



## Übung 9: RNA Prediction / Design

### Klammernotation

Öffnen Sie die Struktur *1k5i* in *Chimera*. Hierbei handelt es sich um eine mit NMR Spektroskopie ermittelte Struktur. Schließen Sie zur Übersicht daher alle bis auf eines der Modelle. Betrachten Sie das Molekül und notieren Sie sich dessen Sekundärstruktur in der Klammernotation (dot-bracket, vienna). Falls Ihnen in der *ribbon* Darstellung die Basenpaare nicht deutlich genug erscheinen, können Sie zu einer Atomdarstellung wechseln und mögliche Wasserstoffbrückenbindungen anzeigen lassen (*Tools* -> *Structure Analysis* -> *FindHBond*).

### Sekundärstrukturvorhersage

Nutzen Sie im Folgenden den *ViennaRNA Web Services* Server, welcher verschiedene Programme zum Arbeiten mit RNA Strukturen über ein Webinterface bereitstellt:

<http://rna.tbi.univie.ac.at/>

Mit dem *RNAfold* Tool können Sie für eine RNA Sequenz die Sekundärstruktur mittels Energiefunktionen unter verschiedenen Parametern vorhersagen. Kopieren Sie die Sequenz von *1k5i* (aus dem Chimera Sequenztool oder der *PDB*) und führen Sie eine Sekundärstrukturvorhersage mit den Standardparametern durch. Betrachten Sie die Ergebnisseite und vergleichen Sie die vorhergesagte Struktur mit der tatsächlichen.

## Sequenzdesign mit „Simulated Annealing“

Kopieren Sie sich die folgende Datei in ihr Homeverzeichnis:

```
cp /home/olzhabaev/Public/rna_design_annealing.py .
```

Hierbei handelt es sich um ein *Python* Skript mit dem „*Simulated Annealing*“ Algorithmus aus der letzten Übung. Dieses wurde für RNA Sequenzdesign angepasst. Die Zielfunktion (Z. 72) ruft hierbei ein externes Programm auf, welches für eine Sequenz und eine Sekundärstruktur die Wahrscheinlichkeit berechnet, mit der sich die Sequenz in die Struktur faltet. Dieser Wert wird zurückgegeben und im Algorithmus maximiert. Initial wird eine zufällige Sequenz erzeugt. Testschritte erzeugen zufällige Mutationen in der Sequenz, wobei Basenpaare entsprechend angepasst werden.

Fügen Sie die Sekundärstruktur von **1k5i** in die Anführungszeichen in Zeile 89 ein und speichern Sie die Datei. Starten Sie eine Konsole und führen Sie das Skript aus:

```
python rna_design_annealing.py
```

Pro Iteration wird die aktuelle Sequenz und entsprechende Falt-Wahrscheinlichkeit ausgegeben. Passen Sie ggf. die Parameter des Algorithmus an um bessere Ergebnisse zu erhalten und lassen Sie das Skript mehrmals Laufen.

Kopieren Sie die beste gefundene Sequenz und Öffnen Sie zwei Instanzen des *Vienna RNAeval* Tools. Hiermit können für eine gegebene Sequenz und Sekundärstruktur die Energie und Energiebeiträge berechnet werden. Führen Sie dies für die Sequenz von **1k5i** und die optimierte Sequenz durch und vergleichen Sie die Ergebnisse. Welche Sequenz wird sich eher in die Struktur falten und welche Teile der Sequenz / Struktur tragen dazu bei?