

Visualización de Estructuras proteicas con Pymol

PyMOL es un programa opensource de visualización molecular para representación y animación de estructuras moleculares en 3D. Es mantenido y distribuido por Schrödinger.

Instalación

→ Incentive PyMOL

Schrödinger provee una versión paga precompilada (Windows, MacOSX y Linux), que incluye algunos plugins preinstalados y algunas facilidades para hacer minimizaciones energéticas, además de soporte técnico. También provee una versión educacional (suelen ser versiones más viejas), previo registro. Descarga : <http://pymol.org/download>

→ Opensource PyMOL, precompilados en repositorios de Linux

PyMOL está en el repositorio de varias distribuciones de Linux, sin embargo no suele ser la última versión disponible. En Ubuntu, puede instalarse con:

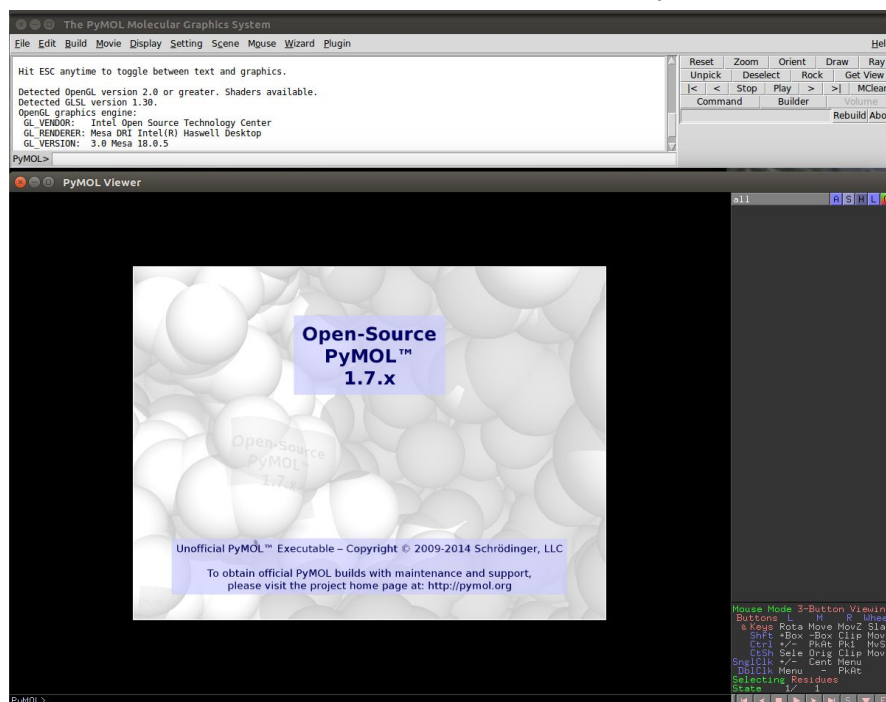
`sudo aptget install pymol`

Interfaz gráfica

Suponiendo que tenemos la ruta de PyMOL en nuestro \$PATH, podemos llamarlo desde consola estando parados en cualquier carpeta, simplemente con:

`pymol`

Esto abrirá dos ventanas, el External GUI (arriba) y el visualizador (abajo):





Panel de control de objetos y demás botones

En el aparecerán los objetos (moléculas, selecciones, y otro tipo de objetos) que estén cargados a la izquierda en el visualizador. Luego del nombre de cada objeto, hay una lista de botones de comandos que controlan a cada objeto, con algunas de las siguientes opciones:

A (Actions): renombrar, duplicar, remover, aplicar, hacer algunos cálculos como alineamiento y distancias, hacer zoom, centrar, etc.

S (Show): muestra el objeto con distintas formas de representación (balls and sticks, cartoon, mesh, surface, etc)

H (Hide): Oculta (no elimina) objetos

L (Label): Etiqueta átomos, residuos, etc. con distintas nomenclaturas

C (Color): cambia los colores del objeto, según distintas propiedades: tipo de átomo, estructura secundaria, N o C terminal, bfactor, etc.

Las acciones de estos botones se pueden realizar con comandos por consola.

S (sequence): permite mostrar u ocultar la secuencia de los objetos que estén activos, dentro del área de visualización

F (fit): ajusta a modo pantalla completa

Explorar una proteína de interés

1. Descargar de PDB y visualizar la estructura de albúmina Bovina con el comando:
`fetch 3V03`

Esto descarga el archivo pdb en la carpeta actual donde ejecutamos PyMOL. Observar que en el panel de objetos, aparece `3V03`.

PARA PENSAR: ¿Qué función cumplen las albúminas en el suero?

2. Movimientos: Identificar las acciones del mouse rotando, trasladando, haciendo zoom y “clipping” en la molécula.
3. Representación, colores, etiquetas: La representación por defecto de las cadenas peptídicas y de los ligandos (pequeñas moléculas) es en *lines*. La estructura `3V03` incluye una cadena A, una cadena B, un ión de `Ca`, un ión `ACT`, y los `O` de moléculas de agua del solvente. Utilizando los botones en el Panel de Objetos:
 - a. cambiar la representación de la proteína a cartoon y colorear por cadena y luego por estructura secundaria.
 - b. Seleccionar los iones y representarlos como *nbspheres*.
 - c. Ocultar los O de agua.

PARA PENSAR: ¿De dónde proviene la estructura que están analizando? ¿Pueden ir a la fuente para obtener información acerca de las moléculas `Ca` y `ACT` (sus características químicas y por qué se encuentran en dicha estructura?

4. Secuencia y Selección. Mostrar la secuencia. Seleccionar el residuo 221 en la secuencia y resaltarlo en la estructura pintándolo de otro color y representarla como *sticks*.
5. Cambiar color de fondo: El color de fondo y su transparencia se puede cambiar desde Display → Background
6. Guardar la sesión: Para guardar todo el trabajo hasta el momento: los objetos tal cual se los ve representados, coloreados, sobre un determinado color de fondo, etc, ir a File → Save Session As... . Esto genera un archivo *.pse, que luego podrá ser cargado nuevamente (File → Open).
7. Comando útiles: Cargar la estructura 1A06. Luego utilizar los siguientes comandos para remover las aguas y representar las estructuras en *cartoon*:

```
#remover átomos cuya propiedad nombre de residuo sea hoh  
remove resn HOH  
#ocultar todas las representaciones  
hide all  
#mostrar todo como cartoon (solo se mostrarán las secuencias proteicas)  
show cartoon, all
```

8. Seleccionar de la estructura 1A06 mostrarla como cartoon, seleccionar los residuos 199 y 222 y colorearlos y mostrarlos como sticks.
9. Separar las estructuras por cadenas con el comando *split_chains*

```
#separar las cadenas de todas las moléculas actualmente cargadas, en distintos  
objetos  
split_chains
```

10. Siguiendo con la sesión obtenida en el paso anterior, podemos observar que ambos pdb's son muy similares entre sí aún cuando provienen de especies distintas.

PARA PENSAR: ¿Cómo podríamos comparar ambas estructuras para encontrar similitudes, dominios o motivos en común?

11. Alineamiento estructural: ¿Cómo hacer para alinearlos? Primero, hay que separar cada cadena en un nuevo objeto, no nos sirven los objetos de selección antes creados. Luego, alineamos todas contra una, usando *extra_fit*. Hay varias formas de alinear todos contra uno, pero esta permite elegir entre varios algoritmos de alineamiento de pares:
 - a. align: se emplea cuando las estructuras a alinear poseen muy buena similitud de secuencia, recomendado para alinear cópulos
 - b. super: recomendado cuando hay una decente similitud estructural, pero baja similitud de secuencia

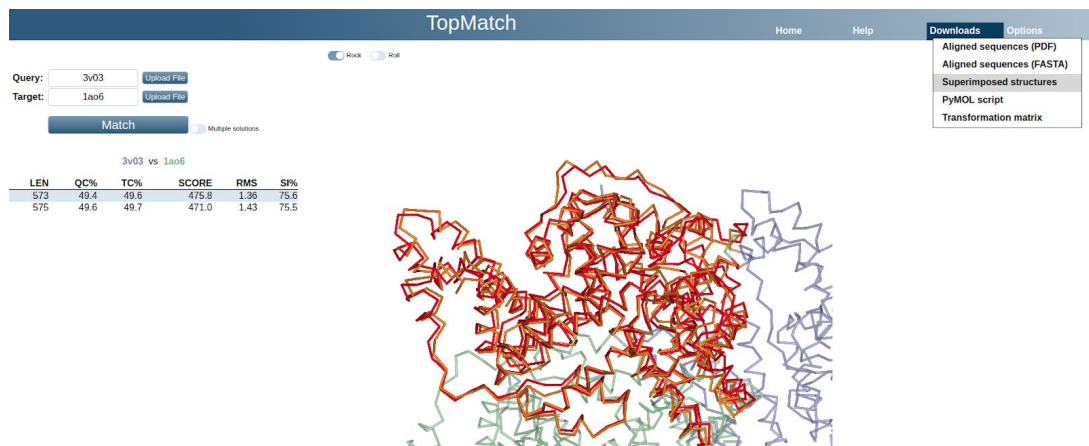
- c. cealign: se emplea cuando las proteínas tienen muy baja similitud de secuencia

#alinear todas contra 1A06_A, empleando CA, algoritmo align y generando el objeto con el nombre all_to_1A06_alignCA

extra_fit name CA, 1A06_A, align, object=all_to_1A06A_alignCA.

PARA PENSAR: De la observación de las posiciones seleccionadas en las estructuras ¿Qué observa? ¿Qué algoritmo utiliza Pymol para alinear estructuras? ¿Qué significa el valor de RMS que calcula el Pymol y qué limitaciones tiene?

12. Alinear las estructuras utilizando el servidor de TopMatch (<https://topmatch.services.came.sbg.ac.at/>) y comparar con los resultados obtenidos con Pymol, descargando las estructuras superpuestas para poder visualizarlas con Pymol. Para ello, abrimos nuestro pdb descargado desde File → Open → pdb file.



PARA PENSAR: ¿Qué significa el valor de RMS que calcula TopMatch? ¿Es comparable con el que arroja Pymol?