به نام خداوند بخشنده مهربان

ژنتیکا

روشها و پروتکلهای ژنتیکی

www.genetica.ir

آموزش سایت Expasy: توضیح روش swissmodel برای پیش‌بینی ساختار سه‌بعدی پروتئین‌ها

ساختار سه‌بعدی پروتئین منبع مهم اطلاعاتی برای درک بهتر عملکرد پروتئین ، اینترکشن آن با اجزای دیگر (لیگاندها ، پروتئین ، DNA و ...) و فهم اثرات فنوتیپیکی جهش ها می‌باشد. ساختار سه‌بعدی پروتئین بر اساس سه روش اصلی طبقه بندی شود :

۱. مدل سازی همولوژیکی: اساس پیش‌بینی توسط مدل سازی همولوژیکی این است که توالی پروتئین با یک یا تعداد بیشتر پروتئین با ساختار شناخته شده شباهت داشته باشد. این روش، مدل سازی مقایسه ای (CA) نیز نامیده می شود بر اساس این واقعیت که پروتئین‌هایی با توالی ها ی مشابه ، ساختارهای مشابه دارند . این روش بر آن اساس که ، پروتئین‌های یک خانواده، بیشترتوالی های آمینو اسیدی شان حفاظت شده است، آسان می‌باشد. چرا که وقتی ساختار یک پروتئین از یک خانواده به‌وسیله‌ی آزمایش تعیین شود، اعضای دیگر آن خانواده می‌توانند بر اساس تطابق شان با ساختار شناخته شده مدل سازی شوند. دقت پیش گویی با این روش به میزان تشابه بین توالی پروتئین هدف و ساختارهای الگو بستگی دارد. مشکل عمده مدل سازی همولوژیکی پیدا کردن توالی هدفی است که به عنوان الگو استفاده می شود. تقریبا ۵۷% همه‌ی توالی های شناخته شده حداقل یک دمین دارند که به یک پروتئین با ساختار شناخته شده وابسته می‌باشد.

۲. تکنیک AB initio: در این روش سعی می شود تا مدل ساختار سه‌بعدی پروتئین تنها با استفاده از توالی و بررسی نیروها ایجاد گردد.و از اطلاعات ساختاری موجود استفاده نمی شود.

AB initio method، همچنین روش دنوو نامیده می شود. اصطلاح AB initio methodدر ابتدا اشاره به روش‌هایی داشت که برای پیش‌بینی ساختار پروتئین انجام می‌شد و از دانسته‌های آزمایشگاهی مربوط

به ساختار استفاده نمی‌کرد. بعدها این اصطلاح با به وجود آمدن روش‌هایی بر اساس فراگمنت ها مبهم شد، چرا که این روش ها بر اساس این واقعیت به کار می‌روند که گر چه ما نمی‌توانیم همه‌ی فولد ها ی استفاده شده در بیولوژی را ببینیم ، احتمالا قادر خواهیم بود تقریبا همه‌ی زیر ساختارها را ببینیم . در این روش فرض می شود که کمترین انرژی آزاد در طول عمر پروتئین می‌بایست در دسترس باشد و تلاش می شود تا این مقدار کم را به‌وسیله بررسی بسیاری از کانفورماسیون های ممکن پروتئین به دست آورند.

اگر چه روش‌های این گروه از لحاظ کامپیوتری بسیار پیچیده و هنوز فاقد دقت هستند، به چند دلیل به‌طور مداوم استفاده می‌شوند و گسترش می‌یابند. اولا این که در برخی از موارد حتی یک ساختار همولوگ وابسته خیلی دورهم ممکن است در دسترس نباشد. در این موارد *ab initio* تنها روش می‌باشد . دوما این که ممکن است ساختارهای جدیدی کشف شوند که به‌وسیله‌ی روش‌هایی که اساس شان مقایسه‌ی ساختارهای شناخته شده است قابل شناسایی نباشند.

۳. threading پروتئین: که گاهی نیز تشخیص فولد (FR) نامیده می شود.این روش یک رویکرد حد واسط دو روش قبلی است که هم از تشابه توالی در صورت وجود و هم از اطلاعات مربوط به تطابق‌های ساختاری استفاده می‌کند. هدف این روش تطابق توالی هدف با ساختار شناخته شده در کتابخانه‌ای از فولد ها می‌باشد .

به دلیل طرفداران زیاد پیش‌بینی ساختار پروتئین به‌وسیله‌ی روش‌های کامپیوتری ، جوامع علمی تلاش‌های زیادی را در حل مشکلات مختلف و محدودیت‌های هر کدام از این روش ها دارد

در ادامه آموزش سایت swissmodel برای پیش‌بینی ساختار سه‌بعدی پروتئین‌ها بر اساس روش مدل سازی همولوژیکی ارائه می‌گردد.

در این روش پیش‌بینی ساختار سه‌بعدی پروتئین بر اساس توالی پروتئین صورت می‌پذیرد. پیش‌بینی ساختار سه‌بعدی پروتئین در سایت swissmodel با دو روش امکان‌پذیر است

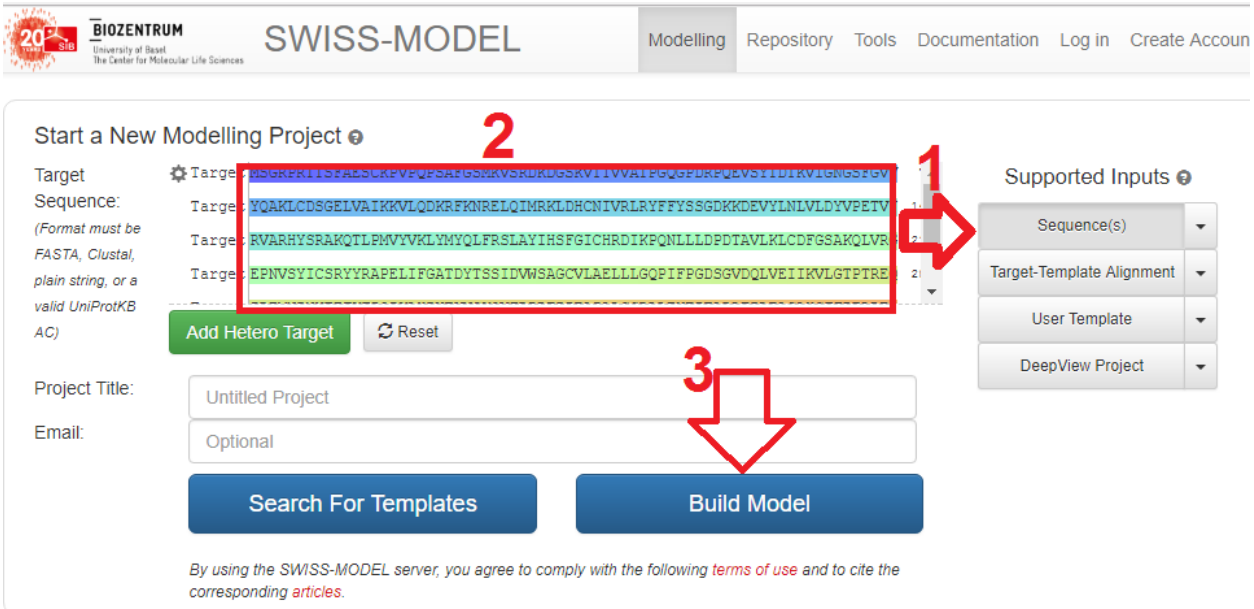
۱- در روش اول سایت swissmodel به صورت خودکار الگوهای لازم برای پیش‌بینی ساختار سه‌بعدی پروتئین را تعیین می‌نماید

۲- در روش دوم باید فایل الگو برای پیش‌بینی ساختار سه‌بعدی پروتئین را در سایت swissmodel وارد نماییم.

روش اول برای پیش‌بینی ساختار سه‌بعدی پروتئین در سایت swissmodel

ابتدا بر روی لینک زیر کلیک نمایید تا به سایت وارد شوید

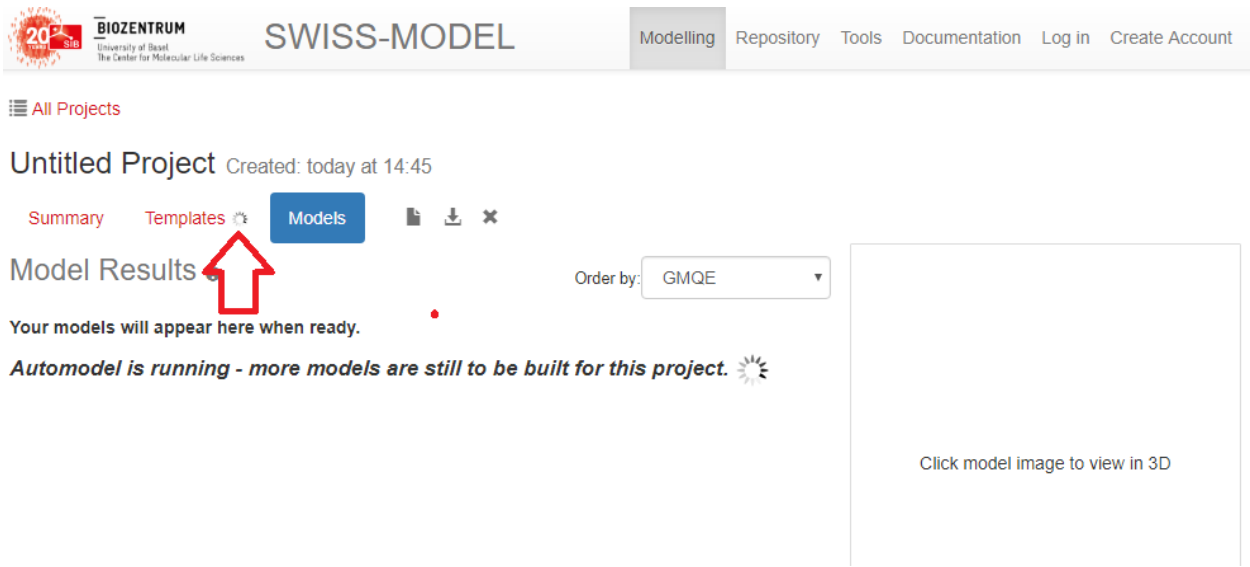
https://swissmodel.expasy.org/interactive



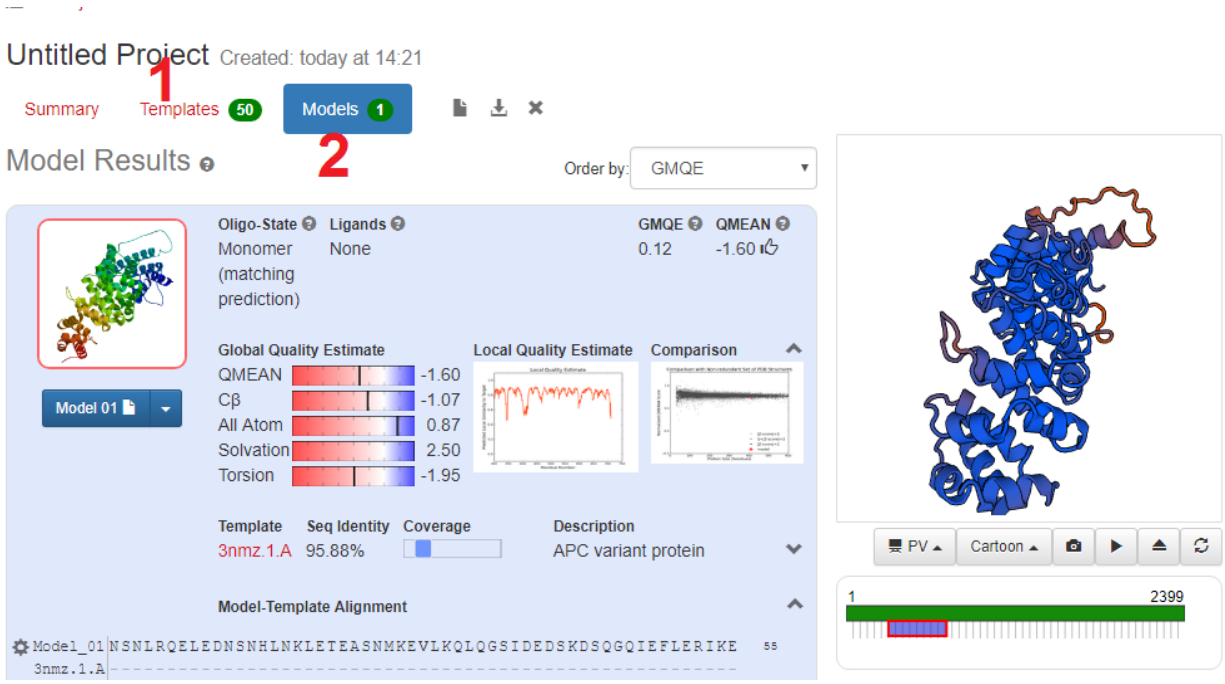
در صفحه اصلی سایت:

۱:از بین گزینه‌ها مختلف بر روی Sequence کلیک نمایید

۲: توالی پروتئین را وارد نمایید۳: بر روی Build Model کلیک نمایید تا فرایند پیش‌بینی ساختار سه‌بعدی پروتئین آغاز شود.



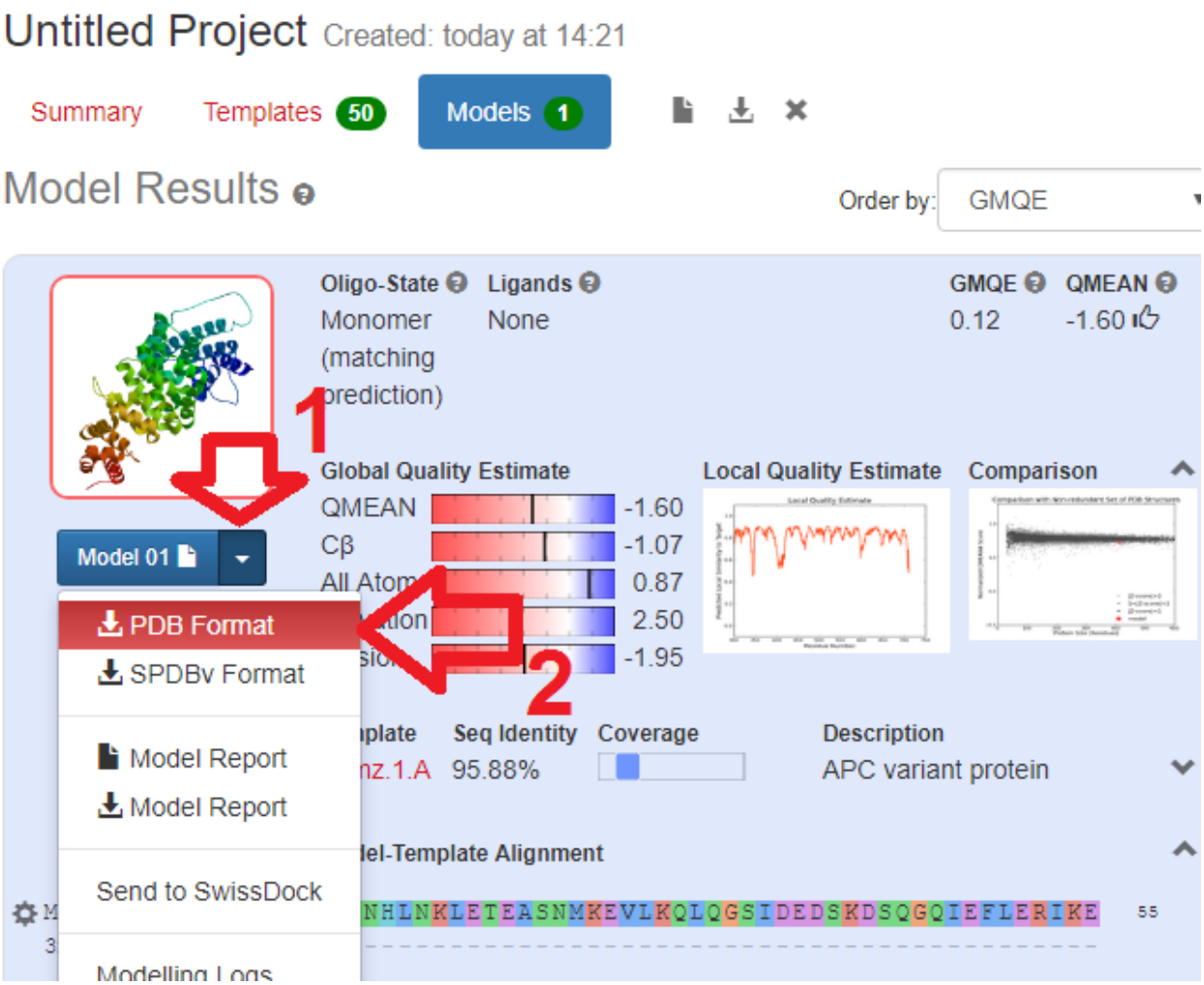
ابتدا نرم افزار به جستجوی الگوی ها مناسب برای پیش‌بینی ساختار سه‌بعدی می‌پردازد و بعد از این مرحله ساختار سه‌بعدی را پیش‌بینی می‌نماید



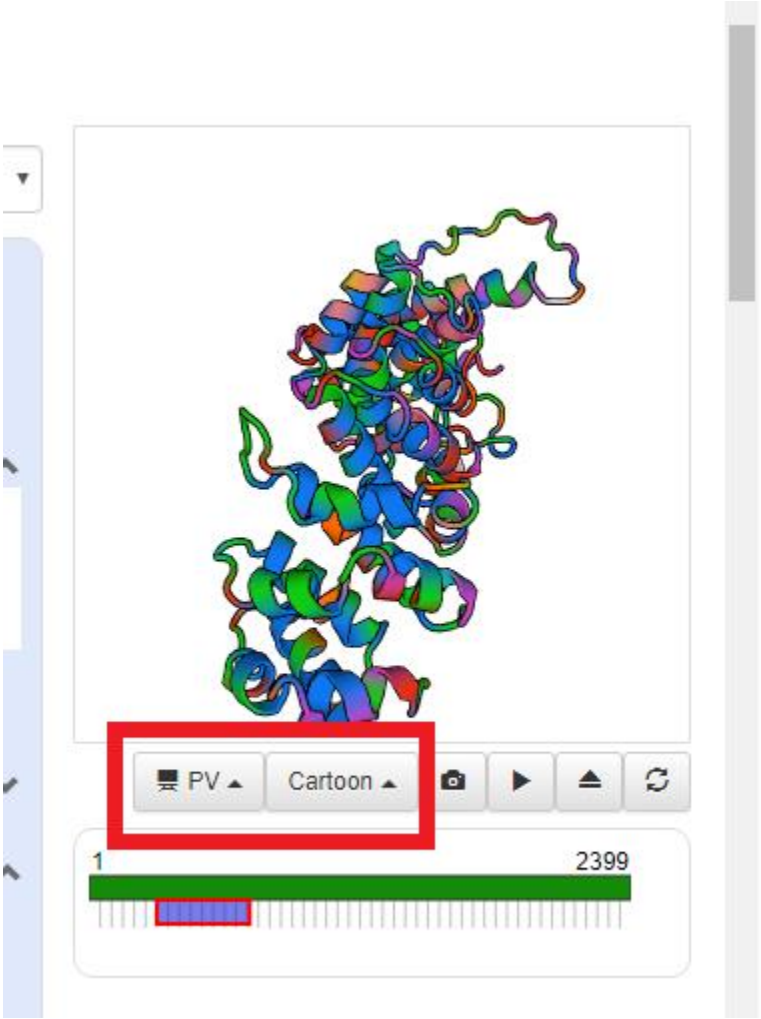
بعد از پیش‌بینی ساختار سه‌بعدی نتیجه آن در صفحه فوق نمایش داده می شود.

۱: در قسمت Template می‌توانید الگوهایی که برای پیش‌بینی ساختار سه‌بعدی انتخاب شده اند را مشاهده و الگوهای دلخواه را مشاهده نمایید.

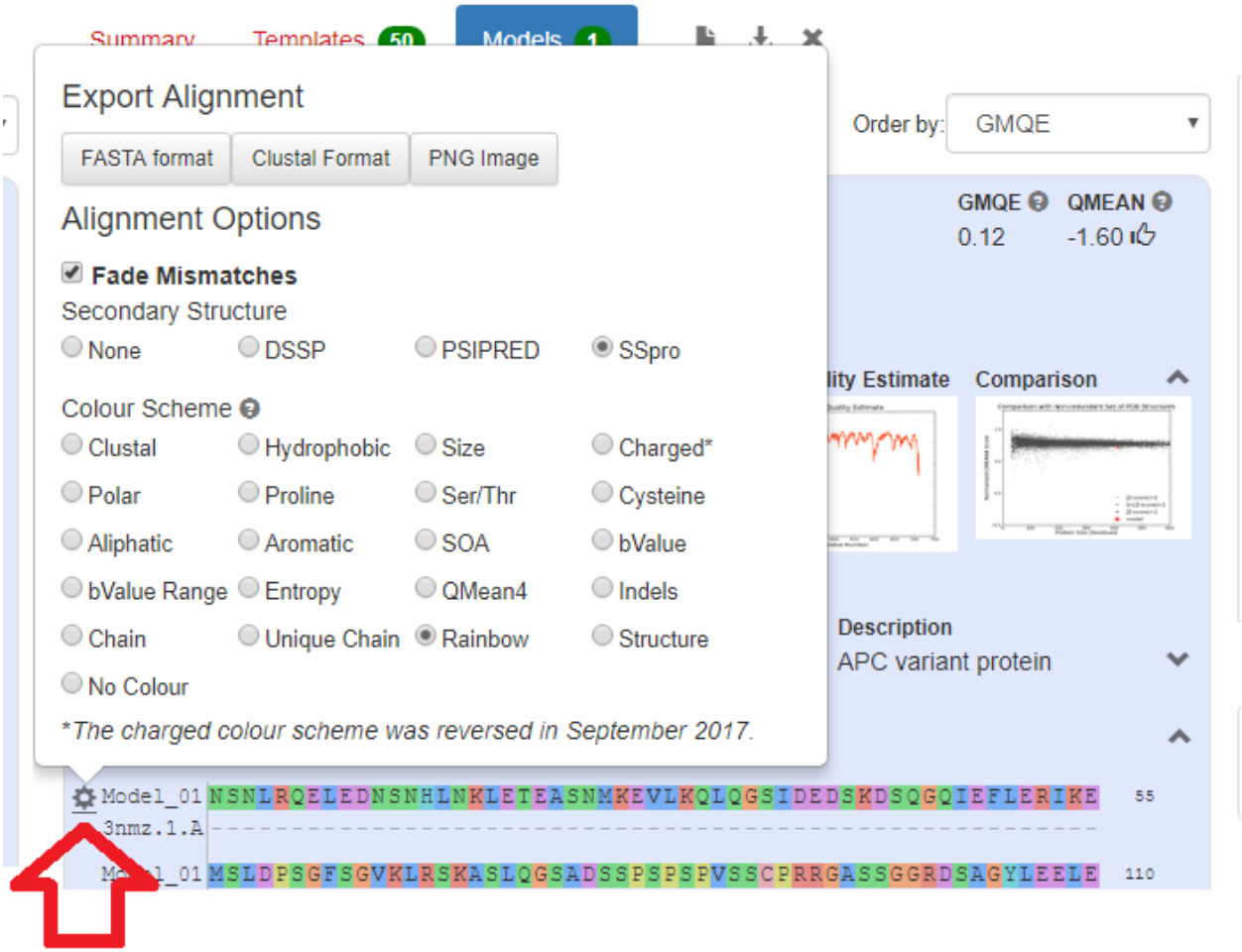
۲: قسمت Model می‌توانید مدل های ساختار سه‌بعدی پروتئین که پیش‌بینی شده اند را مشاهده نماییدکه در این شکل فقط یک مدل ارائه شده است.



برای دانلود فایل PDB مدل اراده شده مانند شکل فوق بر روی عبارت PDB format کلیک نمایید.



در این قسمت نیز ساختار سه‌بعدی پروتئین نمایش داده می شود که با استفاده از دو گزینه فوق می‌توانید نحوه نمایش ساختار را مشاهده نمایید.



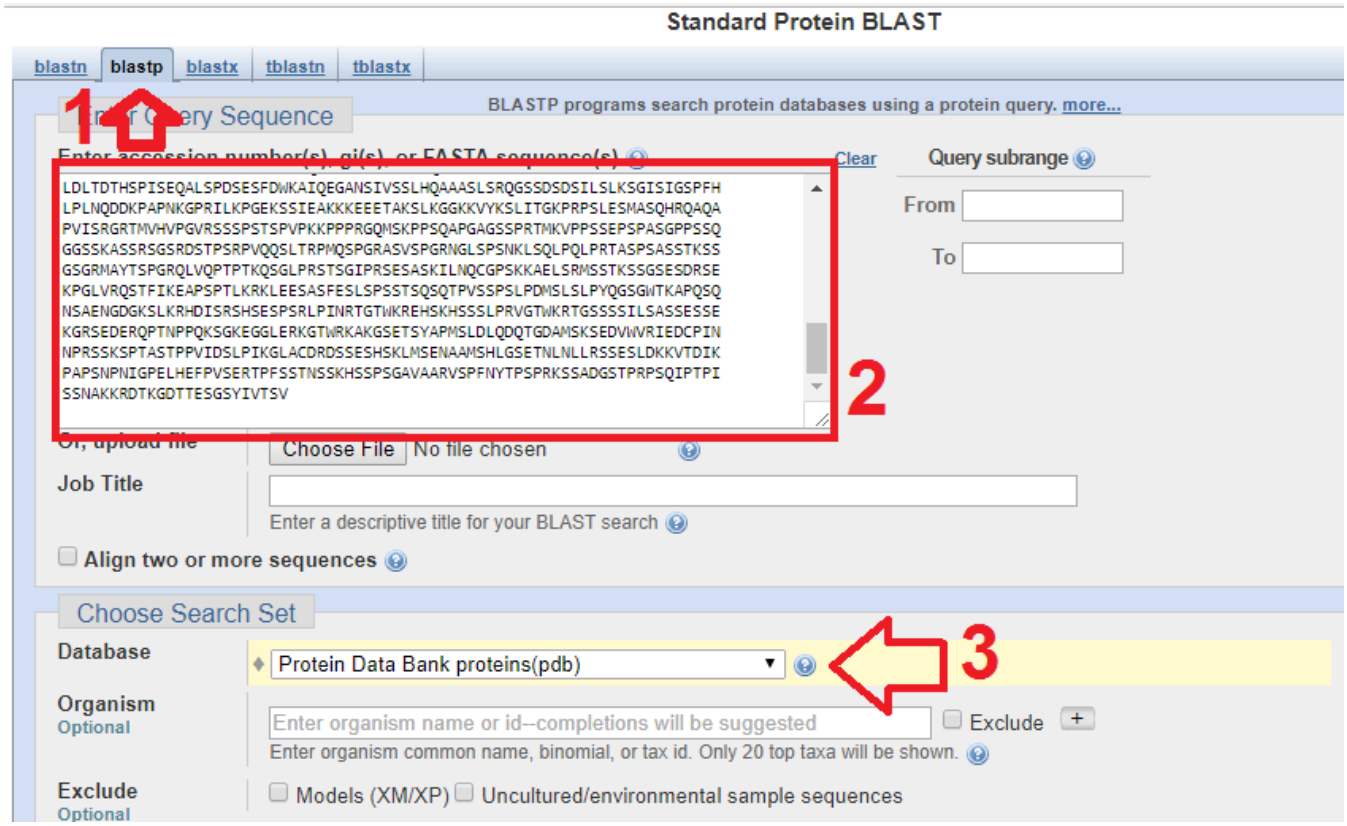
همچنین با کلیک بر روی قسمت فوق می‌توانید رنگ‌بندی مدل ارائه شده را تعیین نمایید.

روش دوم: پیش ساختار سه‌بعدی پروتئین‌ها بر اساس یک ساختار الگو در سایت swissmodel

در این روش ابتدا باید یک فایل PDB از ساختار سه‌بعدی پروتئین الگو تهیه نمایید و سپس بر اساس ساختار پروتئین الگو ساختار سه‌بعدی پروتئین مورد نظر خود را پیش‌بینی نماییم

در صورتی که فایل PDB در اختیار نداشته باشید می‌توانید با استفاده از بلاست پروتئین این فایل را تهیه نمود. برای این کار ابتدا بر روی لینک زیر کلیک نمایید تا به سایت NCBI جهت بلاست پروتئین وارد شوید.

https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE=Proteins&PROGRAM=blastp&BLAST_PROGRAMS=blastp&QUERY=NP_001137312.1&LINK_LOC=protein&PAGE_TYPE=BlastSearch

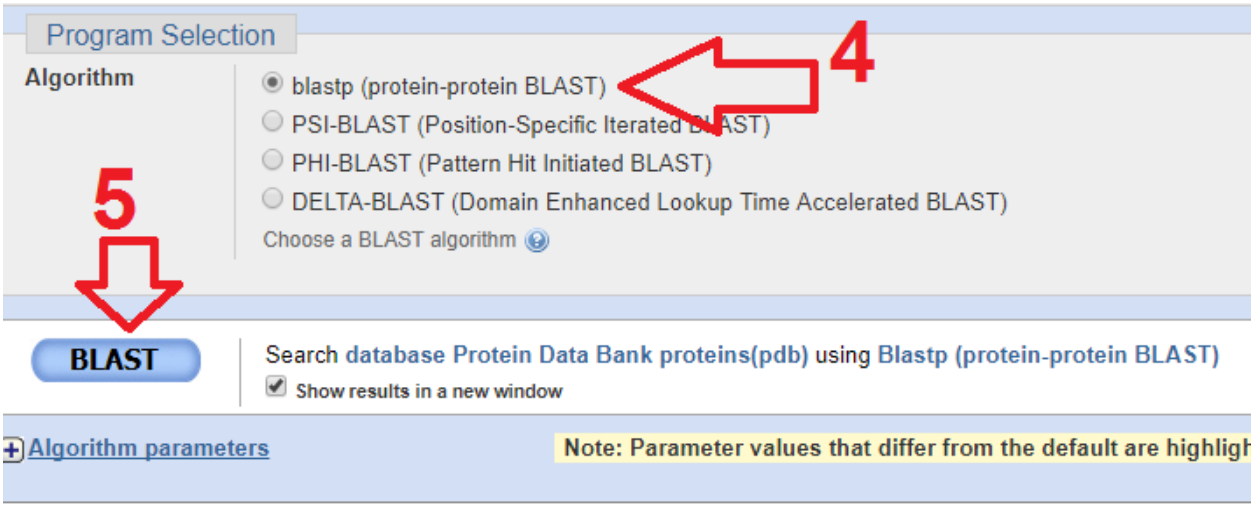


در نرم افزار بلاست

۱:ابتدا بر روی زبانه blastp کلیک نمایید

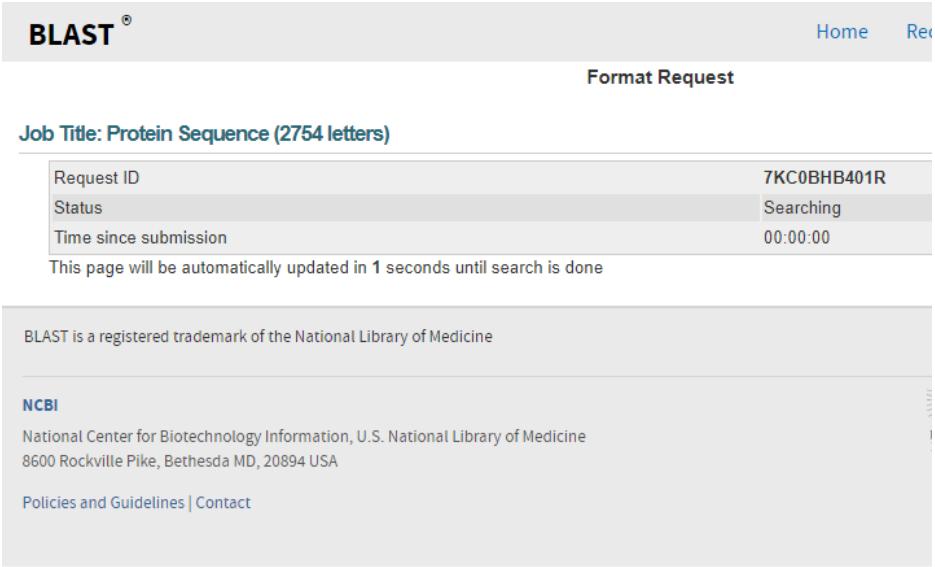
۲: توالی پروتئین مربوطه را وارد نمایید

۳: در قسمت Database گزینه protein Data Bank proteins(PDB) را انتخاب نمایید.



٤: این گزینه را انتخاب نمایید

٥: بر روی گزینه Blast کلیک نمایید



با مشاهده پنجره فوق باید مدتی صبر نمایید تا فرایند بررسی توالی ویافتن توالی های مشابه انجام شود.

Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected:0

Alignments Download GenPept Graphics Distance tree of results Multiple alignment

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Chain A, Structure Of Glycogen Synthase Kinase-3 (Gsk3b)	813	813	96%	0.0	95%	1I09_A
Chain A, Gsk3b In Complex With Inhibitor	813	813	96%	0.0	95%	4ACC_A
Chain A, Gsk-3beta with inhibitor 6-chloro-N-cyclohexyl-4-(1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-3-yl)pyridin-2-amine	813	813	96%	0.0	95%	4IQ6_A
Chain A, Gsk-3 Beta Complexed With Amp-Pnp	813	813	96%	0.0	95%	1PYX_A
Chain A, Structure Of A Carboxamide Compound (3) (2-{2-[(cyclopropylcarbonyl) Amino]pyridin-4-yl}-4-oxo-4h-	812	812	96%	0.0	95%	4PTC_A
Chain A, GSK3beta complex with N-(6-(3,4-dihydroxyphenyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-3-yl)acetamide	810	810	96%	0.0	94%	5OY4_A
Chain A, Crystal Structure Of Human Glycogen Synthase Kinase 3 Beta (gsk3b) In Complex With Inhibitor 142	810	810	96%	0.0	94%	3SAY_A
Chain A, Gsk-3 Beta Complexed With Staurosporine	810	810	96%	0.0	95%	1Q3D_A
Chain A, Crystal Structure of GSK3b in complex with inhibitor 15R	809	809	96%	0.0	94%	4J1R_A
Chain A, X-ray Crystal Structure Of Gsk3b In Complex With Brd3937	807	807	96%	0.0	94%	5HLP_A
Chain A, Crystal Structure Of Glycogen Synthase Kinase 3 In Complexed With Inhibitor	800	800	95%	0.0	95%	1Q5K_A

بعد از تکمیل فرایند بررسی توالی در شکل فوق نتایج بلاست را مشاهده می‌نمایید. همان‌گونه که مشاهده می‌نمایید برای توالی وارد شده چندین پروتئین با ساختار مشابه پیشنهاد شده است. بهترین ساختار الگو برای پیش‌بینی ساختار سه‌بعدی توالی وارد شده، پروتئینی است که دارای بیشترین میزان identity و Query coverage باشد.

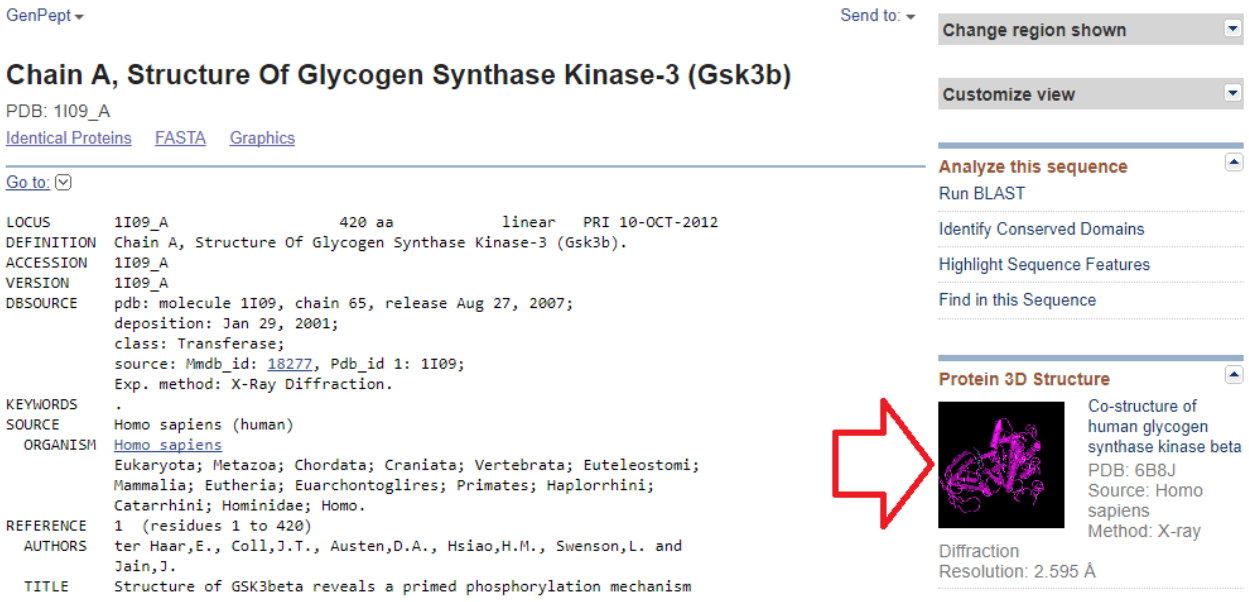
Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected:0

Alignments Download GenPept Graphics Distance tree of results Multiple alignment

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Chain A, Structure Of Glycogen Synthase Kinase-3 (Gsk3b)	813	813	96%	0.0	95%	1I09_A
Chain A, Gsk3b In Complex With Inhibitor	813	813	96%	0.0	95%	4ACC_A
Chain A, Gsk-3beta with inhibitor 6-chloro-N-cyclohexyl-4-(1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-3-yl)pyridin-2-amine	813	813	96%	0.0	95%	4IQ6_A
Chain A, Gsk-3 Beta Complexed With Amp-Pnp	813	813	96%	0.0	95%	1PYX_A
Chain A, Structure Of A Carboxamide Compound (3) (2-{2-[(cyclopropylcarbonyl) Amino]pyridin-4-yl}-4-oxo-4h-	812	812	96%	0.0	95%	4PTC_A
Chain A, GSK3beta complex with N-(6-(3,4-dihydroxyphenyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-3-yl)acetamide	810	810	96%	0.0	94%	5OY4_A
Chain A, Crystal Structure Of Human Glycogen Synthase Kinase 3 Beta (gsk3b) In Complex With Inhibitor 142	810	810	96%	0.0	94%	3SAY_A
Chain A, Gsk-3 Beta Complexed With Staurosporine	810	810	96%	0.0	95%	1Q3D_A
Chain A, Crystal Structure of GSK3b in complex with inhibitor 15R	809	809	96%	0.0	94%	4J1R_A
Chain A, X-ray Crystal Structure Of Gsk3b In Complex With Brd3937	807	807	96%	0.0	94%	5HLP_A
Chain A, Crystal Structure Of Glycogen Synthase Kinase 3 In Complexed With Inhibitor	800	800	95%	0.0	95%	1Q5K_A

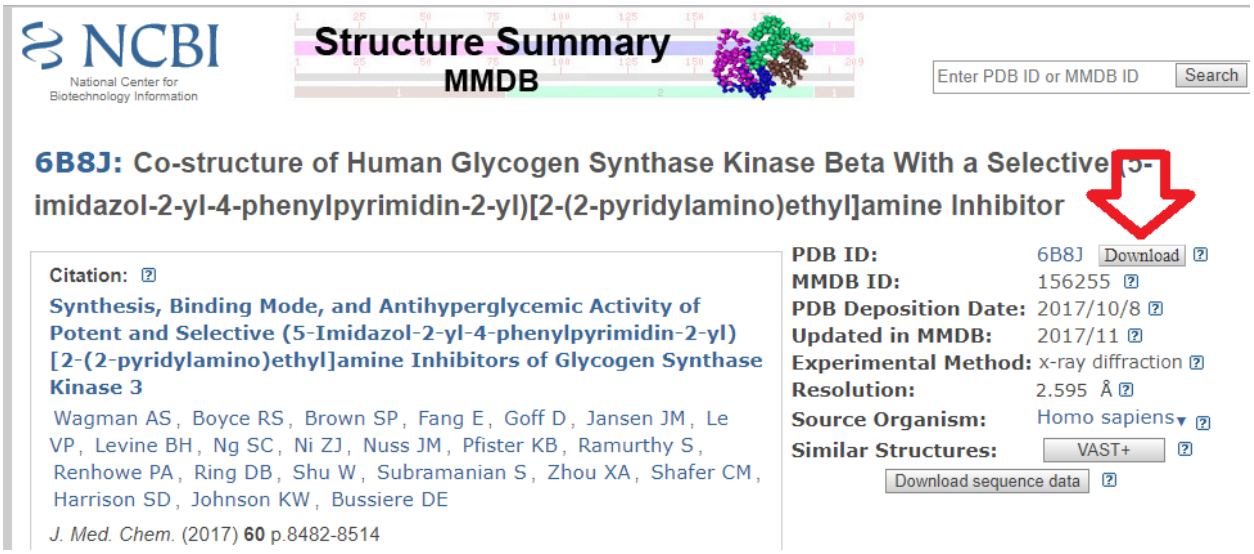
بعد از انتخاب پروتئین مناسب که معمولا اولین گزینه نیز می‌باشد بر روی Accession آن پروتئین کلیک نمایید تا به صفحه زیر وارد شوید



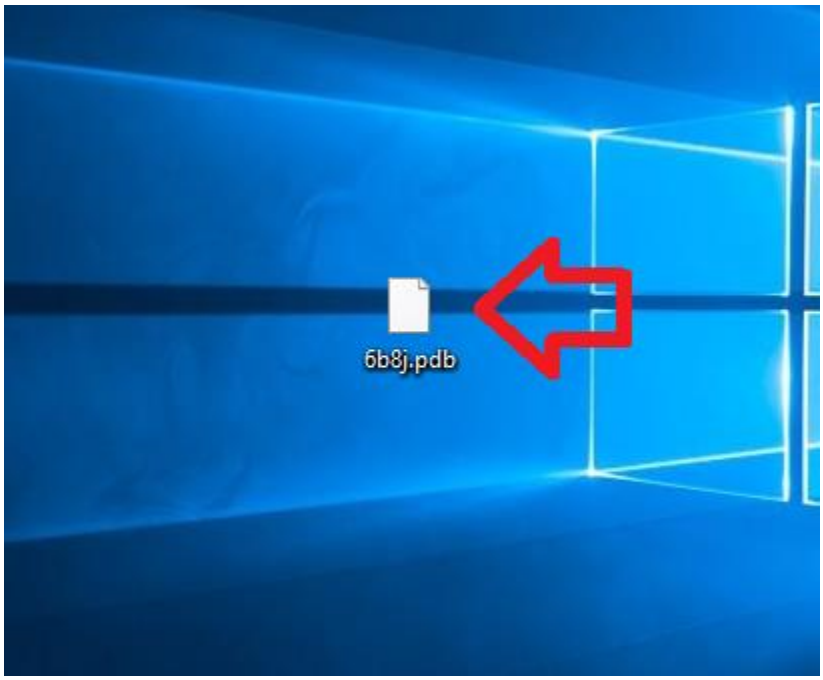
در صفحه فوق که بیانگر مشخصات پروتئین انتخاب شده می‌باشد بر روی تصویر مشخص شده کلیک نمایید تا صفحه زیر باز شود.

صفحه فوق نشان دهنده ساختارهای سه‌بعدی برای پروتئین انتخاب شده می‌باشد از آنجایی که برای یک پروتئین ممکن است به چندین روش ساختار سه‌بعدی بررسی شده باشد در صفحه فوق چندین ساختار سه‌بعدی ارائه شده است.

در صفحه فوق ساختاری را انتخاب نمایید که دارای یک protein و دارای کمترین تعداد Chemical باشد سپس بر روی تصویر آن ساختار کلیک نمایید.



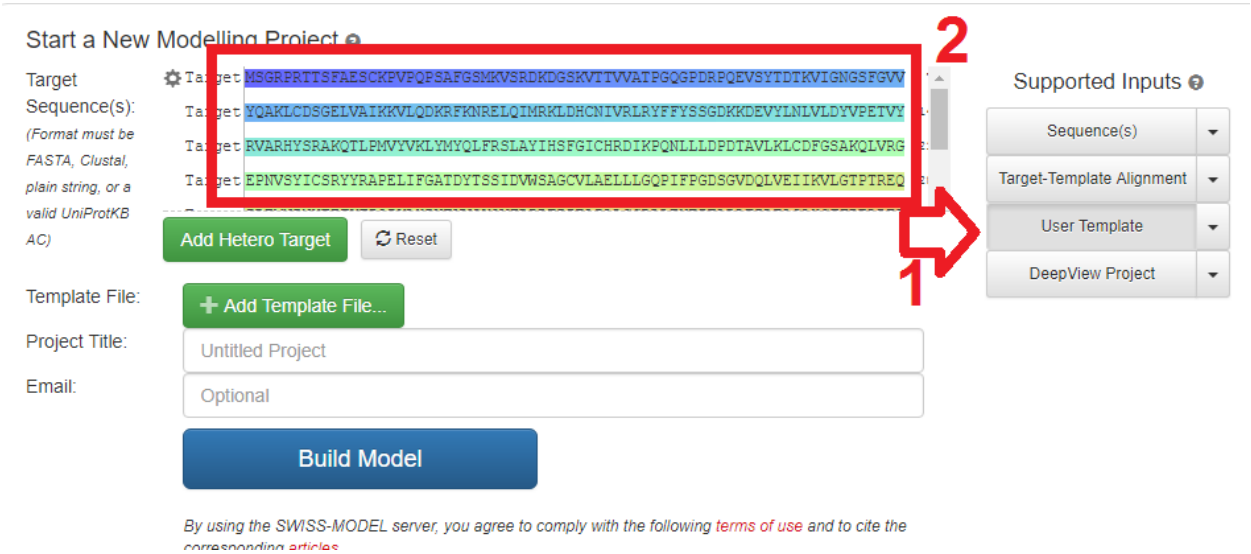
سپس در صفحه بعدی بر روی گزینه Download کلیک نمایید تا فایل PDB برای ساختار سه‌بعدی پروتئین دانلود شود.



سپس از این فایل PDB دانلود شده برای پیش‌بینی ساختار سه‌بعدی پروتئین دلخواه استفاده می‌نماییم.

بعد از تهیه فایل PDB و استفاده از آن به عنوان الگو می‌توان ساختار سه‌بعدی پروتئین مورد نظر را پیش‌بینی نمود برای این کار بر روی لینک زیر کلیک نمایید

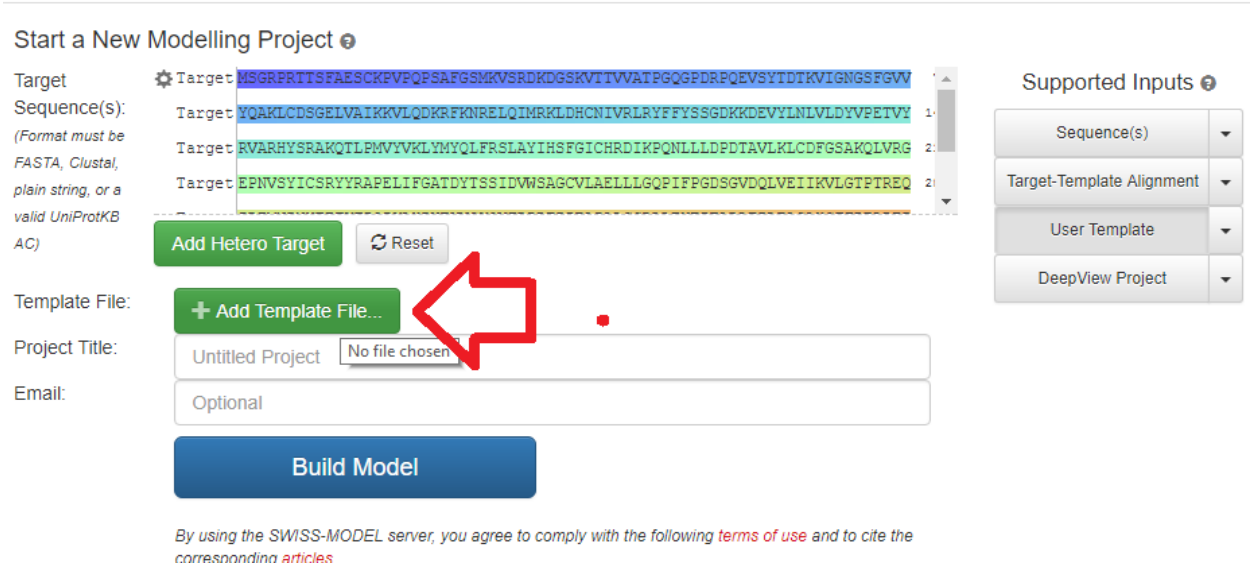
https://swissmodel.expasy.org/interactive#structure



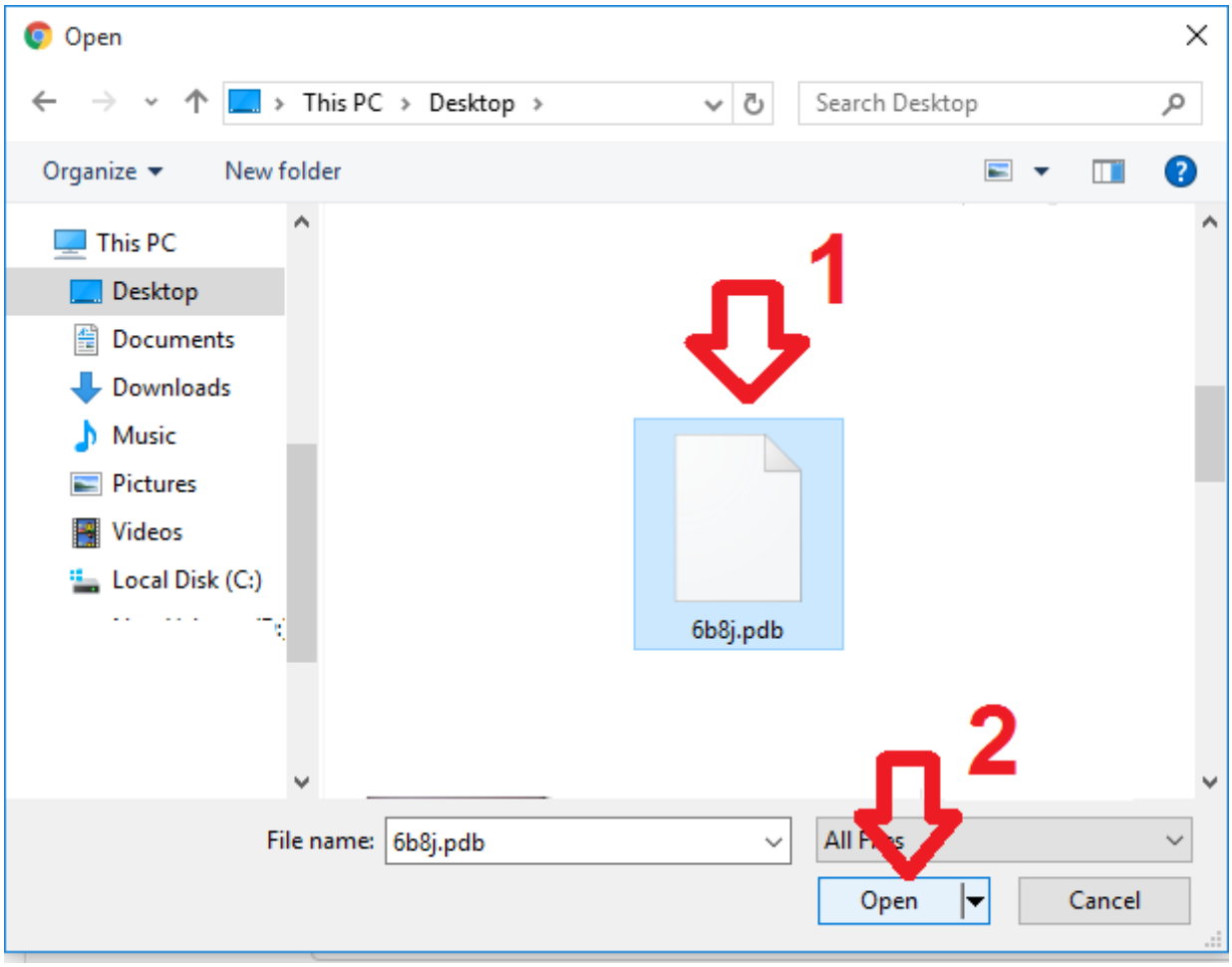
سپس در صفحه فوق:

۱: بر روی گزینه User Template کلیک نمایید

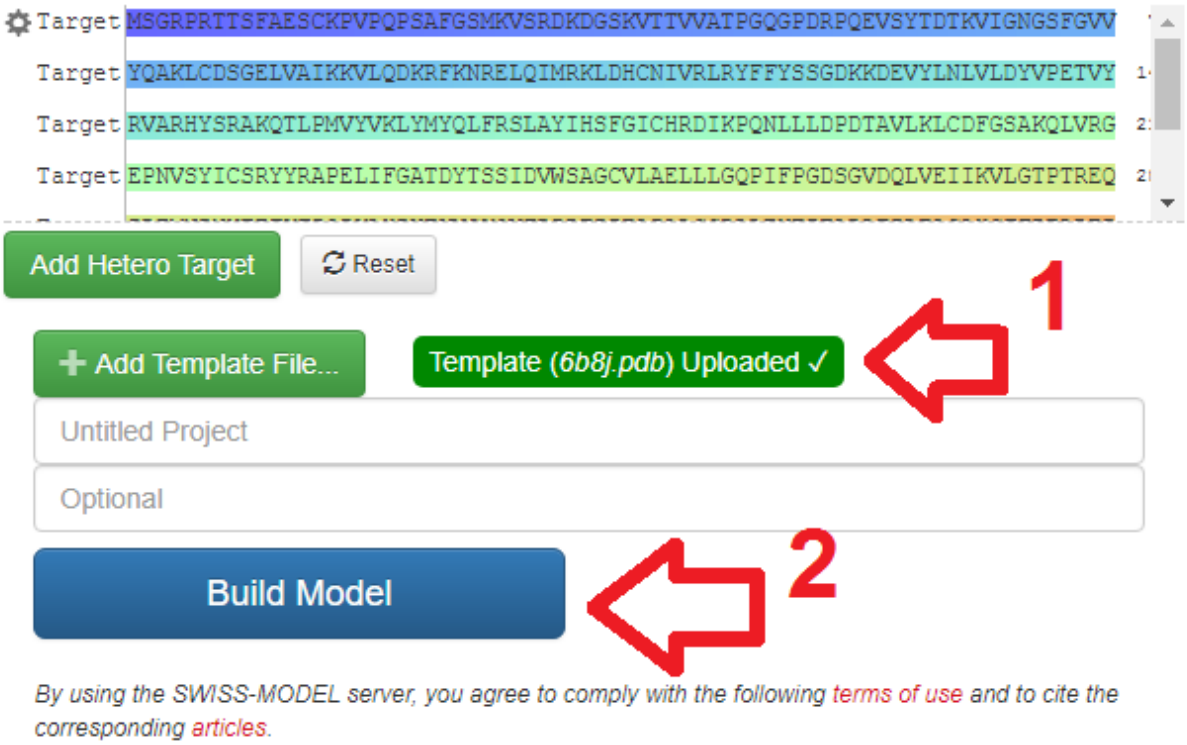
۲: توالی پروتئینی را وارد نمایید



سپس باید توالی الگو را وارد نمایید برای این کار بر روی گزینه ..Add Template file کلیک نمایید تا پنجره زیر باز شود.



در پنجره فوق فایل الگویی که در مرحله قبل دانلود نمودیم انتخاب نمایید.



بعد از اینکه فایل الگو دانلود شد بر روی گزینه Build Model کلیک نمایید تا پیش‌بینی ساختار سه‌بعدی پروتئین آغاز شود.

سایر مراحل این روش و ارائه نتایج همان‌گونه می‌باشد که قبلا ارائه شد.