آموزش مقایسه همردیفی توالی‌های پروتئین در قالب فرمت PDB

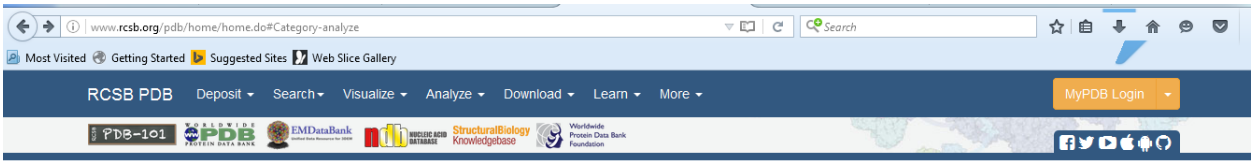
تهیه و تدوین:

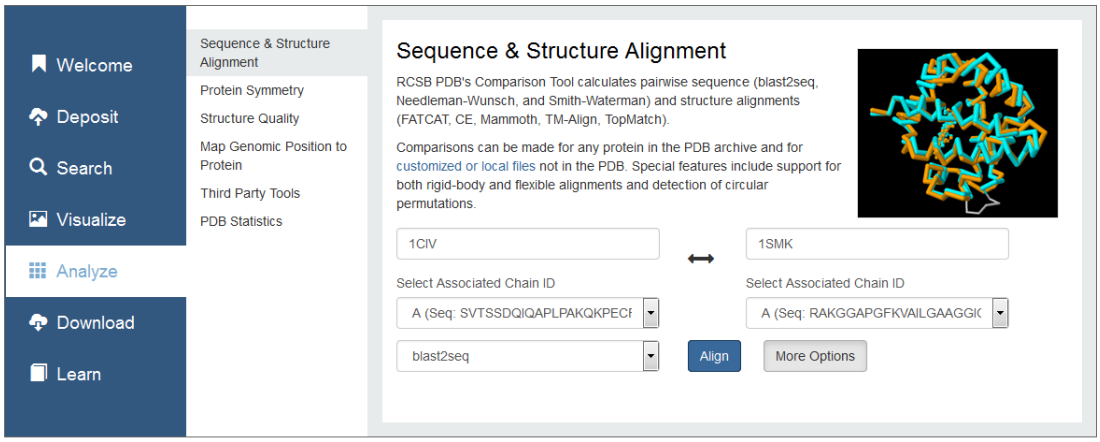
حسن رسولی (مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه)

مقایسه همردیفی یا alignment روشی برای مقایسه دو توالی با یکدیگر است که از ابزاری به نام BLAST برای آنجام آن استفاده می‌شود. دقت داشته باشید که blast ابزار انجام مقایسه همردیفی است و بین این دو مقوله یعنی alignment و blast تفاوت‌های اساسی وجود دارد. با توجه به اینکه این مبحث برای علاقه مندانی در تدوین شده است که تازه شروع به یادگیری بیوانفورماتیک کرده‌اند لذا سعی شده است مطالب مذکور با بیانی ساده و روان برای این عزیزان تشریح گردد تا دوستان بتوانند به راحتی اصول پایه و اولیه بیوانفورماتیک را یاد گیرند و مجبور نباشند برای شرکت در ورکشاپ‌هایی که با قیمت‌های فضایی در حال حاضر در کشور برگزار می شود شرکت نمایند. همانطوری که گفته شد blast ابزار انجام مقایسه همردیفی است. به طور کلی چند نوع مقایسه همردیفی یا همترازی وجود دارد. نوع اول مقایسه همردیفی مقایسه یک توالی با توالی دیگر است که به آن مقایسه همردیفی دوگانه یا pairwise alignment می‌گویند. نوع دوم مقایسه همردیفی مقایسه یک توالی با چندین توالی مختلف (گاهی حتی با میلیون‌ها توالی که در یک پایگاه داده وجود دارد) صورت می‌گیرد. این نوع از مقایسه همردیفی معمولا برای شناسایی توالی‌هایی که دارای حداقل یا حداکثر تشابه به توالی query (یعنی توالی که شما آن را با توالی های دیگر مقایسه می کنید) می‌باشد. در پایگاه NCBI ابزارهای مختلفی از BLAST وجود دارد. در حال حاضر ابزار دیگری که در پایگاه PDB در آدرس http://www.rcsb.org/pdb موجود است معرفی می شود. این ابزار به شما کمک می کند که CHAINهای مختلف یک پروتئین را با یکدیگر مقایسه کنید و نقاط تشابه موجود در این فایل‌ها را شناسایی کنید. برای استفاده از این ابزار مراحل زیر را دنبال کنید.

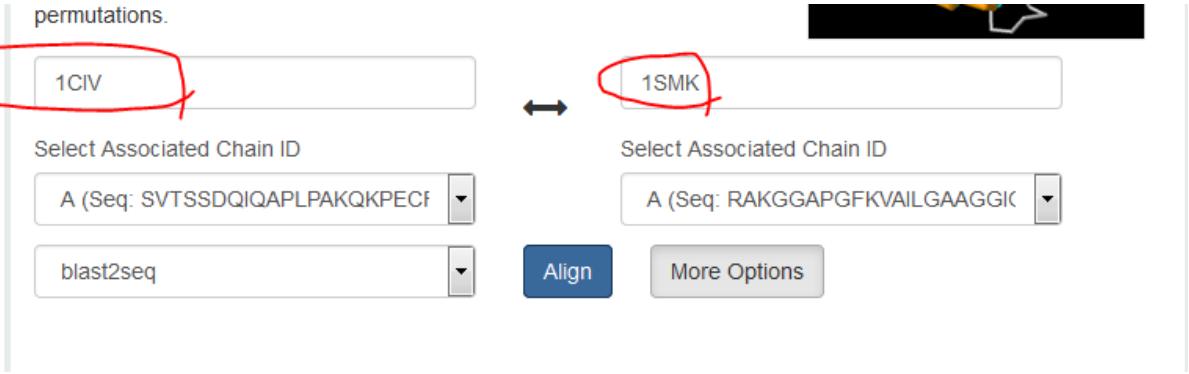
۱- **ورود به سایت PDB در آدرس: http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do#Category-analyze**

۲- **پس از ورود به سایت PDB بایستی از منوی سمت چپ گزینه ANALYZE را انتخاب کنید. پس از انتخاب این گزینه صفحه جدیدی مطابق با شکل زیر برای شما به نمایش در خواهد آمد:**

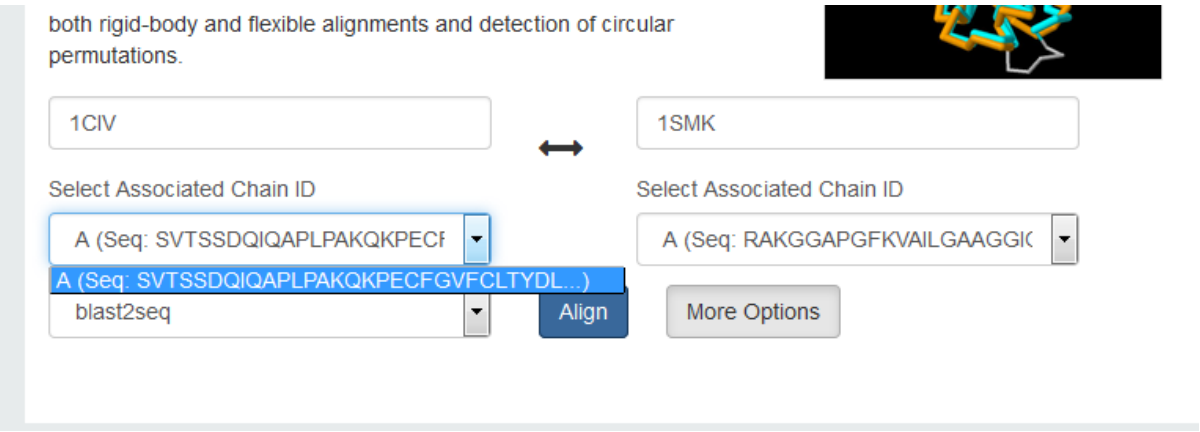




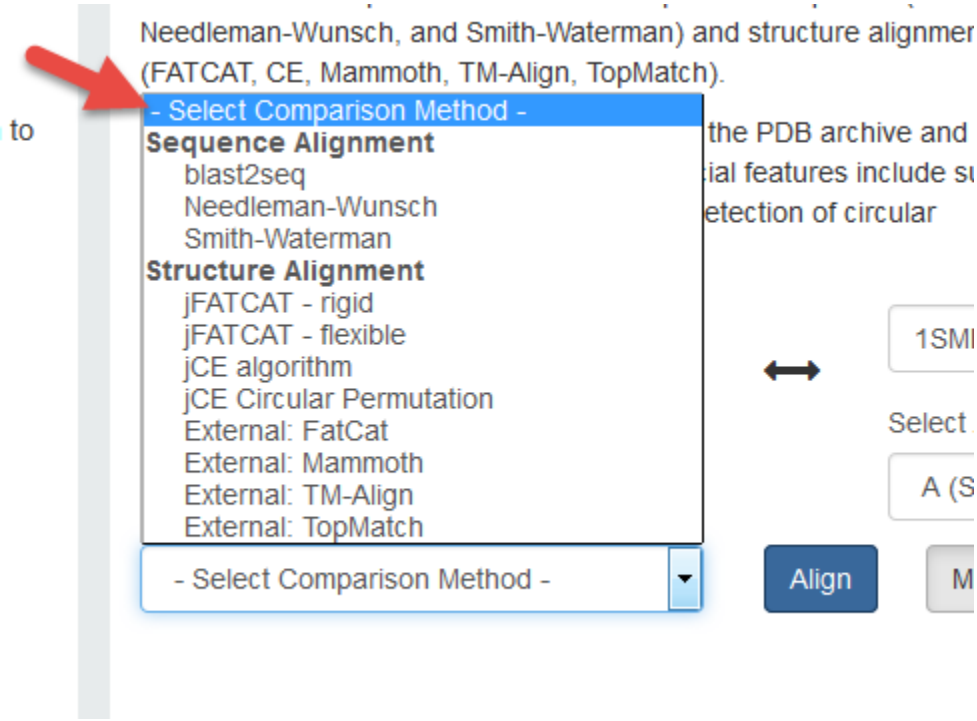
۳- اکنون در بخش **Sequence and structure alignment** شماره دسترسی توالی‌های پروتئین خود را وارد نمایید. در اینجا ما از دو شماره دسترسی **1CIV** و **1SMK** استفاده کرده‌ایم. شما می توانید شماره دسترسی توالی‌های دلخواهتون را در این قسمت وارد کنید.



٤- بعد از درج کد دسترسی توالی‌ها اکنون در قسمت **select associated chain ID** شما بایستی **chain**های دلخواهتون را با هم مقایسه کنید. در اینجا ما دو **chain A** پروتئین‌های مذکور را برای مقایسه با یکدیگر انتخاب کرده ایم:



۵- بعد از این مرحله بایستی در گزینه select comparison method نوع روش مقایسه خود را انتخاب نمایید. در اینجا ما از گزینه blast2seq (یعنی مقایسه دو توالی با یکدیگر) را انتخاب کرده‌ایم . گزینه‌های دیگری نیز در این صفحه وجود دارند که هر کدام از آنها مربوط به نوع خاصی از مقایسه همردیفی هستند و با توجه به نیاز کاربر انتخاب می‌شوند:



٦- پس از انتخاب روش مقایسه همردیفی اکنون بایستی شما گزینه Align را انتخاب نمایید. این گزینه به شما کمک خواهد کرد تا دو فایل pdb مذکور را با همدیگر مقایسه کنید. پس انتخاب این گزینه صفحه خروجی شما به صورت زیر می‌باشد:

Calculate pairwise sequence or structure alignments.

blast2seq Sequence Alignment Results

Alignment Details:

Query:
NADP-MALATE DEHYDROGENASE

Query:
PDB ID: 1CIV
Chain ID: A
EC number: 1.1.1.82

Subject:
Malate dehydrogenase, glyoxysomal

Subject:
PDB ID: 1SMK
Chain ID: A
EC number: 1.1.1.37

Comparison Method

Select these two chains for other comparison: --- Select Comparison Method ---
Click here to align other protein chains. Back to the all vs. all search results for 1CIV.A or 1SMK.A

Text Representation of the blast2seq Sequence Alignment

```
Query  : 1CIV.A
Subject: 1SMK.A
Query=
        (385 letters)



>
         Length = 326
```

Acknowledgements

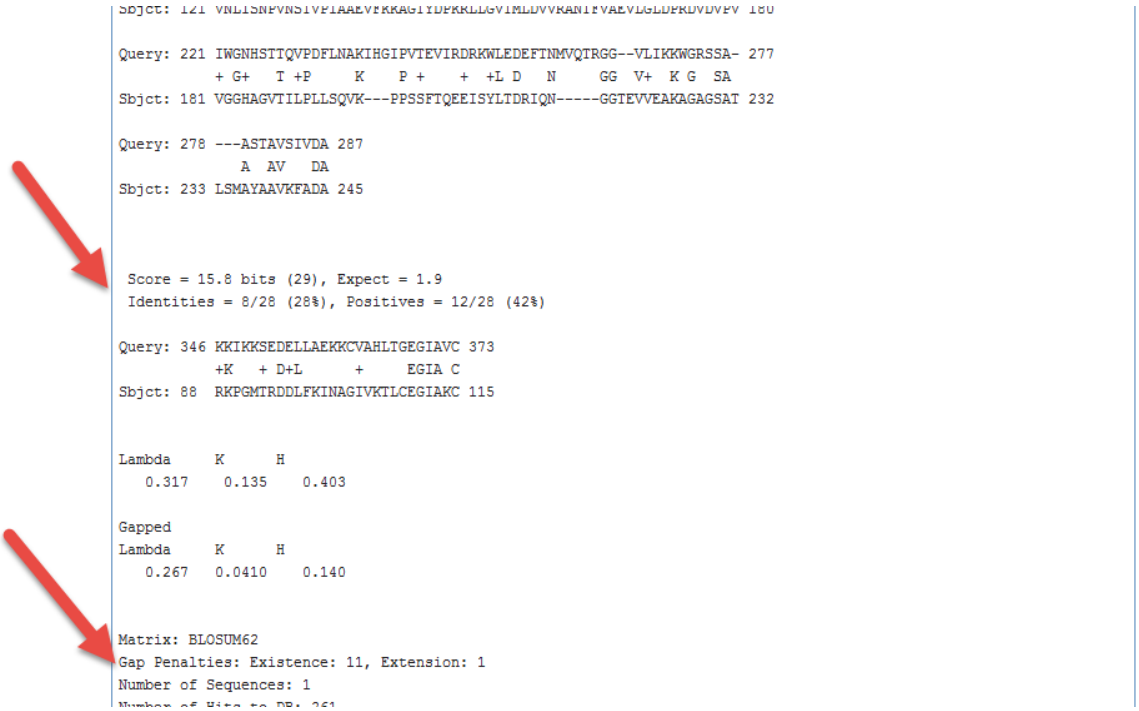
Click Here to show the acknowledgements related to our structure comparison feature.

Comparison Tool

Calculate pairwise sequence or structure alignments.

RCSB PDB Deposit Search Visualize Analyze Download Learn More

```
>
         Length = 326

 Score = 34.3 bits (77), Expect = 5e-06
 Identities = 65/253 (25%), Positives = 93/253 (36%), Gaps = 28/253 (11%)

Query: 45  VAVSGAAGMISNHLLFKLASGEVFGPDQPISLKLLGSERSFAALEGVAMELEDSLYPLLR 104
           VA+ GAAG I   L   +    +      +S+  L          GV  ++       +
Sbjct: 11  VAILGAAGGIGQPLAMLMKMNPL------VSVLHL---YDVVNAPGVTADISHMDTGAVV 61

Query: 105 QVSIGIDPYEIFQDAEWALLIGA-KPRGPGMERADLLDINGQIFAEQGKALNAVASPNVK 163
           +  +G     E         +++ A  PR PGM R DL   IN  I     + + A    P
Sbjct: 62  RGFLGQQQLEAALTGMDLIIVPAGVPRKPGMTRDDLFKINAGIVKTLCEGI-AKCCPRAI 120

Query: 164 VMVVGNPCNTNALIC---LKNAPNIPPKNFHALTRLDENRAKCQLALKAGVFYDKVSNVT 220
           V ++ NP N+    I     K A     PK    +T LD  RA   +A   G+    V
Sbjct: 121 VNLISNPVNSTVPIAAEVFKKAGTYDPKRLLGVTMLDVVRANTFVAEVLGLDPRDVDVPV 180

Query: 221 IWGNHSTTQVPDFLNAKIHGIPVTEVIRDRKWLEDEFTNMVQTRGG--VLIKKWGRSSA- 277
           + G+    T +P      K     P +     +  +L D   N     GG  V+  K G  SA
Sbjct: 181 VGGHAGVTILPLLSQVK---PPSSFTQEEISYLTDRIQN-----GGTEVVEAKAGAGSAT 232

Query: 278 ---ASTAVSIVDA 287
              A  AV   DA
Sbjct: 233 LSMAYAAVKFADA 245


 Score = 15.8 bits (29), Expect = 1.9
 Identities = 8/28 (28%), Positives = 12/28 (42%)
```



```
Sbjct: 121 VNLISNPVNSTVPIAAEVFKKAGIYDPKRLLGVIMLDVVRANTFVAEVLGLDPRDVDVPV 180

Query: 221 IWGNHSTTQVPDFLNAKIHGIPVTEVIRDRKWLEDEFTNMVQTRGG--VLIKKWGRSSA- 277
           + G+   T +P     K    P +    +  +L D   N      GG  V+  K G  SA
Sbjct: 181 VGGHAGVTILPLLSQVK---PPSSFTQEEISYLTDRIQN-----GGTEVVEAKAGAGSAT 232

Query: 278 ---ASTAVSIVDA 287
              A  AV   DA
Sbjct: 233 LSMAYAAVKFADA 245


 Score = 15.8 bits (29), Expect = 1.9
 Identities = 8/28 (28%), Positives = 12/28 (42%)

Query: 346 KKIKKSEDELLAEKKCVAHLTGEGIAVC 373
           +K   + D+L      +     EGIA C
Sbjct: 88  RKPGMTRDDLFKINAGIVKTLCEGIAKC 115


Lambda     K      H
   0.317    0.135    0.403

Gapped
Lambda     K      H
   0.267   0.0410    0.140


Matrix: BLOSUM62
Gap Penalties: Existence: 11, Extension: 1
Number of Sequences: 1
```

اکنون تمامی مشخصات دو chain شما در دسترس است و می‌توانید نقاط تشابه آنها را مشاهده نمایید. چنین مقایساتی هنگام ایجاد مدل‌های سه بعدی از پروتئین‌ها بر اساس الگوی pdb از اهمیت بالایی برخوردار است. شما اکنون می‌توانید آنالیزهای موردنظر را ذخیره کنید و در رابطه با آن تفسیرهای مناسبی را ارائه دهید.