

# Oficina de visualização de estruturas moleculares usando o Chimera

Eden Souza

Jessika Viana

## Visualização de estruturas químicas:

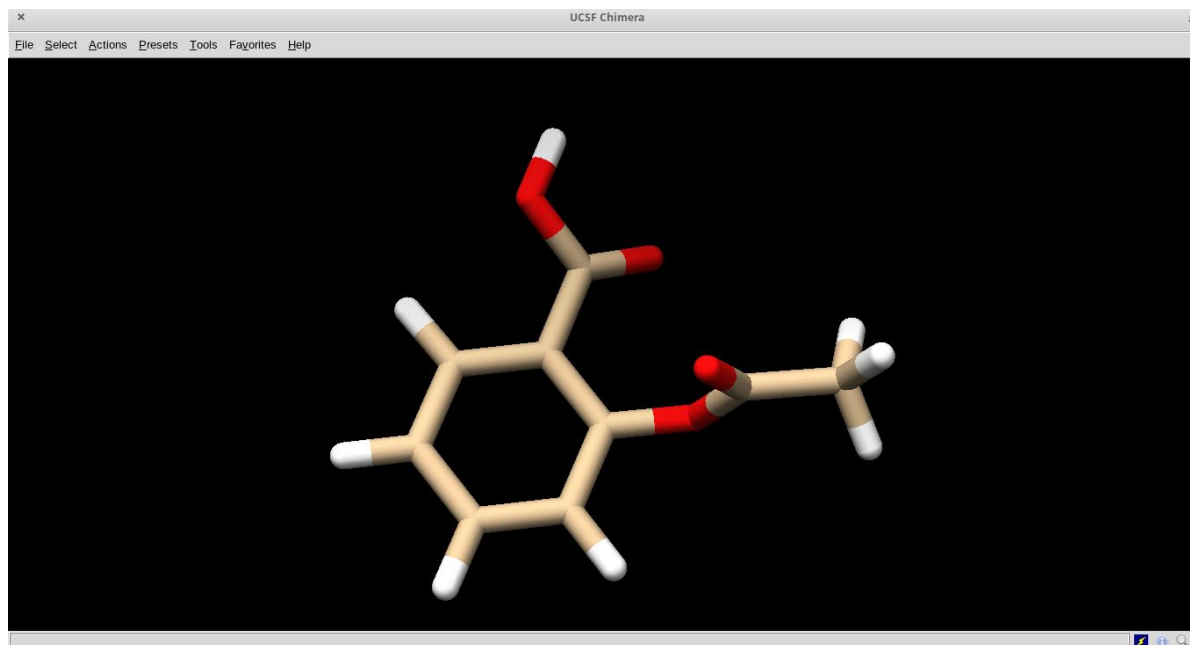
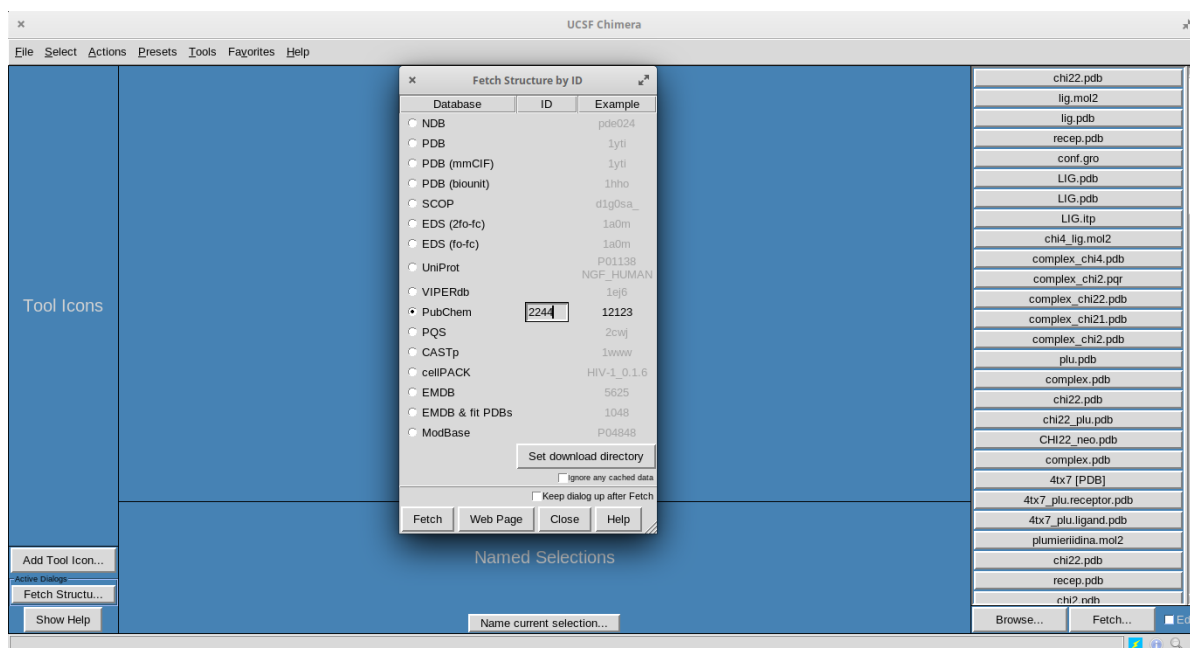
### *Bancos de dados:*

- Zinc
- PubChem
- PDB

Vamos observar a estrutura da aspirina (ácido acetilsalicílico) obtida no PubChem:

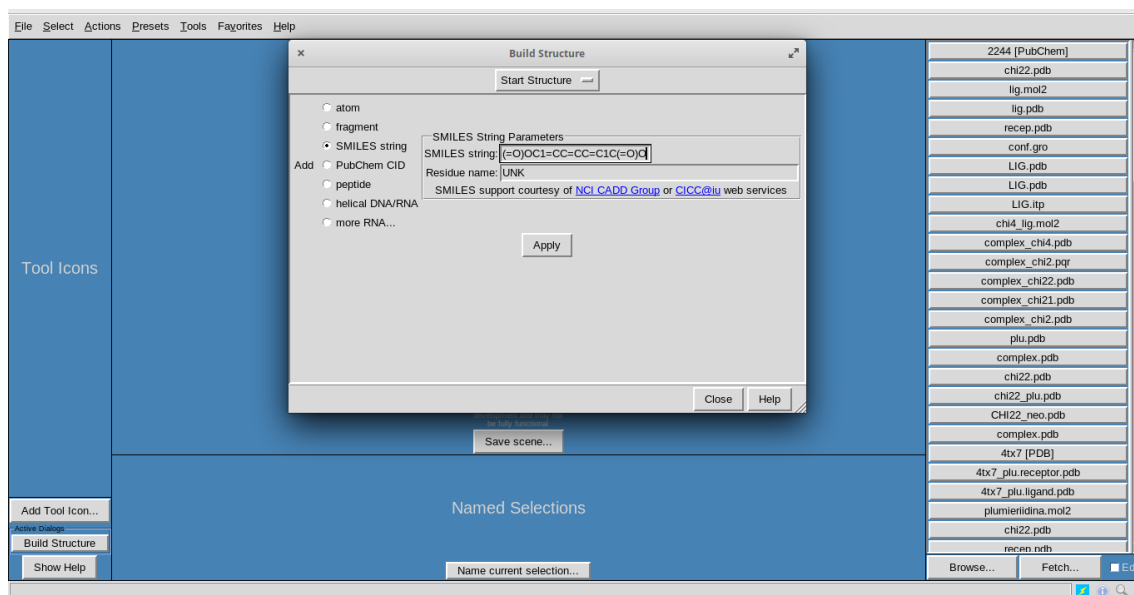
The screenshot shows the PubChem website interface. At the top, there's a navigation bar with the PubChem logo and links for 'About', 'Blog', 'Submit', and 'Contact'. A search bar is on the right. Below the navigation bar, the page title is 'Aspirin' with the PubChem ID '2244'. The main content area shows the chemical structure of Aspirin in three formats: 2D, 3D, and Crystal. A red warning icon is visible below the structure. On the right side, there's a 'CONTENTS' menu with a list of sections: 'Title and Summary', '1 Structures', '2 Names and Identifiers', '3 Chemical and Physical Properties', '4 Spectral Information', '5 Related Records', '6 Chemical Vendors', '7 Drug and Medication Information', and '8 Pharmacology and Biochemistry'. The top of the structure section is highlighted with a blue box.

Utilizando o comando Fetch do UCSF Chimera, na sua janela inicial (a azul), canto inferior direito. Com ele podemos baixar estruturas diretamente dos principais bancos de dados estruturais. O código da molécula de aspirina no PubChem é 2244. Portanto na janela Fetch Structure by ID, marque o banco PubChem e coloque o código, da maneira como representado na figura abaixo:



Ou podemos acessá-la através do código SMILES.

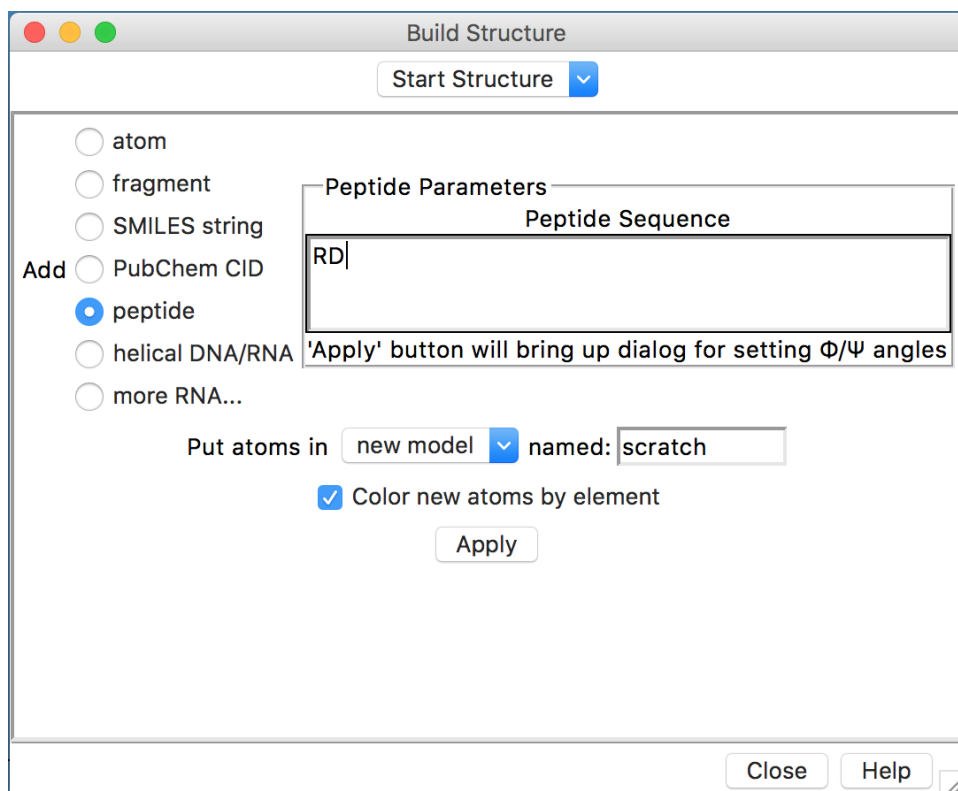
Copie da página do PubChem o “Canonical SMILES”. Depois vá para Tools > Structure editing > Build Structure > SMILES string e cole o código SMILES



## Visualizando peptídeos e proteínas

### Construindo um peptídeo

Iremos construir inicialmente o dipeptídeo formado pelos aminoácidos arginina (**R**) e aspartato (**D**). Para isso siga o menu abaixo:



- No campo name, dê um nome a molécula ou deixe o padrão.
- Clique em Apply.

- Na janela que abrir em seguida, clique novamente em Apply e depois em Close.

A molécula construída irá aparecer na janela principal. Ela estará sem os átomos de Hidrogênio. Para adicionar e facilitar a identificação, siga os passos abaixo:

Siga o menu: *Tools > Structure Editing > AddH*

Na nova janela que aparecer, no campo Protonation states for:, selecione aspartic acid e deixe o restante das opções da forma como está.

Clique em OK. Os átomos de H deverão aparecer na cor branca.

### ***Verificando ângulos de rotação***

Agora iremos trabalhar com o peptídeo RDQ, para visualizar as diferentes possibilidades dos ângulos de rotação  $\phi$  (*phi*)  $\Psi$  (*psi*), e relacioná-los ao Gráfico de Ramachandran. Para isso, siga os passos abaixo:

- *Tools > Structure Editing > Build Structure*

Na janela que aparecer clique em peptide e no espaço indicado coloque **RDQ**.

- No campo name, dê um nome a molécula ou deixe o padrão.
- Clique em Apply.
- Na janela que abrir em seguida, verifique os ângulos  $\phi$  (*phi*)  $\Psi$  (*psi*) atribuídos por padrão no resíduo D (-57/-47). Clique novamente em Apply, mas neste caso deixe esta janela aberta. A primeira molécula irá aparecer.
- Nesta mesma janela, você irá mudar os ângulos de rotação, da seguinte forma:
  - Você irá selecionar o resíduo D e nas caixas abaixo você irá colocar 0 graus, para ambos os ângulos  $\phi$  e  $\Psi$ . Aperte a tecla Set, verifique se os ângulos relativos ao resíduo D mudaram e aperte em Apply.
  - Depois você irá selecionar o mesmo resíduo D e irá colocar os ângulos 57 e -47, para  $\phi$  e  $\Psi$ , respectivamente. Aperte a tecla Set, verifique se os ângulos relativos ao resíduo D mudaram e aperte em Apply. (Veja a figura abaixo).

Res	$\Phi$	$\Psi$
R	-57	-47
D	0	0
Q	-57	-47

**Set** selected rows to  $\Phi$ : 0  $\Psi$ : 0

Seed above  $\Phi/\Psi$  with values for:  $\alpha$  helix

Rotamer library: Dunbrack chain ID: A

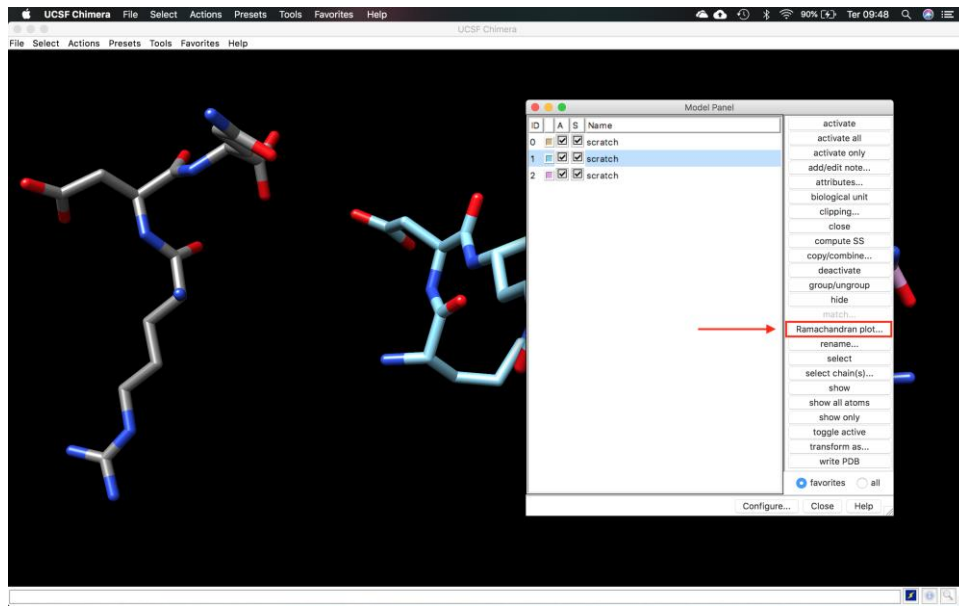
OK Apply Close Help

As três moléculas irão aparecer sobrepostas. Agora vamos conhecer a *Model Panel* do UCSF Chimera:

- Clique em *Tools > General Controls > Model Panel* ou em *Favorites > Model Panel*.

Agora iremos verificar o Gráfico de Ramachandran para os três peptídeos:

- Na janela *Model Panel*, selecione uma das 3 moléculas, e clique em *Ramachandran Plot*. Verifique o gráfico para todas as moléculas.



- Agora vamos verificar os rotâmeros das cadeias laterais do aminoácido D (aspartato ou ASP). Para isso iremos:

Selecionar o resíduo nos 3 peptídeos:

- Clique em *Select > Residue > ASP*. Os aspartatos de cada modelo estarão selecionados.
- Vá agora em *Tools > Structure Editing > Rotamers*. Na janela que aparecer (*Choose Rotamers parameters*), o ASP deverá aparecer e depois clique em OK.

## Clashes/Contatos

Até aqui você deve ter notado que existem ângulos de rotação  $\phi$  e  $\psi$  não permitidos devido a sobreposições entre os átomos da ligação peptídica ou dos que estão em torno dela. No UCSF Chimera, existe uma opção para verificar isto.

Vamos verificar esta função com o peptídeo 2 (#1 -  $\phi/\psi$  D = 0/0):

- Vá em *Select > Chain > A > scratch (#1)*
- Adicione os hidrogênios e coloque na sua forma de visualização preferida.
- Agora vá em *Tools... Structure Analysis... Find Clashes/Contacts*.
- Na janela que aparecer **Find Clashes/Contacts**, coloque as opções da forma como a figura abaixo. O modelo deve estar selecionado e você deverá clicar em designate para o programa entender entre quais átomos ele deverá procurar sobreposições e contatos. Se você tiver selecionado apenas o peptídeo 2 (scratch #1), 56 átomos deverão aparecer.

Find Clashes/Contacts

Atoms to Check

Designate currently selected atoms for checking

56 atoms designated

☒ themselves

☐ all other atoms

Check designated atoms against:

☐ other atoms in same model

☐ second set of designated atoms

Designate selection as second set

No second set

Clash/Contact Parameters

Find atoms with VDW overlap  $\geq$  0.6 angstroms

Subtract 0.4 from overlap for potentially H-bonding pairs

Default clash / contact criteria



Ignore contacts of pairs 4 or fewer bonds apart


☒ Include intra-residue contacts

☒ Include intra-molecule contacts

Treatment of Clash/Contact Atoms

☐ Select

☒ Color  (and color all other atoms )

☒ Draw pseudobonds of color  and width 2.0

☐ If endpoint atom hidden, show endpoint residue

☒ Assign 'overlap' attribute

☒ Write information to file

☐ Write information to reply log

Frequency of Checking

☒ when OK/Apply clicked

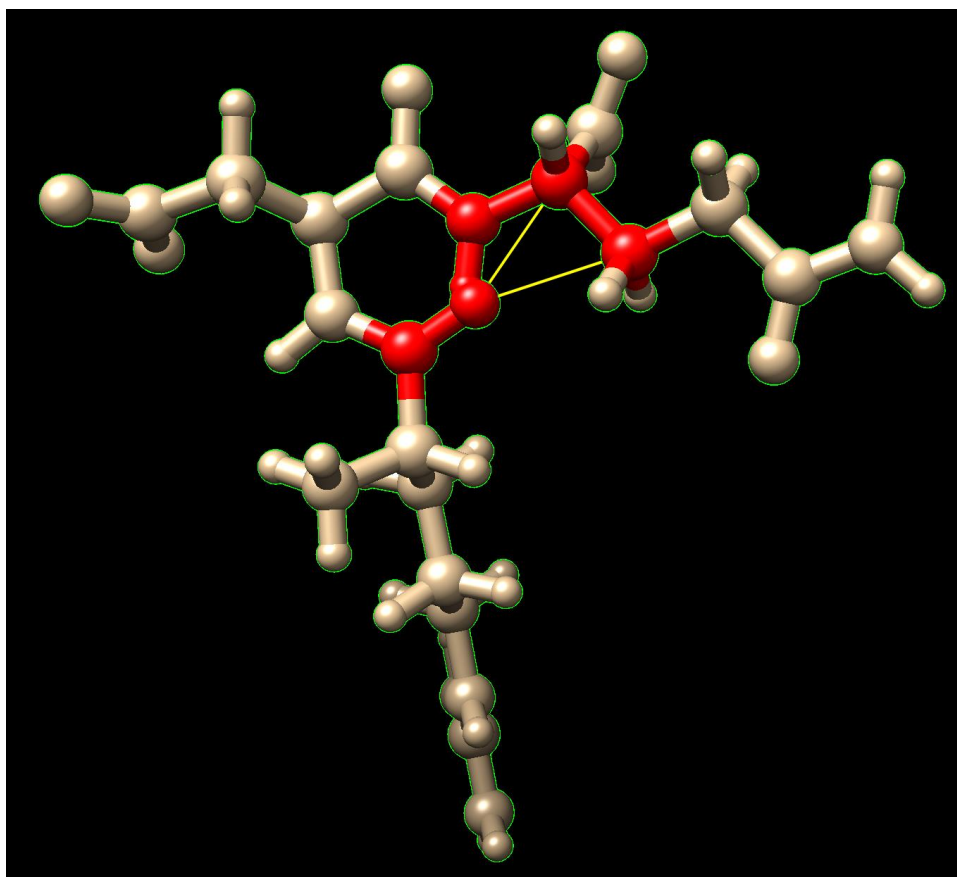
Check... ☐ after relative motions (until dialog closed)

☐ continuously (until dialog closed)

OK Apply Close Help

Os parâmetros pedem que os *clashes* sejam verificados entre os átomos, que todos os átomos envolvidos sejam coloridos diferencialmente e que um artigo de texto seja salvo com a descrição dos parâmetros e dos *clashes* e contatos.

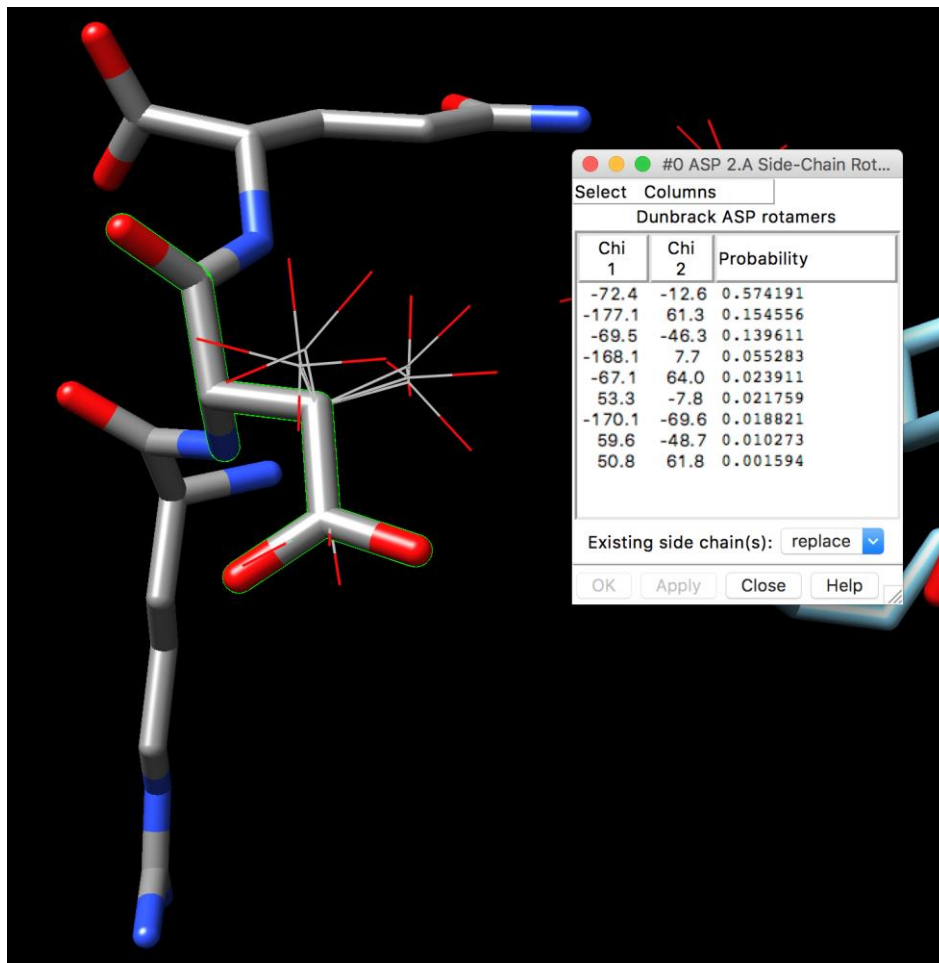
- Clique em Ok. Ele pedirá para salvar o arquivo overlaps em alguma pasta. O resultado final deverá ser similar ao mostrado na figura abaixo:



## Rotâmeros

As opções de conformação do resíduo de ASP serão mostradas na forma de linhas mais claras. Os ângulos diedrais, assim como suas respectivas probabilidades estarão descritos na própria janela dos rotâmeros (A figura abaixo demonstra apenas para o 1o peptídeo construído (#0)). O Chimera ao construir o peptídeo já colocar o rotâmero na sua posição mais provável para cada ângulo  $\phi$  e  $\psi$ .

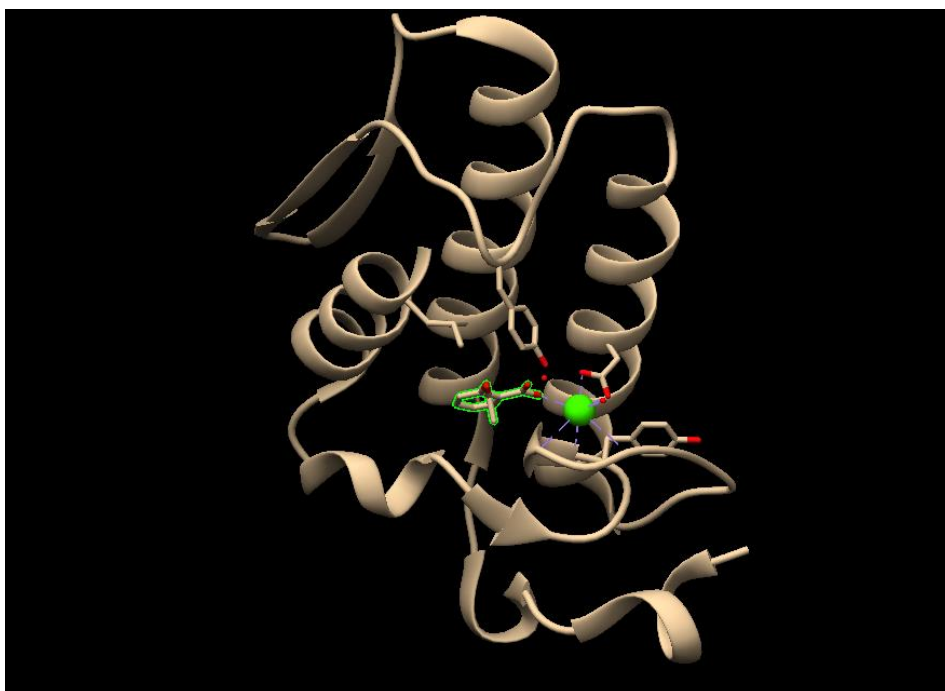




## Identificação de ligantes em complexos proteína ligante

Para isso vamos visualizar a estrutura da aspirina complexada com a fosfolipase 2A. Para isso clique em Fetch by ID > insira o código 1OXR > Fetch

*Esta interação foi observada por participar de resposta anti-inflamatória (10.2210/pdb1OXR/pdd).*



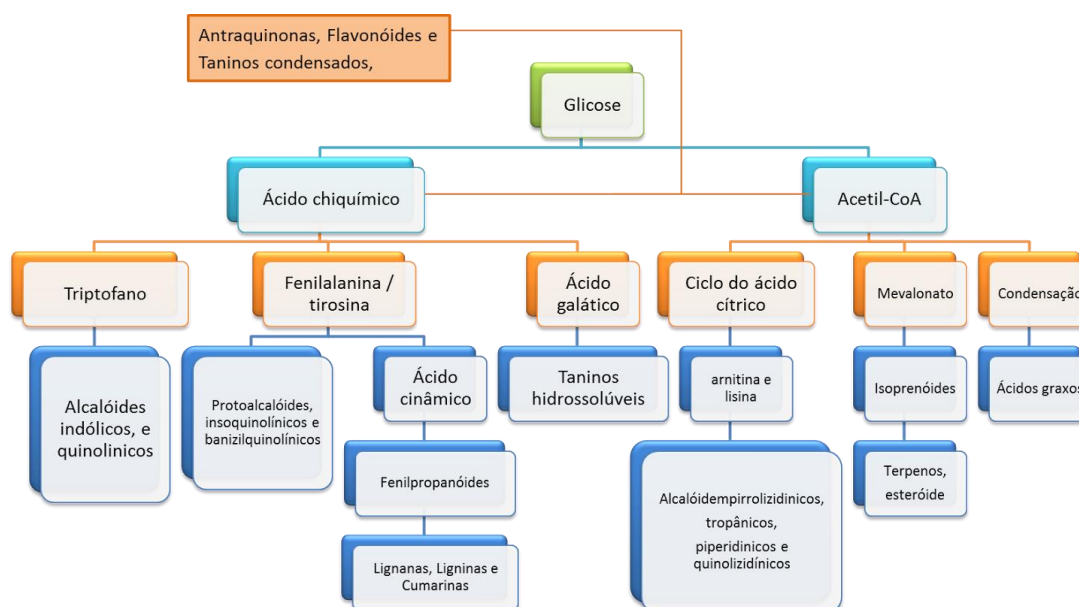
Selecione a opção Tools > Surface/Binding analysis > FindHBond

Selecione Intra-model e marque a caixa Only find H-bonds e veja o que acontece.

Visualização computacional de pequenas biomoléculas

Além das proteínas, há as pequenas moléculas bioativas, como compostos derivados da bioquímica de organismos (metabólitos) ou sintéticos.

Uma das vias biológicas mais conhecidas são as das plantas, sendo caracterizada e bem elucidada pela via de metabolismo secundário. Esta via bioquímica pode ser observada na figura abaixo.



Dentre os softwares existentes e gratuitos está o Marvin Sketch, produzido pela ChemAxon (<https://chemaxon.com/>). Com o Marvin é possível visualizar pequenas moléculas, como ligantes e pequenos peptídeos, e a realizar análises físico-químicas, como logP, logD, pKa, NMR, dentre outros caracteres.

Para baixar o software é necessário o usuário criar uma conta e baixar o software, já deixamos o arquivo baixado nos computadores.

## 1.Instalação do Marvin Sketch

No Linux:

Para instalar o Marvin da Chemaxon, recomenda-se instalar primeiramente o Java na máquina:

**sudo apt install default-jre**

Feito isso basta instalar o pacote .deb do Marvin que você baixou: **sudo dpkg -i marvin\_linux\_18.14.deb**

Para executar basta no terminal digitar: **msketch**

No Windows e MacOS:

Instaladores para ambos os sistemas estão disponíveis na página de Download do Marvin Sketch.

Após o download, dê um **duplo clique e siga as instruções de instalação**.

## 2. Desenho e visualização das biomoléculas

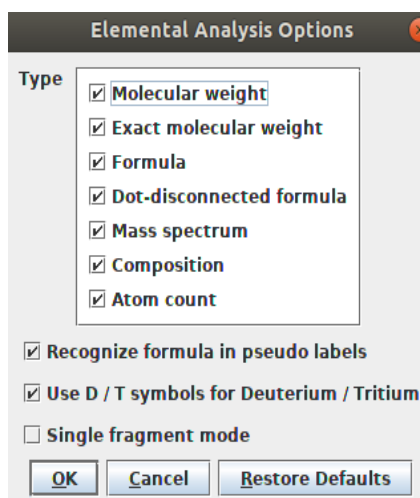
O desenho no Marvin pode ser anualmente ou por código SMILE.

- No PubChem, buscar: **lignans**
- Copiar e colar na tela do Marvin o **Canonical SMILE**
- Você já observa a estrutura em 2D. Para observar a estrutura em 3D: **Structure...Clean 3D**
- Se a molécula não apresentar todos os hidrogênios, inseri-los através das opções: **View...Implicit hydrogens...on all**

Também é possível deixar os hidrogênios apenas nas porções terminais ou só em regiões de hetero (elementos diferentes de carbono e hidrogênio).

## 3. Visualização e cálculo de análise elementar

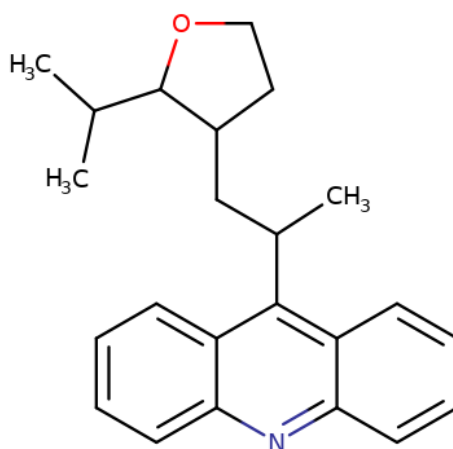
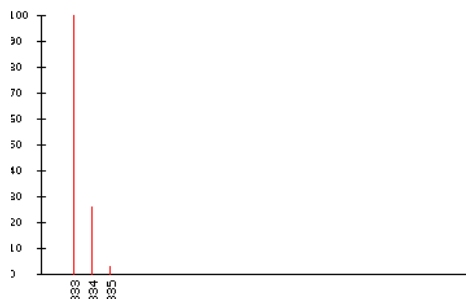
- Copiar e colar na tela do Marvin o **Canonical SMILE** de uma determinada molécula
- O cálculo da análise elementar consiste em várias características físico-químicas das moléculas, como apresentado na figura abaixo. Para isto, aplique a análise através dos seguintes passos: **Calculations...Elemental Analysis**. Use as mesmas configurações disponíveis na figura abaixo.



- Obtenha em outra janela as características.

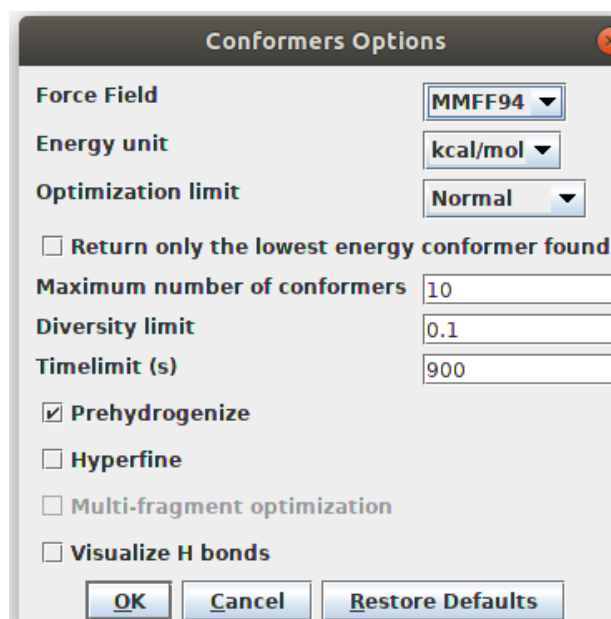
### Elemental Analysis

Molecular weight: 333,475  
 Exact molecular weight: 333,209264493  
 Formula: C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>NO  
 Dot-disconnected formula: C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>NO  
 Composition: C (82.84%), H (8.16%), N (4.20%), O (4.80)  
 Atom count: 52  
 Mass spectrum [m/z: relative abundance]:  
 333: 1.00 334: 0.26 335: 0.03

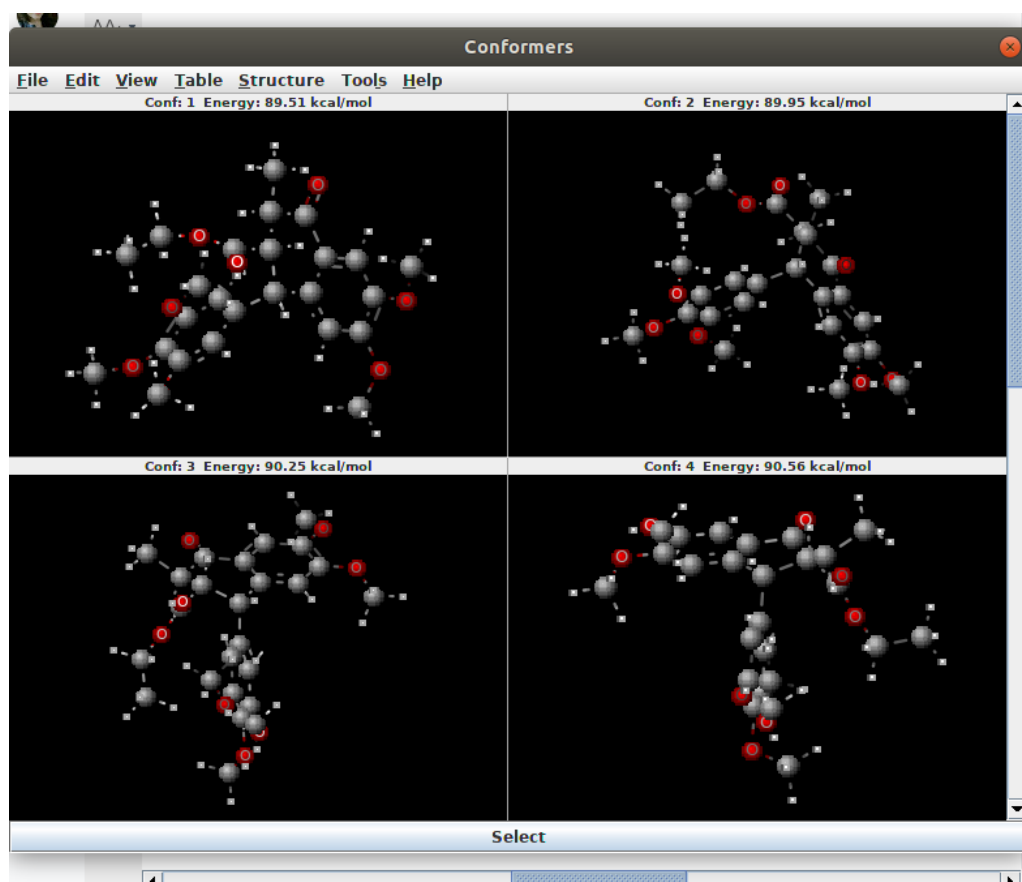


#### 4. Como realizar a minimização de energia

- No PubChem, buscar: **lignans**
- Copiar e colar na tela do Marvin o **Canonical SMILES**
- Para se calcular os confôrmeros desta molécula: **Calculations...Conformation...Conformers**
- Na página aberta conterà parâmetros a serem modificados (ver figura ao lado)



- Após o término dos cálculos, uma página será aberta contendo as informações estruturais em 3D e seus valores de energia (quanto mais negativo, melhor).
- Selecione a de menor energia e salve como **arquivo .sdf**
- Para observar a molécula rotacionando em 3D, visualizar no UCSF Chimera (antes, salvar em arquivo .mol).



Finalizando o curso:

Agradecemos o empenho e atenção de todos. Esperamos que esta oficina tenha atendido as perspectivas de cada um e que possam aplicar as ferramentas como suporte na pesquisa e desenvolvimento de novas tecnologias.

Disponibilizamos abaixo nossos e-mails em caso de retirada de dúvidas ou possíveis parcerias. Segue:

Eden Souza ([souza.eden@outlook.com](mailto:souza.eden@outlook.com))

Jéssika Viana ([viana1jess@gmail.com](mailto:viana1jess@gmail.com))