

Blok 2: Sekundární struktura proteinů

Úloha 1:

Vyhodnoťte data získaná měřením cirkulárního dichroismu roztoku neznámého proteinu (*Input_CD_data.txt*). Určete, zda se ve vzorku nachází protein převážně ve stavu α -helixu, β -skládaného listu nebo náhodného klubka (coil). K vyhodnocení využijte program **k2d3** (<http://k2d3.ogic.ca/>).

Úloha 2:

Na základě základních znalostí o uspořádání sekundárních struktur odhadněte **bez použití predikčních programů**, zda následující krátké peptidy jsou součástí α -helixu, β -skládaného listu nebo náhodného klubka. Můžete využít přehlednou tabulku aminokyselin.

	NONPOLAR, HYDROPHOBIC	R GROUPS	POLAR, UNCHARGED	
Alanine Ala A MW = 89	$\begin{array}{c} \text{OOC}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_3 \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{H} - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N H}_3^+ \end{array}$	Glycine Gly G MW = 75
Valine Val V MW = 117	$\begin{array}{c} \text{OOC}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH} \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{array} \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{HO} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N H}_3^+ \end{array}$	Serine Ser S MW = 105
Leucine Leu L MW = 131	$\begin{array}{c} \text{OOC}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH} \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{array} \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 - \text{CH} - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N H}_3^+ \end{array}$	Threonine Thr T MW = 119
Isoleucine Ile I MW = 131	$\begin{array}{c} \text{OOC}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH} \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_2 - \text{CH}_3 \end{array} \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{HS} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N H}_3^+ \end{array}$	Cysteine Cys C MW = 121
Phenylalanine Phe F MW = 131	$\begin{array}{c} \text{OOC}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{HO} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N H}_3^+ \end{array}$	Tyrosine Tyr Y MW = 181
Tryptophan Trp W MW = 204	$\begin{array}{c} \text{OOC}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2 \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{O} = \text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N H}_3^+ \end{array}$	Asparagine Asn N MW = 132
Methionine Met M MW = 149	$\begin{array}{c} \text{OOC}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{S} - \text{CH}_3 \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{O} = \text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N H}_3^+ \end{array}$	Glutamine Gln Q MW = 146
Proline Pro P MW = 115	$\begin{array}{c} \text{OOC}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 \\ \\ \text{HN} - \text{CH}_2 \end{array}$		POLAR BASIC $\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ - \text{CH}_2 - (\text{CH}_2)_3 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N H}_3^+ \end{array}$	Lysine Lys K MW = 146
Aspartic acid Asp D MW = 133	POLAR ACIDIC $\begin{array}{c} \text{OOC}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{C}(=\text{O})\text{O}^- \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{N H}_2^+ = \text{C} - \text{NH} - (\text{CH}_2)_3 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N H}_3^+ \end{array}$	Arginine Arg R MW = 174
Glutamine acid Glu E MW = 147	$\begin{array}{c} \text{OOC}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{C}(=\text{O})\text{O}^- \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{C} = \text{CH}_2 \\ \\ \text{HN} \text{---} \text{NH} \\ \\ \text{H} \end{array} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{N H}_3^+$	Histidine His H MW = 155

<i>Peptid</i>	<i>α-helix</i>	<i>β-skládaný list</i>	<i>náhodné klubko</i>
KALSQVIRL	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
GGASPAPPK	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
LELQIRVYA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Úloha 3:

Seznamte se s programem **Jpred 3** (<http://www.compbio.dundee.ac.uk/www-jpred/>). Pro následující proteinové sekvence predikujte zastoupení sekundárních struktur. Patří tyto proteiny do skupiny tzv. α/β proteinů, tj. proteinů, ve kterých jsou zastoupeny obě typické sekundární struktury (α -helix, β -skládaný list)?

Protein A:

GTYRQLFHPEQLISGKEDAANNYARGHYTIGKEIIDLVLDVRKRLADQCTGLQGFLVFHSFSGGTGSGFTSLLME
 RLSVDYGKKSKLEFSIYPAPQVSTAVVEPYNSILTHTTLEHSDCAFMDNEAIYDICRRNLDIRPTYTNLNRL
 MSQIVSSITASLRFDGALNVDLTFQTNLVPYPRIHFPLATYAPVISA EKAYHEQLSVAEITNACFEPANQMVKC
 DPRHGKYMACECLLYRGDVPKDVNAAIATIKTKRTIQFVDWCPTGFKVGINYQPPTVVPGGDLAKVQRAVCMLSN
 TTAVAEAWARLDHKFDL MYAKRA FVHWYV GEGMEEGEFSEAREDMAALEKDYEEVGADSYEDEDEGE EY

Protein B:

SIRLPAHLRLQPIYWSRDDVAQWLKWAENEFSLRPIDSNTFEMNGKALLLLTKEDFRYRSPHSGDVLVYELLQHIL
 KQAGPNIFEMLRIDEGLRLKIYKDTEGYTIGIGHLLTKSPSLNAAKSELDKAI GRNTNGVITKDEAEKLFQD V
 DAAVRGILRNAKLPVYDSLDCVRRRAALINMVFMQGETGVAGFTNSLRMLQQKRWDEAAVNLA KSRWYNQTPNRA
 KRVITTFRTGTW DAYK

Protein C:

ADVCMDEPIVIRIVGRNGLCVDVDRGRFHNGNAIQWLWPKSNTDANQLWTLKRDNTIRSNGKCLTTYGYSPGVYV
 MIYDCNTAATDATRWQIWDNGTIINPRSSLVLAATSGNSGTTLTVQTNIYAVSQWLPTNNTQPFVTTIVGLYGL
 CLQANSQVWIEDCSSEKAEQQWALYADGSIRPQQNRDNCLTSDSNIRETVVKILSCGPASSGQRWMPKNDGTIL
 NLYSGLVLDVRASDPSLKQIILYPLHGDPNQIWLPLF

Úloha 4:

Pokuste se pomocí programu **TMpred** (http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html) předpovědět, kolik transmembránových helixů obsahuje protein NMU-R1 z myši (UniProtKB/Swiss-

Prot: O55040.1). Bude podle predikce jeho C–terminální doména orientována spíše dovnitř buňky nebo ven?

Úloha 5:

Následující sekvenci analyzujte pomocí programu **CFSSP** (<http://www.biogem.org/tool/chou-fasman/>). Tutéž sekvenci analyzujte pomocí programu **GOR4** (http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_gor4.html) a výsledky porovnejte.

Sekvence:

MSTDKPLVIQSDKTLLLDVHSPFAQECRDSITAFSELVKSPHEVHTFLLTPLSLWNANAAGMTTEDIMGRLRTWS
RYDIPEPVSFYFITDISARFGSFVMTDIPDDADHYLLTVTIPRYAKEISSHKTVSSLLFPRGNDTFLLNRYARGEV
KLKLIKLGFPVDDRIPLKKGFPVPMNLRQQTLSGKDFSIRDYQEAARSLLGDRGPGTGY

Procentuální zastoupení	CFSSP	GOR4
α -helix		
β -skládaný list		
ohyb + náhodné klubko		

Úloha 6:

Nejspolehlivější informace o sekundární struktuře můžeme získat analýzou 3D struktury, je-li tato známa. 3D struktury jsou ukládány v tzv. **PDB databázi**. (např.). Vyhledejte na webových stránkách <http://pdb.rcsb.org> libovolný protein a podívejte se na informace o jeho sekundární struktuře.

Úloha 7:

Stejný protein, který jste již analyzovali v PDB databázi analyzujte rovněž pomocí nástrojů na serveru **2struct** (<http://2struc.cryst.bbk.ac.uk/twostruc>). Porovnejte přiřazení sekundárních struktur v jednotlivých programech.