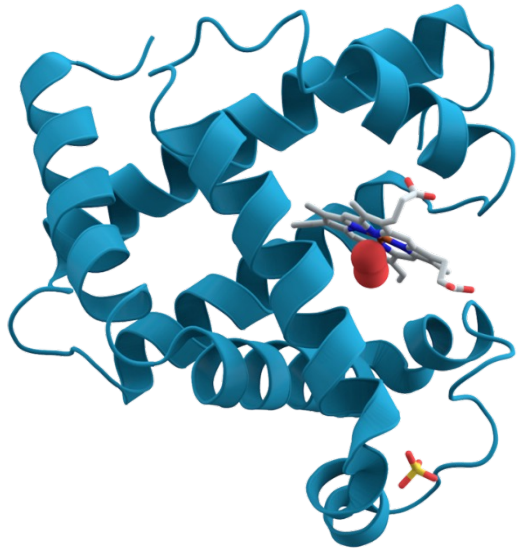
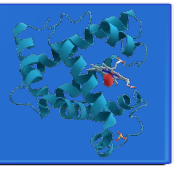


24.04.2024

Curs 8 – Clasificarea structurală proteinelor – Bazele de date SCOP și CATH

Evoluția proteinelor



In general, se consideră că **evoluția** acționează la nivel molecular prin **3 mecanisme principale**:

1. **Modificări aleatorii** ale secvenței ADN-ului prin încorporarea greșită de baze azotate ca urmare a efectelor factorilor mutageni sau a erorilor în replicarea ADN-ului; rata de eroare a ADN-polimerazei: 1 nucleotidă greșită la 10^6-10^8 nucleotide încorporate, bacteriile au $5*10^6$ pb
2. **Procese reparatorii** ale ADN-ului ce au ca scop eliminarea defectelor la nivelul ADN-ului și pot duce la procese recombinatoriale (deleții, duplicații de gene, inversiuni);
3. **Presiunea selectivă** ce decide care dintre mutații/modificări vor fi păstrate în descendență.

Deși cu cei 20-22 de aminoacizi se pot constituii virtual un număr nelimitat de secvențe, conformații proteice și deci funcții, **două forțe importante limitează diversificarea extremă a structurilor proteice**:
A.Divergența funcției - plecând de la modelul de mai sus al evoluției, se poate conclude logic **că toate structurile proteice tridimensionale provin din** diversificarea unui număr finit de secvențe de aminoacizi numite **secvențe ancestrale comune**. Aceste secvențe au fost diversificate pentru a crea noi conformații, deci funcții;

B. Convergența funcției – **două secvențe** ce provin din secvențe ancestrale **comune diferite pot evolua independent** dar pot fi selectate pentru aceeași funcție și deci **adopta conformații identice**.

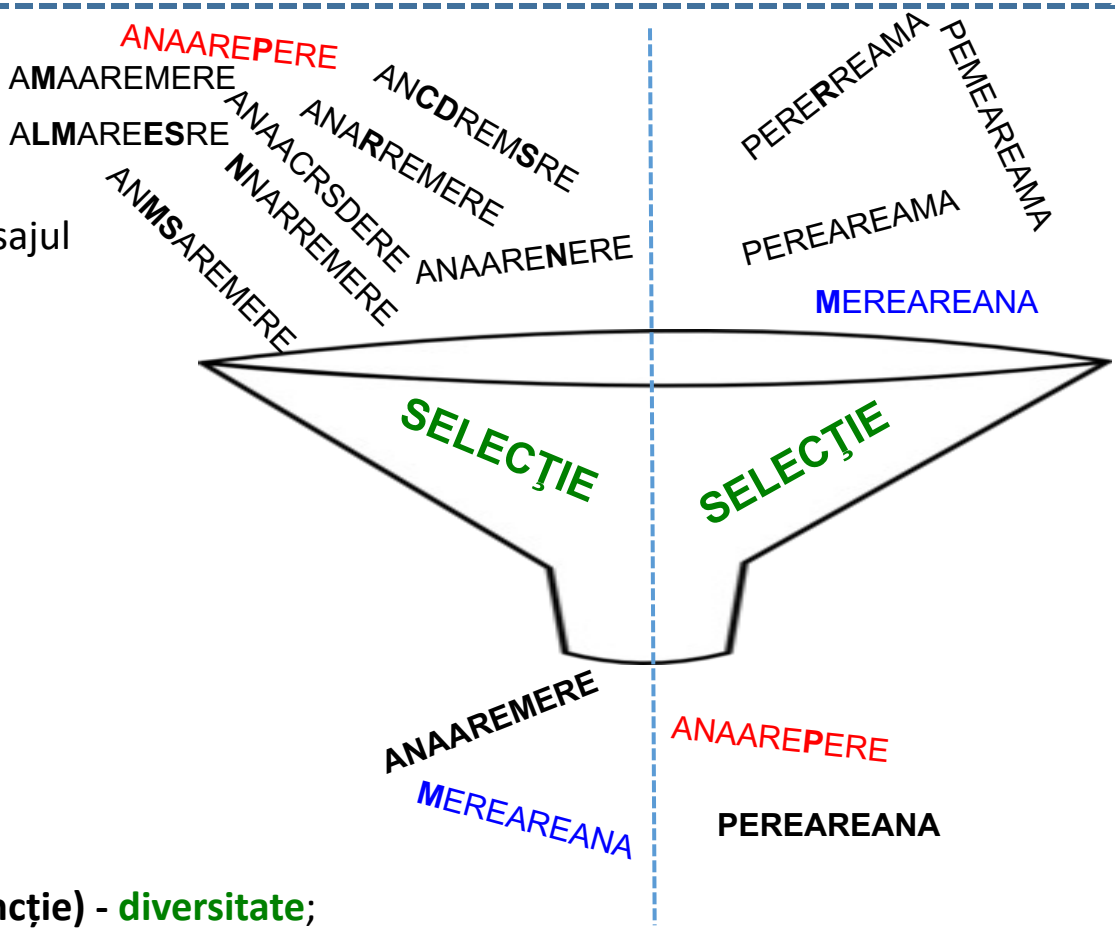
Similaritatea la nivel de secvență NU este suficientă pentru a identifica funcția unei proteine.

Evoluția proteinelor

Secvențe ancestrale comune

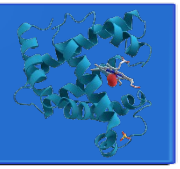
Diversificarea mesajului **prin mutații**
rezultând numeroase variante de secvențe cu mesajul (funcția) similar(ă) sau nu cu cel (cea) inițial(ă);

Presiunea selectivă face ca doar mesajul/funcția semnificativ(ă) să fie păstrat(ă);



Secvențele păstrate pot fi;
-**similare** ca secvență și codifică **același mesaj (funcție) - diversitate**;
-**lipsite de similaritate** la nivel de secvență dar codificând **același mesaj (funcție) - evoluție convergentă**;
-**similare** ca secvență dar codificând **mesaje (funcții) diferite – evoluție divergentă**.

Domeniile proteice ca unități de clasificare

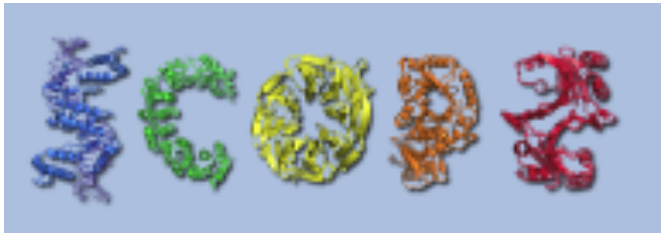


Evoluția nu selectează secvența, ci selectează funcția. În cazul proteinelor funcția este dependentă de structura tridimensională.

Cea mai mică unitate la nivelul cărei acționează evoluția este **domeniul proteic** (curs 3) – **o secțiune compactă dintr-o proteină independentă structural și frecvent și funcțional de restul proteinei.** Un domeniu proteic **va avea aceeași structură tridimensională și frecvent aceeași funcție** chiar dacă este separat de proteina din care provine.

În principiu, 1) **numărul de domenii proteice este finit** și **2) între domenii apar legături evolutive. Domeniile proteice** reprezintă astfel singura **unitate de clasificare** ce poate fi folosită pentru a împărți proteinele într-o manieră ierarhică ce ține cont atât de **gradul de similaritate la nivel de secvență cât și de asemănările structurale**. Principalele sisteme de clasificare structural a proteinelor sunt:

SCOP2 – **S**tructural **C**lassification **O**f **P**roteins

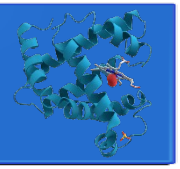


http://scop2.mrc-lmb.cam.ac.uk/

CATH – **C**lass **A**rchitecture **T**opology **H**omologous

http://cathdb.info/

Baza de date SCOP2



O bază de date ce realizează clasificarea **MANUALĂ** a domeniilor proteice prin analiza lor **VIZUALĂ**. Baza de date este organizată pe **4 nivele ierarhice**. Proteinele mici cu un singur domeniu vor apare într-un singur nivel ierarhic, proteinele de dimensiuni mari ce au mai multe domenii vor apare în mai multe nivele ierarhice.

Nivele ierarhice de clasificare a proteinelor in SCOP2:

1. **Familia proteică** – cuprinde domenii **foarte apropiate ca secvență, structură și funcție ce provin din aceeași secvență ancestrală comună**. Două proteine fac parte din aceeași familie dacă:
   - Au o **similaritate** la nivel de secvență de **minim 30%**; sau
   - Au **aceeași structură tridimensională și funcție identică**.

Ex: Family: Voltage-gated potassium channels (4000034) – conține 5 proteine din 5 specii diferite

2. **Superfamilia proteică** – grupează mai multe familii proteice ce au o **similaritate de secvență redusă, dar au conformații și funcții similare;**

3. **Fold (conformație) proteic(ă) –** grupează domeniile din mai multe familii ce **au aceleași elemente ale structurii secundare dispuse în aceeași ordine și conectate în aceeași manieră**. Proteinele din același fold **diferă** una de cealaltă prin **lungimea și structura tridimensională a zonelor ce conectează elementele de structură secundară**.

SCOP2

4. Clasa proteică – cuprinde proteine **cu diverse conformații dar care au în comun același tip de organizare a structurii secundare**. În SCOP2 au fost descrise 5 clase principale:

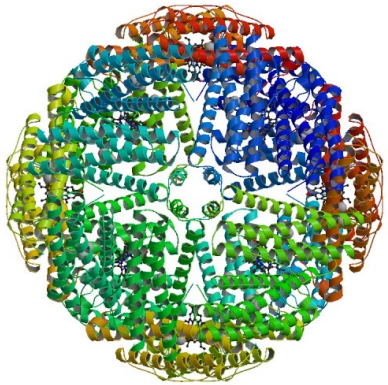
1. All-α – proteine/domenii proteice ce conțin numai structuri α-helicale;

2. All-β – proteine/domenii proteice ce conțin numai structuri β-pliate;

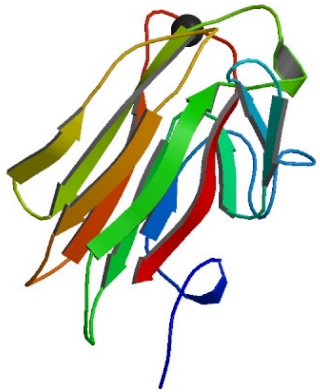
3. α/β - proteine/domenii proteice ce conțin structuri α–helicale alternând cu structuri β-pliate;

4. α+β - proteine/domenii proteice ce conțin structuri α-helicale și structuri β-pliate segragate;

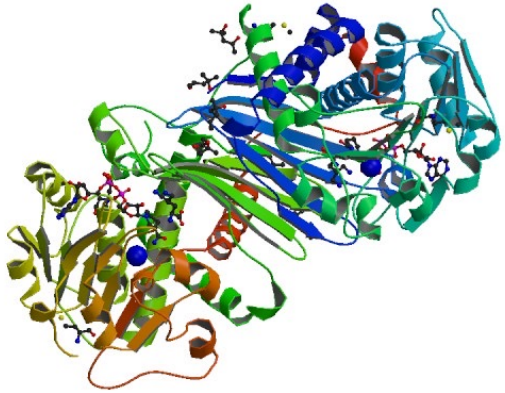
5. Small proteins – proteine de dimensiuni mici ce nu au elemente de structură secundară sau acestea sunt foarte mici.



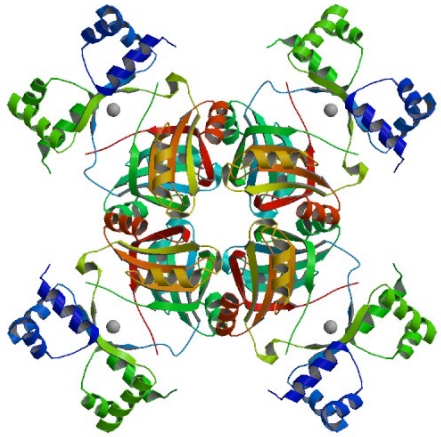
1F5N



2VMH

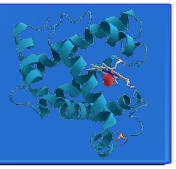


1X7D



2CG4

Clasa Small Proteins in SCOP2



Class

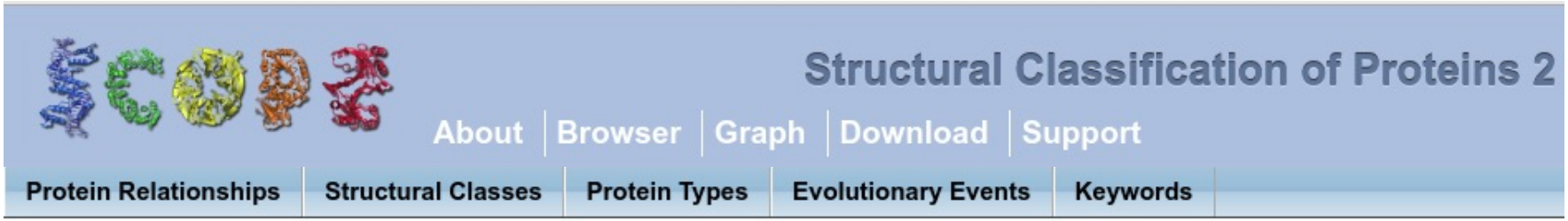
class Small proteins (1000004)
proteins with little or no secondary structures.
Derived from SCOP 56992

Children

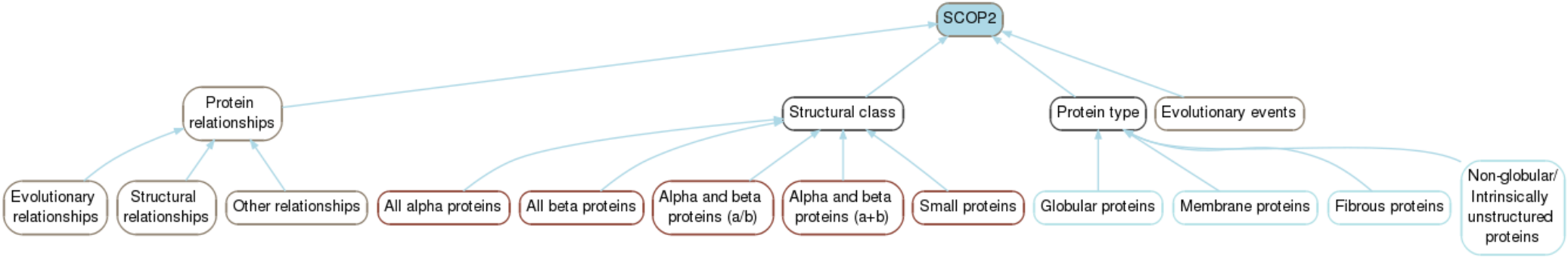
- fold GATA zinc finger-like (2000049)
  contains a beta-hairpin between the two pairs of zinc ion ligands and one or more turns of helix at the C-terminus
  Derived from SCOP 57715
- fold Rubredoxin-like (2000112)
  metal ion-binding fold comprising two beta-hairpins; each hairpin contains at its tip two metal ion-coordinating residues, usually, cysteines.
  Derived from SCOP 57769
- fold HypF zinc finger-like (2000160)
  coordinates zinc ion with two CxxC motifs, each motif is located at the N-end of a helical turn
  Derived from SCOP 55820
- fold DnaJ/Hsp40 cysteine-rich domain (2000953)
  metal(zinc)-bound extended beta-hairpin fold
  Derived from SCOP 57937
- iupr Calmodulin binding domain (CaMBD) (2001258)

SCOP2

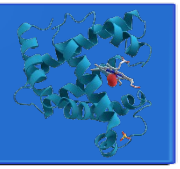
Scopul principal al SCOP2 este oferi o clasificare a tuturor structurilor tridimensionale proteice cunoscute. Clasificarea poate fi accesată prin prisma a 5 categorii distincte:



1. **Legătura** structurală sau evolutivă dintre proteine - aici se găsesc nivelele ierarhice de clasificare până la superfamilie;
2. **Clasa structurală** – echivalentul nivelului ierarhic clasă proteică;
3. **Tipul de proteină** – clasifică proteinele în **a. proteine globulare**, **b. proteine membranare, c. proteine fibrilare** și **d. proteine fără structură secundară;**
4. Evenimente evolutive specifice și de amploare ce au dus la apariția unei proteine date;



Baza de date CATH



O bază de date ce realizează clasificarea **SEMI-AUTOMATĂ** a domeniilor proteice prin analiza **SIMILARITĂȚII** la nivel de secvență și evaluarea **VIZUALĂ** a topologiei. Cele **4 nivele ierarhice** de organizare sunt similare, dar nu identice cu cele din SCOP2.

Nivele ierarhice de clasificare a proteinelor in CATH:

1. **Clasa proteică** – este dată de **tipul predominant de structuri secundare**. În CATH au fost descrise 3 clase:

-**Predominat alfa** – domenii ce conțin majoritar structuri α-helicale;
-**Predominat beta** – domenii ce conțin majoritar structuri β–pliate;
-**Alfa-beta** – domenii ce conțin ambele tipuri de structuri majoritare α-helicale și β–pliate;

2. **Arhitectura proteică** – este dată de **modul în care structurile secundare sunt poziționate în spațiu** fără a se ține cont de conformația secțiunilor de legătură dintre structurile secundare;

3. **Topologia proteică** – este dată de **modul în care elementele structurii secundare sunt interconectate** între ele. Două domenii pot avea aceeași arhitectură (accesași orientare a structurilor secundare în spațiu), însă dacă ordinea de conectare a structurilor secundare este diferită vor face parte din topologii diferite.

4. **Superfamilia omoloagă** (Homologous superfamily) -

Baza de date CATH

4. Superfamilia omoloagă (**H**omologous superfamily) – sunt grupate domenii între care există relații evolutive ce sunt dovedite prin similitudini la nivel de secvență, structură sau funcție. În cadrul unei superfamilii, domeniile sunt grupate în familii funcție de identitatea la nivel de secvență (35, 60, 95, 100%)

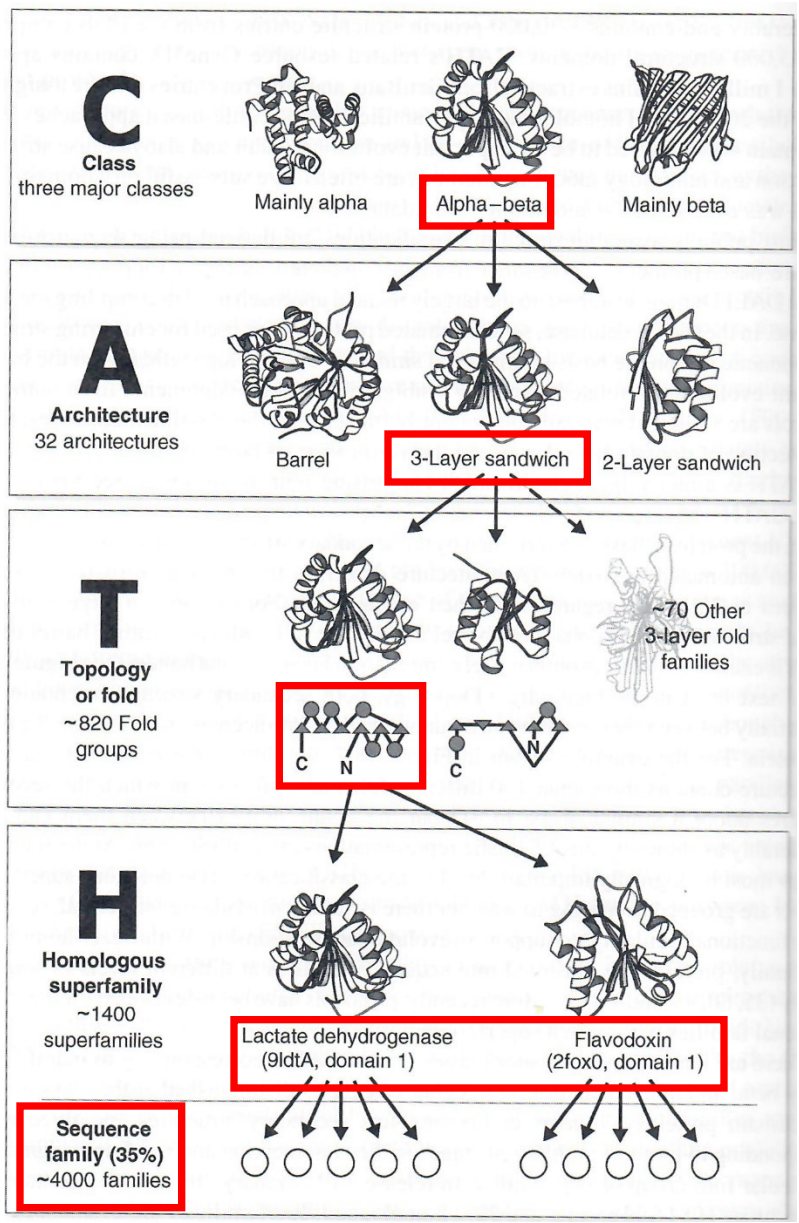
Ex. de clasificare in CATH:

Clasa Alfa-beta din CATH conține 3 **arhitecturi** distincte printre care și **arhitectura sandwich-ului tristratificat**.

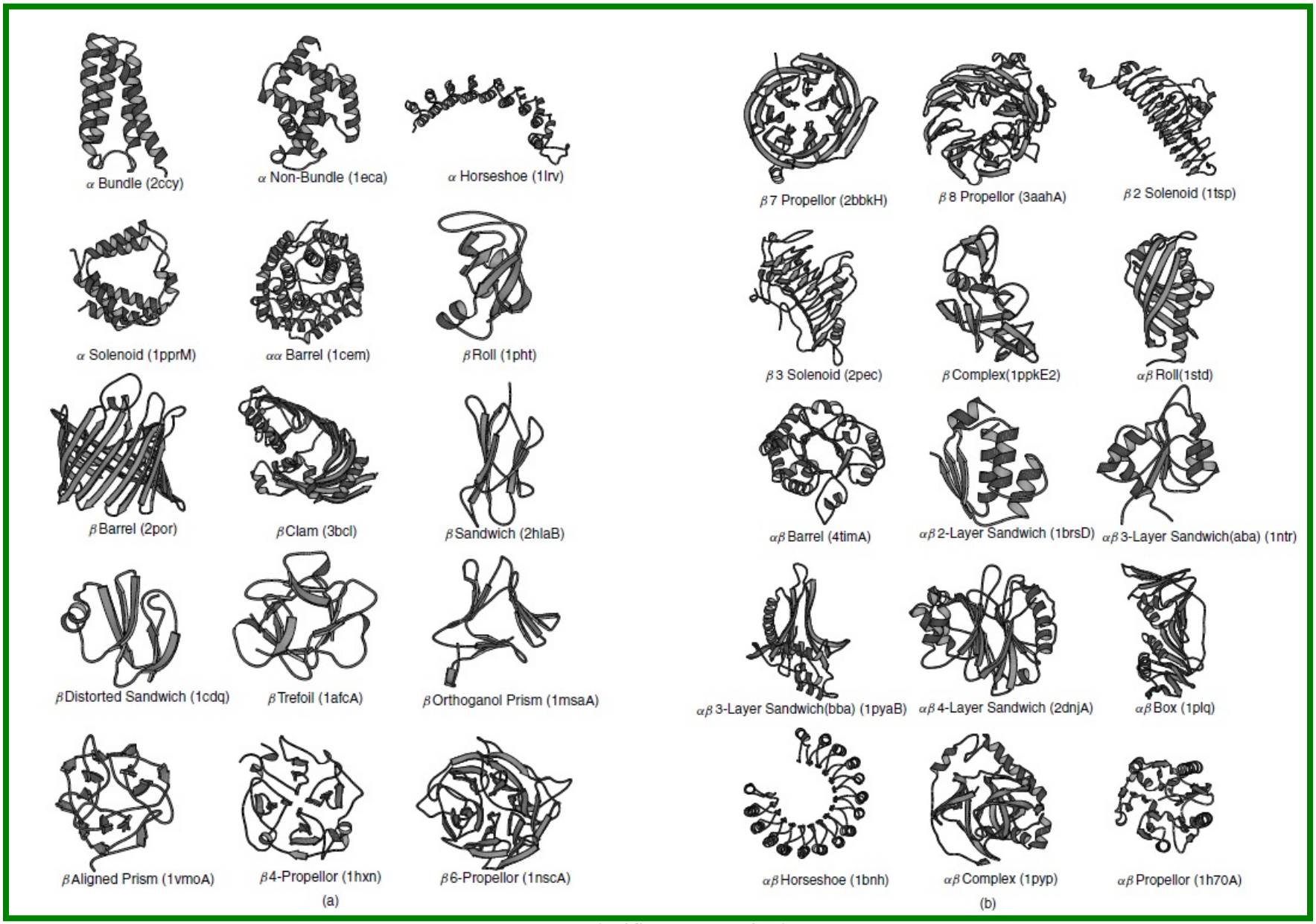
Această arhitectură poate fi realizată prin combinarea și aranjarea în 72 de moduri a structurilor secundare **– 72 de topologii** diferite pentru aceeași arhitectură. Două dintre topologii sunt reprezentate.

Aceeași topologie poate fi realizată de **domenii ce diferă unul de celălalt la nivel de secvență sau funcție**. În exemplul dat două proteine cu aceeași topologie dar cu funcție diferită – două superfamilii diferite.

Aceași funcție poate fi realizată de secvențe diferite, între care există un nivel de similaritate – lactat dehidrogenaza (aceeași enzimă) din diverse specii (alte secvențe)

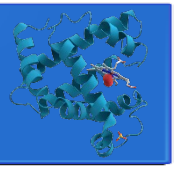


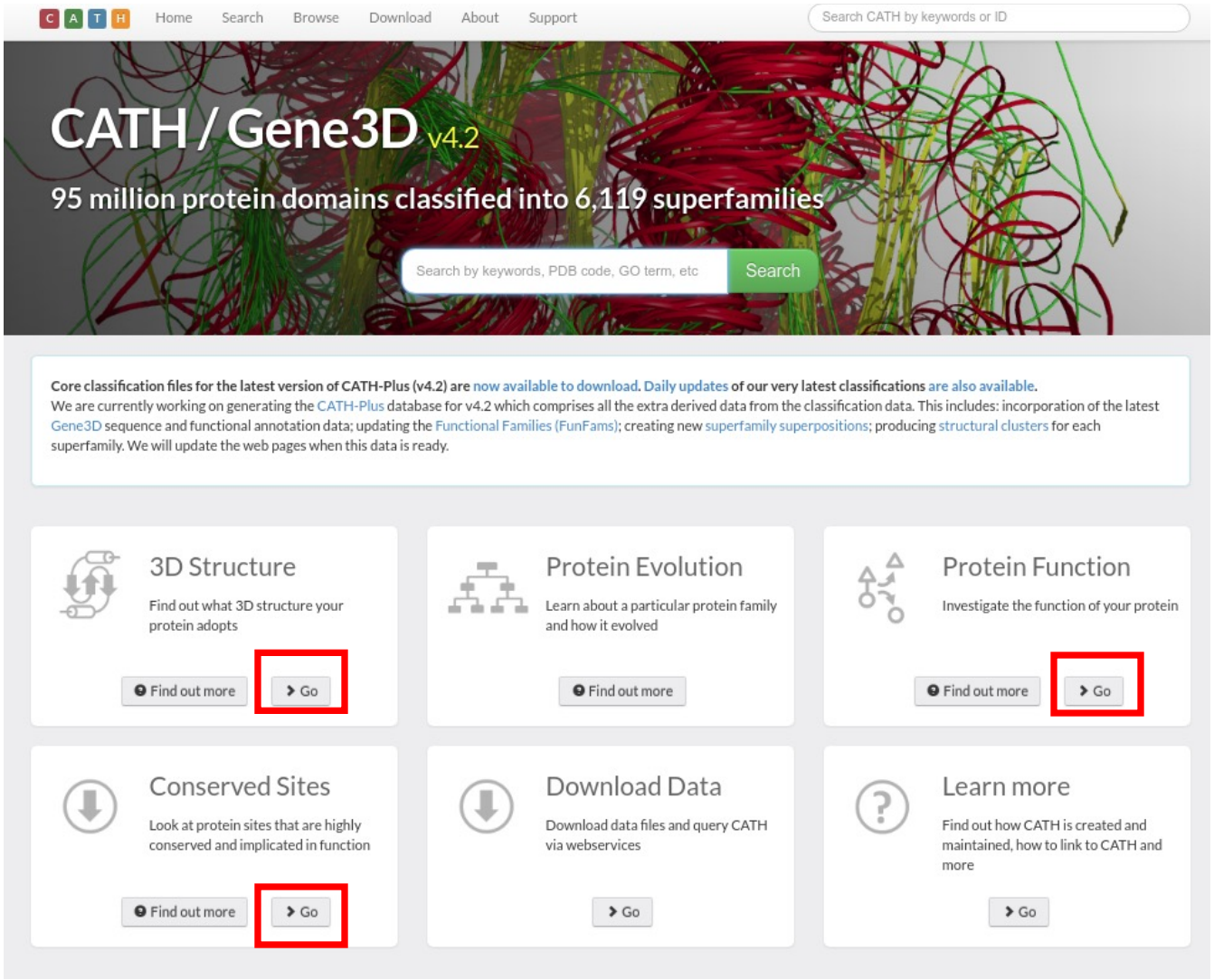
Arhitecturile majore din baza de date CATH



Accesarea bazei de date CATH

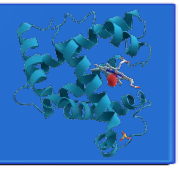
http://www.cathdb.info/





Spre deosebire de SCOP2, CATH oferă posibilitatea de a clasifica o proteină de interes plecând de la secvență (Aplicație la seminar)

La ce este utilă clasificarea proteinelor?



Similaritatea la nivel de secvență este utilă și poate fi folosită pentru a stabili funcția unei proteine dacă:

1. Există un nivel de identitate la nivel de secvență între secvența țintă și cea subiect suficient de mare (cele 2 secvențe sunt apropiate d.p.v. evolutiv).
2. Există date experimentale privind funcția secvenței subiect.

În cazul în care una din condițiile de mai sus nu este îndeplinită, BLAST este lipsit de semnificație.
Suplimentar, BLAST analizează secvența proteică per ansamblu și nu face distincție între diversele domenii ale unei proteine.

Prin stabilirea structurii terțiare a unei proteine necunoscute, alocarea domeniilor și stabilirea nivelelor ierarhice cărora aparține, se pot afla informații legate de funcția sa prin analogie cu proteine mult mai îndepărtate evolutiv.

Rolul unei proteine este dată de:

1.Amplasarea celulară – în citosol, integrată în membrană, atasată de membrană – **clasa și fold-ul în SCOP2, clasa și arhitectura în CATH;**

2.Funcția – enzimă, proteină structurală - **fold-ul** în SCOP2, **arhitectura** în CATH;

În cazul enzimelor:

3. Reacția generală catalizată – Superfamilia în SCOP2, **topologia și superfamilia** omoloagă în CATH;

4. Substratul asupra căruia acționează – poate fi indicat de **familie** în SCOP2 și CATH, dar frecvent nu poate fi dedus prin simpla clasificare a domeniilor.