

Visualização do sítio de ligação ao oxigênio da mioglobina utilizando a ferramenta PyMol

A mioglobina consiste em um único polipeptídeo de 153 resíduos de aminoácidos com uma molécula heme. A mioglobina é formada por oito segmentos α -hélices conectados. O heme está ligado em um bolsão.

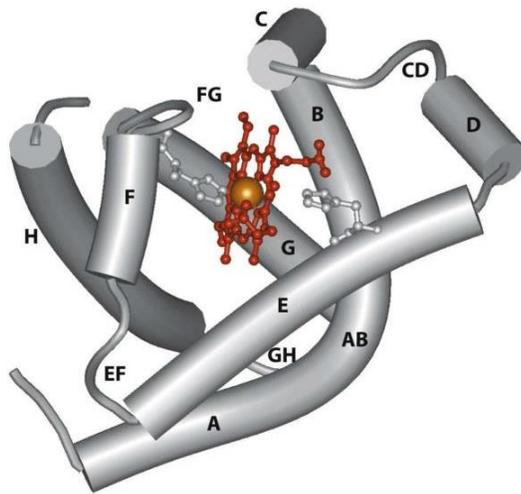


Figure 5-3
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

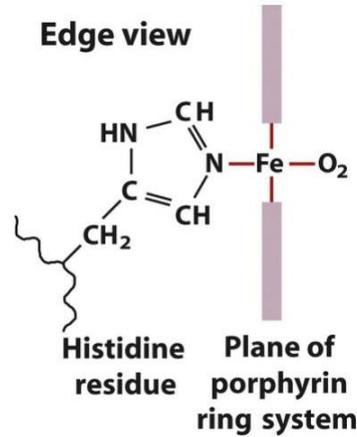
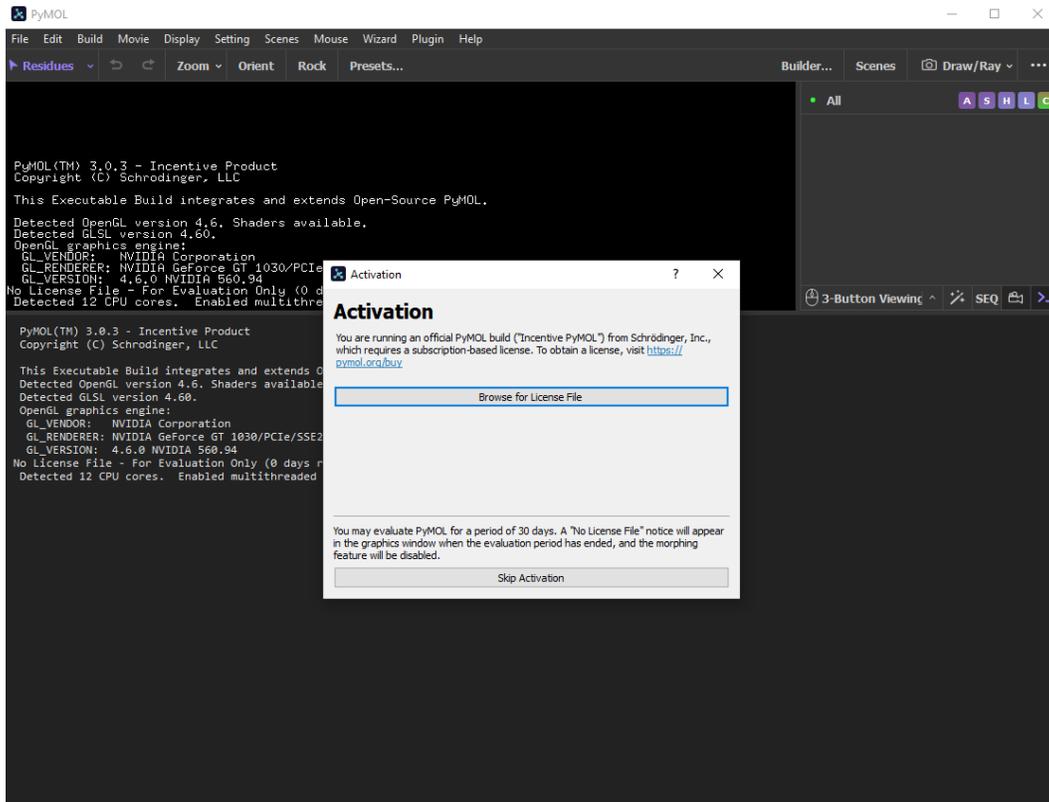


Figure 5-2
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

1. Para sua visualização da estrutura, baixe e abra o aplicativo gratuito PyMOL (<https://pymol.org/>) em seu computador.

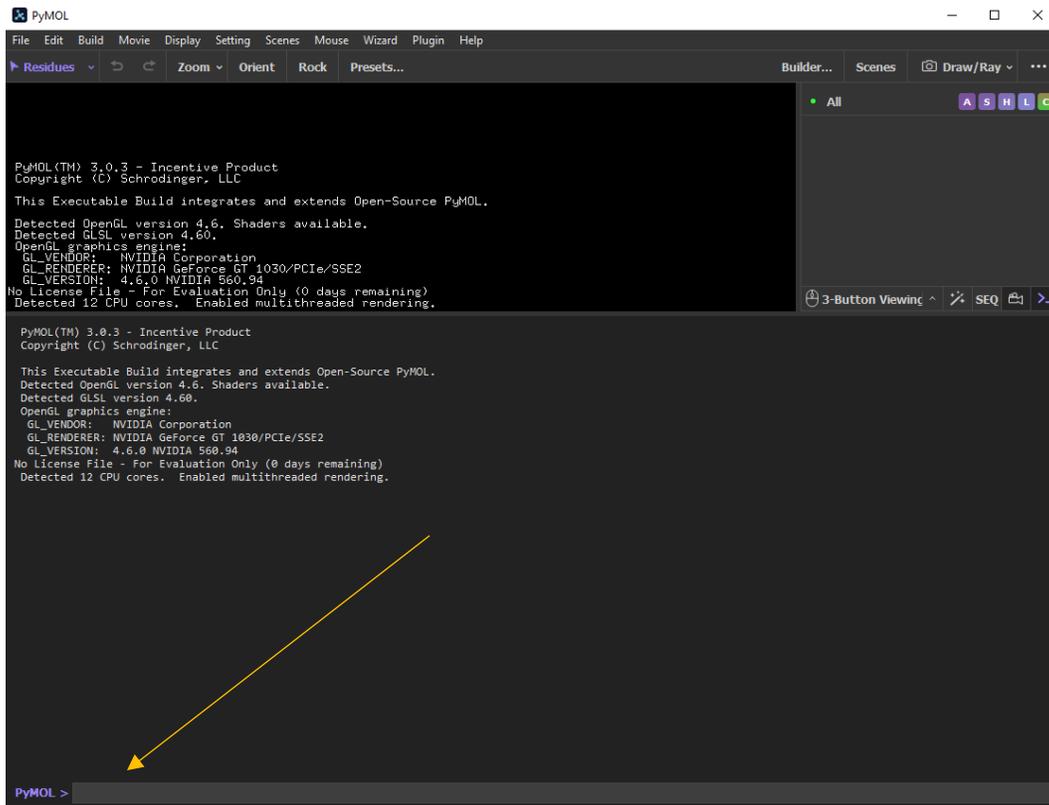
Interface PyMol 3.0.3



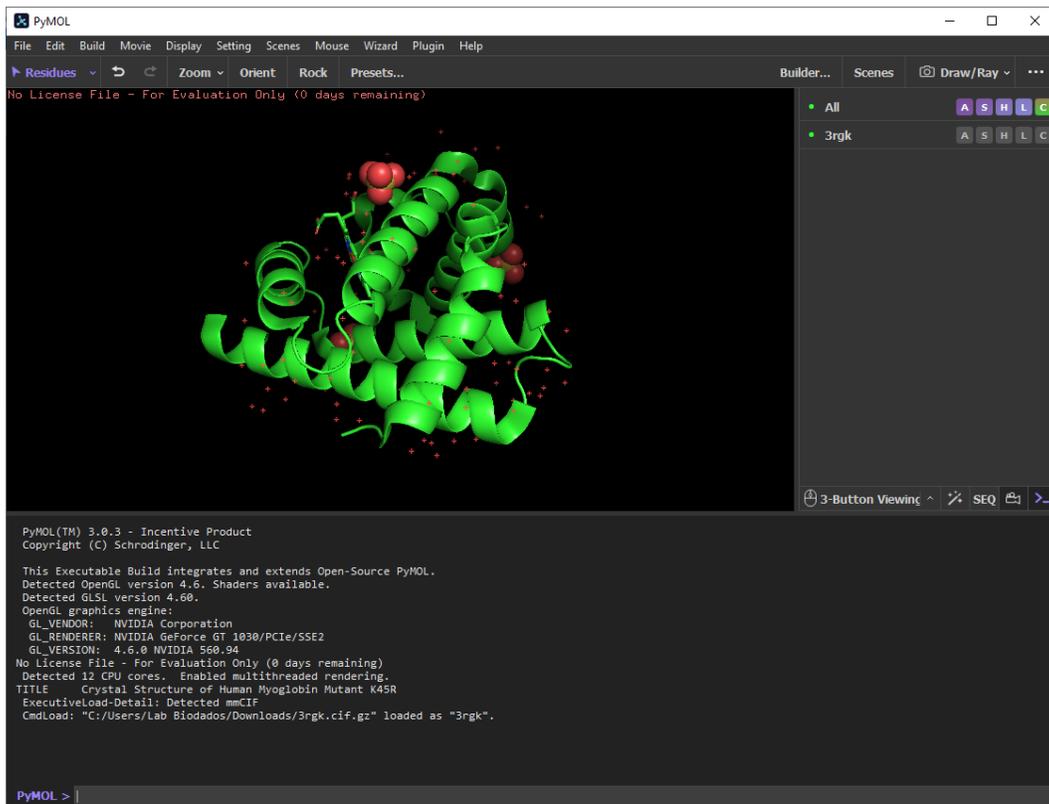
2. Feche a aba de **Activation** e escolha uma estrutura da mioglobina do banco de dados PDB (<https://www.rcsb.org/>). Para esta aula iremos usar o modelo de mioglobina humana (código: 3RGK). Para baixar a estrutura, clique na busca do site PDB e coloque o código escolhido, em seguida clique em **Download Files** no canto superior direito da aba.

3. Após baixar a estrutura você pode abri-la no PyMol clicando em **File, Open..**

Ou diretamente pela linha de comando do programa PyMol (mostrada pela ponta da seta em amarelo na imagem abaixo) digitando **load 3rgk.cif**. Também existe a opção de fazer o download e abrir a estrutura diretamente da linha de comando do programa sem precisar baixar do site digitando **fetch 3rgk**.

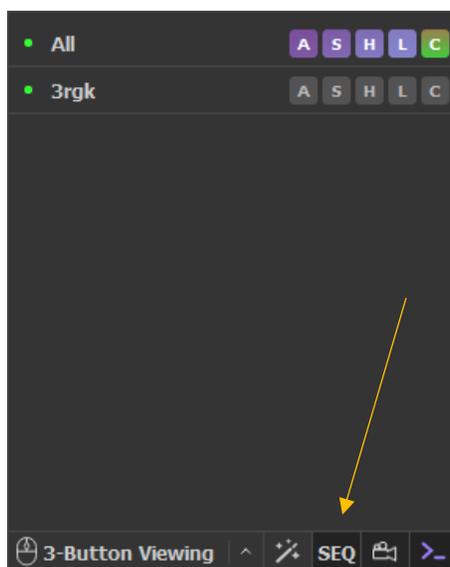


A estrutura irá aparecer assim:



4. Com o mouse é possível alterar o zoom da molécula utilizando o botão direito. Clique, segure e arraste para alterar o zoom. Com o botão esquerdo do mouse, clique, segure e arraste para mudar o plano de visualização (gira a molécula em um ponto fixo). E com o botão de rolagem do meio do mouse, clique, segure e arraste para movimentar a molécula de lugar, ou só role para ter planos de profundidade.

5. Para um trabalho mais preciso, clique em **SEQ** (no lado direito da tela, ponta da seta amarela na imagem abaixo) para visualização da sequência da estrutura e seus elementos que irá aparecer uma barra na parte superior da janela que você pode movimentá-la até o final para explorar todos os seus componentes, facilitando a seleção de elementos.



6. No menu de comandos, parte superior da imagem anterior, há um conjunto de botões:

A = Action: renomeia, duplica, remove, executa cálculos etc.

S = Show: altera a visualização da estrutura, por exemplo em modo stick ou em cartoon.

H = Hide: oposto ao **S**, ele oculta representações.

L = Label: nomeia átomos, resíduos etc.

C = Color: altera cor dos átomos e/ou cadeias etc.

Clique com o mouse em cada uma para conhecer um pouco melhor.

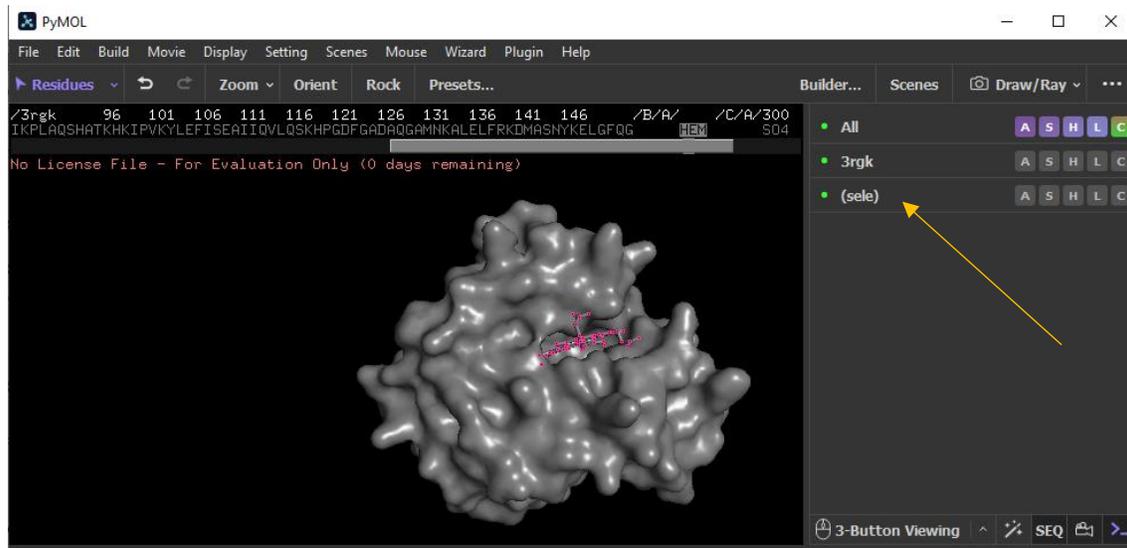
7. Agora iremos remover as águas da estrutura. Clique em **A > remove waters**.

Tudo que iremos fazer com o mouse, é possível realizar diretamente na linha de comando com códigos simples. Neste tutorial iremos trabalhar mais com o mouse e menos com a linha de comando. Para mais informações, acesse o link de documentações do programa <https://pymol.org/dokuwiki/>.

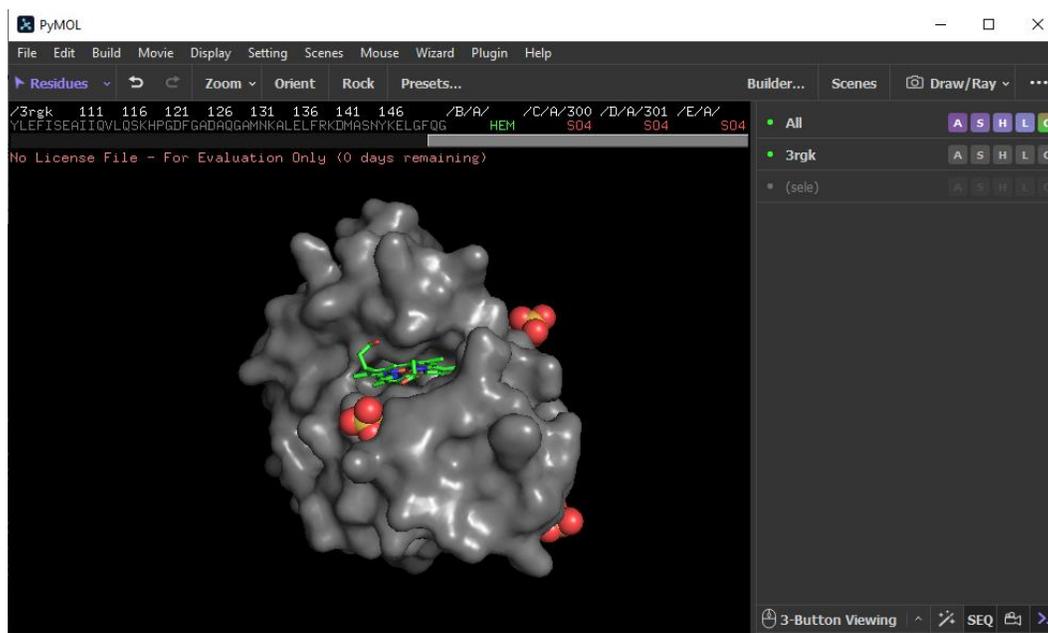
8. Agora iremos mudar o formato de representação atual que está em **cartoon** para o formato **surface**. Para isso ocultaremos o tipo de representação clicando em **H > everthing** e mostraremos em **surface** clicando em **S > surface**. Iremos trocar a cor da mioglobina para cinza em **C > grays > gray50**.

9. Vamos selecionar o grupo heme no final da barra de rolagem da sequência e mostrá-lo em representação **sticks** clicando em **S > sticks**. Fique atento quando selecionamos um elemento ou trechos de sequências devemos usar o menu de comando da região (**sele**) (mostrado pela seta amarela), caso contrário, modificaremos toda a estrutura trabalhando com a linha de comando na parte superior descrito como **All**, que não é o objetivo neste momento.

10. Mudaremos a cor do grupo heme clicando em **C > by element > escolha uma das representações de cor.**

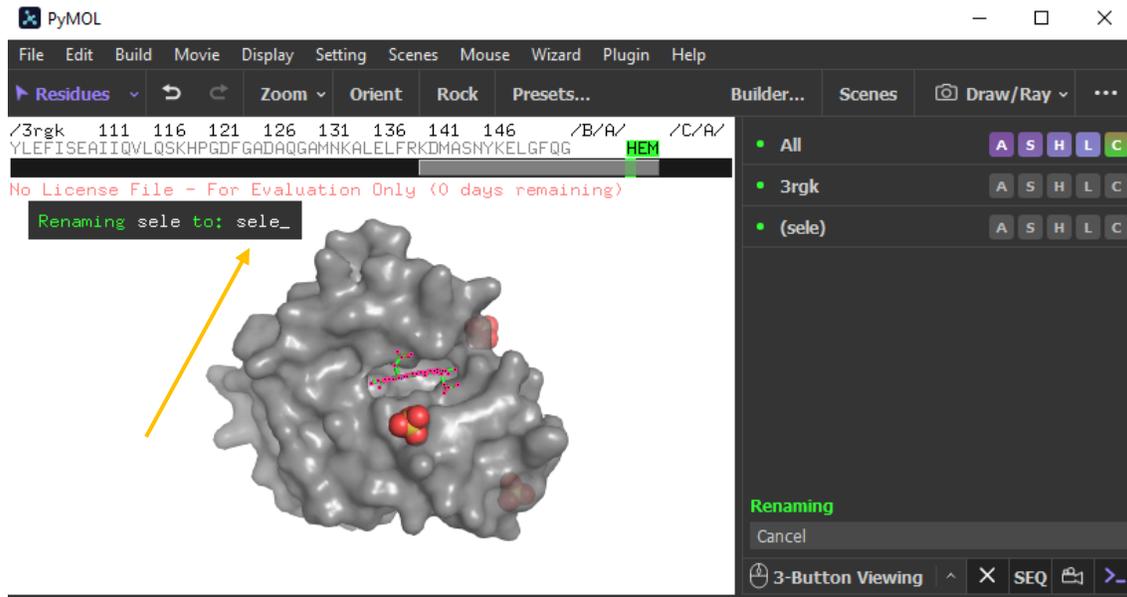


11. Neste momento vamos selecionar todas as moléculas **S04** e clicar **S > spheres** para sua representação e cor em **C > by element > e uma cor desejada.**

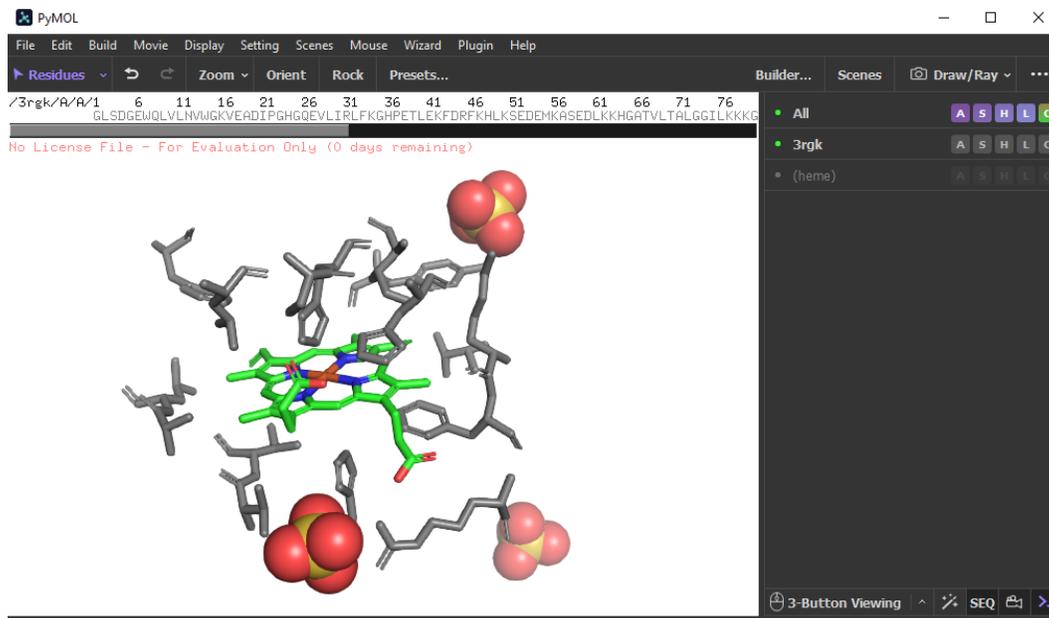


12. Vamos modificar o fundo preto para um fundo branco na barra de ferramentas na região superior da tela, clicando em **Display > Background > White**. Iremos deixar a estrutura da mioglobina com um pouco de transparência clicando na barra de ferramentas em **Setting > Transparency > Surface > 20%**. Melhore a qualidade da imagem em **Display > Quality > Reasonable Quality**.

13. Para mostrar os resíduos (em formato **sticks**) interagindo com o ligante, iremos selecionar o grupo **HEM** no final da barra de rolagem e no menu de comandos do **(sele)** iremos clicar em **A > rename selection > digitar heme** (mostrado na figura abaixo na ponta da seta amarela). Você irá notar que o menu de comandos do **(sele)** mudará de nome para o novo digitado.

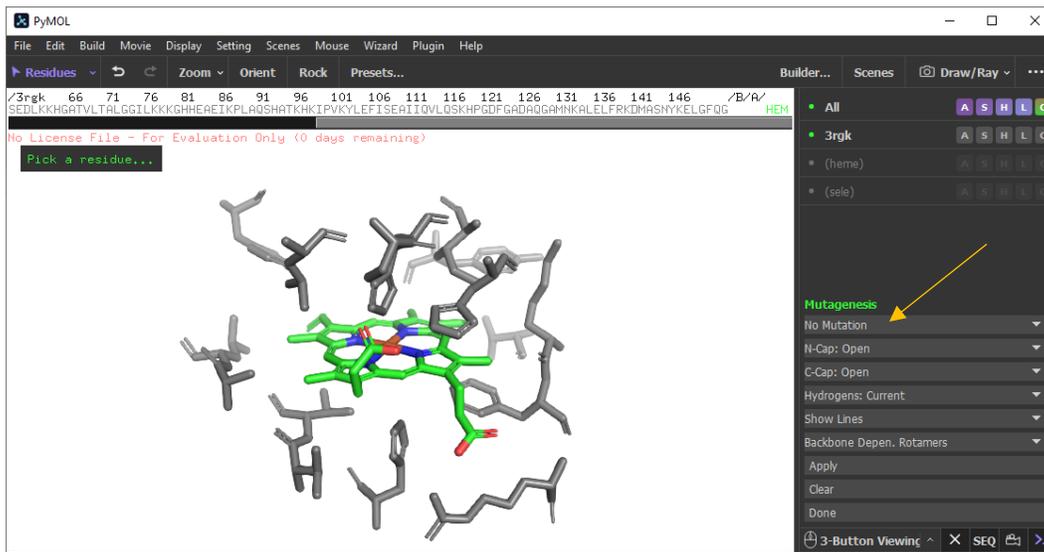


14. Na linha de commando digite: **show sticks, byres all within 4 of (heme)**. Irá aparecer os ligantes que interagem com o grupo heme até 4 angstroms. Você mesmo pode escolher a distância de corte trocando 4 por outro valor. Iremos ocultar a estrutura da mioglobina em **surface** e deixar somente os resíduos que estão até 4 angstroms de distância do grupo heme, representados em **sticks**. Para isso, na barra de comando **All** iremos digitar **H > cartoon**.

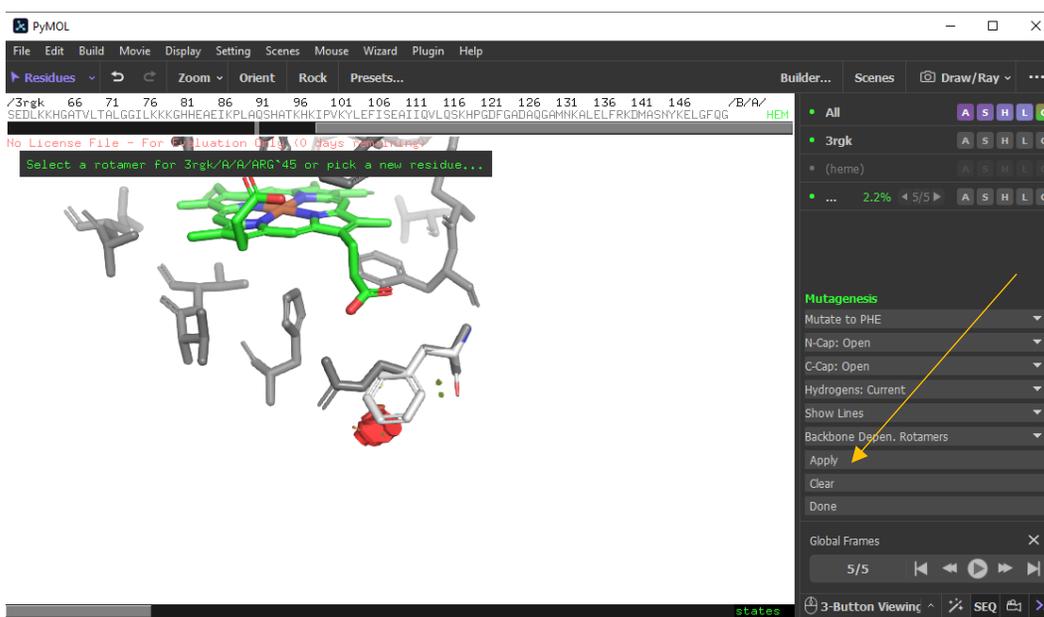


15. Vamos selecionar os grupos de **S04** e removê-los em **A > remove atoms**.

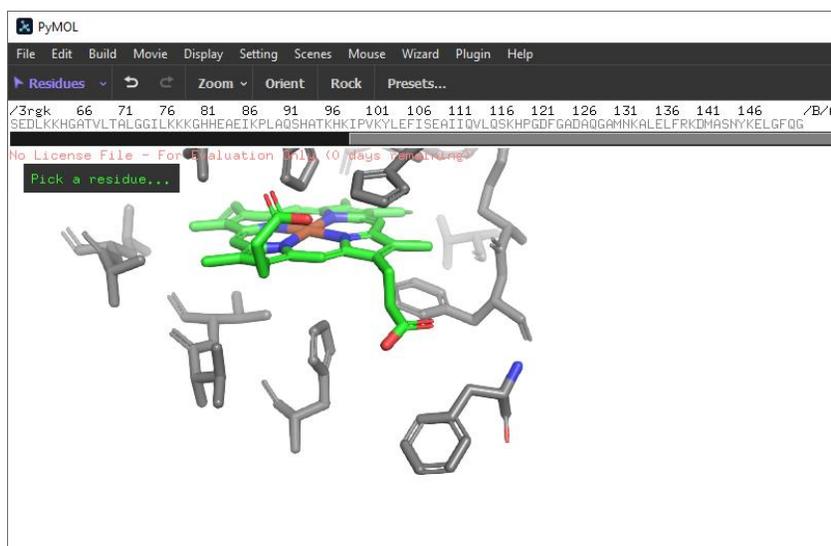
16. Podemos mutar um destes resíduos, modificando-o por outro. É muito simples, na barra de ferramentas vamos em **Wizard > Mutagenesis > Protein**. Irá aparecer uma barra de funções do lado direito. Em **No Mutation** (seta amarela) escolha o resíduo que quer realizar a troca. A opção escolhida foi PHE (fenilalanina).



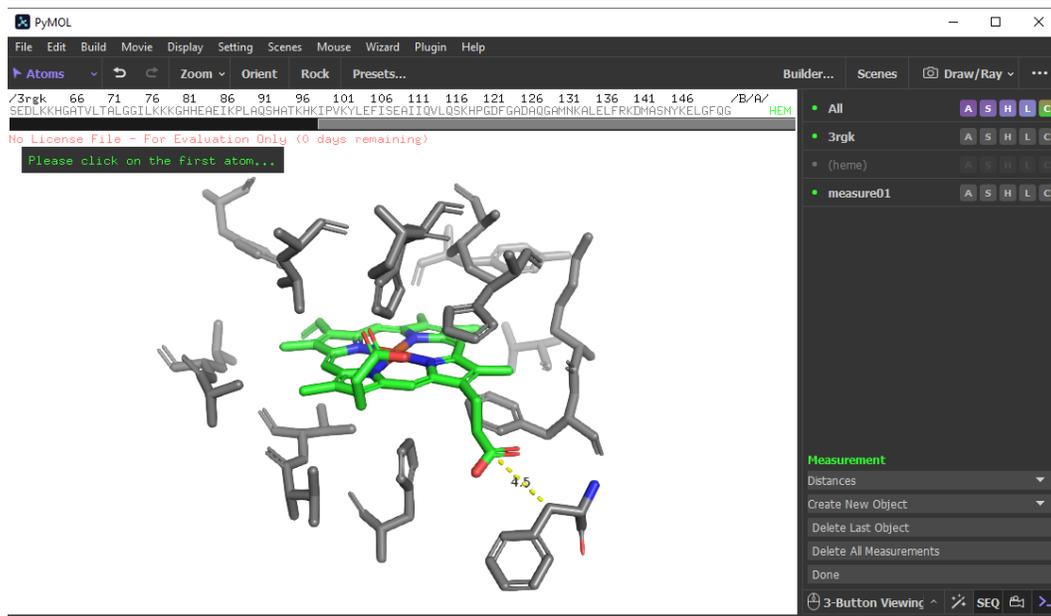
17. Após escolher o resíduo que novo, escolha qual você modificar selecionando-o. Feito isto, é só clicar em **Apply** (seta amarela) e em seguida em **Done** (logo abaixo).



E um novo resíduo foi substituído.



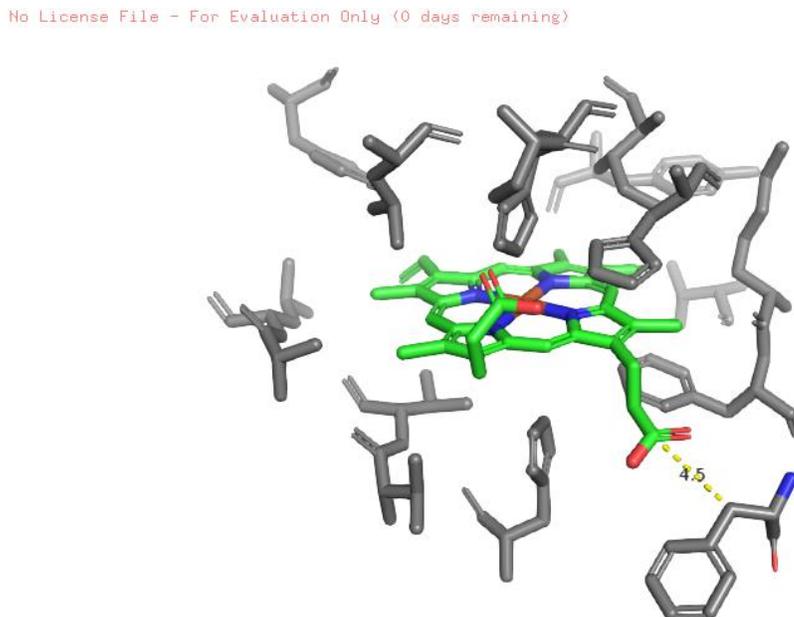
18. Podemos calcular a distância deste resíduo do grupo heme digitando na barra de ferramentas (parte superior) **Wizard** > **Measurement** e clicamos nos dois objetos que vamos medir a distância em angstroms. Depois de escolhido, clique em **Done** para encerrar a função.



19. Por fim iremos salvar essa imagem como figura na barra de ferramentas clicando em **File** > **Export Image As** > **PNG...**

Clique em **Save PNG image as...**

Assim fica nossa imagem final para este exemplo:



20. Agora tente fazer sozinho, trabalhando com DNA polimerase e um trecho de DNA utilizando o código PDB: 9ENP.

Bom trabalho!