

Autor:
Bogumił Konopka
Instytut Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej
WPPT, Politechnika Wroclawska, 2011

Wprowadzenie do środowiska PyMOL

1 Wstęp

PyMOL to program do wizualizacji układów molekularnych: białek, kwasów nukleinowych, mniejszych cząsteczek chemicznych. Jest jednym z najbardziej popularnych środowisk do grafiki molekularnej. Obecnie korzystają z niego setki naukowców z całego świata. Jest wykorzystywany zarówno do analizy danych jak również przygotowywania wizualizacji publikacyjnych.

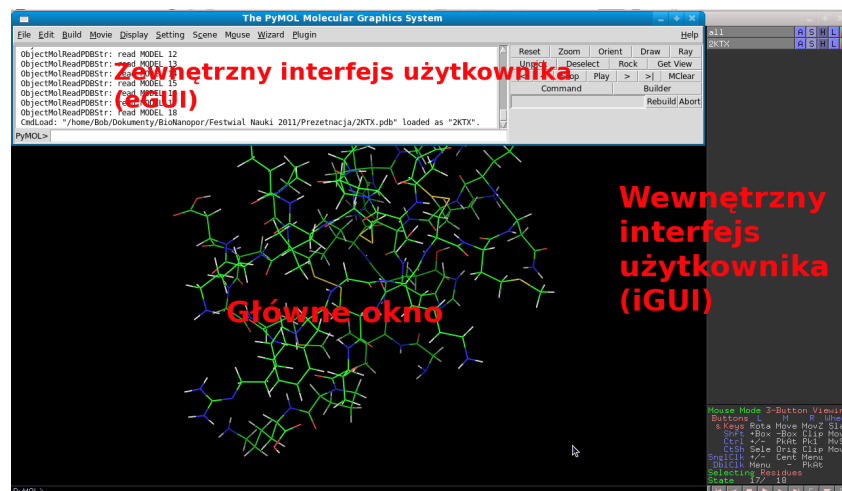


Rys 1: Przykłady zastosowań programu PyMOL: okładki nature (A,B), analiza rezultatów modelowania struktury kanału jonowego (C)

1.1 Licencja

PyMol jest “częściowo” darmowym oprogramowaniem (można go pobrać w portalu www.pymol.org). Nie ma obowiązku zakupu licencji na korzystanie z niego, jednak autorzy programu oczekują, że długoterminowi użytkownicy wykupią licencję oraz subskrypcję na wsparcie techniczne i w ten sposób będą uczestniczyli finansowo w całym projekcie. (Dodatkowe informacje w Instrukcji w rozdziale Copyright Notice and Usage Terms).

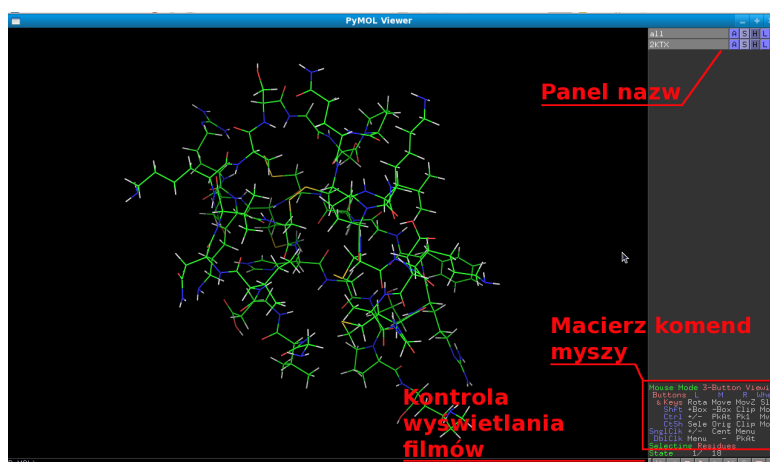
1.2 Okna



Rys 2: Interfejs PyMOL'a.

W oknie programu (Rys. 2) można wyróżnić trzy podstawowe elementy:

1. Okno zewnętrznego interfejsu użytkownika (eGUI - external Graphical User Interface) - standardowy pasek z rozwijanymi menu, w których można otwierać nowe pliki, wykonywać zapis do plików, cofnąć wykonane czynności itp.. Dodatkowo w skład eGUI wchodzi także okno komunikatów. W oknie będą pojawiać się informacje o realizowanych komendach, o poprawnym wykonaniu, ale również o BŁĘDACH. Poniżej okna komunikatów znajduje się linia komend.
2. Główne okno – w nim pojawiają się analizowane struktury. Pozwala na interaktywną pracę przy wykorzystaniu myszy. Można obracać oglądaną strukturę, przybliżać, oddalać, zaznaczać atomy, itp... U dołu okna znajduje się druga linia komend.
3. Wewnętrzny interfejs użytkownika (internal GUI – iGUI). iGUI jest umieszczony po prawej stronie ekranu i zawiera 3 istotne elementy (Rys. 3)



Rys 3: Okno główne oraz interfejs wewnętrzny PyMOL.

1.3 Ustawienia widoku

PyMOL jest programem pozwalającym na oglądanie struktur w grafice trójwymiarowej. Za pomocą myszki można w sposób szybki i intuicyjny ustawić kamerę.

Kontrola ustawienia kamery

1. Lewy Przycisk Mysz (LPM) + ruch – Rotacja kamery wokół wybranego punktu.
2. Prawy Przycisk Mysz + ruch w górę/dół – Przybliżenie/Oddalenie
3. Przycisk na Scrollu (PS) + ruch – translacyjne przesunięcie kamery/bez obrotu
4. Kliknięcie PS ustawia punkt, wokół którego będzie odbywała się rotacja.
5. Scroll – rolka pozwala zmniejszać obszar, który jest pokazywany – przydatne przy dużych zbliżeniach i przy obrazowaniu aminokwasów znajdujących się wewnątrz białka.

1.4 Zadanie wstępne

Wykonaj poniższe zadanie, żeby zaznajomić się ze środowiskiem.

Uruchom PyMOL i otwórz plik 3fb8.pdb załączony do archiwum z materiałami do ćwiczenia. Spróbuj pobawić się strukturą. Wypróbuj opisane powyżej metody ustawienia kamer. Po prawej stronie ekranu znajduje się iGUI z panelem nazw. Po wczytaniu struktury w panelu nazw powinien pojawić się pasek 3fb8. To znaczy, że utworzony został obiekt 3fb8. Obok nazwy znajdują się cztery przyciski [A][S][H][L][C]. Wszystkie operacje jakie będziesz wykonywał za pomocą tych przycisków będą odnosiły się tylko do konkretnego obiektu (zwróć uwagę, że domyślnie utworzony jest także obiekt „ALL”, do którego zalicz się wszystko co jest wczytane do przestrzeni roboczej).

- A (action) różne operacje i funkcje. Wypróbuj kilka pierwszych dotyczących kamery CENTER, ZOOM... Spróbuj też ustalonych wcześniej standardowych trybów reprezentacji struktur – zakładka „PRESET”. Do raportu wygeneruj dwa ciekawe zdjęcia (generowanie zdjęć: w lini komend wpisz `png <nazwa_pliku>.png`)

- S (show) – zmienia sposób reprezentacji zaznaczonego obiektu, wypróbuj CARTOON, LINES, STICKS i inne.
- H (hide) – przeciwny do przycisku SHOW.
- L (label) – wyświetlanie etykiet atomów, aminokwasów, łańcuchów białkowych itp...
- C (color) – zmiana kolorów

2 Zadania

Wskazówka!

Żeby w domu zacząć pracę od tego samego punktu użyj „File” -> „Save session as... ”

2.1 Zaznaczanie i kolory.

Ze strony RCSB Protein Data Bank <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do> pobierz plik 2KTX.pdb. Na podstawie dostępnego abstraktu, krótko opisz to białko (co to za białko, jaką ma funkcję, jaka jest jego długość). Zapisz strukturę do swojego folderu utworzonego na dysku D:/.

Otwórz strukturę za pomocą PyMOL'a.

W PyMOLu każdy atom opisywany jest za pomocą kilku atrybutów. Do najbardziej przydatnych należą:

Nazwa atrybutu	Opis
symbol [e.]	Symbol pierwiastka o – tlen, n - azot
name [n.]	Nazwa atomów w strukturze np. ca, cb,..
resn [r.]	Nazwa aminokwasu w kodzie 3-literowym, np. arg - arginina
resi [i.]	Numer aminokwasu

Nazwa atrybutu	Opis
Chain [c.]	Łańcuch np. A, B, C ...
id	Numer identyfikujący
Index [idx]	Wewnętrzny index pyMOLa (nigdy się nie powtarza)
ss	Struktura drugorzędowa (H-helix, S-sheet, L-loop)

Wykorzystując komendę „select” można tworzyć zaznaczenia, a następnie zmiany w wizualizacji odnosić tylko do nich. Składnia komendy **select**:

```
select <nazwa_zaznaczenia>, <atrybuty lub lista atrybutów>
```

2.2 Zadanie – proste zaznaczenia

Spróbuj utworzyć zaznaczenie, które będzie obejmowało wszystkie węgle C-alpha toksyny.

```
select wegle_ca, name ca //zwróć uwagę, że na panelu z prawej strony pojawił się nowy obiekt
```

```
// sprawdź co wyświetliło się w oknie komunikatów w eGUI
```

Ukryj wszystkie obiekty.

Hide all

I wyświetl tylko zaznaczone przez siebie węgle C-alpha

```
show spheres, wegle_ca // komenda ustawia określony typ reprezentacji dla podanego obiektu
```

```
color red, wegle_ca // komenda ustawia kolor obiektu
```

Korzystając z rozwijanego menu [L] (label), podpisz atomy nazwami ich aminokwasów. Zwiększ przezroczystość sfer - teraz będzie widać etykiety

```
set sphere_transparency, 0.5 // komenda set ustawia różne parametry m. in. przezroczystość sfer
```

show ribbon, wegle_ca // komenda pokaże jak przebiega łańcuch główny

Wygenerowaną grafikę umieść w raporcie. Zauważ, że wszystkie czynności z wyjątkiem zaznaczenia można było wykonać nie wpisując komend tylko korzystając z rozwijanych menu na panelu obiektów. To czy będziesz, (i w jakim stopniu) korzystać z linii komend zależy od ciebie.

2.3 Algebra zaznaczeń.

PyMOL umożliwia formułowanie bardziej złożonych zaznaczenia niż to z zadania 2.1.1. Każde zaznaczenie może być zdaniem z łącznikami logicznymi takimi jak:

- **and (&)** np. select wegle_ca_gly, (name ca) & (resn gly)
- **or (|)** np. select wegle_ca_cb, (name ca) | (name cb)
- **not (!)** np select wegle_nie_ca, !wegle_ca

Istnieją też bardziej skomplikowane metody zaznaczenia np:

- **s1 within X of s2** – zaznacz atomy s1 w zasięgu X angstromów wokół atomów s2

Więcej sposobów zaznaczenia znajdziesz w instrukcji PyMOLa (s. 38) załączonej do archiwum z materiałami.

2.4 Zadanie – analiza toksyny

Toksyna, którą się zajmujemy (2ctx), jest oligopeptydem o bardzo dużej odporności na denaturację oraz uszkodzenia mechaniczne (eksperymenty z rozciąganiem). Stwórz wizualizację, w której poszczególne struktury drugorzędowe będą wyświetlane w innym kolorze (wypróbuj reprezentację **cartoon**). Wyświetl i pokoloruj na żółto łańcuchy boczne cysteiny. Wyjaśnij skąd bierze się taka duża odporność białka.

2.5 Pomiar

PyMOL pozwala na dokładne wymiarowanie oglądanych struktur. Wybierz z paska eGUI zakładkę „Wizard”, a następnie „Measurement”. W iGUI po prawej stronie pojawiły się nowe opcje:

1. Distance – pomiar odległości od atomu A do B
2. Angles – pomiar kąta ustalonego przez 3 atomy
3. Dihedrals – pomiar kątów dwuściennych ustalonych przez 4 atomy
4. Polar/Heavy/” ” Neighbours – pomiar odległości od zaznaczonego atomu do jego sąsiadów.

2.6 Zadanie – wiązanie O₂ i CO w hemoglobinie.

Hemoglobina wiąże tlenek węgla z dużo większym powinowactwem, niż cząsteczki tlenu. Z tego powodu bardzo wiele ofiar pożarów to w rzeczywistości osoby zaczadzone. Pobierz z www.rcsb.org struktury oksyhemoglobiny **1HHO** oraz karboksyhemoglobiny **1AJ9**. Stwórz odpowiednie zaznaczenia, tak aby zajmować się tylko pojedynczym łańcuchem białkowym. Miejsce wiążące w hemoglobinie znajduje się nad powierzchnią hemu, który w strukturze hemoglobiny oznaczony jest jako reszta aminowkasowa o nazwie „**hem**” (można go zaznaczyć przez atrybut „**resn hem**”). Zaznacz otoczenie hemu (wypróbuj zaznaczenie **select** moja_nazwa, „**s1 within X of s2**”, *s1 może być „all”*) i przyjrzyj mu się w szczegółach (**show lines**, lub **show sticks**). Zidentyfikuj związane cząsteczki tlenu i tlenku węgla. Sprawdź czy istnieją jakieś różnice w geometrii wiązań (kąty i odległości). Przedstaw czytelne wizualizacje (wskazówka: można wykorzystać scroll myszki) i tabelę ze zmierzonymi wartościami. Skomentuj.

2.7 Zadanie – szerokość błony komórkowej

PyMOL jest środowiskiem open-source. W internecie dostępnych jest wiele przydatnych skryptów, które mogą znacznie ułatwić pracę (więcej informacji w sekcji **Dodatki**). Pobierz ze strony <http://pldserver1.biochem.queensu.ca/~rlc/work/pymol/> skrypt **color_by_restype.py**. Aby korzystać ze skryptu, trzeba go najpierw wczytać do przestrzeni dostępnych funkcji za pomocą komendy

run „ścieżka_do_skryptu”/color_by_restype.py

Dalej korzysta się z niego tak jak pozostałych funkcji. Po jego wczytaniu jego własne funkcje są dostępne z linii poleceń PyMola

Pytanie: Co robi ten skrypt?

Ze strony www.rcsb.org pobierz struktury białek błonowych i hemoglobiny:

- bakteriorodopsyny 1PY6
- akwaporyny 1J4N
- alpha-hemolizyny 1AHL
- hemoglobiny 1HHO

Wykorzystaj też załączoną strukturę 3FB8.pdb (możesz też pobrać jeszcze więcej białek błonowych). Zwizualizuj powierzchnię hemoglobiny i skorzystaj z pobranego skryptu

show surface, 1HHO

color_by_restype 1HHO, hydrophobic=yellow

To samo powtórz dla dwóch wybranych białek błonowych. Skomentuj wynik.

Korzystając ze skryptu *color_by_restype* i narzędzia do wykonywania pomiarów odległości (opis w 2.2) wykonaj serię pomiarów, która pozwoli Ci oszacować szerokość błony komórkowej. Przedstaw tabelkę z wynikami, skomentuj.

3 Raport

W treści instrukcji znajdują się **Zadania**, które należy wykonać i skomentować.

Wskazówka! W treści zadań znajdują się słowa kluczowe typu : sprawdź, pokaż, skomentuj... Kwestie, których dotyczą, powinny znaleźć się w sprawozdaniu w formie tabel, wykresów lub komentarzy (trzeba wybrać najbardziej adekwatną formę prezentacji).

4 Dodatki

Różne dodatkowe informacje, opisy funkcji oraz dostępne skrypty:

- <http://pldserver1.biochem.queensu.ca/~rlc/work/pymol/>
- <http://pymol.sourceforge.net/newman/ref/S1000comref.html>
- http://www.pymolwiki.org/index.php/Main_Page

5 Komentarze

Wszelkie komentarze odnośnie skryptu proszę kierować na adres:

bogumil.konopka@pwr.wroc.pl