



Übung 3: Analysis and Comparison

Strukturqualität

PDB Überblick

Suchen Sie mit Hilfe der *Protein Data Bank* (www.pdbe.org bzw. www.ebi.ac.uk/pdbe) die mit Röntgenstrukturanalyse ermittelte Struktur, der in Dimer-Form vorliegenden, menschlichen Deglycase *DJ-1*. Die relevanten Filter können Sie in der Spalte links setzen. Machen Sie sich mit den anderen Filtermöglichkeiten vertraut.

Die Ergebnisse können dabei mutierte Versionen des Moleküls beinhalten, welche meist das Stichwort *mutant* und / oder mit einer Zeichenkette der Form *A123B* im Titel enthalten. Letzteres gibt dabei an, dass Residue Typ *A* an Stelle *123* zu Typ *B* mutiert ist. Ignorieren Sie im Folgenden mutierte Versionen und sonstige Spezialfälle, welche aus dem Titel erkennbar werden, d.h. suchen Sie nach Modellen mit einem schlichten Titel, wie „*Crystal Structure of Human DJ-1*“.

Oben rechts haben Sie die Möglichkeit die Ergebnisse nach bestimmten Kriterien zu sortieren. Finden Sie mit der Sortierung nach Modellqualität können das beste und das schlechteste Modell nach den oben genannten Kriterien. Entsprechend sollten Sie z.B. zu den Modellen *4rkw* und *1j42* gekommen sein.

Vergleich von Elektronendichtekarten

Laden Sie nun beide Strukturen in *Chimera* mit jeweiliger Elektronendichte (*edsID:4rkw*, *edsID:1j42*), so dass *4rkw* und dessen Dichtekarte Modelle 0 und 1 und *1j42* und dessen Dichtekarte Modelle 2 und 3 sind (die Aufteilung ist wichtig, vergewissern Sie sich daher im *Model Panel*). Nutzen Sie unbedingt das *Zone Tool* im *Volume Viewer* um störende

Elektronendichte zu entfernen und stellen Sie die gleiche *step* Anzahl (am besten 1) bei beiden Modellen ein. Überlagern Sie nun mit dem *MatchMaker* Tool Modell 2 auf Modell 0, welches die Referenzstruktur sein muss. Geben Sie nun in die *Chimera* Kommandozeile den Befehl *matrixcopy #2 #3* ein, um die Transformation des Modells 2 auf das Modell 3 zu übertragen. Nun sollten sowohl beide Strukturen als auch die Elektronendichten korrekt überlagert sein.

Vergleichen Sie nun die Elektronendichten der beiden Modelle. Um welche Auflösungen handelt es sich dabei? Ist der Unterschied in den Auflösungen bemerkbar? Wie sieht es z.B. bei Seitenketten mit aromatischen Ringen aus?

Vergleich von Geometriequalität

In den jeweiligen *PDB* Einträgen zu den Strukturen sehen Sie unter *Experiments and Validation* verschiedene Metriken zur Bewertung von Qualität (mit mehr Information unter *Details*). Vergleichen Sie die Werte beider Strukturen.

In der Struktur *1j42* soll es einen *Ramachandran Outlier* geben. Lassen Sie sich die Ramachandran Plots (entsprechender Menu Button im *Model Panel*) für beide Strukturen anzeigen. Von potentiellen Outliern, d.h. den Punkten außerhalb der Konturen für den *General case*, stimmen bis auf einen alle mehr oder weniger überein (Winkel phi bei etwa 41° und psi bei etwa -166 im Model *1j42*). Mit einem Klick auf den Punkt wird das entsprechende Residue in der Struktur ausgewählt. Vergleichen Sie dort die Konformationen der beiden Strukturen. Was fällt ihnen auf? Wie verhält sich die Elektronendichte? Welche Konformation ist wahrscheinlicher?

In der Struktur *1j42* gibt es *Clashes* geben. Einige lassen sich mit *Chimera* finden. Starten Sie:

Tools → **Structure Analysis** → **Find Clashes/Contacts**

Unter *Atoms to Check* können Sie ausgewählte Atome zum Prüfen auf Clashes designieren. Wählen Sie dazu im alle Atome von *1j42* mit der normalen Selektion aus und klicken Sie auf *Designate*. Wählen Sie bei *Check designated atoms against*: die Option *themselves* aus. Behalten Sie alle anderen Einstellungen und klicken Sie auf *OK*. Ihnen werden nun die Clashes in der Struktur angezeigt. Um wie viele handelt es sich? Welche Distanzen sehen Sie? Was beobachten Sie hinsichtlich der Elektronendichte?

Suchen Sie nun nach Clashes in der anderen Struktur. Was ist der offensichtliche Grund für das Ergebnis?

Es ist möglich in *Chimera* eine Energieminimierung der Struktur vorzunehmen. Starten Sie hierzu:

Tools → Structure Editing → Minimize Structure

Wählen Sie Struktur **1j42** aus und klicken Sie auf Minimize. Es wird eine Reihe von Menus nach einander erscheinen. Zunächst werden Wasserstoffatome, anschließend Ladungen dem Model hinzugefügt. Schauen Sie sich jeweils die Optionen an und klicken Sie auf **OK**. Die Minimierung wird etwas dauern. Anschließend sollte sich die Struktur lokal verändert haben. Entfernen Sie die hinzugefügten Wasserstoffatome wieder, indem Sie sie auswählen und anschließend mit dem Befehl **delete selection** löschen. Suchen Sie nun wieder nach Clashes. Wo werden wie viele gefunden?

Strukturvergleich

Die vorherigen Strukturen werden nicht gebraucht (schließen Sie diese oder starten Sie eine neue Session). Laden Sie die Strukturen zweier Metalloproteasen **1gxw** und **1i1i** in *Chimera*. Dabei handelt es sich um Enzyme, welche Peptidbindungen mit Hilfe eines Metalls (meistens Zink) hydrolysieren. Finden Sie mit Hilfe der *PDB* heraus, zu welchen Spezies die Proteine gehören und schätzen Sie (sehr) grob ein, wie verwandt die Spezies sind.

Untersuchen Sie die Strukturen visuell. Welche Unterschiede fallen sofort auf? Gibt es interessante Ähnlichkeiten?

Führen sie ein Sequenzalignment mit den Standardeinstellungen durch:

Tools → Sequence → Align Chain Sequences

Im Sequenzalignmentfenster können Sie einzelne Sequenzbereiche auswählen und es werden die entsprechenden Teile der Strukturen ausgewählt. Wählen Sie einige Bereiche aus, in denen das Alignment aus Matches und Replacements besteht. Was beobachten Sie und was sagt dies über die Ähnlichkeit der Proteine aus?

Führen Sie nun eine Strukturüberlagerung mit Hilfe des *MatchMaker* Tools aus. Lassen Sie jedoch zunächst die Option **Include secondary structure score** nicht ausgewählt. Wählen Sie als **Alignment algorithm** die Option **Smith-Waterman**. Die Überlagerung basiert nun überwiegend auf dem Sequenzalignment. Welches Ergebnis beobachten Sie und wie erklären Sie es sich?

Führen Sie nun die Strukturüberlagerung durch mit der Option die Sekundärstruktur einzubeziehen. Schauen Sie sich das Ergebnis genau an und achten Sie insbesondere auf das aktive Zentrum. Was beobachten Sie? Was schließen Sie daraus über Ansätze zur Überlagerung von Strukturen? Welche Hypothese könnte man Struktur und Funktion der Moleküle im Kontext der Evolution aufstellen?

Aufgaben

Bitte beantworten Sie die folgenden Fragen möglichst kurz und schicken Sie ihre Antworten an olzhabaev@zbh.uni-hamburg.de als Anhang im plain text oder pdf Format bis zum 27.11.2017, 08:00 Uhr. Fügen Sie dabei bitte das Stichwort [AST] dem Betreff zu.

- a) Es wurden Ramachandran Outlier und Atom Clashes betrachtet. Nennen Sie ein weiteres geometrisches Qualitätsmaß und beschreiben sie es kurz.
- b) Welche der geometrischen Qualitätsmaße eignen sich um 1. Rückgrat und 2. Seitenketten zu beschreiben und warum?
- c) Bei der Energieminimierung wurden einige Schritte durchgeführt um das Molekül „vorzubereiten“. Um welche handelt es sich und wozu sind diese notwendig?
- d) Nennen Sie einen möglichen Grund dafür, dass die Energieminimierung einer Struktur nicht alle Clashes beseitigt.
- e) Was ist ein sinnvoller Zweck von Strukturüberlagerungen und warum reicht es manchmal nicht aus Sequenzalignments zu nutzen?