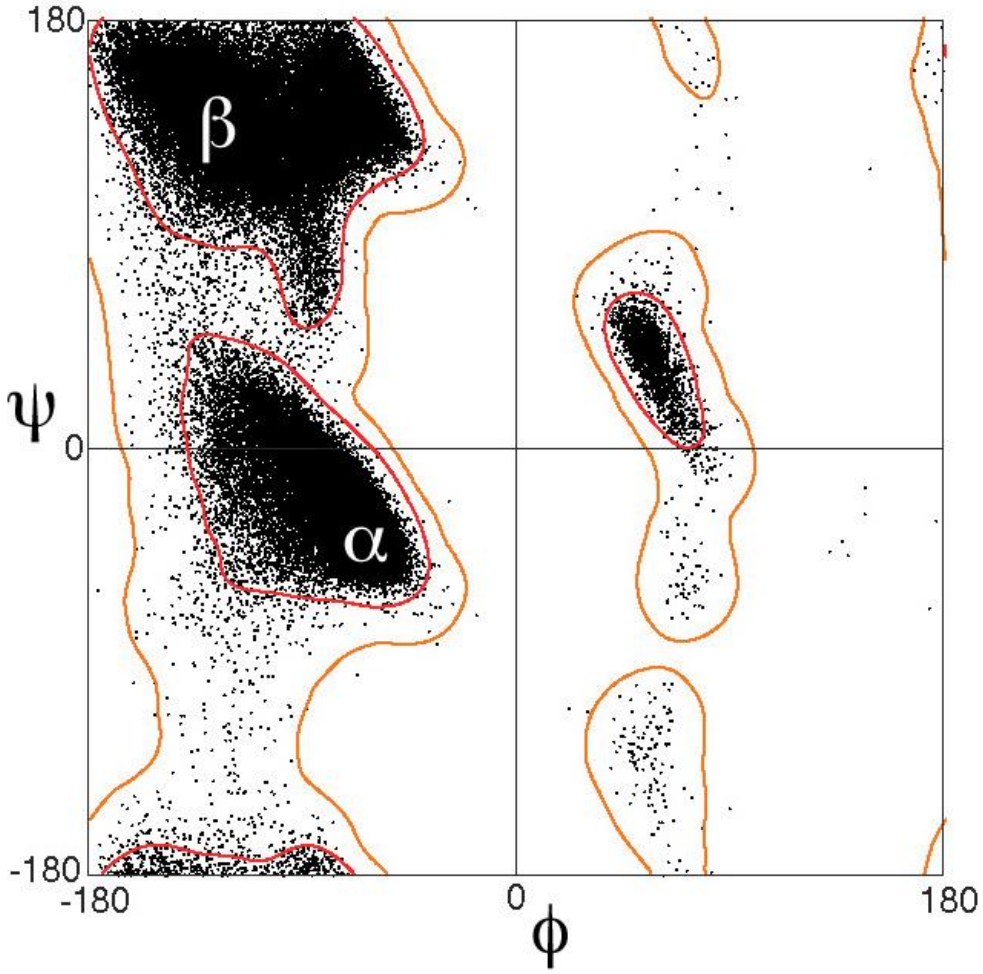
Stabilizována pomocí vodíkových můstků mezi atomy peptidové kostry

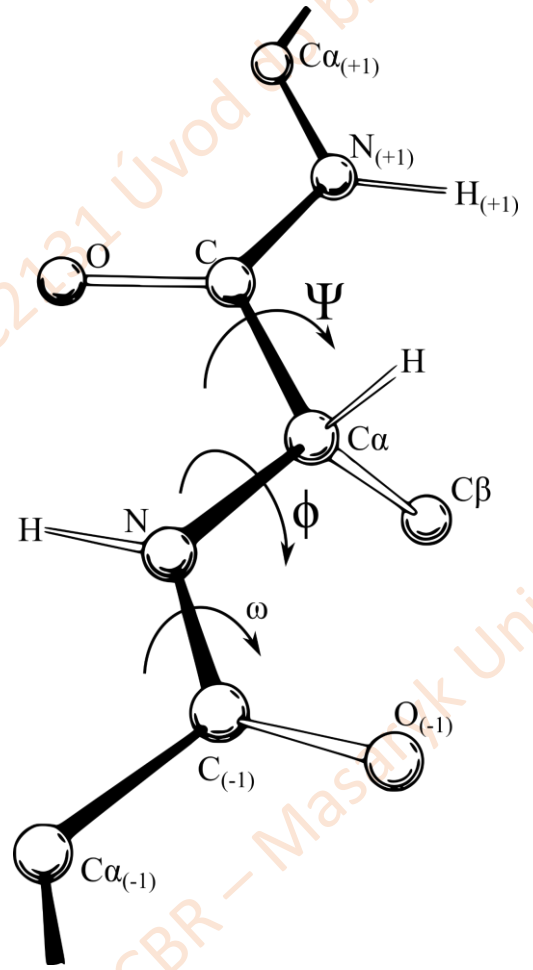


Ramachandranův diagram

2D

Každé aminokyselině odpovídá jeden bod v diagramu

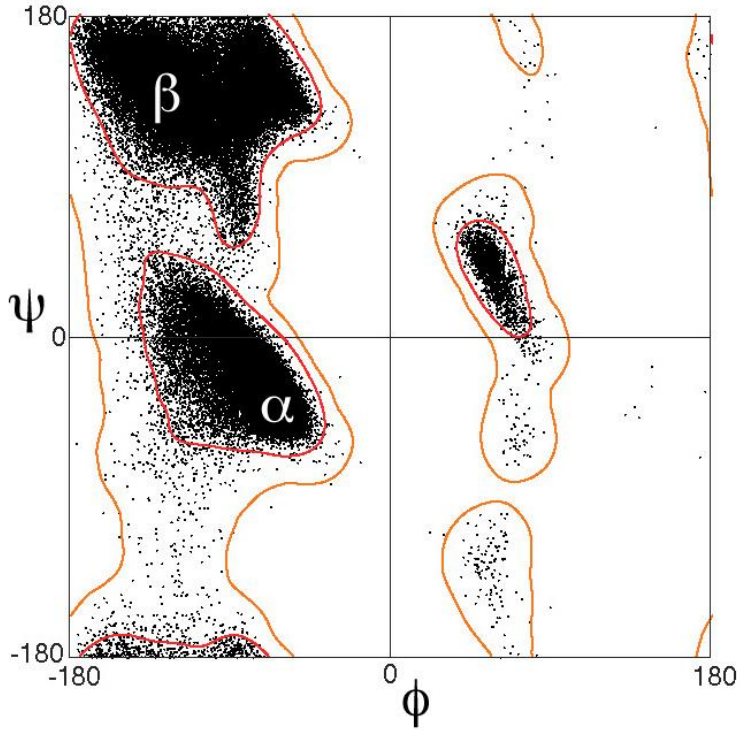




Sekundární struktura

2D

- Stabilní konformace polypeptidového řetězce
- Důležité pro udržení 3D struktury
- Základní typy:
  - α-šroubovice (helix)
  - β-skládaný list (sheet)
  - otáčky, smyčky
- Cca 50 % aminokyselin je součástí α a β struktur

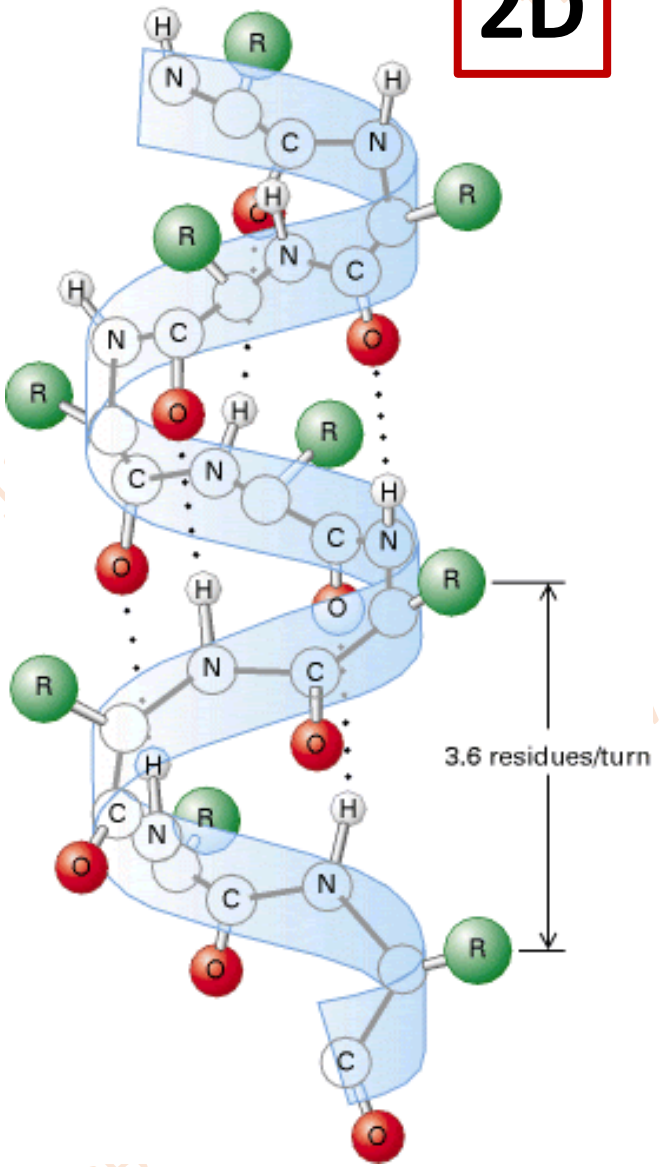


Šroubovice (helix)

2D

- **α-helix** – nejčastější
- 3_{10}-helix – obvykle na začátku nebo na konci α-helixu
- π-helix – málo stabilní, málo častý

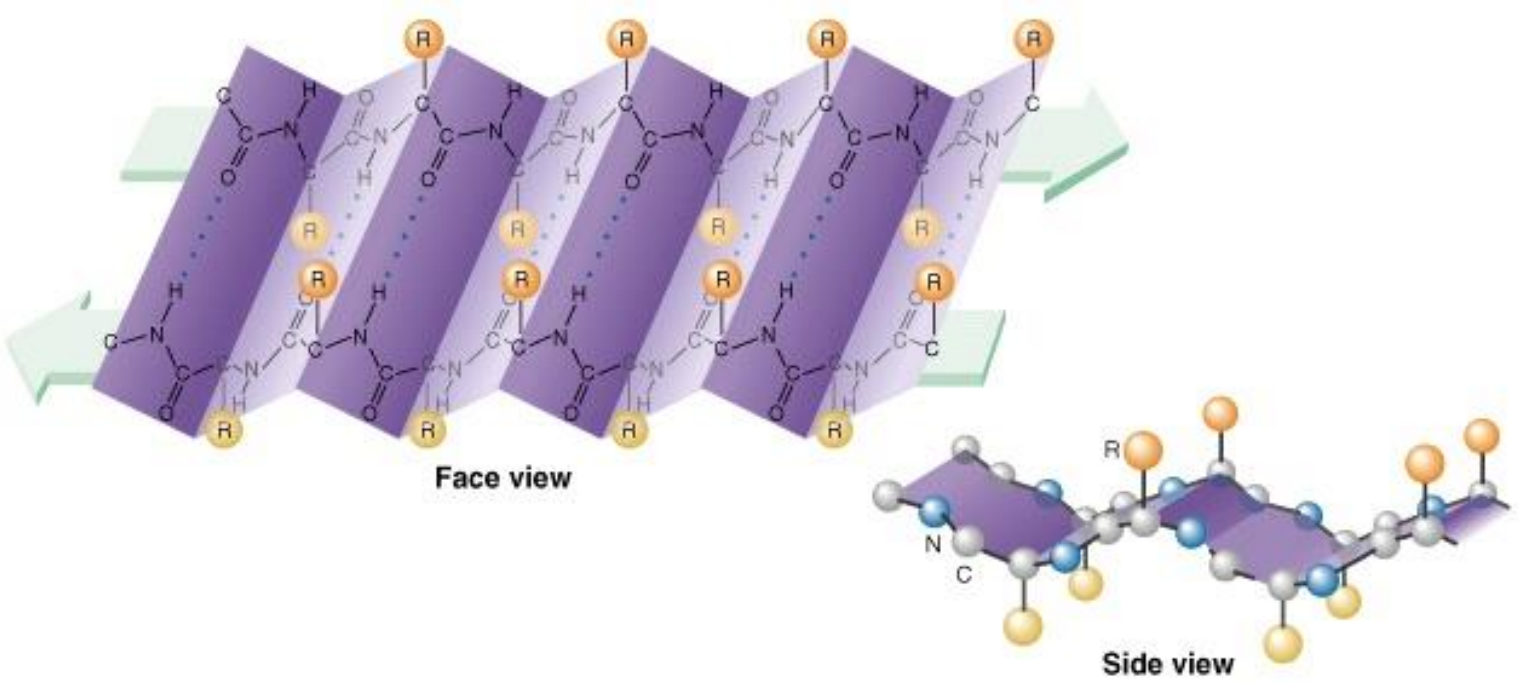
	α-helix	3_{10}-helix	π-helix
Vodíkové můstky	n ... n+4	n ... n+3	n ... n+5
Residua na otáčku	3,6	3	4,4
Vinutí (Å na 1 AK)	1,5	2	1,15



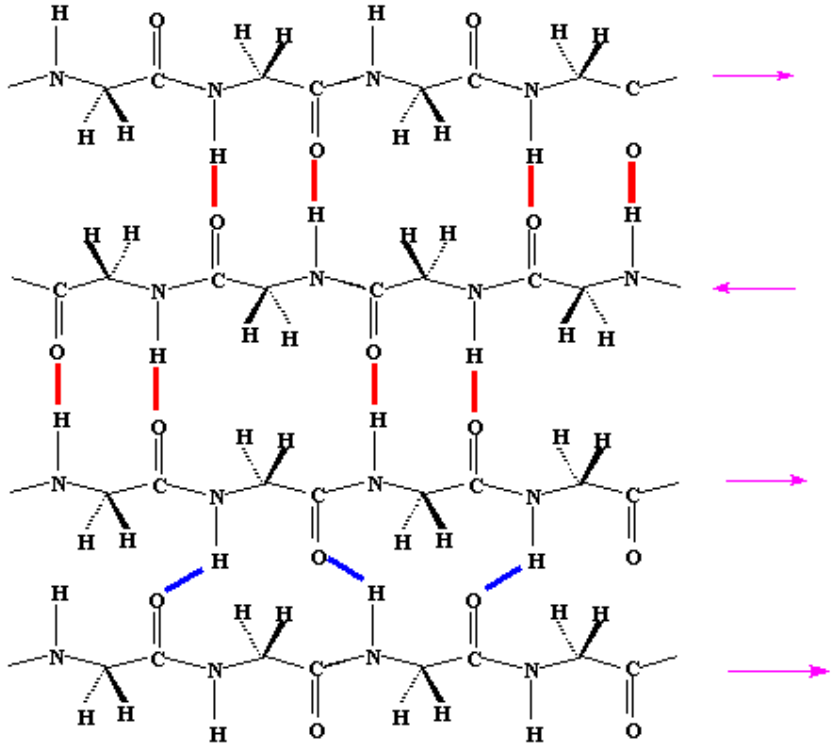
Skládaný list (extended β-sheet)

2D

- Paralelní, antiparalelní, mix



Antiparalelní

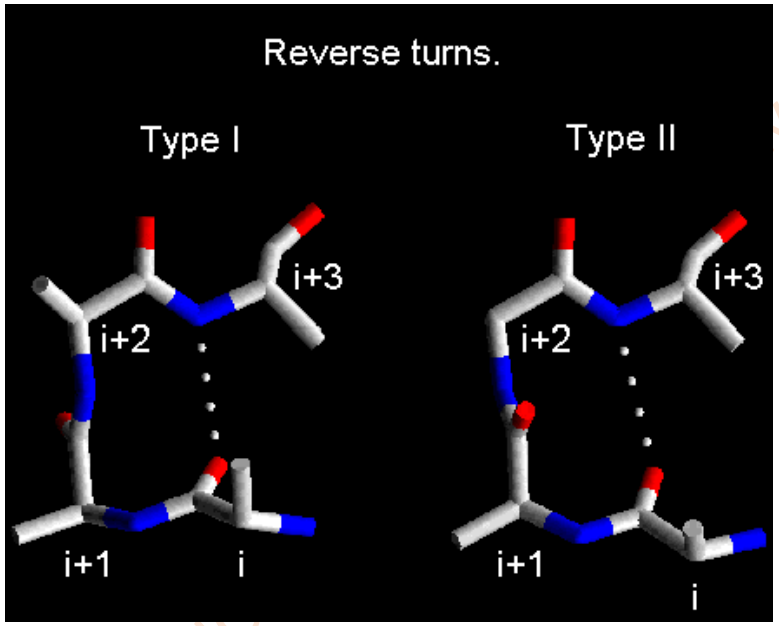


Paralelní

Ostatní

2D

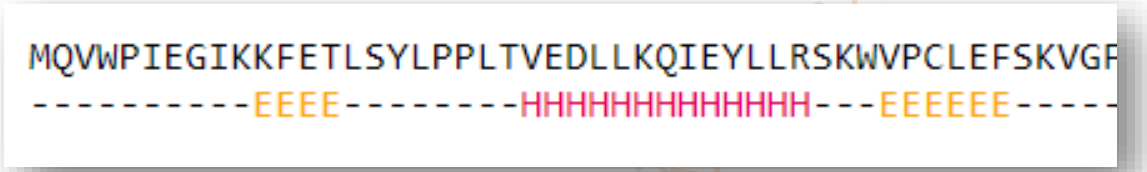
- Úseky které nespadají do kategorií helix nebo list
- **Kombinace** povolených torzních úhlů
- **Nestabilní** konformace
- **Nestandardní** konformace (glycin, prolin)
- **Otáčky** (turns), „**náhodné klubko**“ (**random coil**)

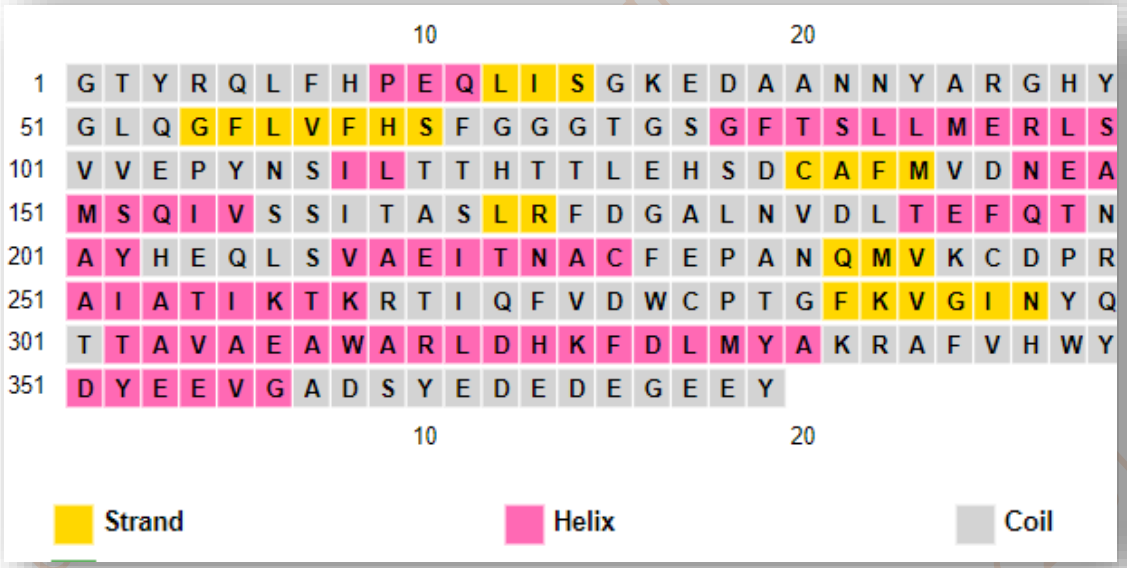


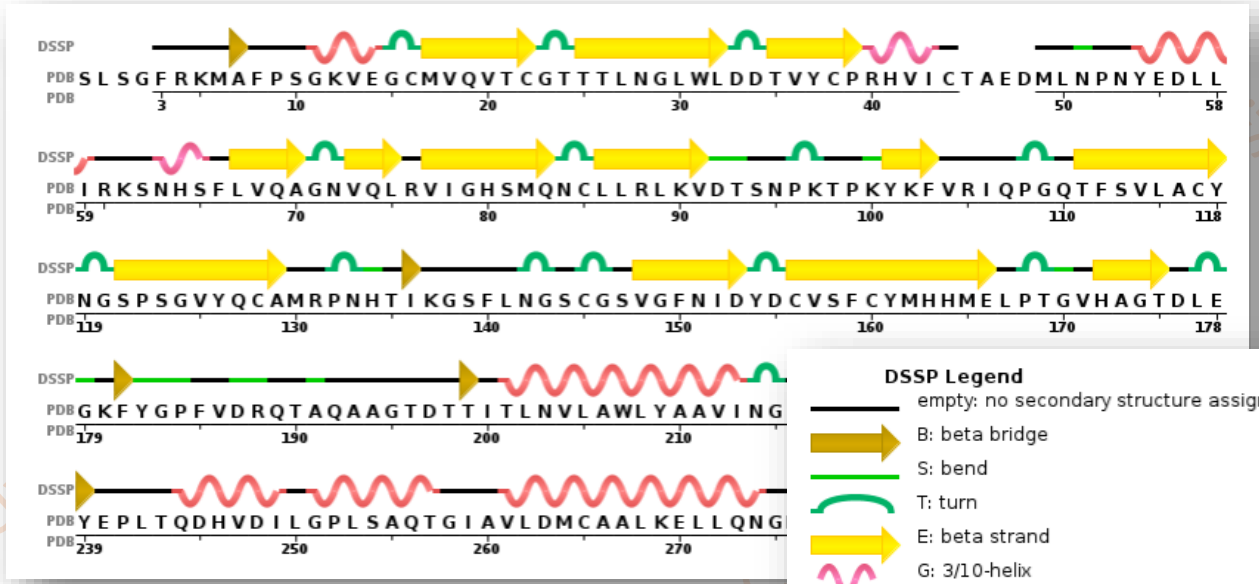
Znázornění 2D struktury

2D

- **Písmeny** – H (helix), E (extended sheet), C (coil), ...
- **Barevně** – např. červená (helix), žlutá (skládaný list)
- **Grafickými elementy** – spirála/válec (helix), plochá šipka (skládaný list), linka (ostatní)







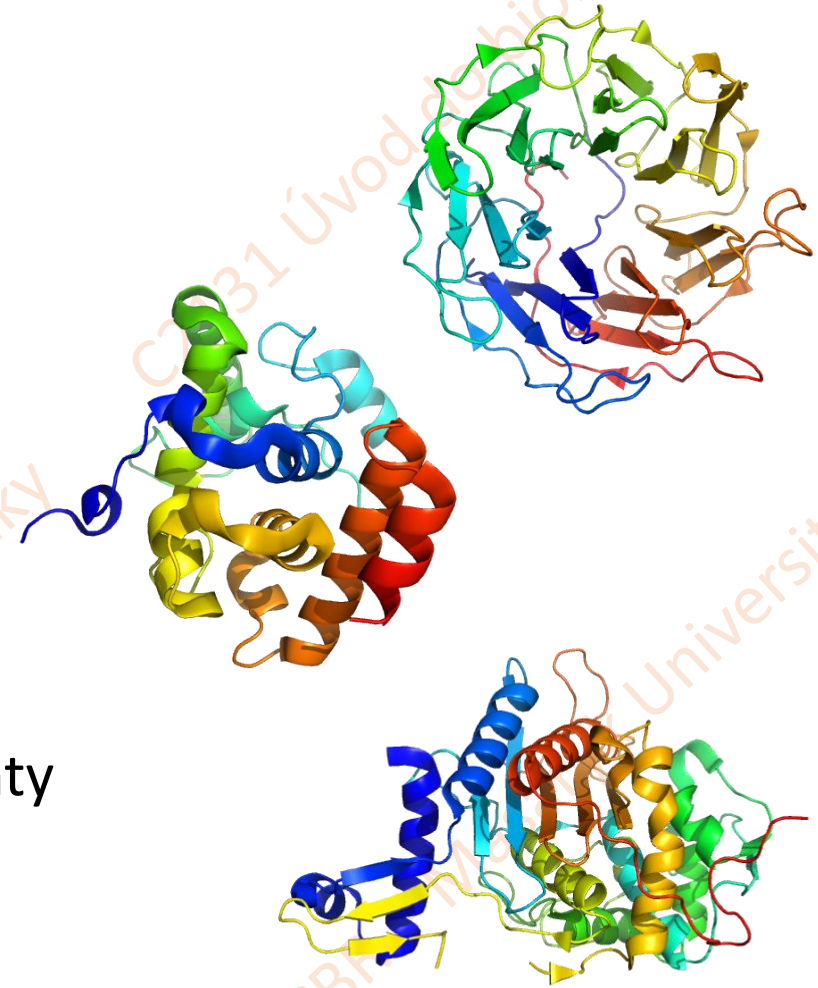
Dělení proteinů dle 2D struktury

2D

Zejména pro účely klasifikace, hledání společných rysů

Každý protein obsahuje mj. smyčky a ohyby

- Jen **α** struktury
- Jen **β** struktury
- **α/β –** Motivy kombinující α i β struktury
- **α + β –** Oddělené domény tvořené jen α nebo jen β strukturami
- **Malé proteiny –** speciální případy, např. obsahující ionty kovů, stabilizované disulfidickými můstky



Terciární struktura

Konkrétní umístění jednotlivých atomů polypeptidového řetězce v prostoru

Stabilizována pomocí různých typů vazeb:

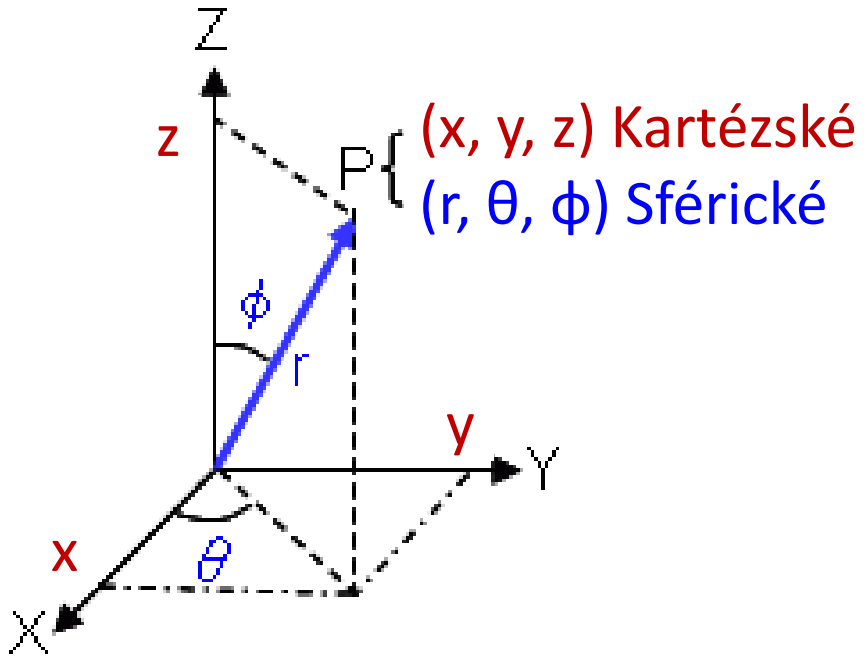
- **Vodíková vazba** (H-můstek)
  mezi polárními AK, mezi N-H a C=O hlavního řetězce
- **Iontová** interakce – nabité AK
- **Hydrofobní** interakce – nepolární AK
- **„Stacking“** (π-π, CH-π interakce) – aromatické AK
- Kovalentní vazba **síra-síra** – cystein / cystin
- Vazba **iontů kovů**

Absolutní souřadnice

Vztažené k definovanému počátku soustavy souřadnic [0, 0, 0]

- **Kartézské souřadnice** – x, y, z
- Sférické souřadnice – r, θ, ϕ nebo ρ, θ, ϕ

Pro N atomů → 3N souřadnic

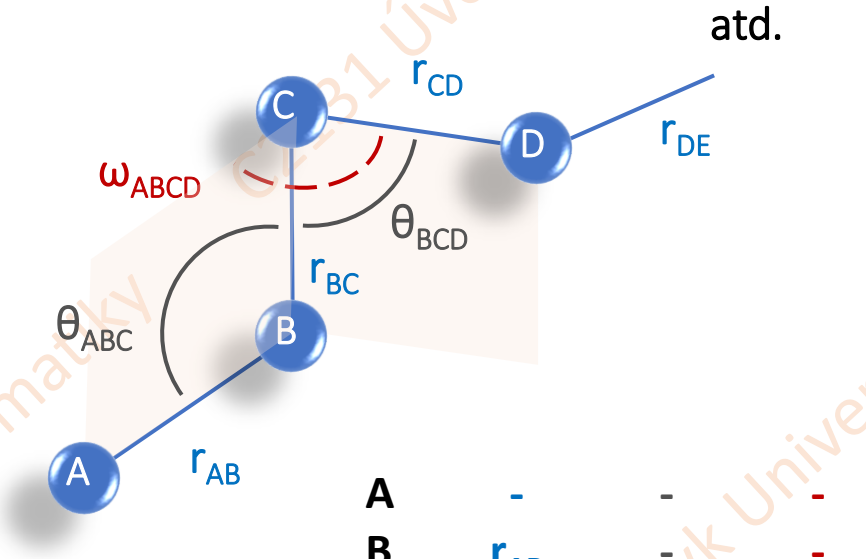


Relativní souřadnice

Vztažené k předchozímu definovanému bodu (atomu)

- **Vzdálenost** od předchozího atomu
- **Úhel** mezi třemi atomy
- **Torzní úhel** mezi čtyřmi atomy

Pro N atomů → 3N – 6 souřadnic



A	-	-	-
B	r_{AB}	-	-
C	r_{BC}	θ_{ABC}	-
D	r_{CD}	θ_{BCD}	ω_{ABCD}
E	r_{DE}	θ_{CDE}	ω_{BCDE}
…			

Od 2D ke 3D

Motivy

- 2-3 prvky sekundární struktury

Foldy

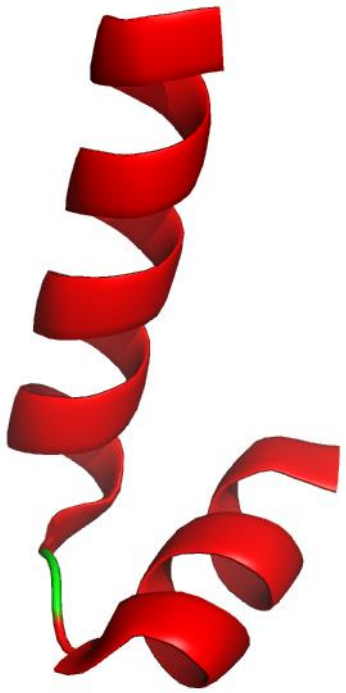
- Kombinace jednoduchých motivů

Domény

- Jsou tvořeny jedním nebo několika motivy/foldy
- Část proteinu s vlastní funkcí (nejmenší funkční jednotka)
- Nezávislá jednotka (alespoň částečně nezávislá)

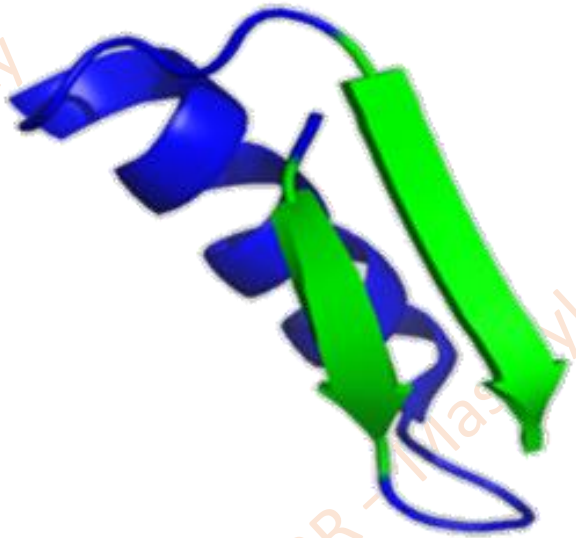
Jednoduché motivy

Helix-otáčka-helix



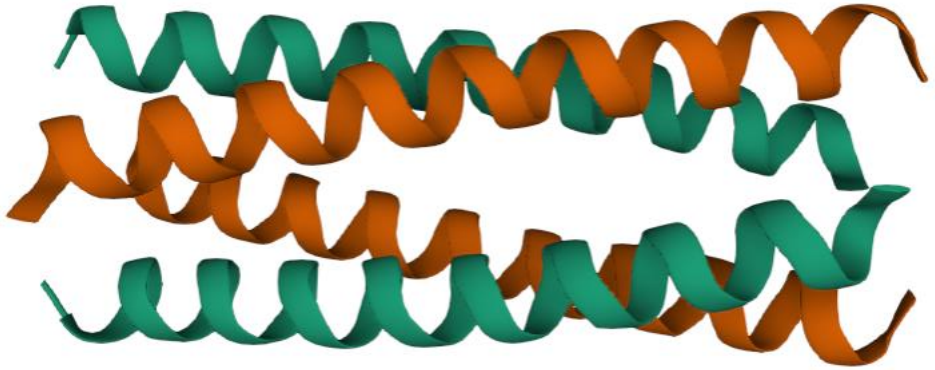
β-vlásenka

β-α-β

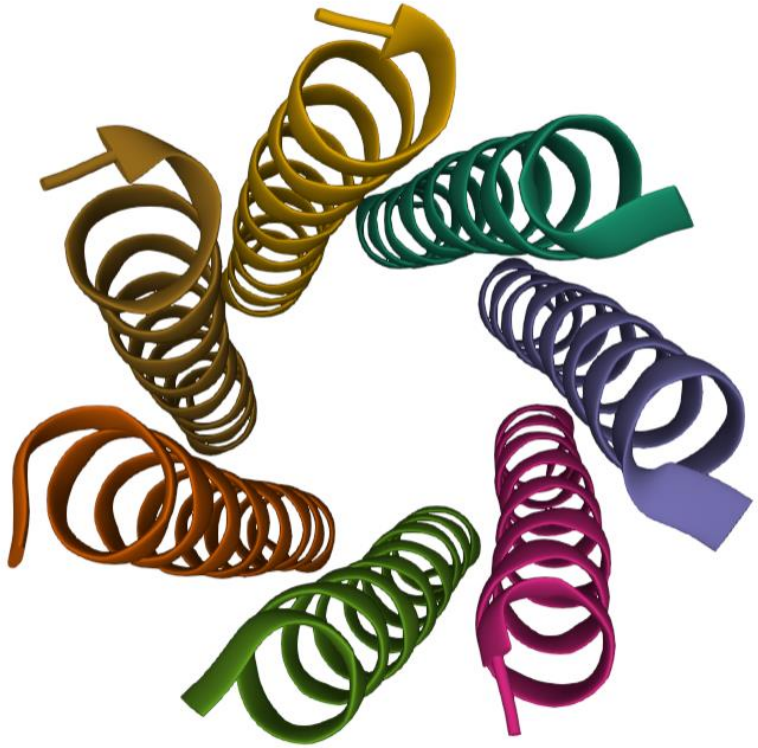


Složené α-motivy/foldy

4-helix bundle

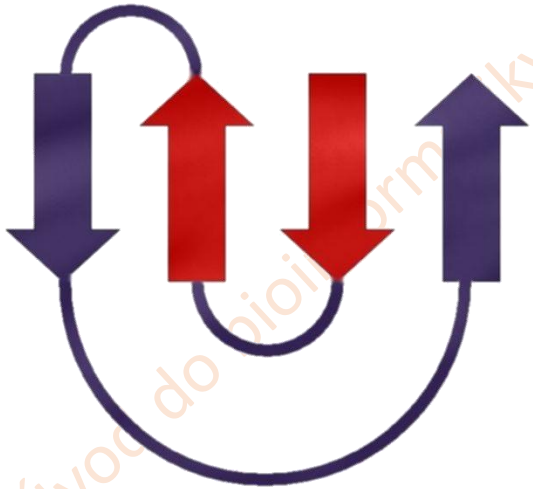


7-helix barel



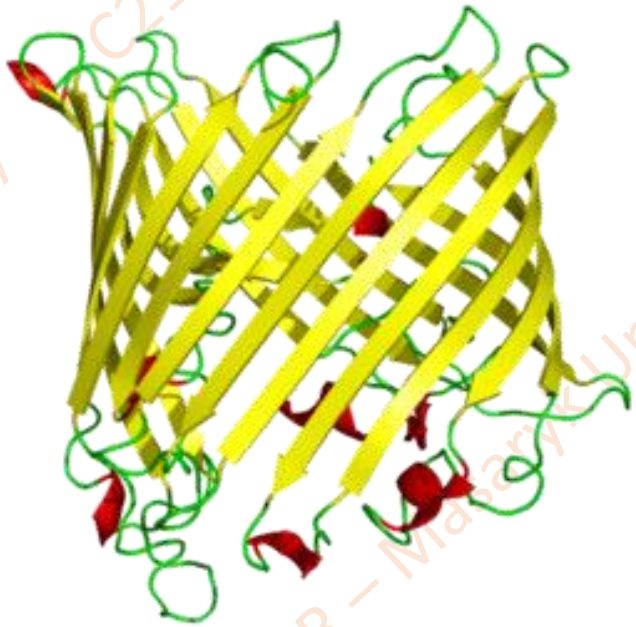
Složené β-motivy/foldy

Řecký klíč



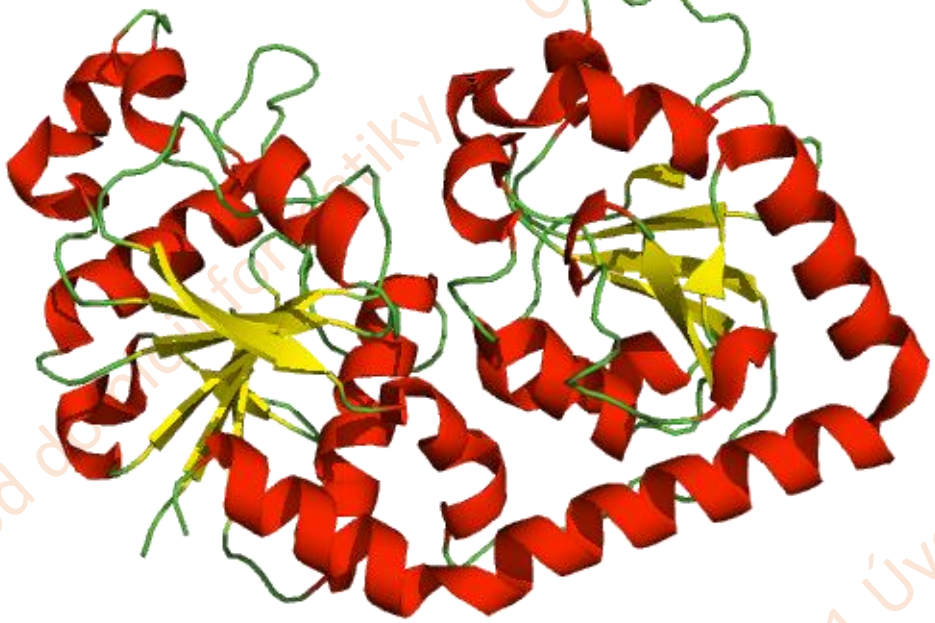
β-meandr

β-barel



Složené α/β-motivy/foldy

Rossmanův fold

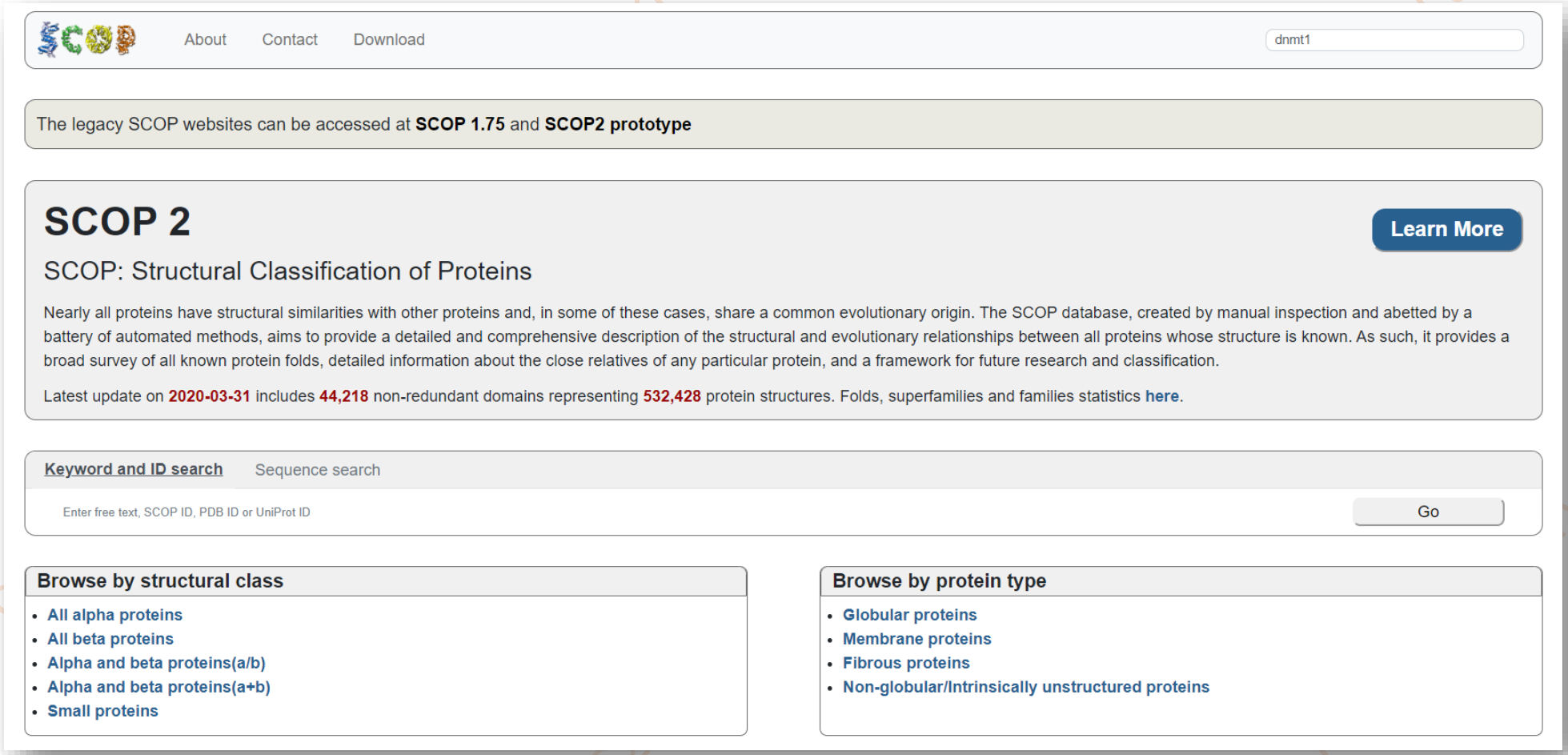


TIM-barel

Structural classification of proteins (SCOP)

2D

http://scop.mrc-lmb.cam.ac.uk/



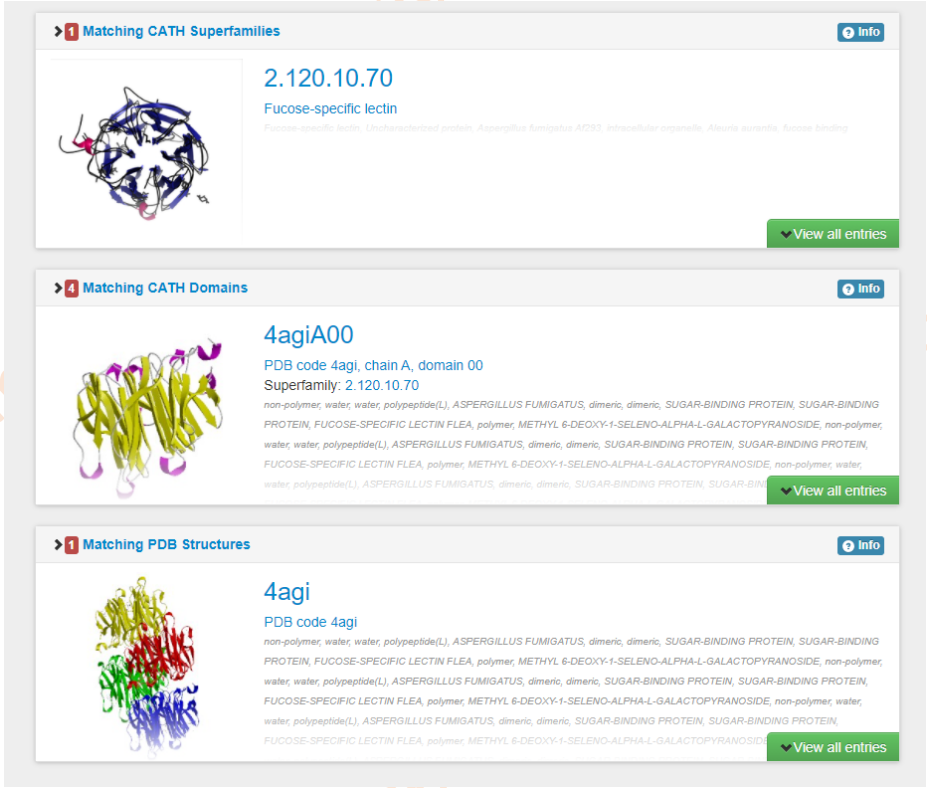
2D

CATH – Protein structure classification database

Domény jsou klasifikovány podle **CATH** hierarchie

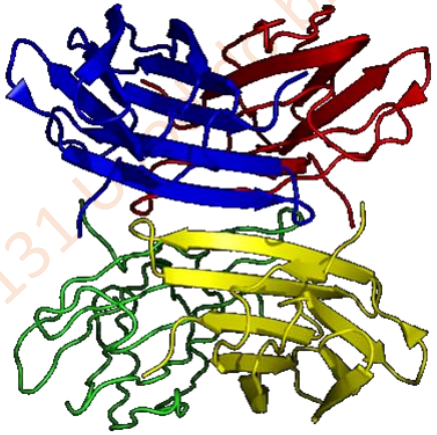
- Třída (**C**lass)
  - Podle sekundární struktury
  - Jen α, jen β, α i β, minimum sekundární struktury
- **A**rchitektura
  - 3D uspořádání sekundární struktury
- **T**opologie/fold
  - Jak jsou prvky sekundární struktury uspořádané za sebou
- **H**omologní nadrodina
  - V případě, že jsou domény evolučně příbuzné (homologní proteiny)

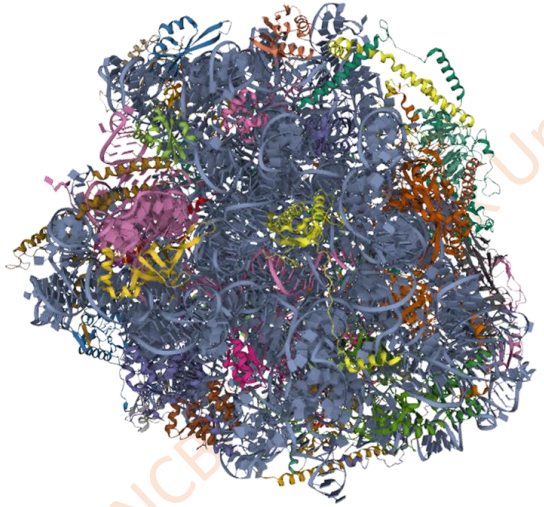
https://www.cathdb.info/



Kvartérní struktura

- Vzájemná **kombinace více řetězců** (monomerů)
- Podle typu podjednotek:
  - **Homooligomery** (identické jednotky)
  - **Heterooligomery** (alespoň dva různé typy jednotek)
- **Komplexy** proteinů s dalšími makromolekulami
  - Ribozom, proteazom, replikační komplex,...
- Nadmolekulární komplexy
  - Virové částice, buněčná membrána, organely,...





Strukturní data (3D)

Způsob uložení 3D (4D) strukturních dat

- Veřejně dostupné **databáze**
  - **Protein Data Bank** (PDB), Biological Magnetic Resonance Data Bank, EMDataBank
- Několik typů dat:
  - **Koordináty** atomů
  - **Experimentální** data
  - Doplňkové informace (**meta data**)
- Definovaný **formát**
  - PDB
  - **mmCIF**

Formát PDB

- Stále častý, dnes již zastaralý
- Fixní pozice sloupců, kapacitní omezení

```
HEADER    HYDROLASE                               14-MAR-03   1HL8
TITLE     CRYSTAL STRUCTURE OF THERMOTOGA MARITIMA ALPHA-FUCOSIDASE
COMPND    MOL_ID: 1;
COMPND   2 MOLECULE: PUTATIVE ALPHA-L-FUCOSIDASE;
COMPND   3 CHAIN: A, B;
COMPND   4 EC: 3.2.1.51;
COMPND   5 ENGINEERED: YES;
COMPND   6 OTHER_DETAILS: ORF TM0306
SOURCE    MOL_ID: 1;
SOURCE   2 ORGANISM_SCIENTIFIC: THERMOTOGA MARITIMA;
SOURCE   3 ORGANISM_TAXID: 243274;
SOURCE   4 STRAIN: MSB8;
SOURCE   5 EXPRESSION_SYSTEM: ESCHERICHIA COLI;
SOURCE   6 EXPRESSION_SYSTEM_TAXID: 511693;
SOURCE   7 EXPRESSION_SYSTEM_STRAIN: BL21;
SOURCE   8 EXPRESSION_SYSTEM_VECTOR: PDEST17
KEYWDS    HYDROLASE, GLYCOSIDE HYDROLASE, ALPHA-L-FUCOSIDASE, THERMOSTABLE
EXPDTA    X-RAY DIFFRACTION
AUTHOR    G.SULZENBACHER,C.BIGNON,Y.BOURNE,B.HENRISSAT
REVDAT   5   13-JUL-11 1HL8    1       VERSN
REVDAT   4   24-FEB-09 1HL8    1       VERSN
REVDAT   3   25-MAR-04 1HL8    1       JRNL
REVDAT   2   13-FEB-04 1HL8    1       REMARK
REVDAT   1   15-JAN-04 1HL8    0
JRNL        AUTH   G.SULZENBACHER,C.BIGNON,T.NISHIMURA,C.A.TARLING,S.G.WITHERS,
JRNL        AUTH 2 B.HENRISSAT,Y.BOURNE
JRNL        TITL   CRYSTAL STRUCTURE OF THERMOTOGA MARITIMA ALPHA-L-
JRNL        TITL 2 FUCOSIDASE. INSIGHTS INTO THE CATALYTIC MECHANISM AND THE
JRNL        TITL 3 MOLECULAR BASIS FOR FUCOSIDOSIS.
JRNL        REF    J.BIOL.CHEM.                  V. 279 13119 2004
JRNL        REFN                   ISSN 0021-9258
JRNL        PMID   14715651
JRNL        DOI    10.1074/JBC.M313783200
REMARK   2
REMARK   2 RESOLUTION.    2.4  ANGSTROMS.
REMARK   3
REMARK   3 REFINEMENT.
REMARK   3   PROGRAM     : REFMAC 5.1.24
REMARK   3   AUTHORS     : MURSHUDOV,VAGIN,DODSON
REMARK   3
REMARK   3    REFINEMENT TARGET : MAXIMUM LIKELIHOOD
REMARK   3
REMARK   3  DATA USED IN REFINEMENT.
REMARK   3   RESOLUTION RANGE HIGH (ANGSTROMS) : 2.40
REMARK   3   RESOLUTION RANGE LOW  (ANGSTROMS) : 37.27
```

Číslo rezidua

Řetězec

Typ aminokyseliny

Souřadnice

ATOM	1	N	ARG	A	7	-26.699	-11.392	48.842	1.00 56.84	N
ATOM	2	CA	ARG	A	7	-25.554	-10.912	49.663	1.00 55.29	C
ATOM	3	C	ARG	A	7	-24.623	-9.995	48.864	1.00 53.39	C
ATOM	4	O	ARG	A	7	-24.414	-10.191	47.661	1.00 54.25	O
ATOM	5	CB	ARG	A	7	-24.761	-12.105	50.193	1.00 56.00	C
ATOM	6	CG	ARG	A	7	-25.374	-12.749	51.426	1.00 58.45	C
ATOM	7	CD	ARG	A	7	-24.396	-12.945	52.578	1.00 59.72	C
ATOM	8	NE	ARG	A	7	-25.048	-12.736	53.869	1.00 61.30	N
ATOM	9	CZ	ARG	A	7	-24.413	-12.499	55.014	1.00 61.72	C
ATOM	10	NH1	ARG	A	7	-23.087	-12.440	55.065	1.00 61.05	N
ATOM	11	NH2	ARG	A	7	-25.115	-12.320	56.126	1.00 63.61	N
ATOM	12	N	TYR	A	8	-24.055	-9.007	49.545	1.00 50.83	N
ATOM	13	CA	TYR	A	8	-23.096	-8.100	48.940	1.00 48.87	C
ATOM	14	C	TYR	A	8	-21.680	-8.609	49.201	1.00 47.84	C
ATOM	15	O	TYR	A	8	-21.378	-9.123	50.279	1.00 47.98	O
ATOM	16	CB	TYR	A	8	-23.287	-6.680	49.481	1.00 47.56	C
ATOM	17	CG	TYR	A	8	-24.700	-6.147	49.294	1.00 48.37	C
ATOM	18	CD1	TYR	A	8	-25.123	-5.630	48.067	1.00 49.00	C
ATOM	19	CD2	TYR	A	8	-25.619	-6.180	50.332	1.00 48.91	C
ATOM	20	CE1	TYR	A	8	-26.419	-5.156	47.889	1.00 48.83	C
ATOM	21	CE2	TYR	A	8	-26.918	-5.707	50.160	1.00 50.24	C
ATOM	22	CZ	TYR	A	8	-27.306	-5.192	48.936	1.00 49.98	C
ATOM	23	OH	TYR	A	8	-28.589	-4.719	48.773	1.00 51.15	O
ATOM	24	N	LYS	A	9	-20.837	-8.493	48.178	1.00 46.89	N

Formát mmCIF

- Novější, preferovaný
- Bezkontextová gramatika, možnost rozšiřování o další typy údajů

```
data_4I1S
#
_entry.id   4I1S
#
_audit_conform.dict_name       mmcif_pdbx.dic
_audit_conform.dict_version    4.027
_audit_conform.dict_location   http://mmcif.pdb.org/dictionaries/ascii/mmcif_pdbx.dic
#
loop_
_database_2.database_id
_database_2.database_code
PDB  4I1S
RCSB RCSB076195
#
_database_PDB_rev.num            1
_database_PDB_rev.date           2013-01-30
_database_PDB_rev.date_original  2012-11-21
_database_PDB_rev.status         ?
_database_PDB_rev.replaces       4I1S
_database_PDB_rev.mod_type       0
#
_pdbx_database_status.status_code                     REL
_pdbx_database_status.entry_id                        4I1S
_pdbx_database_status.deposit_site                    RCSB
_pdbx_database_status.process_site                    RCSB
_pdbx_database_status.status_code_sf                  REL
_pdbx_database_status.status_code_mr                  ?
_pdbx_database_status.SG_entry                        ?
_pdbx_database_status.status_code_cs                  ?
_pdbx_database_status.methods_development_category    ?
#
loop_
_audit_author.name
_audit_author.pdbx_ordinal
'Motz, C.'      1
'Witte, G.'     2
'Hopfner, K.P.' 3
#
_citation.id                        primary
_citation.title
'Paramyxovirus V Proteins Disrupt the Fold of the RNA Sensor MDA5 to Inhibit Antiviral
_citation.journal_abbrev            Science
```

Řetězec Číslo rezidua

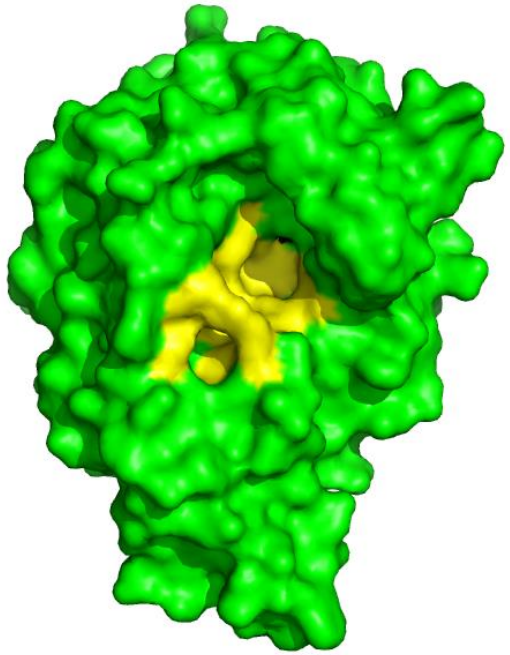
Typ aminokyseliny Souřadnice

```
_atom_site.pdbx_PDB_model_num
ATOM   1    N  N   . GLU A 1 1   ? 7.254   11.020 4.888  1.00 61.38  ? ? ? ? ? ? 546 GLU A N   1
ATOM   2    C  CA  . GLU A 1 1   ? 6.404   12.200 5.071  1.00 67.04  ? ? ? ? ? ? 546 GLU A CA  1
ATOM   3    C  C   . GLU A 1 1   ? 7.111   13.526 4.729  1.00 59.60  ? ? ? ? ? ? 546 GLU A C   1
ATOM   4    O  O   . GLU A 1 1   ? 6.576   14.360 3.999  1.00 64.05  ? ? ? ? ? ? 546 GLU A O   1
ATOM   5    C  CB  . GLU A 1 1   ? 5.842   12.232 6.500  1.00 74.02  ? ? ? ? ? ? 546 GLU A CB  1
ATOM   6    C  CG  . GLU A 1 1   ? 5.625   13.627 7.094  1.00 74.52  ? ? ? ? ? ? 546 GLU A CG  1
ATOM   7    C  CD  . GLU A 1 1   ? 4.448   14.369 6.495  1.00 78.40  ? ? ? ? ? ? 546 GLU A CD  1
ATOM   8    O  OE1 . GLU A 1 1   ? 3.968   13.977 5.409  1.00 81.00  ? ? ? ? ? ? 546 GLU A OE1 1
ATOM   9    O  OE2 . GLU A 1 1   ? 3.997   15.354 7.118  1.00 79.97  ? ? ? ? ? ? 546 GLU A OE2 1
ATOM   10   N  N   . ASP A 1 2   ? 8.299   13.714 5.287  1.00 44.26  ? ? ? ? ? ? 547 ASP A N   1
ATOM   11   C  CA  . ASP A 1 2   ? 9.213   14.768 4.873  1.00 34.80  ? ? ? ? ? ? 547 ASP A CA  1
ATOM   12   C  C   . ASP A 1 2   ? 10.508  14.039 4.527  1.00 30.06  ? ? ? ? ? ? 547 ASP A C   1
ATOM   13   O  O   . ASP A 1 2   ? 11.245  13.650 5.424  1.00 29.92  ? ? ? ? ? ? 547 ASP A O   1
ATOM   14   C  CB  . ASP A 1 2   ? 9.460   15.735 6.039  1.00 34.15  ? ? ? ? ? ? 547 ASP A CB  1
ATOM   15   C  CG  . ASP A 1 2   ? 10.399  16.909 5.672  1.00 36.09  ? ? ? ? ? ? 547 ASP A CG  1
ATOM   16   O  OD1 . ASP A 1 2   ? 11.138  16.835 4.665  1.00 33.05  ? ? ? ? ? ? 547 ASP A OD1 1
ATOM   17   O  OD2 . ASP A 1 2   ? 10.397  17.917 6.418  1.00 36.96  ? ? ? ? ? ? 547 ASP A OD2 1
ATOM   18   N  N   . LEU A 1 3   ? 10.778  13.854 3.239  1.00 32.19  ? ? ? ? ? ? 548 LEU A N   1
ATOM   19   C  CA  . LEU A 1 3   ? 11.922  13.061 2.787  1.00 30.81  ? ? ? ? ? ? 548 LEU A CA  1
ATOM   20   C  C   . LEU A 1 3   ? 13.253  13.688 3.155  1.00 27.21  ? ? ? ? ? ? 548 LEU A C   1
```

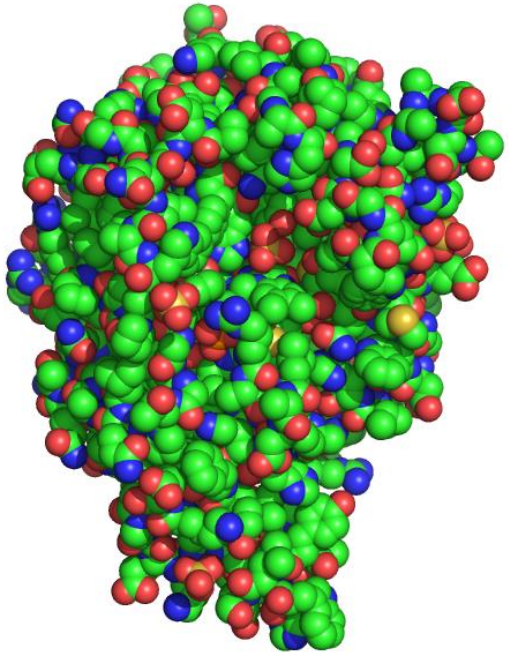
Zobrazení 3D struktury

- **Zobrazovací SW**: PyMol, LiteMol, Mol*, Jmol, Chimera, RasMol, VMD, …
- Konkrétní styl záleží na účelu zobrazení

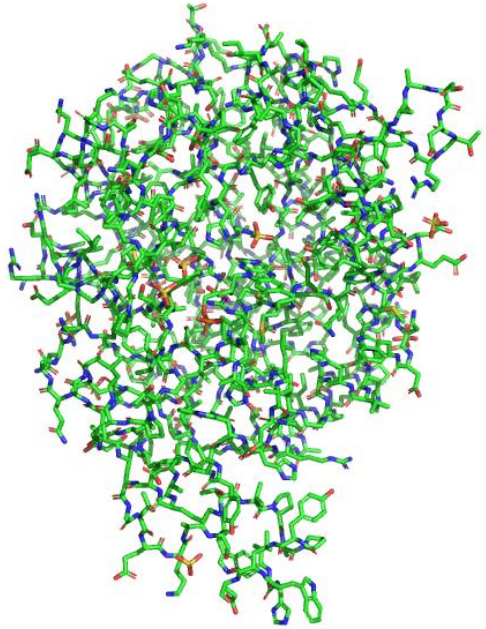
Povrch (surface)



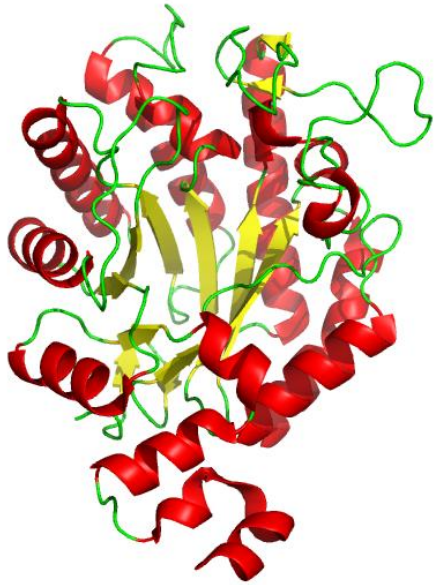
Kuličky (spheres)



Tyčky (sticks, balls and sticks)

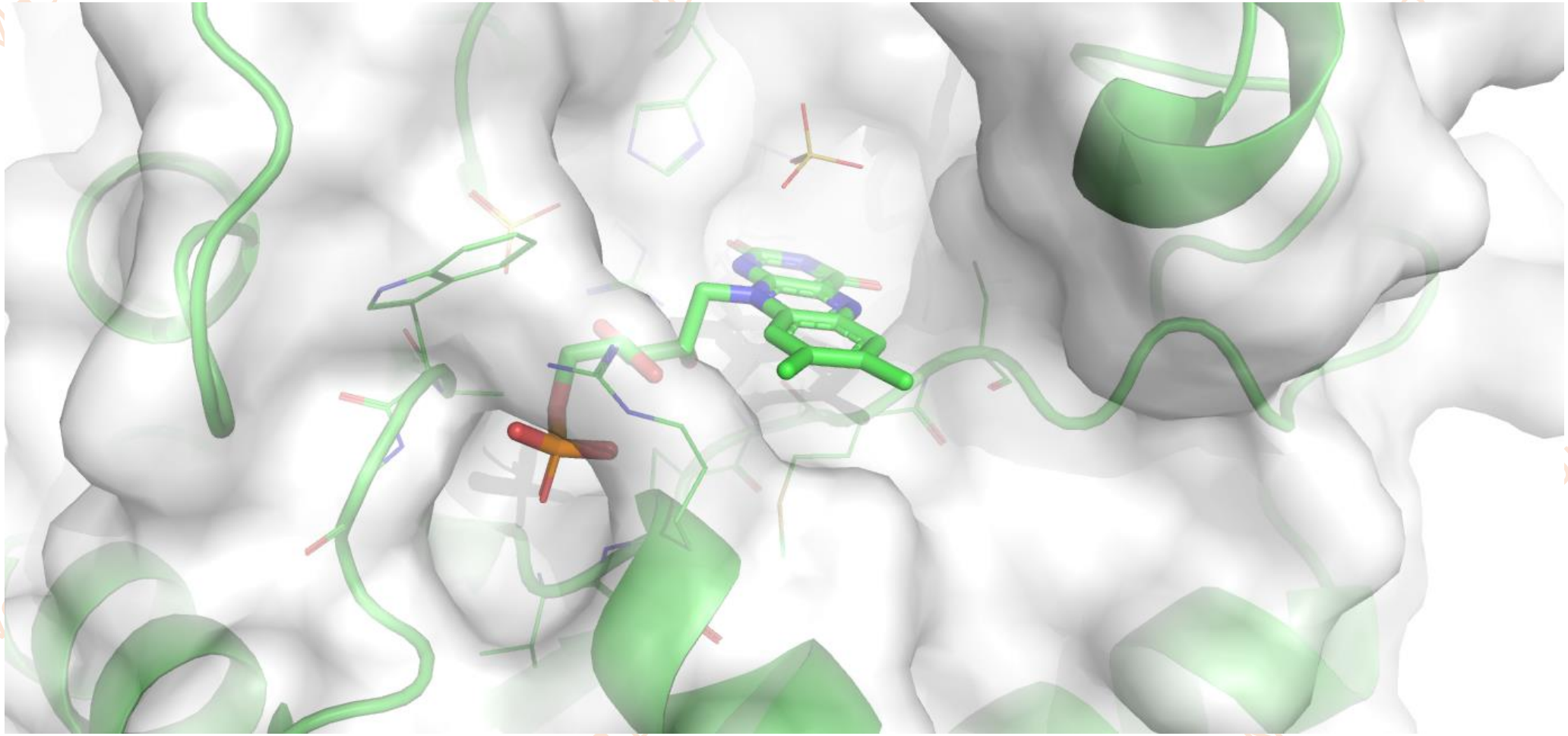


Stuha (cartoon/ribbon)



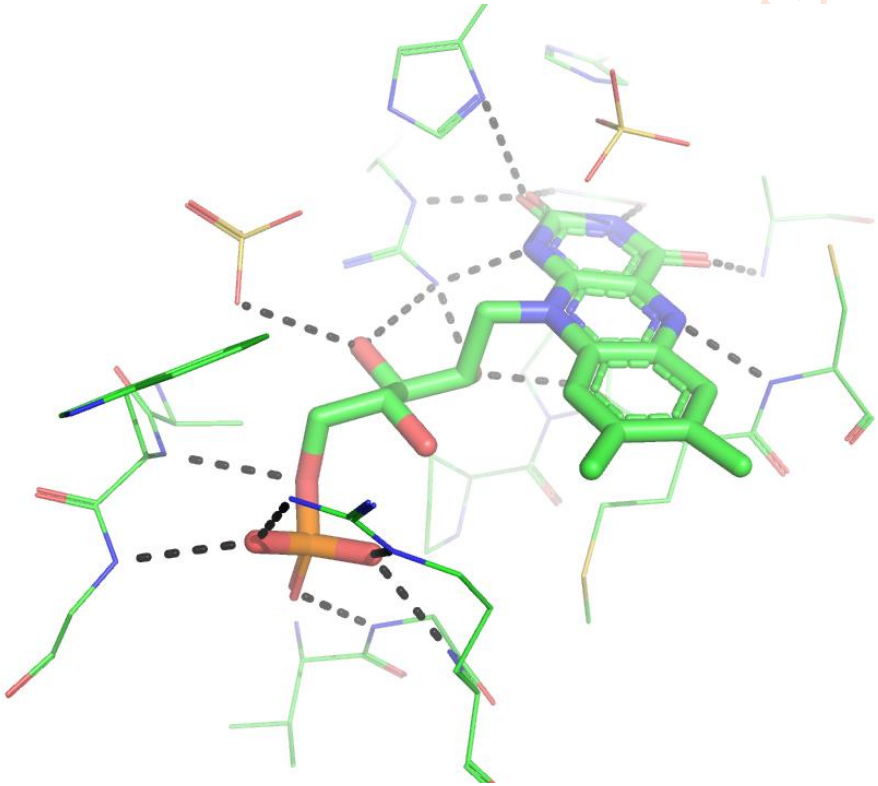
Zobrazení 3D struktury

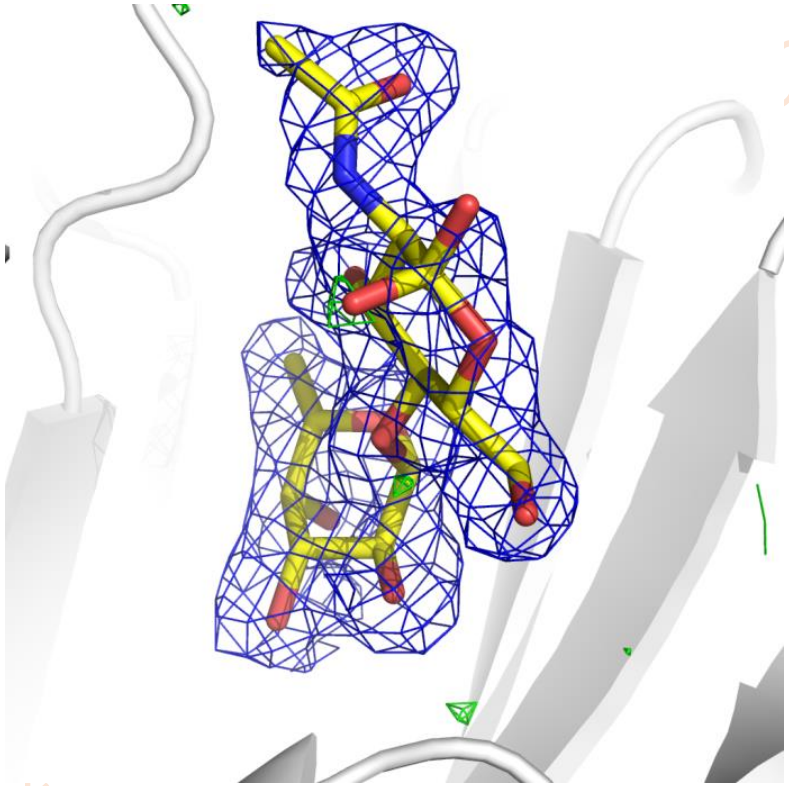
- Časté je **kombinované zobrazení**

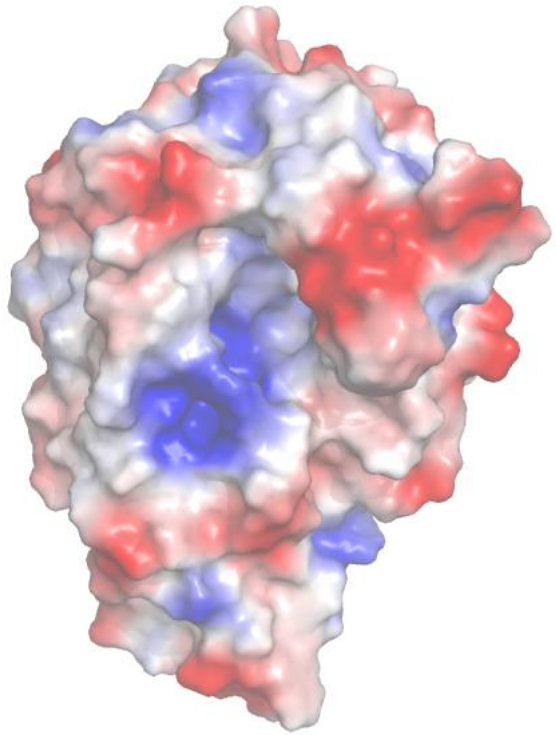


Zobrazení 3D struktury

- Možnost zobrazení dalších informací, např. vodíkové vazby, elektronová hustota, hydrofobicita povrchu







Predikce struktury

Predikce struktury

- Predikce struktury znamená přiřazení strukturních atributů jednotlivým aminokyselinám (2D struktura, koordináty – tvorba 3D modelu)
- Struktura 2D a 3D je konzervovaná více než samotná sekvence

- **Vstupní informace**
  - **Sekvence**
  - Fyzikálně-chemické parametry
  - Informace v databázích
- **Výstup**
  - **Model struktury** (2D, 3D, 4D)
  - Doplňkové informace (např. spolehlivost predikce)

Proč predikovat strukturu?

- **Klasifikace** proteinů
- Vytvoření **modelu** struktury pro další studium
- **Předpověď funkce** proteinu
  - Homologní struktury
  - Vazebná místa
- **Analýza povrchu**
  - Přístupnost pro solvent, tunely, kavity

Predikce sekundární struktury

2D

Predikce 3 základních typů: H (helix), E (β-list), C/− (smyčka/vše ostatní)

- 1. GENERACE
  - *ab-initio*
  - Vycházela z fyzikálně-chemických vlastností a ze statistik pro jednotlivé aminokyseliny

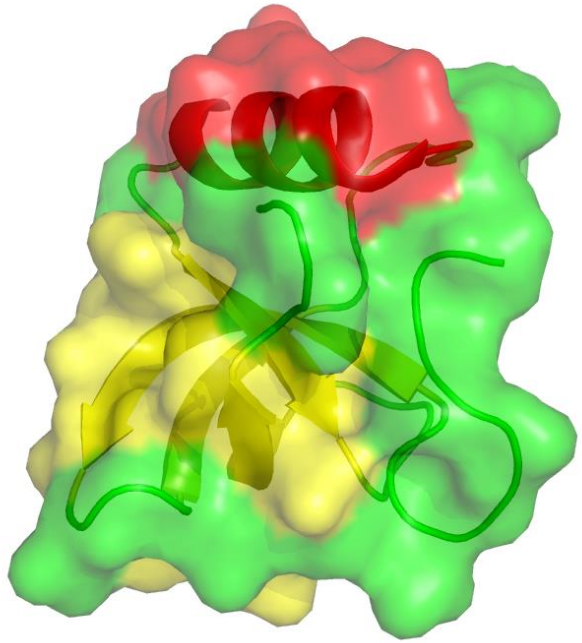
Typické znaky α-šroubovice

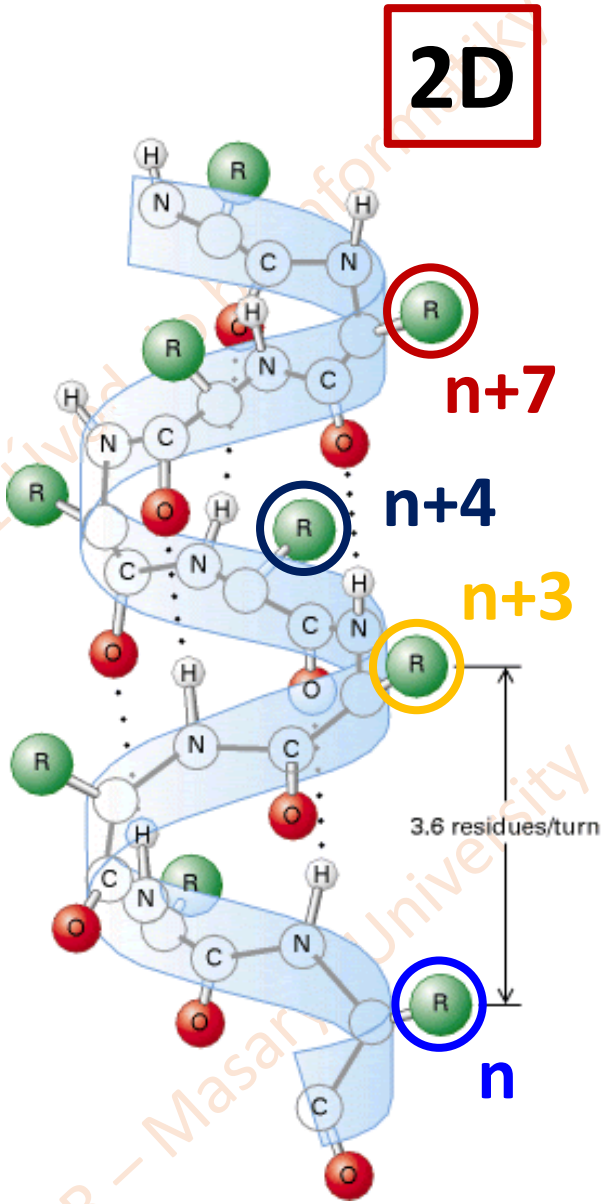
Často je **částečně exponovaná**

- Jedna strana je otočená dovnitř proteinu (hydrofobní) a druhá ven (hydrofilní)
- Residuum (aminokyselina) n, n+3, n+4, n+7 míří na stejnou stranu

Transmembránový helix

- Všechny aminokyseliny hydrofobní

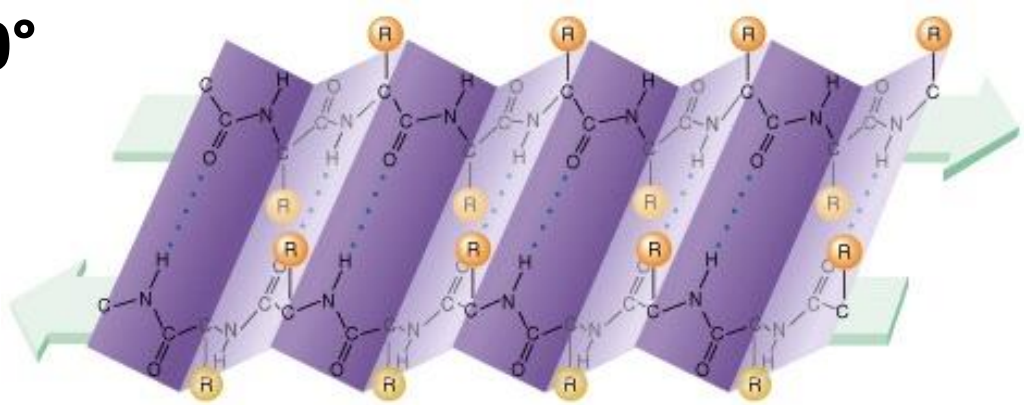




Typické znaky β-listu

2D

Residua (aminokyseliny) se střídají po **180°**

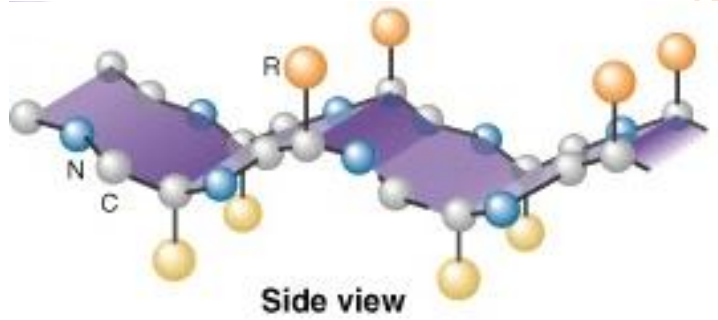


Částečně zanořený list

- Residua n, n+2, n+4 atd. jsou polární
- Residua n+1, n+3, n+5 atd. jsou nepolární

Úplně zanořený list

- Všechna residua jsou nepolární



α-šroubovice nebo β-list?

2D

?

ELKAHIRVDLTLQ

ELKAHIRVDLTLQ α

ELKAHIRVDLTLQ β

Polární Nepolární

α-šroubovice nebo β-list?

2D

?

ELKAHIRVDLTLQ

ELKAHIRVDLTLQ

✓✓ x x ✓✓ x xx ✓✓ x x

α ✗

ELKAHIRVDLTLQ

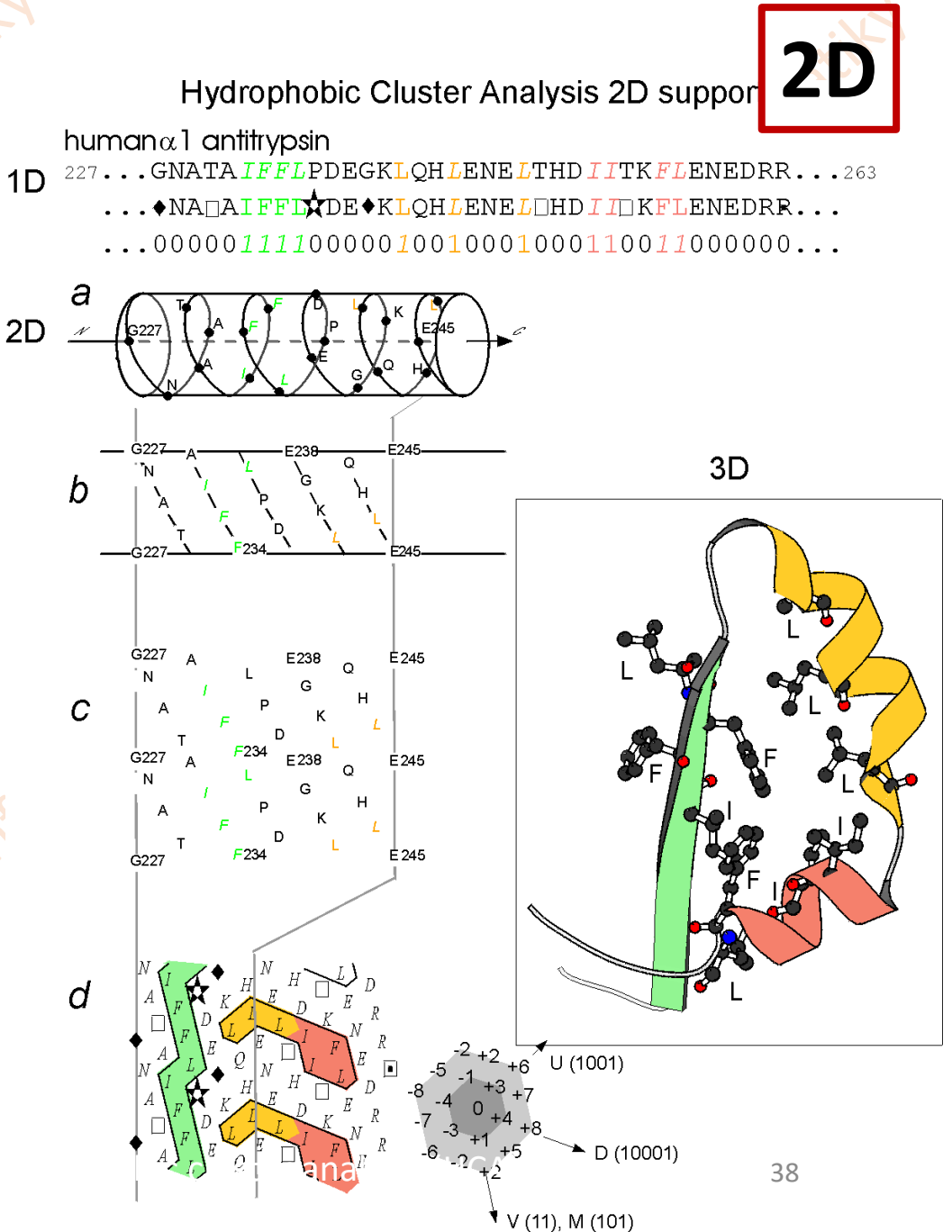
✓✓✓✓✓✓✓✓✓✓✓✓✓

β ✓

Polární Nepolární

Analýza hydrofobních klastrů (HCA)

- Sekvence „se namotá“ na válec (α-helix)
- HCA graf je zobrazení válce v rovině
- Hydrofobní aminokyseliny jsou ohraničeny a tvoří specifické tvary pro α-helixy a β-listy



RPBS Web Portal – HCA

2D

https://mobyle.rpbs.univ-paris-diderot.fr/cgi-bin/portal.py?form=HCA#forms::HCA

Predikce sekundární struktury

2D

Predikce 3 základních typů: H (helix), E (β-list), C/- (smyčka/vše ostatní)

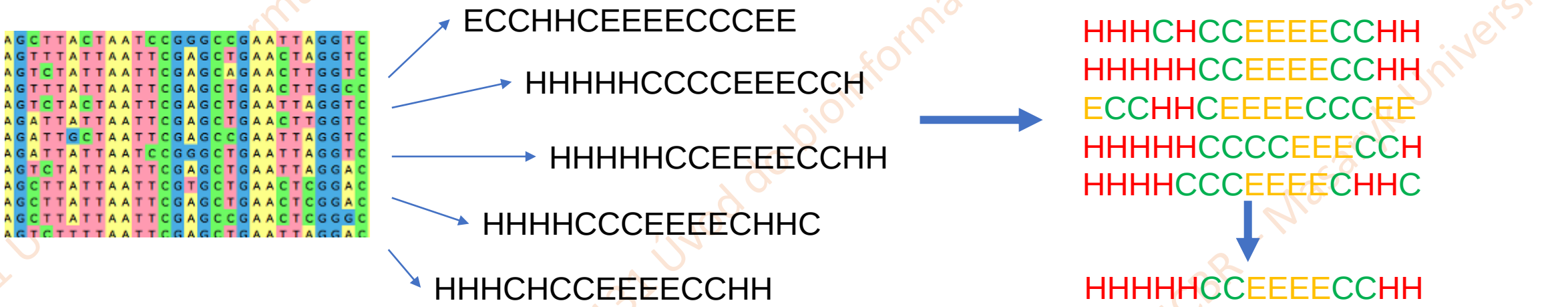
- 1. GENERACE
  - *ab-initio*
  - Vycházela z fyzikálně-chemických vlastností a ze statistik pro jednotlivé aminokyseliny
- 2. GENERACE
  - Zahrnovala i vliv okolních aminokyselin
- 3. GENERACE
  - *Homology-based models*
  - Metody strojového učení
  - Využívá multiple sequence alignmentu a toho, že 2D struktura je více konzervovaná než sekvence

2D

Metody založené na homologii (*Homology-based*)

Vychází z předpokladu, že 2D struktura je více konzervovaná než sekvence

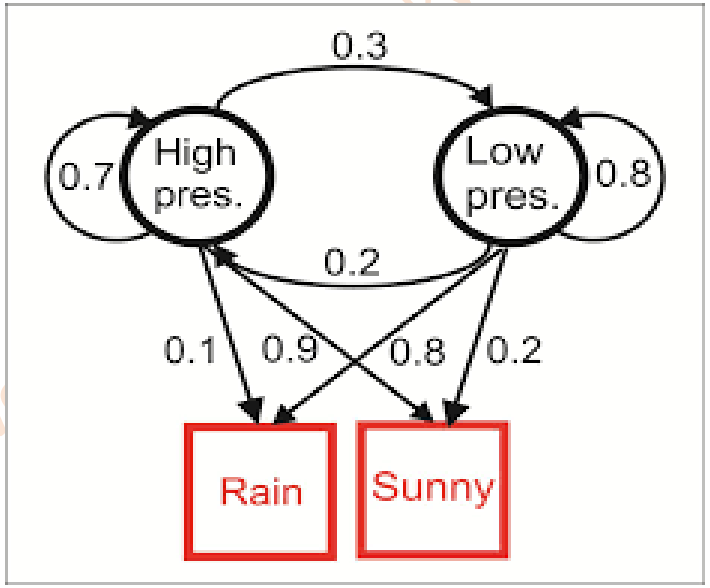
1. Multiple sequence alignment
2. Predikce sekundárních struktur pro každou sekvenci zvlášť
3. Porovnání predikovaných sekundárních struktur s alignmentem
4. Konsenzus sekundární struktury

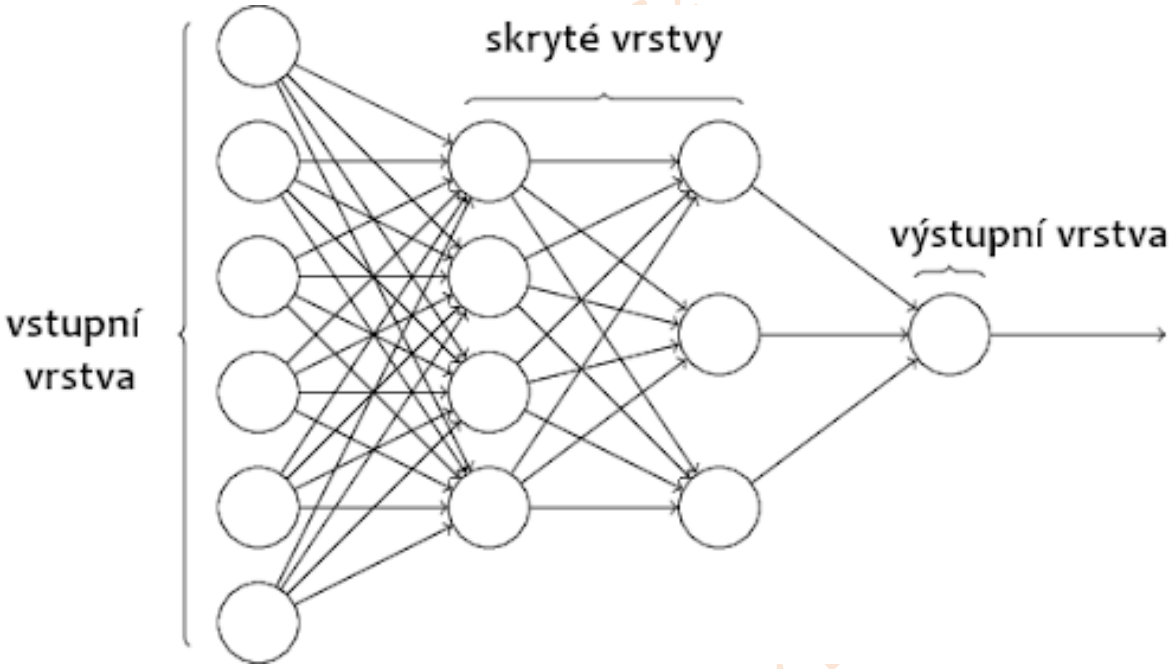


Metody strojového učení (*Machine learning*)

2D

- Model, který je natrénovaný na známé sadě dat
- Neuronové sítě
- Skryté Markovovy modely



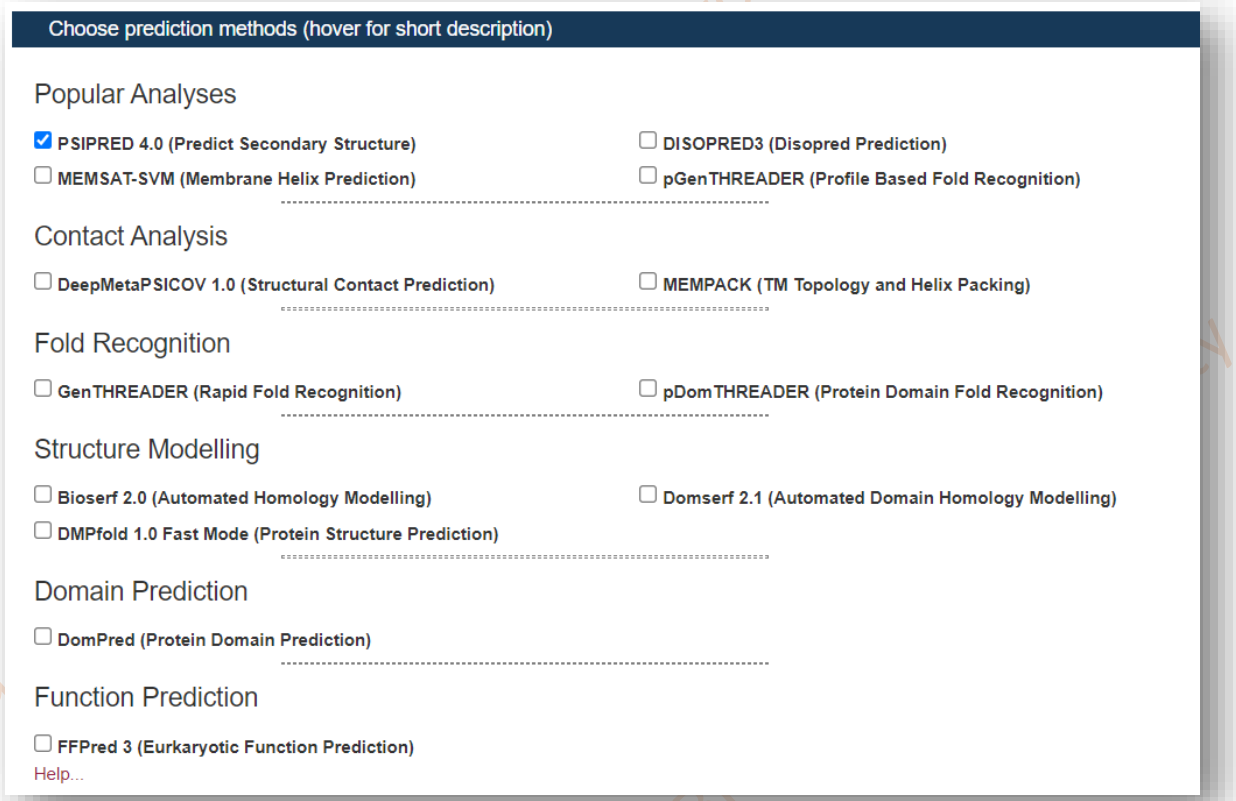


PSIPRED

2D

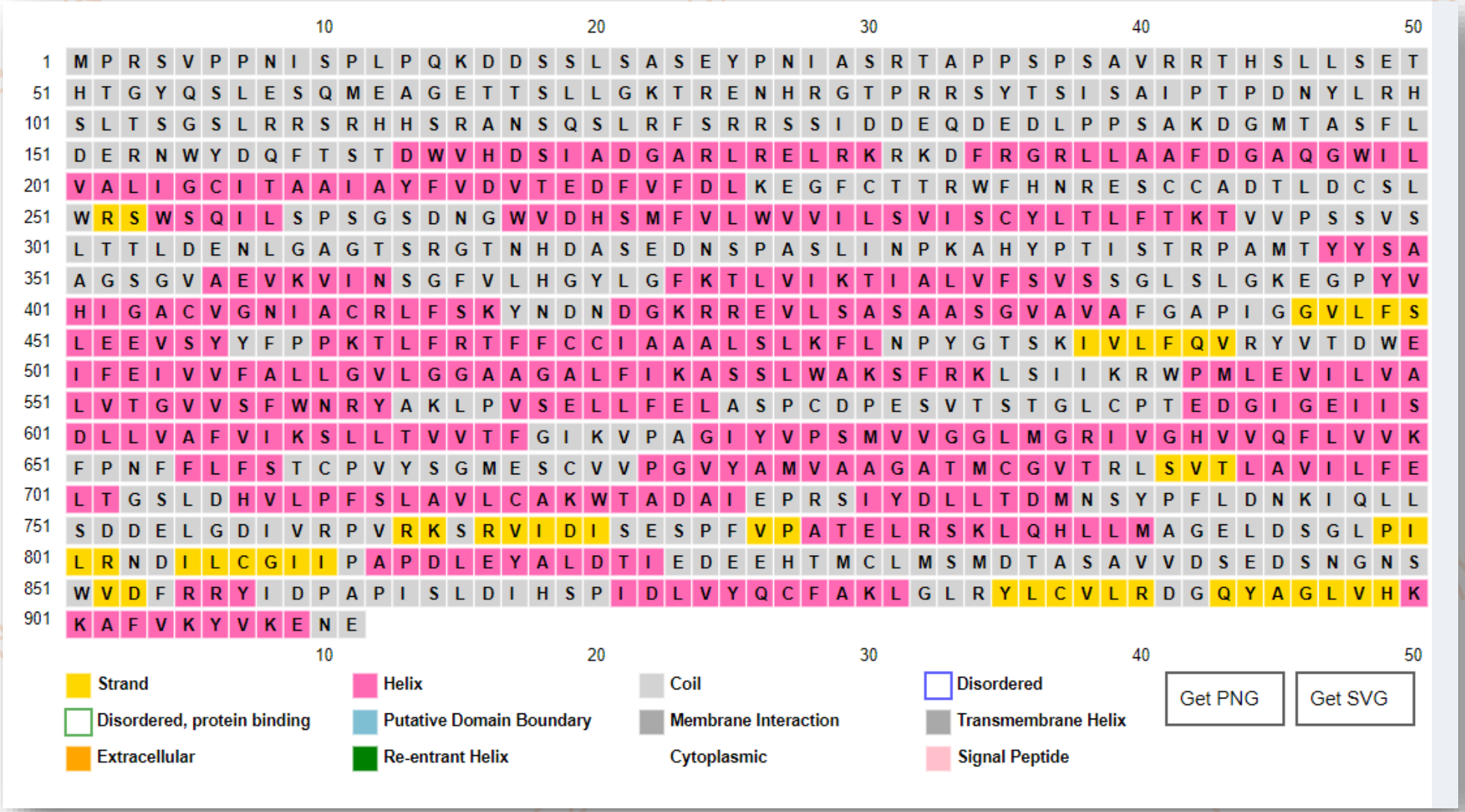
- Predikce sekundární struktury pomocí 2 neuronových sítí
- Časově náročnější
- Ve srovnání s většinou programů na predikci sekundární struktury má lepší výsledky

http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred/



PSIPRED

2D


10 20 30 40 50
1 MPRSVPPNISPLPQKDDSSLSASEYPNIASRTAPPSPSAVRRTHSLLSETT
51 HTGYQSLESQMEAGETTSLLGKTRENHRGTPRRSYTSISAIPTPDNYLRH
101 SLTSGSLRRSRHHSRANSQSLRFSRRSSIDDEQDEDLPPSAKDGMTASFL
151 DERNWYDQFTSTDWVHDSIADGARLRELRKRKDFRGRLLAAFDGAQGWIL
201 VALIGCITAAIAYFVDVTEDFVFDLKEGFCTTRWFHNRESCCADTLDCSL
251 WRSWSQILSPSGSDNGWVDHSMFVLWVVILSVISCYLTLFTKTVVPSSVS
301 LTTLDENLGAGTSRGTNHDASEDNSPASLINPKAHYPTISTRPAMTYYSA
351 AGSGVAEVKVINSGFVLHGYLGFKTLVIKTIALVFSVSSGLSLGKEGPYV
401 HIGACVGNIACRLFSKYNDNDGKRREVLSASASAASGVAVAFGAPIGGVLFS
451 LEEVSYYFPPKTLFRTFFCCIAAALSLKFLNPYGTSKIVLFQVRYVTDWE
501 IFEIVVFALLGVLGGAAGALFIKASSLWAKSFRKLSIIKRWPMLEVILVA
551 LVTGVVSFWNRYAKLPVSELLFELASPCDPESVTSTGLCPTEDGIGEIIS
601 DLLVAFVIKSLLTVVTFGIKVPAGIYVPSMVVGGLMGRIVGHVVQFLVVK
651 FPNFFLFSTCPVYSGMESCVVPGVYAMVAAGATMCGVTRLSVTLAVILFE
701 LTGSLDHVLPFSLAVLCAKWTADAIEPRSIYDLLTDMNSYPFLDNKIQLL
751 SDDELGDIVRPVRKSRVIDISESPFVPATELRSKLQHLLMAGELDSGLPI
801 LRNDILCGIIPAPDLEYALDTIEDEEHTMCLMSMDTASAVVDSEDSNGNS
851 WVDFRRYIDPAPISLDIHSPIDLVYQCFAKLGLRYLCVLRDGQYAGLVHK
901 KAFVKYVKEN
10 20 30 40 50
Strand
Helix
Coil
Disordered
Disordered, protein binding
Putative Domain Boundary
Membrane Interaction
Transmembrane Helix
Extracellular
Re-entrant Helix
Cytoplasmic
Signal Peptide
Get PNG
Get SVG

Rozšíření predikce 2D struktury

2D

- Predikce **více typů** 2D struktury (dle DSSP – Database of Secondary Structure Assignments)
  - α-helix (H)
  - 3_{10}-helix (G)
  - π-helix (I)
  - β-řetězec, extended strand (E)
  - β-bridge (B)
  - turn (T)
  - bend (S)
  - ostatní, coil (C)
- Predikce **přístupnosti solventu**
- Predikce **transmembránových helixů**

Predikce terciární struktury

- ***Ab initio***
- **Homologní modelování**
- **Threading** („navlékání“)

Ab initio

- Nejuniverzálnější – vychází pouze ze sekvence
- Výpočetně **nejnáročnější**
- Zahrnuje řadu kroků:
  - Predikce 2D struktury
  - Modelování jednotlivých fragmentů
  - Kombinace fragmentů navzájem
  - Doplnění smyček a flexibilních úseků
- **Nízká spolehlivost** zejm. pro větší proteiny

Ab initio

- Quark
- RaptorX

User Input

```
>1ci4A (87 residues)
TTSQKHRDFVAEPGEKPVGSLAGIGEVLGKKLEERGFDKAYVVLGQFLVLKKDEDLFREW
LKDTCGANAKQSRDCFGCLREWCDAFL
```

Predicted Secondary Structure

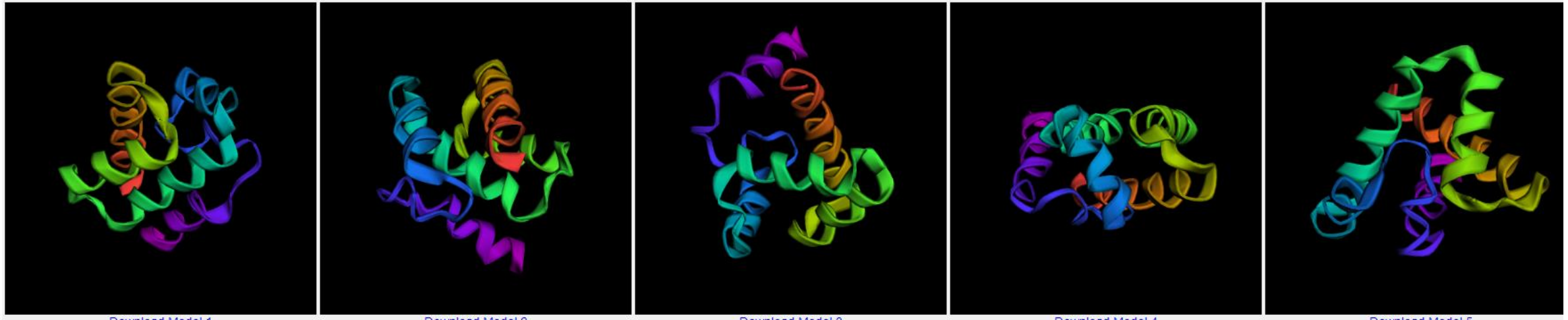
```
                          20                  40                  60                  80
                           |                   |                   |                   |
Sequence    TTSQKHRDFVAEPGEKPVGSLAGIGEVLGKKLEERGFDKAYVVLGQFLVLKKDEDLFREWLKDTCGANAKQSRDCFGCLREWCDAFL
Prediction CCCHHHHHHHCCCCCCCCCCCCCCCHHHHHHHHHCCCHHHHHHHHHHHHCCCHHHHHHHHHHHCCCHHHHHHHHHHHHHHHHHC
Conf.Score 988899999879999987447898899999999979659999999999958889999999999968899999999999999859
           H:Helix; S:Strand; C:Coil
```

Predicted Solvent Accessibility

```
                          20                  40                  60                  80
                           |                   |                   |                   |
Sequence    TTSQKHRDFVAEPGEKPVGSLAGIGEVLGKKLEERGFDKAYVVLGQFLVLKKDEDLFREWLKDTCGANAKQSRDCFGCLREWCDAFL
Prediction 553330221123223321120110032002102421132002000200113232310220022102031310310010022003324
           Values range from 0 (buried residue) to 9 (highly exposed residue)
```

Top 5 Final Structure Model

By dragging your mouse on the images, you rotate and zoom the structure.



Download Model 1 | Download Model 2 | Download Model 3 | Download Model 4 | Download Model 5

Homologní modelování

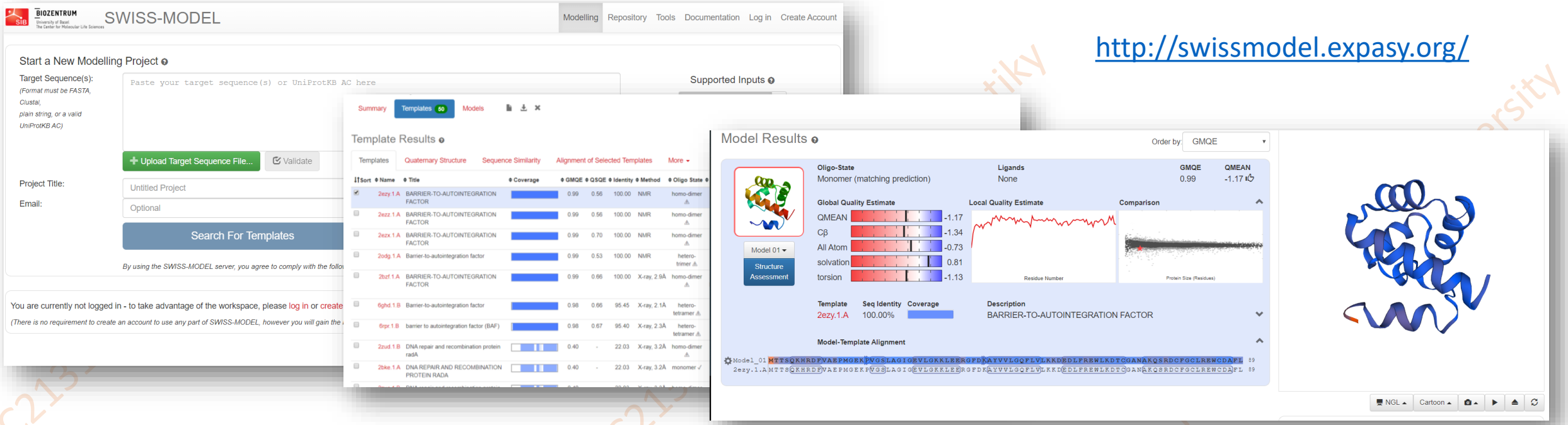
- Leží na opačném konci spektra než *ab initio*
- Je založeno na existenci blízkého **strukturního homologu** (typicky 50 % sekvenční podobnosti a více)
- Využívá skutečnosti, že dva proteiny ze stejné rodiny a s podobnou sekvencí mají i podobnou 3D strukturu
- Kromě sekvence modelovaného proteinu potřebujeme znát strukturu homologního proteinu = **templát**
- Pro vysoce homologní sekvence je spolehlivost velmi vysoká

Homologní modelování

1. **Alignment** zadané sekvence a sekvence templátu
2. Extrakce proteinové **páteře** ze struktury templátu a umístění **postranních řetězců**
3. **Modelování** otoček a smyček
4. **Minimalizace** energie
5. **Validace** vytvořené struktury

Swiss-Model

- Výběr modelu (manuální, automatický)
- Podle vybraného modelu pak predikuje strukturu zadané sekvence
- Součástí výstupu je sada parametrů hodnotících **kvalitu** modelu. Při využití více templátů je tak možno porovnat jednotlivé modely



http://swissmodel.expasy.org/

Threading

- Z hlediska náročnosti i spolehlivosti leží mezi *ab initio* a homologním modelováním
- Používá se pro případy, kdy zkoumaný protein má **nízkou homologii** s proteiny se známou strukturou (typicky cca 15-40 %)
- Porovnává možnost přiložení sekvence na proteiny známých **foldů**

Threading

1. S využitím strukturních databází (PDB, SCOP, CATH) je vytvořena databáze existujících foldů
2. Sekvence je porovnána s potenciálními templáty
   - Alignment
   - Každou aminokyselinu se pokusí umístit do pozice aminokyseliny v templátu
   - Hodnocení umístění
3. Výběr templátu pro výsledný model

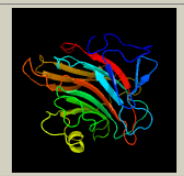
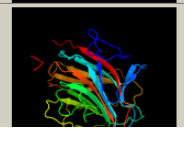
➢ Proteiny s více doménami je nutné rozdělit a modelovat zvlášť

Phyre2

- Server pro 3D predikci struktur pomocí **threadingu**
- Vysoce výkonný – poměrně spolehlivá detekce foldu i při **nízké homologii** (i pod 15%)

http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/

Phyre2

#	Template	Alignment Coverage	3D Model	Confidence	% i.d.	Template Information
1	c1r1zB	Alignment		100.0	31	**PDB header:**sugar binding protein **Chain:** B: **PDB Molecule:**ergic-53 protein; **PDBTitle:** the crystal structure of the carbohydrate recognition2 domain of the glycoprotein sorting receptor p58/ergic-533 reveals a novel metal binding site and conformational4 changes associated with calcium ion binding Run Investigator
2	c2a6yA	Alignment		100.0	21	**PDB header:**sugar binding protein **Chain:** A: **PDB Molecule:**emp47p (form1); **PDBTitle:** crystal structure of emp47p carbohydrate recognition domain2 (crd), tetragonal crystal form Run Investigator
3	d2a6za1	Alignment		100.0	20	**Fold:**Concanavalin A-like lectins/glucanases **Superfamily:**Concanavalin A-like lectins/glucanases **Family:**Lectin leg-like Run Investigator
4	c2dupB	Alignment		100.0	42	**PDB header:**protein transport **Chain:** B: **PDB Molecule:**vesicular integral-membrane protein vip36; **PDBTitle:** crystal structure of vip36 exoplasmic/lumenal domain, metal-free form

I-TASSER

- Několikrát vyhodnocen jako nejlepší predikční server

https://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER/

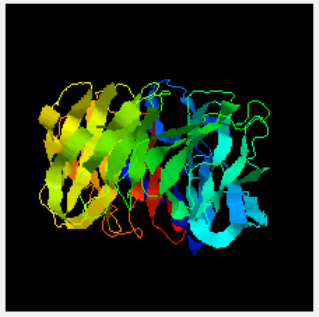
Predicted Secondary Structure

```
                  20        40        60        80        100       120       140
                   |         |         |         |         |         |         |
Sequence          YPFFDNPNYTNTYATNEDFVCPYFLDYYNNSQDDYKNFRGENYDFEDTEENIENRNIEETEYEGLFRAWNPWNNLGGNITSGLGASSWAANRIDLFARGRGGELIHNWFDNGKWNYWENLGGILTSSPKAVSWGFNRIDVVCRGI
Prediction        CCCCCCCCCCCCCCCCCCCSSCCCHHHHHHCCCCCCCCCCCCSSCCSSSSSSSSSCCCSSSSSCCCCCCCCCCSSCCCCCCCCCSSSSCCCCCSSSSSSCCCCCSSSSSSCCCCCCCCCSCCCCCCCCCCSSSSSCCCCSSSSSCC
Conf.Score        995677866788886653677523565512600045898303601114799982572588751698988877118997789874798089968999995999589998259987666406897658867899389948999998 9
```

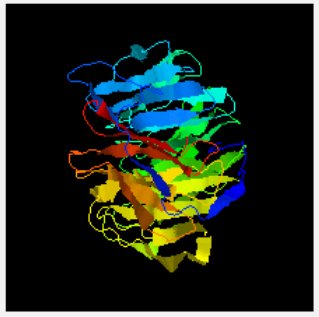
Predicted Solvent Accessibility

```
                  20        40        60        80        100       120       140
                   |         |         |         |         |         |         |
Sequence          YPFFDNPNYTNTYATNEDFVCPYFLDYYNNSQDDYKNFRGENYDFEDTEENIENRNIEETEYEGLFRAWNPWNNLGGNITSGLGASSWAANRIDLFARGRGGELIHNWFDNGKWNYWENLGGILTSSPKAVSWGFNRIDVVCRGI
Prediction        401030012233233433010111054122347417314333131433231032331223213233231231230313221200000237210000000341101012233230321331223222200000137220000010 3
                  Values range from 0 (buried residue) to 9 (highly exposed residue)
```

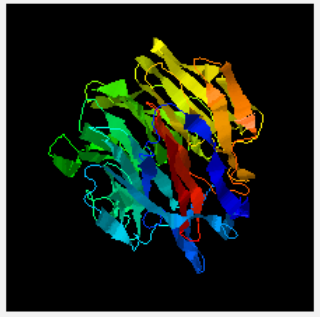
Top 5 Models predicted by I-TASSER



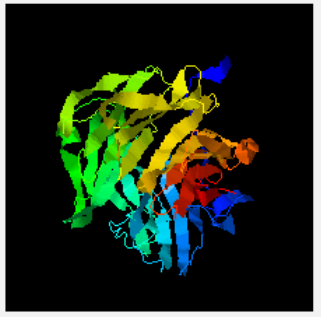
Download Model 1
C-score=-2.09



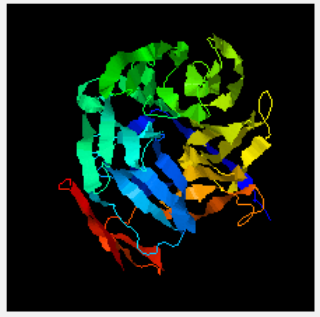
Download Model 2
C-score=-2.42



Download Model 3
C-score=-3.44



Download Model 4
C-score=-3.46



Download Model 5
C-score=-3.53

Estimated accuracy of Model1: 0.47±0.15 (TM-score) 11.3±4.5Å (RMSD) (Read more about C-score of generated models)

Jakou metodu zvolit?

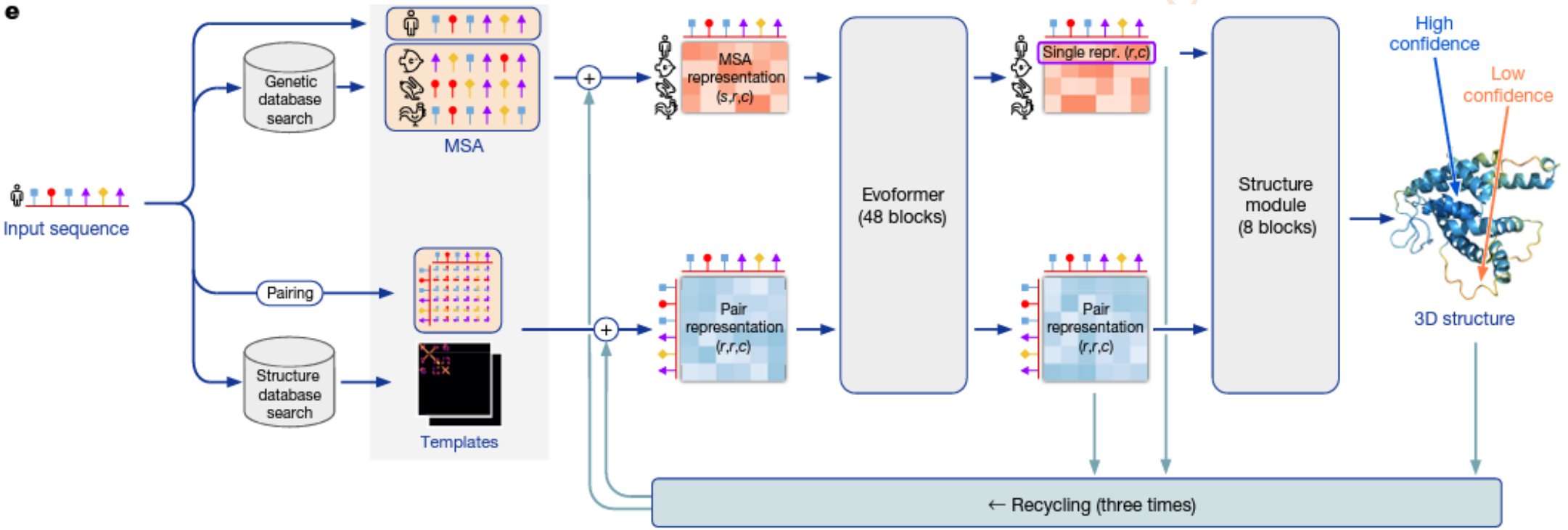
1. Mám homologní protein se známou strukturou → homologní modelování
2. Využiji experimentální data
   - Threading
   - Kombinace více templátů pro jednotlivé části struktury
   - Různé predikční nástroje
3. *Ab initio* modelování smyček a částí sekvence bez vhodného templátu
4. Mám unikátní sekvenci – *ab initio*

AlphaFold

Kombinace strukturních dat, alignmentu a neuronových sítí

První verze AlphaFold – spolehlivost predikce < 60 %

Od roku 2020 **AlphaFold2** – spolehlivost predikce **> 90 %**

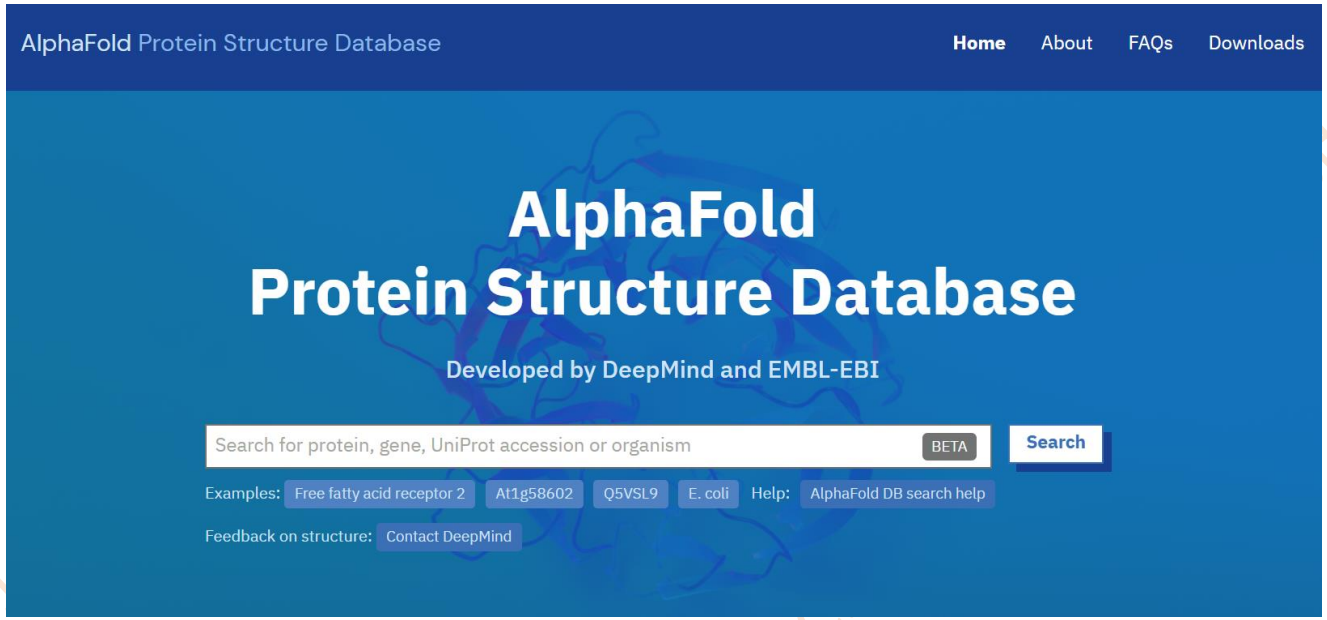


AlphaFold Protein Structure Database

2021: Predikovaná struktura proteomu člověka a 47 dalších klíčových organismů (celkem 992 316 predikovaných struktur)

2023: > 200 000 000 predikovaných struktur

https://alphafold.ebi.ac.uk/



AlphaFold

Výhody

- Vysoká přesnost určení foldu
- Známé sekvence jsou již predikovány
- Dostupný pro širokou veřejnost

Rizika

- Nízká přesnost určení pozice bočních řetězců
- Přesnost klesá u unikátních sekvencí
- Bez posttranslačních modifikací
- Nevhodné pro komplexy (aktuálně v řešení)

Predikce kvartérní struktury

Zahrnuje různé úrovně, např.:

- Predikce vazebných míst
- Predikce aminokyselin podílejících se na interakci
- Odhad oligomerního stavu
- Protein-protein docking (protein-nukleová kyselina docking)

➢ SW dosud často nedokonalý, **nízká spolehlivost** predikce

➢ Složitější postupy většinou nejsou automatizované

Predikce kvartérní struktury

Programy většinou vycházejí z podobnosti sekvence a/nebo 3D struktury se známými proteiny

Příklady SW:

- QuatIdent
- QuaBingo
- M-TASSER
- Quad-PRE
- **AlphaFold-Multimer**

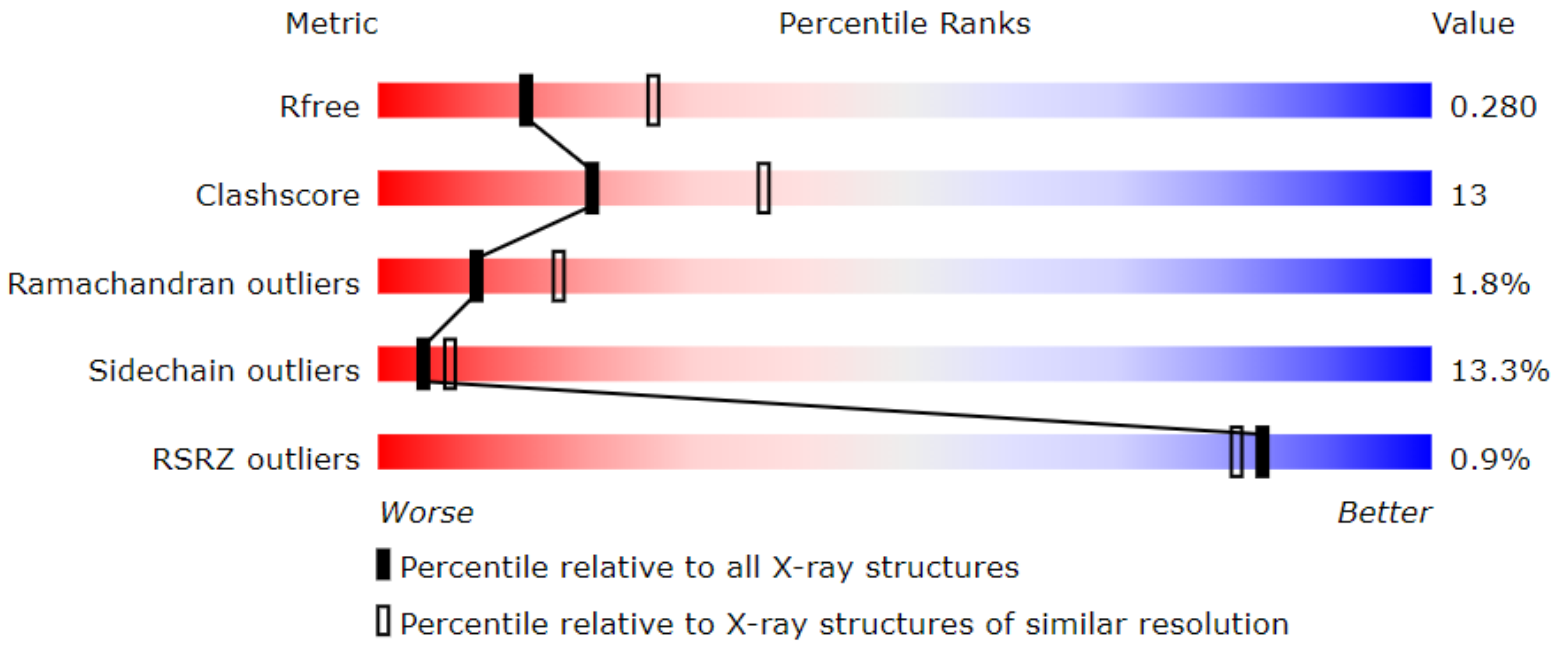
Evaluace kvality struktur a modelů

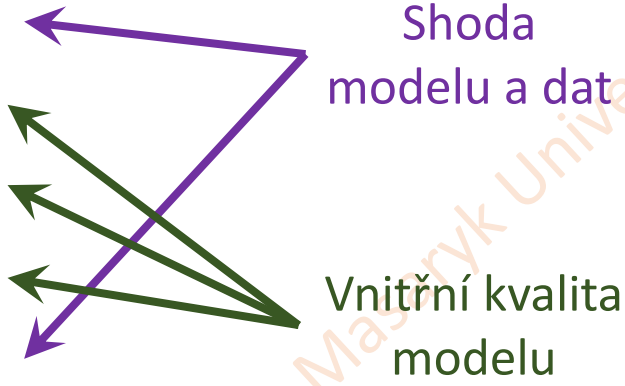
Evaluace kvality struktur a modelů

- **Shoda** strukturního **modelu** a vstupních **dat**
- Základní **fyzikální principy**
- Správně získaná **Experimentální** struktura vs. **Predikce**

PDB – validace dat

- Struktury vytváří lidé → můžou obsahovat chyby
- Kontrola při nahrávání struktur do databáze
- Informace o kvalitě u každé struktury



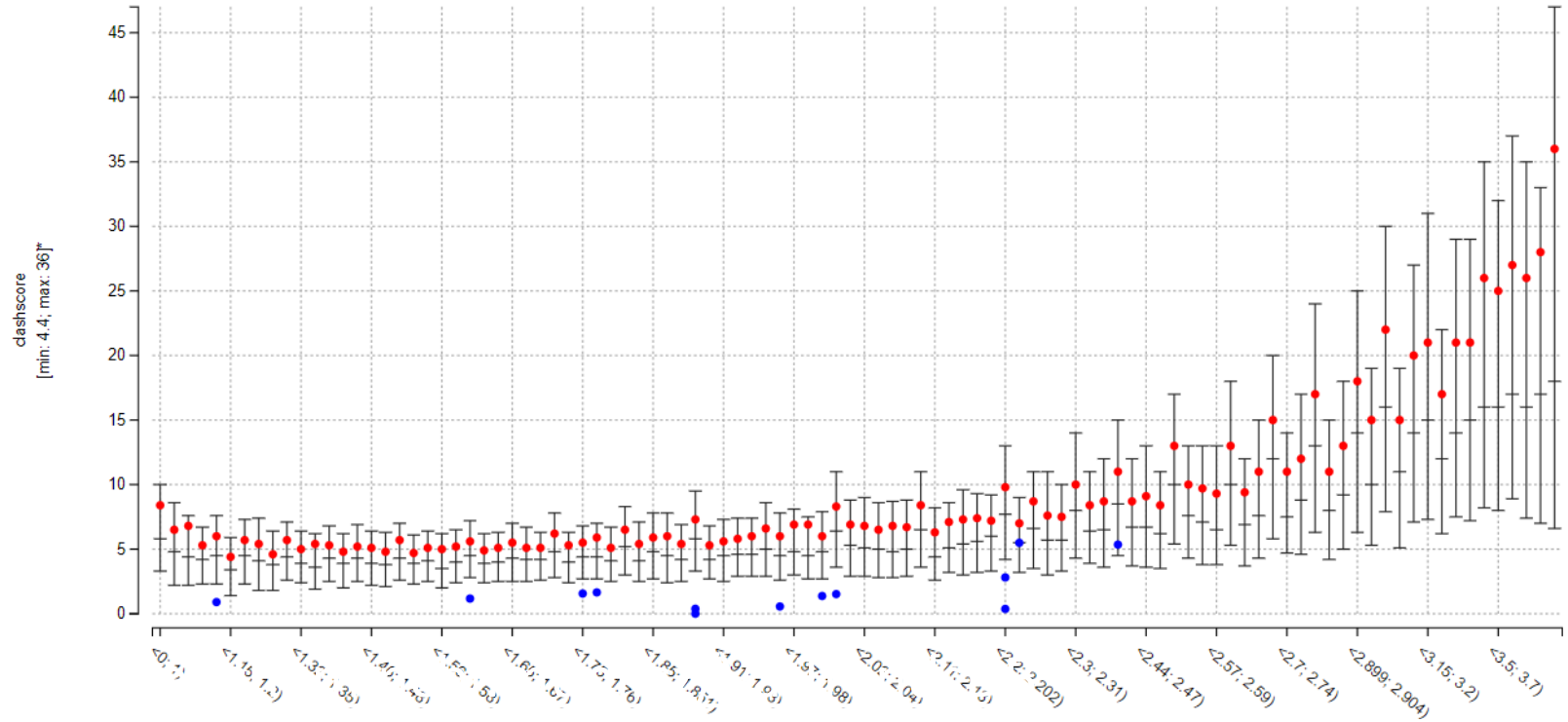


ValTrends DB

https://webchem.ncbr.muni.cz/ValTrendsDB/

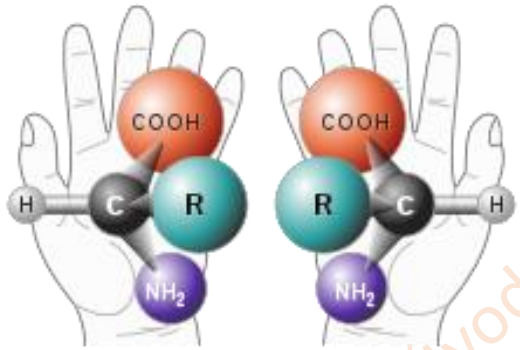
Přehledová analýza struktur v PDB databázi

The plot below shows a relationship between clashscore structure quality factor and structure resolution factor. Values of 13 PDB entries that have been deposited to the PDB database by Dr. Josef Houser are visualized in the plot by blue points. The plot demonstrates that **structures deposited by Dr. Houser have markedly better quality than average**.

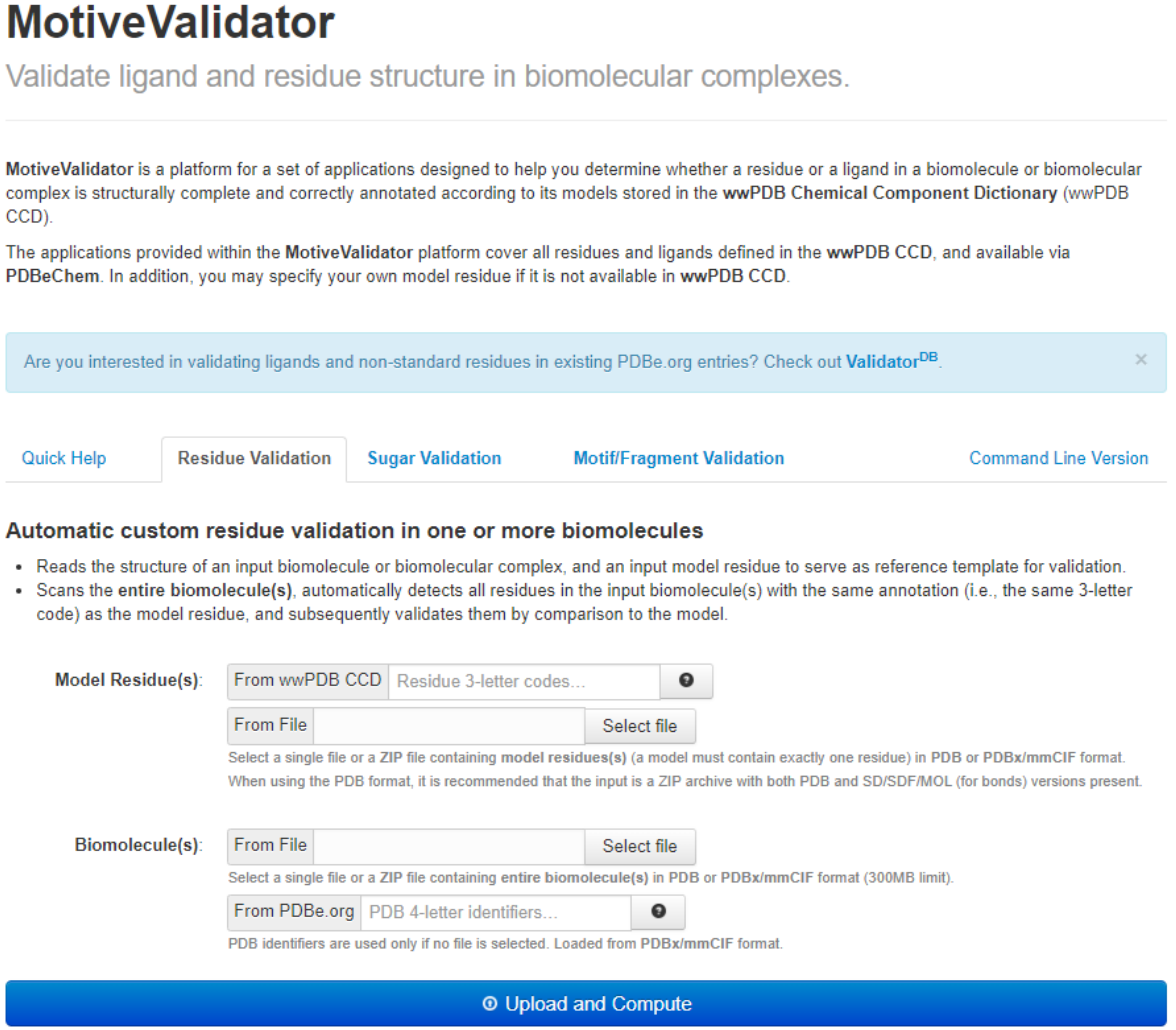


MotiveValidator

- Kontrola struktury malých molekul – ligandů
- Úplnost struktury
- Správná chiralita
- Anotace

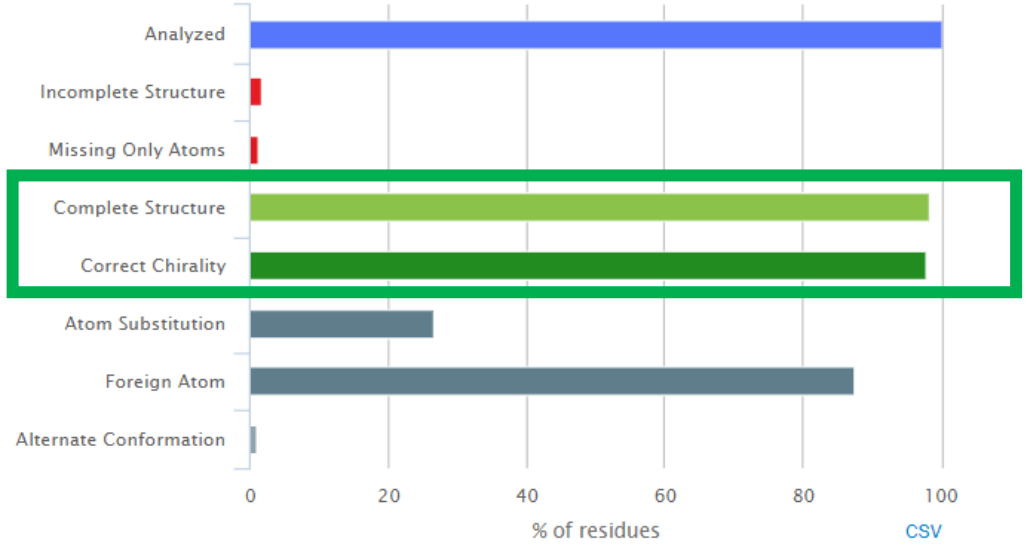


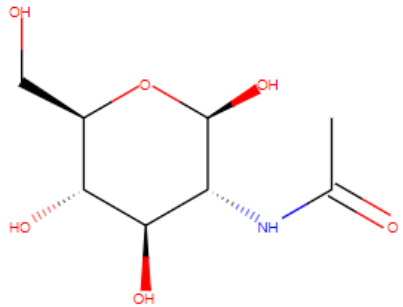
http://webchem.ncbr.muni.cz/Platform/MotiveValidator



MotiveValidator

NAG [PDBeChem | PDB] [229 molecules in 46 PDB entries | 3 warnings]
[$C_8H_{15}NO_6$ | n-acetyl-d-glucosamine] [Chiral Atoms (5): C1, C2, C3, C4, C5] [Experimental Coordinates]





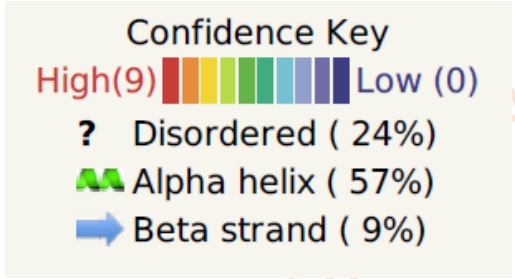
Incomplete Structure			Complete Structure				
1.7% 4			98.3% 225				
Missing Only Atoms	Missing Rings	Degenerate	Correct Chirality (Tolerant)	Wrong Chirality	*Atom Substitution*	*Foreign Atom*	*Different Naming*
1.3% 3	0.4% 1	-	97.8% 224	0.4% 1	26.6% 61	87.3% 200	-

Missing Atoms in 4 molecule(s)							
C1 25.0% 1	C2 25.0% 1	C3 25.0% 1	C4 25.0% 1	C5 25.0% 1	C6 25.0% 1	O1 100.0% 4	O3 25.0% 1
O4 25.0% 1	O5 25.0% 1	O6 25.0% 1					

Chirality Errors in 1 molecule(s)
C1 100.0% 1

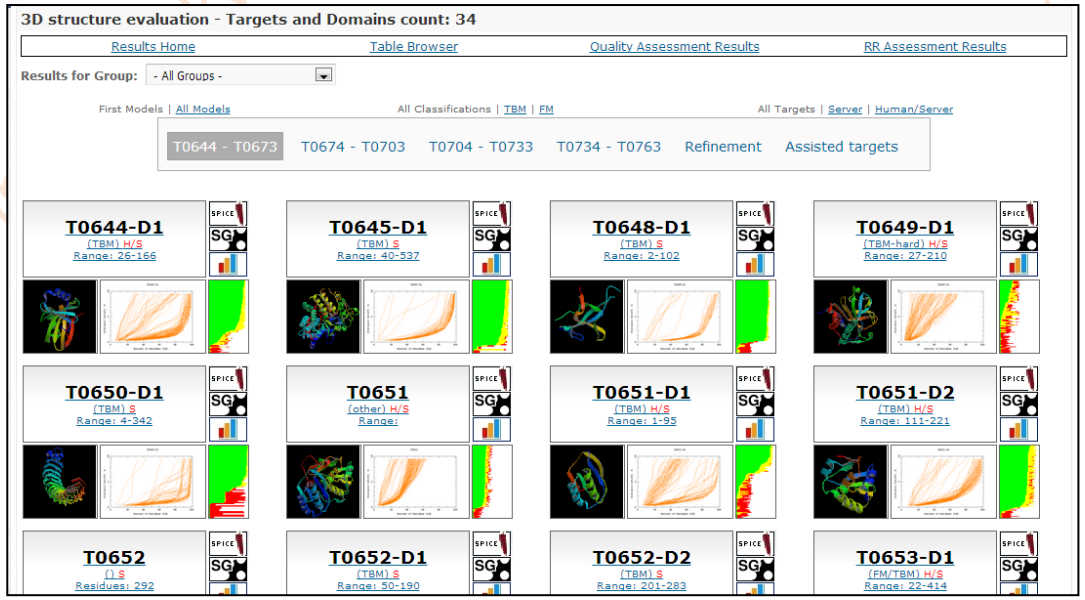
Kontrola predikovaného modelu

- Programy vytvoří nějaký model vždy → NUTNÁ KONTROLA
- **Vizuální** kontrola struktury
  - Je roztržená?
  - Dochází k překrytí aminokyselin?
- **Nastavení** programu
  - Obsahuje model celou zadanou sekvenci?
  - Byl zvolen smysluplný templát?
- **Skóre**
  - QMEAN (https://swissmodel.expasy.org/qmean/)



Hodnocení kvality predikčních nástrojů - CASP

- *Critical Assessment of Techniques for Protein Structure Prediction*
- 2022 – CASP15
- Predikce vyřešených, ale zatím nepublikovaných struktur
- **Rozsáhlá analýza predikčních programů**
  - Predikce terciárních struktur
  - Identifikace neuspořádaných oblastí
  - Funkční predikce (predikce vazebných míst)
  - Interakce mezi doménami, podjednotkami a proteiny
  - Hodnocení spolehlivosti



Závěrem

- Struktura je klíčová pro správnou funkci proteinu
- Predikovat na základě sekvence (1D) lze 2D, 3D i 4D strukturu
- Vždy je nutné **kriticky kontrolovat** výstupy programů
- Ideální je využít více predikčních programů s různou metodologií a porovnat výsledky