

Практический семинар

Визуализация структур в UCSF Chimera

Данила Яковлев

2018

Аннотация

Количество доступных трехмерных структур биомолекул постоянно увеличивается и современная биохимическая работа все чаще требует не только «мокрых» экспериментов, но и анализа структуры изучаемого объекта. При этом, наглядное представление трехмерных объектов на бумаге – задача не всегда тривиальная. Хорошая картинка может существенно сократить текст статьи, а плохая – наоборот, запутать читателя.

Практический семинар «Визуализация структур в UCSF Chimera» длительностью 2 академических часа поможет студентам научиться подготавливать качественные иллюстрации для научных работ. На семинаре будут рассмотрены основные приемы работы с программой UCSF Chimera¹:

1. различные форматы файлов со структурами белков и ДНК;
2. где их можно получить и как открыть в химере;

¹<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>

3. освещение (одно-, двух- и трехточечное, изотропное), цвет фона;
4. способы отображения биомолекул (полноатомный, *ribbon*, поверхности);
5. выделение элементов структуры, именованные группы атомов, отображение/скрытие элементов структуры;
6. структурное выравнивание;
7. раскраска: по атрибутам, радуга;
8. поиск водородных связей и межатомных контактов, построение поверхностей *SAS*, *SES* и *VdW*;
9. прозрачность, сечения и вид в разрезе;
10. сохранение полученной иллюстрации, виды доступной трассировки лучей.

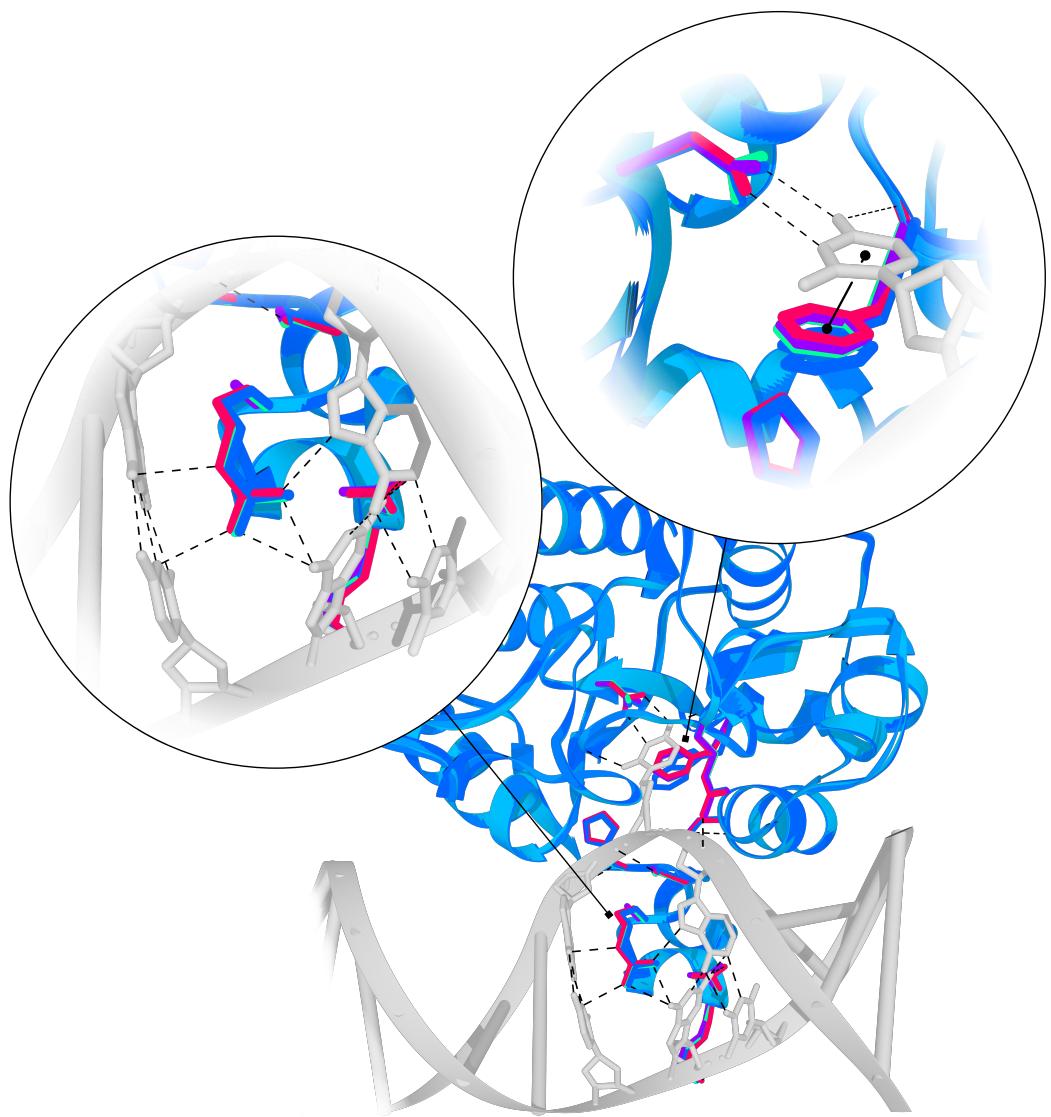


Рис. 1: Пример иллюстрации подготовленной с помощью UCSF Chimera.

1 Виды структур и как их получить

Основные форматы структур больших биомолекул – PDB и mmCIF. Оба формата текстовые, с определенным синтаксисом². Формат PDB считается устаревшим, но все еще широко используется. Если вы начинаете новый проект, связанный со структурами биомолекул, лучше использовать mmCIF там, где это возможно, так как этот формат устойчивее к ошибкам и позволяет хранить больше метаданных.

Малые молекулы, например, метаболиты, коферменты и лекарственные препараты тоже можно закодировать в PDB, но еще довольно часто встречаются форматы: MOL2, XYZ и односторонники (SMILES и SYBYL Line Notation)

Чаще всего, структура, с которой вы работаете, уже содержится в какой-нибудь базе данных и иметь файл с ней необязательно, достаточно знать идентификатор (PDB ID, например) – Химера сама загрузит всю необходимую информацию с сервера БД.

Распространенные базы данных структур биомолекул:

- PDB (RCSB, PDBe, PDBj) – структуры белков;
- NDB – структуры нуклеиновых кислот;
- SCOP2 и CATH – эволюция белков, структурные семейства, домены, укладка белков;
- EMDB – электронная микроскопия.

Базы данных малых молекул

- PubChem – база данных химических соединений от NCBI;
- ChEMBL и ChEBI – база данных и онтология биомолекул от EBI;

²Документация: <https://www.wwpdb.org/documentation/file-format>

- ZINC – база данных коммерчески доступных соединений (оптимизирована для виртуального скрининга);
- CCDC – кембриджская кристаллографическая база данных;

Задание 1

1. Запустите Химеру.

2. *Загрузим структуру с сервера PDB:*

В меню `File > Fetch by ID...` выберите пункт `PDB (mmCIF)`, введите `1UWH` и нажмите `Fetch`.

Должна открыться структура белка BRAF дикого типа.

3. *Теперь откроем обычный PDB-файл:*

В меню `File > Open...` откройте файл `braf_v600e.pdb`.

К уже открытой структуре белка BRAF WT добавилась структура мутантной формы BRAF V600E.

4. Выведите список моделей `Tools > General Controls > Model Panel`.

Сколько моделей открыто? Сколько из них активно? Попробуйте скрыть и снова показать модель.

2 Общие настройки внешнего вида

По умолчанию структуры в химере рисуются на черном фоне, а иллюстрации для журнала удобнее делать на белом. Быстрее всего поменять фон можно, выбрав одну из предустановленных настроек отрисовки молекул.

Задание 2.1

В меню `Presets` выберите пункт `Publication 1 (silhouette, rounded ribbon)`. Что изменилось? Попробуйте выбрать другие опции.

Внешний вид сцены можно настроить более детально:

Задание 2.2

1. В панели `Actions > Color > all options...` измените цвет фона (кнопка `more...` напротив пункта `background`) на тот, который вам нравится.
2. В панели `Tools > Viewing controls > Effects` настройте толщину обводки, тени и затемнение перспективы.
3. Там же, во вкладке `Lightning` настройте освещение. Сравните режимы `Ambient` и `Two-point`. В чем разница?
4. В панели `Tools > Depiction > Rainbow` раскрасьте каждую цепь в отдельный цвет.
5. Скройте все атомы: `Actions > Atoms/Bonds > hide`. Что осталось?

3 Способы представления молекулы белка

Во время анализа структуры биомолекулы нас могут заинтересовать разные уровни организации: от отдельных атомов до межмолекулярных комплексов. Для каждого из уровней удобнее использовать свое представление: для визуализации активных центров рисовать отдельные атомы, для структуры белка в целом – пептидный остов, для белковых комплексов – поверхность доступности растворителя.

Задание 3

1. Выключите отображение остова и включите отображение атомов:
`Actions > Ribbon > hide` →
`Actions > Atoms/Bonds > show`. Какие атомы появились?

Можно сделать картинку не такой шумной:

Actions > Atoms/Bonds > wire.

2. Скройте атомы и верните остов.
3. Постройте поверхность вытеснения растворителя
Actions > Surface > show.
Установите прозрачность поверхности на 50 %
Actions > Surface > transparency > 50 %.
Какую информацию может дать о молекуле такая поверхность?
4. Закройте поверхности в **Model Panel (close)**.

4 Выделение и группы атомов

Команды, которые мы изучили выше влияют на отображение молекулы в целом. Если же мы хотим поработать только с определенными атомами или остатками, не затрагивая все остальное, то нам нужно будет использовать инструмент «выделение» (**select**).

Выделить интересующие вас атомы и связи можно с помощью мышки, зажав **Ctrl**. Если выделить за один раз все не получается, выделение можно расширить, зажав **Shift + Ctrl**.

Задание 4

1. Выделите N-концевые остатки полипептидных цепей (Asp 449 для дикого типа и Asp 447 для V600E).
2. Сделайте выделенные атомы видимыми.
3. Выделите все атомы воды: **Select > Residue > HOH**
4. Покажите их.
5. Удалите выделенные атомы: **Actions > Atoms/Bonds > delete.**

6. Сделаем малые молекулы и ионы видимыми.

Выделите все нестандартные остатки:

Select > Residue > all nonstandard

7. Представьте их в виде шариков и палочек:

Actions > Atoms/Bonds > show → ... > ball & stick

8. Оставим в выделении только лиганды.

Поменяйте режим выделения на вычитание:

Select > Selection Mode > subtract

Уберите из выделения атомы хлора:

Select > Residue > CL

9. Сохраните лиганды в именованную группу:

Select > Name Selection ... введите имя для группы атомов.

Теперь чтобы выбрать именованную группу нажмите

Select > Named Selections > <Имя_Группы>

5 Структурное выравнивание

Сейчас открытые модели расположены довольно далеко друг от друга и сравнивать их не очень удобно. Чтобы наложить похожие структуры одну на другую, можно использовать инструмент MatchMaker, который проводит структурное выравнивание макромолекул.

Задание 5

1. Наложим структуру мутантной формы белка на структуру дикиого типа.

Запустите диалоговое окно Tools > Structure Comparison > Match-Maker

2. Выберите первую модель (#0) в списке Reference structure и вторую (#1) в списке Structure(s) to match. Нажмите Ok. Что

произошло?

3. Оставим по одной полипептидной цепи от каждого белка.

Выделите все цепи с индексом «B»: Select > Chain > B > all.

Убедитесь, что установлен режим выделения Replace.

4. Удалите выделенные атомы.

Какие различия в структурах BRAF дикого типа и V600E вы видите?

6 Водородные связи и межатомные контакты

UCSF Chimera может предсказывать водородные связи, межатомные контакты и отталкивающие взаимодействия в исследуемых структурах. Для этого служат два инструмента: FindHBond и Find Clashes/Contacts.

К сожалению, связи и контакты предсказываются только на основе геометрии типа атомов, заряды и дипольные моменты не учитываются, поэтому, данные о взаимодействиях, полученные в химере, пригодны только для первичного анализа структур.

Задание 6.1

1. Выделите группу лигандов

Select > Named Selections > <Имя_Группы>

см. задание 4.9

2. Вызовите диалоговое окно

Tools > Structure Analysis > FindHBonds

3. Выберите опцию поиска связей только внутри моделей (радиокнопка intra-model)

4. Чтобы ограничить поиск, выберите опцию

Only find H-bonds with at least one end selected.

5. Нажмите **Apply**.
6. Проанализируйте водородные связи лиганд-белок для каждой модели.

Задание 6.2

1. Вызовите диалоговое окно
`Tools > Structure Analysis > Find Clashes/Contacts.`
2. Отметьте выделенные атомы как основу для поиска (нажмите **Designate**) и все остальные атомы модели как вероятные контакты (радиокнопка **other atoms in the same model**).
3. Выберите настройки для поиска контактов (кнопка **contact**).
4. Нажмите **Apply**. Что получилось?

7 Поверхности

Чтобы увидеть особенности контактов между биомолекулами, полезно построить их поверхности. Поверхности можно описывать на основе различных физико-химических свойств молекулы, наиболее распространенные способы: поверхность доступности и вытеснения растворителя (SAS, SES), Ван дер Ваальсова поверхность (VdW) и различные поверхности электронной плотности (EDS).

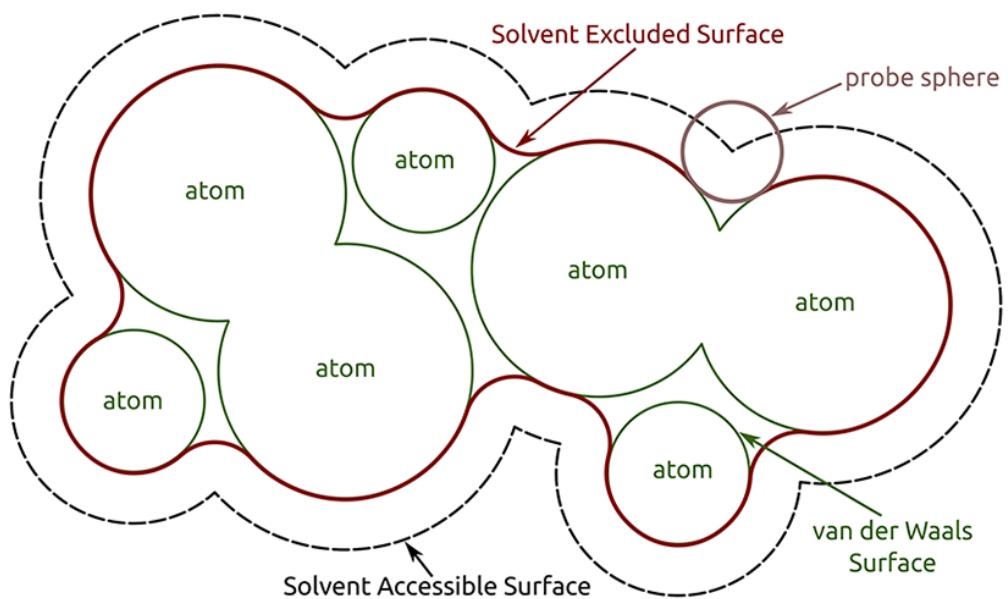


Рис. 2: Способы построения поверхностей в UCSF Chimera.

Задание 7

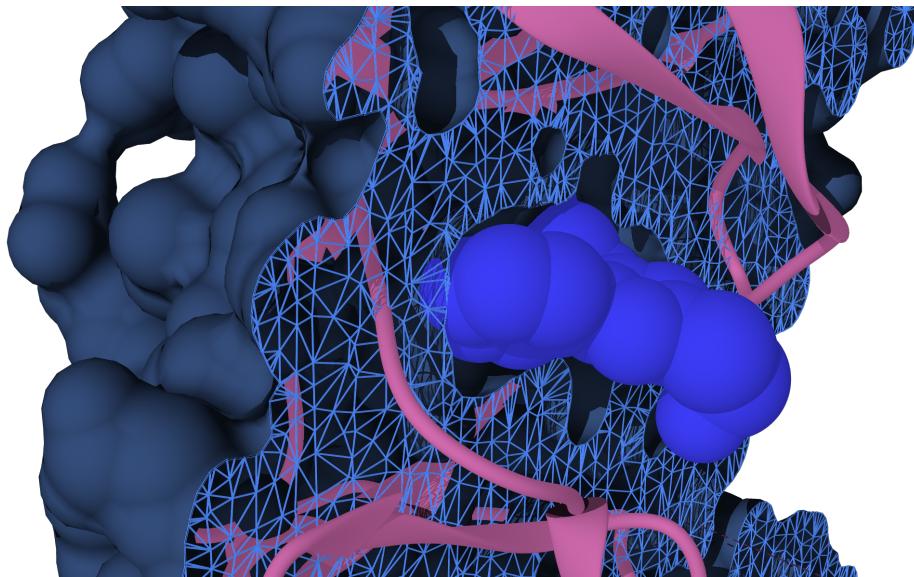
1. Постройте для каждого белка поверхность вытеснения растворителя (см. задание 3.3).
2. В окне Model Panel скройте лишние модели, оставив один белок и его поверхность.
3. Откройте диалог Tools > Depiction > Per-Model Clipping.
4. Выберите модель «MSMS main surface ...» и поставьте чекбокс Enable clipping.
5. Настройте положение секущей плоскости, поставив чекбокс в поле Adjust clipping with mouse as below.
6. В диалоговом окне Surface capping настройте свойства секущей плоскости.

8 Сохранение иллюстрации

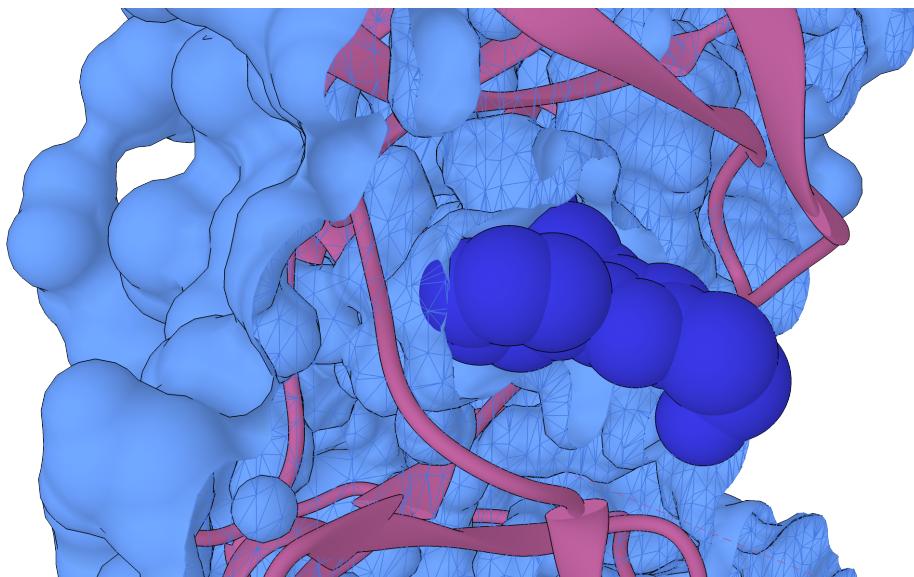
После всех манипуляций мы получили иллюстрацию, которую нужно сохранить, во-первых, в формате изображения, пригодного для вставки в презентацию или статью, и, во вторых, во внутреннем формате химеры, на случай, если вы захотите что-то поменять в будущем.

Задание 8

1. Сохраните сессию:
`File > Save session as ...`
2. Экспортируйте сцену как изображение в формате PNG:
`File > Save Image`
3. Попробуйте разные алгоритмы рендера (Chimera / POV-Ray). В чем разница?



(a) Рендер POV-Ray



(b) Нативный рендер

Рис. 3: Различия между алгоритмами рендера.

9 Полезные ссылки

UCSF Chimera хорошо документирована и имеет большое сообщество пользователей. Почти все команды и инструменты описаны в справке:
<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/docs/UsersGuide/index.html>

Если не знаете с чего начать, можно пройти пошаговые уроки:
<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/docs/UsersGuide/frametut.html>