



# Virtuel undersøgelse af proteiners 3D-struktur

## Relevant baggrundslæsning

- Proteinernes struktur: Bioteknologi 2, side 51-56.
- Undersøgelse af proteiners struktur: Bioteknologi 2, side 56-60.
- Enzymers virkemåde: Bioteknologi 2, side 60-73.

På de internetbaserede databaser kan man fx:

- Finde data om bestemte proteiner, fx de enzymer man arbejder med.
- Se deres struktur i 3D og drej dem rundt, så man får fornemmelse af deres rumlighed.
- Farve og markere områder af proteinet som har vigtige funktioner.
- Fremstille billeder som kan anvendes i rapporter og lignende.

Her er en praktisk vejledning til hvordan man kan prøve nogle af disse funktioner af.

## Valg af database

Fleere databaser indeholder lettilgængelig information om proteiners tredimensionelle struktur, både strukturer bestemt eksperimentelt og teoretisk beregnede modeller, se Bioteknologi 2, side 58-60.

Her bruger vi <http://www.rcsb.org/pdb>. Orientér dig på hjemmesiden.

Under *Education* er der masser af godt stof til opgaver.

- *Understanding pdb-data* lyder kedeligt, men rummer gode korte forklaringer på metoder, fx røntgenkristallografi, NMR-spektroskopi og elektronmikroskopi.
- *Molecule of the month* indeholder gode beskrivelser af udvalgte proteiner, lige til at gå i gang med.

*Educational resources* rummer fx gode animationer, posters, *flash tutorials* (vejledninger til databasen), vejledninger til at bygge fysiske modeller af proteinerne o.l.

Udskriv fx posteren *Molecular Machinery: A Tour of the Protein Data Bank* og hæng den op i klasselokalet.

Hvem kan forsyne flest af molekylerne med sidehenvisninger til jeres bøger?

Posteren *How Do Drugs Work?* introducerer ni eksempler på farmaceutiske anvendelser af protein som kan undersøges nærmere vha. databasen. Den kan fx bruges som udgangspunkt for at udforske dette emne. Her skal vi imidlertid undersøge proteinstrukturer.

## Fremgangsmåde

I vejledningen er eksemplet glucoseoxidase brugt. Glucoseoxidase er nærmere beskrevet i Bioteknologi 2, Tema 4.

Hvis man skal undersøge andre proteiner, er det en god idé at læse om dem først.

Er det enzymer, er det fx vigtigt at finde oplysninger om hvilke aminosyrer der er vigtige i det reaktive center, og hvordan det reaktive center fungerer.

Andre interessante oplysninger kan være hvordan proteinet bindes, fx i membraner. Svarer det til ikke-polære områder på proteinet?

De programmer som anvendes til at se på proteiner, kræver Java. Programmet kan downloades gratis på <http://www.java.com/en/download/>.

De molekyler som indrapporteres til databasen, forsynes med et PDB ID. Med PDB ID kan man søge på molekylet, dels i søgebjælken for oven på hjemmesiden, dels via de øvrige søgemuligheder. I lærebøger med molekyltegninger kan du som udgangspunkt finde PDB ID i kildelisten, og det vil fx være opgivet hvis du søger molekylet på Wikipedia. Man kan også søge på molekylets navn, læs videre om dette længere nede.

1. Skriv PDB ID for Glucoseoxidase, 1GAL, i søgefeltet i bjælken for oven. Tryk *Search*.
  - a. Hvilke oplysninger får man om proteinet?
  - b. Hvordan er strukturen bestemt?
  - c. Ligand Chemical Composition fortæller hvilke ligander der er bundet til proteinet, dvs. molekyler som ikke er proteiner. Som det fremgår, er der bundet carbohydrater, hvilket man ofte ser på proteiner som transporteres gennem cellemembranen.
  - d. Til højre vises der et billede af proteinet. Under tegningen er der links til forskellige hjælpeprogrammer (*JMol*, *Simple Viewer*, *Protein Workshop*) som kan bruges til at undersøge og arbejde videre med strukturen.
2. Vælg programmet *Protein Workshop*. Programmet kræver at Java er installeret på computeren.
3. Drej molekylet med musen ved at holde venstre museknap nede og trække i molekylet. Ved at holde shift nede samtidig, kan der zoomes ud og ind.
  - a. Identificér hvad der er protein og hvad der er ligander på billedet.
4. Gennem hele processen er det en god ide at gemme dine billeder hver gang du synes du har en vinkel som viser noget vigtigt:
  - a. Vælg *Options*.
  - b. Vælg *Save image*.
  - c. Under *Image settings* kan du stille på opløsningen, fra størrelser som passer i en rapport til plakatstørrelse.
5. Du kan ændre baggrundfarven (fx til hvid):
  - a. Vælg *Short cut*.
  - b. Vælg *Change background color* (forneden).
6. Liganderne kan gøres usynlige:
  - a. Vælg *visibility*.
  - b. Vælg *Atoms and Bonds*.
  - c. Forneden er vist en træstruktur med enzymets enkelte dele. Markér monosacchariderne for neden i strukturen (NAG, BMA, MAN), ved at klikke på symbolet foran dem og læg mærke til at de bliver usynlige.
  - d. Lad FAD forblive synligt, det spiller en rolle i det reaktive center.
7. Sammenlign med Bioteknologi 2, figur 22, side 64. Identificér det reaktive center.
  - a. Sammenlign med de fire karakteristika for et reaktivt center, se Bioteknologi 2, side 62-63. Hvor mange af disse karakteristika kan du allerede se nu?
8. Programmet giver mulighed for at fremhæve egenskaber ved molekylet og ændre i det.
  - a. Vælg *Short cuts*. Giv proteinet farve efter hvor hydrofobe aminosyrer er (*Hydrophobicity*).
  - b. Vælg *Enact*.
  - c. Er der også en tendens til at hydrofile aminosyrer vender udad, mod vandet omkring molekylet?
  - d. Hvad betyder det for molekylets tertiærstruktur?
  - e. Er der hydrofobe områder i det reaktive center?

9. Farvelæg på baggrund af sekundærstruktur *Conformation type*.
  - a. Hvor mange helixer og foldeblade, *strands*, kan du tælle?
  - b. Du kan ændre farverne ved at klikke på de farvede felter.
10. Hvor sidder de aktive aminosyrer i det reaktive område?
  - a. Vælg *Tools*.
  - b. Vælg *Visibilities*.
  - c. Vælg *Atoms and Bands*.
  - d. Åben først A-kæden, *Chain A* ved at trykke på +. Herved bliver de enkelte aminosyrer synlige med deres numre.
  - e. Markér herefter de aktive aminosyrer, Glu412, His516 og His550.
11. Drej på molekylet, og sammenlign med figur 22 i bogen. Hvordan sidder de tre aminosyrers radikaler i forhold til hinanden?
  - a. Hvor passer substratet ind?
12. Bånd og radikaler kan farves så de bliver tydeligere.

### Ideer til videre arbejde

Flere af molekylerne er symmetriske idet de består af flere ens underenheder. Det gælder fx glucoseoxidase. Figur 1 og 20 i Bioteknologi 2, Tema 4 viser glucoseoxidases dimer. Her er brugt PDB ID 1GPE.

Man kan skifte mellem billedet af hele komplekset, *Biological Assembly*, og underenheden, *Asymmetric Unit*, ved at klikke på rammen lige over molekylet til højre og åbne hver af dem i *Protein Workshop*.

Nogle filer er store og kræver lidt tålmodighed.

1GPE stammer fra en anden svamp, og er en smule anderledes.

De tre aminosyrer har numrene: Glu422, His520 og His563.

Åben molekylet og undersøg det.

Hvad fortæller det, at det aktive område er så ens i forskellige organismer?

Andre af Bioteknologibøgernes proteiner kan undersøges tilsvarende. Supplér bogens informationer med oplysninger om molekylet fra andre kilder, fx ved en Google-søgning.

Del fx proteinerne mellem jer i klassen. Undersøg og forklar for de andre i klassen hvordan molekylet virker. Gengiv molekylets vinkel, farver osv. på den måde der bedst viser de vigtige pointer. Brug ideerne ovenfor.

### Hvis du ikke har et PDB ID på det protein du leder efter

Da mange af molekylerne i databasen er modificerede i forbindelse med de forsøg de stammer fra, kan det være vanskeligt at finde dem ud fra deres navn.

1. Skriv enzymets engelske navn i søgefeltet i bjælken.
  - a. Vurdér om du får et resultat du kan bruge.
  - b. Alternativt kan du bruge databasens søgemuligheder:
2. Vælg *Search* i venstre side, dette giver forskellige muligheder for søgninger.
3. Vælg *Advanced search*.
4. Under *Choose a query type* vælges fx *molecule name*.
5. Skriv molekylets engelske navn i søgefeltet og tryk på *Evaluate subquery*. Du kan nu se hvor mange resultater du får.
6. Vælg evt. at indsnævre søgningen ved at trykke på +.
7. Vælg fx hvilken organisme, *Source Organism*, du søger indenfor.
8. Tryk *Evaluate query*. Du får nu de fundne molekyler.