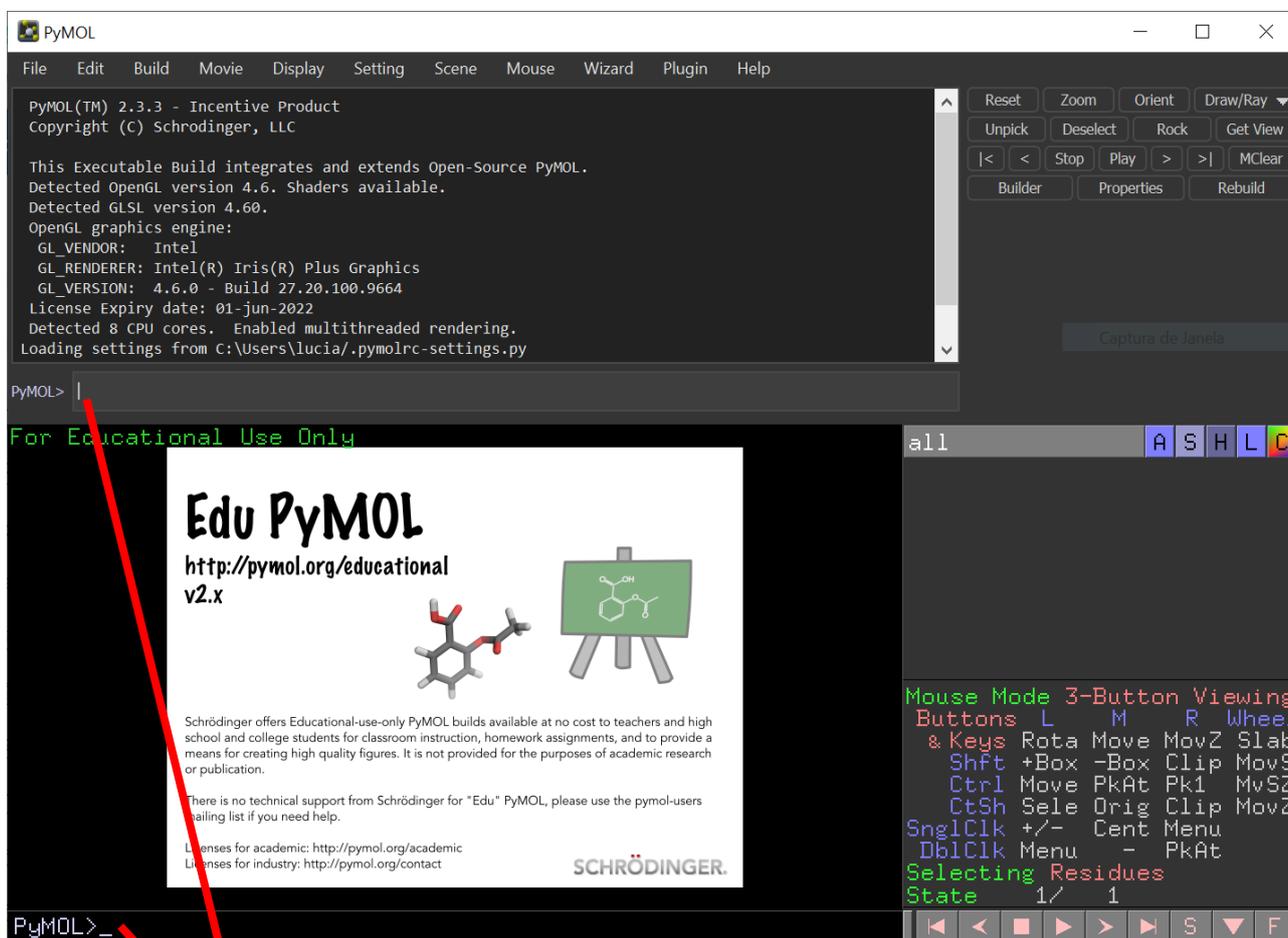


Tutorial – Visualização Gráfica com PyMOL

Aula Prática – 29/06/2022

Interface do PyMOL 2.x



Linha de comando

Menu de comandos:



A = Action, S = Show, H = Hide, L = Label, C = Color

Comandos básicos:

Para arrastar – clique com o botão do meio do mouse e arraste.

Para alterar o zoom – clique com o botão direito do mouse e arraste para cima (diminuir zoom) ou para baixo (aumentar zoom).

Para girar – clique com o botão esquerdo do mouse e arraste.

Para “cortar” a exibição de parte da imagem (em níveis de profundidade) – role o botão

do meio do mouse.

Como executar comandos no PyMOL?

Em geral, os comandos podem ser executados a partir do painel de comandos, utilizando os menus descritos acima, ou a partir da linha de comando. Para utilizar a linha de comando, digite o comando e dê **enter**. Neste tutorial utilizaremos tanto a linha de comando quanto o painel de comandos.

Como carregar uma nova molécula no PyMOL

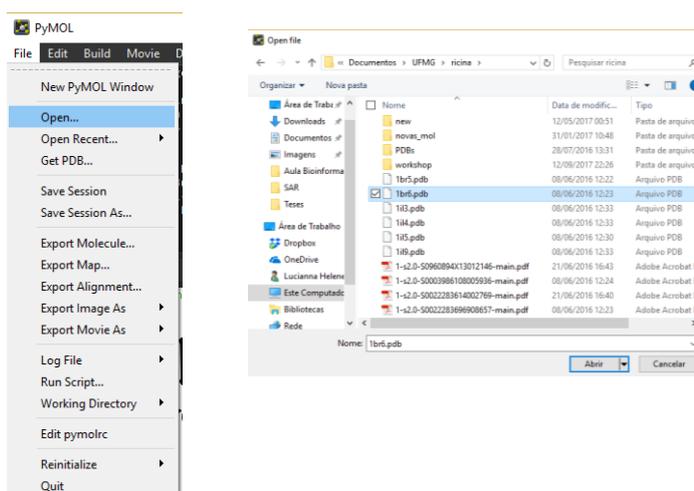
A) Comando fetch <PDB> . Exemplo: fetch 1br6.

Explicação: Faz o download de uma estrutura diretamente do site do PDB.

B) Comando load <PDB> . Exemplo: load 1br6.pdb.

Explicação: Carrega uma estrutura de um arquivo local.

C) File > Open.



Explicação: Abre uma estrutura PDB navegando as pastas no computador.

Parte 1 – Explorando opções de representação e preparando uma figura no Pymol

1) Abra o PyMOL



OBS. 1: Dê preferência para o PyMOL + Console, assim o programa abre com mais opções nas abas.

Ou pela linha de comando:

```
$ pymol &
```

- 2) Abra a estrutura **PDB 7L10**, um complexo da protease principal do SARS-CoV-2 (*Main protease*) com um inibidor otimizado de uma campanha de triagem virtual de 2000 compostos aprovados. Como essa protease é ativa apenas em forma de dímero, buscamos sua “*biological assembly*”, dessa forma utilizaremos a sua forma que se acredita ser funcional:

```
PyMOL> set assembly, 1  
PyMOL> fetch 7L10
```

- 3) Inicialmente estarão representados dois monômeros, conforme observado na unidade biológica. Ambos monômeros estão na mesma representação. Podemos separar, formando dois objetos distintos.

```
PyMOL> split_states 7L10
```

Agora temos os monômeros separados:

all	A	S	H	L	C
7L10 */*	A	S	H	L	C
7L10_0001 1/1	A	S	H	L	C
7L10_0002 1/1	A	S	H	L	C

Podemos remover o original:

```
PyMOL> delete 7L10
```

E renomear os outros objetos:

```
PyMOL> set_name 7L10_0001, 7L10_A  
PyMOL> set_name 7L10_0002, 7L10_B
```

Apesar de renomear os objetos ambas as cadeias estão como A, ficando difícil de distinguir as cadeias:

```
/7L10_A/A/A/1 6 11 16 21 26 31 36 41 46 49 56 61 66 71 76  
SGFRKMAFPSGKVEGCMVQVTCGTTTLNGLWLDVYVYCPRHVICTS--MLNPNYEDLLIRKSNHNFLVQAGNVQLRVIGH  
/7L10_B/A/A/1 6 11 16 21 26 31 36 41 46 49 56 61 66 71 76  
SGFRKMAFPSGKVEGCMVQVTCGTTTLNGLWLDVYVYCPRHVICTS--MLNPNYEDLLIRKSNHNFLVQAGNVQLRVIGH
```

Podemos alterar a cadeia do objeto 7L10_B para cadeia B:

```
PyMOL> select 7L10_B  
PyMOL> alter (sele), chain="B"
```

```
/7L10_A/A/A/1 6 11 16 21 26 31 36 41 46 49 56 61 66 71 76  
SGFRKMAFPSGKVEGCMVQVTCGTTTLNGLWLDVYVYCPRHVICTS--MLNPNYEDLLIRKSNHNFLVQAGNVQLRVIGH  
/7L10_B/A/B/1 6 11 16 21 26 31 36 41 46 49 56 61 66 71 76  
SGFRKMAFPSGKVEGCMVQVTCGTTTLNGLWLDVYVYCPRHVICTS--MLNPNYEDLLIRKSNHNFLVQAGNVQLRVIGH
```

4) Vamos representar a proteína como cartoon:

```
PyMOL> hide lines  
PyMOL> show cartoon
```

Para distinguir melhor as duas cadeias, altere a cor da cadeia B para ciano:

```
PyMOL> color cyan, chain B    OU    PyMOL> util.cbac chain B
```

5) Vamos explorar diferentes representações da estrutura secundária, alterando a forma de representação de hélices e folhas-beta. A cada comando abaixo, observe as modificações:

```
PyMOL> set cartoon_flat_sheets, 0  
PyMOL> set cartoon_smooth_loops, 0  
PyMOL> set cartoon_fancy_helices, 1  
PyMOL> set cartoon_discrete_colors, 1  
PyMOL> set cartoon_highlight_color, 1
```

6) Vamos explorar uma outra exibição da estrutura da proteína na forma de bastões e as águas como esferas, e esconda a representação em cartoon:

```
PyMOL> show sticks  
PyMOL> show nb_spheres  
PyMOL> hide cartoon
```

7) Vamos voltar para a forma de cartoon:

```
PyMOL> hide sticks, chain A or chain B  
PyMOL> hide nb_spheres  
PyMOL> hide wire  
PyMOL> show cartoon
```

8) Crie um objeto contendo apenas o inibidor da cadeia A e um contendo esse mesmo inibidor e as moléculas de água ou resíduos de proteína a no máximo 6 Å de distância do composto.

- para extrair um objeto nomeado **ligante**, contendo a molécula nomeada **STC** no arquivo PDB:

```
PyMOL> extract ligante, resn XEY and chain A  
PyMOL> show sticks, ligante  
PyMOL> util.cbam ligante
```

- a partir do objeto anteriormente criado (**ligante**), para criar um objeto nomeado **sitio_ligante**, que contenha o objeto anterior e todos os átomos a até 6 Å de distância dos átomos contidos neste objeto:

```
PyMOL> create sitio_ligante, ligante around 6  
PyMOL> hide cartoon, sitio_ligante  
PyMOL> show sticks, sitio_ligante
```

```
PyMOL> util.cbag sitio_ligante  
PyMOL> show nb_spheres, sitio_ligante and resn HOH
```

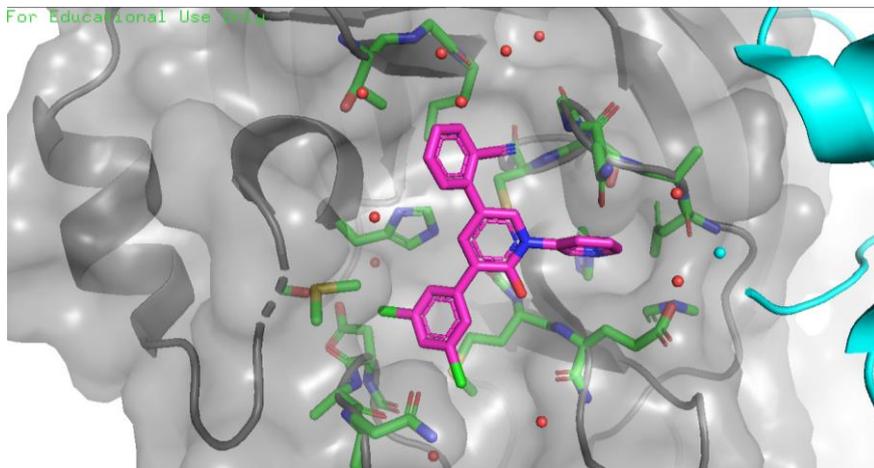
- 9) Represente a superfície da proteína com uma transparência, a partir do objeto **7L10_A**.

```
PyMOL> show surface, 7L10_A  
PyMOL> color gray, 7L10_A  
PyMOL> set transparency, 0.5
```

- 10) Mude o fundo para branco e amplie na região do ligante.

```
PyMOL> bg_color white  
PyMOL> zoom sitio_ligante
```

Você deverá obter uma imagem semelhante à figura abaixo (se necessário, utilize o mouse para dar zoom e alterar a orientação até obter uma imagem semelhante à mostrada abaixo):

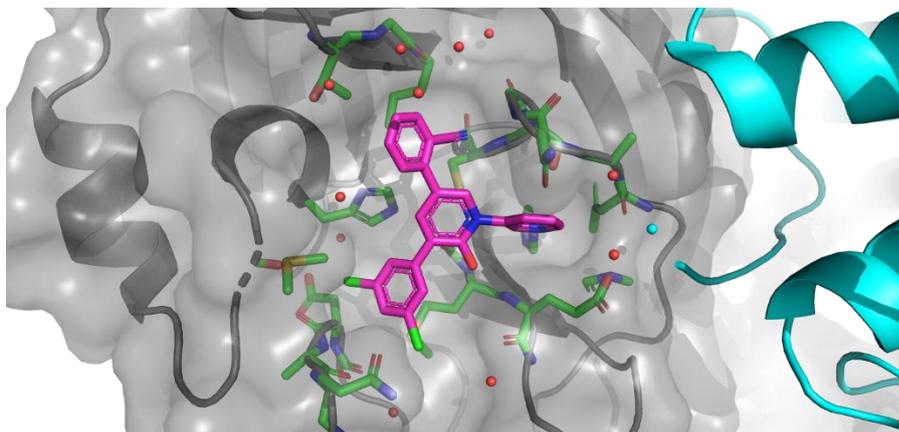


- 11) Para melhorar a resolução da imagem, defina o tamanho da figura no momento de executar o comando ray:

```
PyMOL> ray
```

- 12) Salve a imagem com uma resolução específica:

```
PyMOL> png key_chain_A.png, dpi=300
```



13) **Salve a sessão do Pymol** (File > **Save Session**) como **Mpro_parte1.pse**

14) Remova a superfície:

PyMOL> **hide surface**

15) Vamos analisar as interações intermoleculares entre inibidor e enzima.

Calcule as interações entre átomos polares do inibidor e a enzima ou moléculas de água.

- Selecione o ligante no menu de seleção

ligante 1/1	A	S	H	L	C
-------------	---	---	---	---	---

- No menu **Actions (A)** da seleção, clique em **Find – polar contacts – to any atoms**

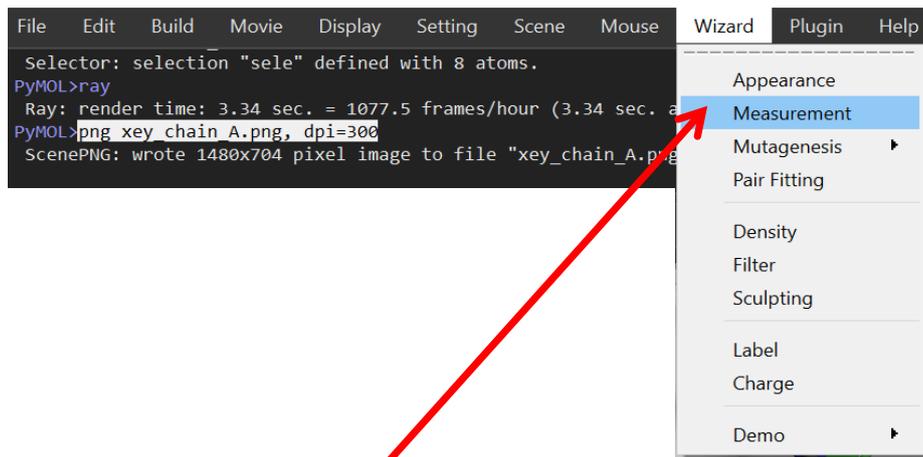
16) Meça a distância entre os átomos envolvidos em cada uma das interações intermoleculares.

- Primeiro esconder a representação da estrutura **7L10_A** clicando no nome no menu lateral.

all	A	S	H	L	C
7L10_A 1/1	A	S	H	L	C
7L10_B 1/1	A	S	H	L	C
ligante 1/1	A	S	H	L	C
sitio_ligante 1/1	A	S	H	L	C
ligante_polar_co	A	S	H	L	C

- No Menu **Wizard**, clique em **Measurement**.

Para medir as distâncias entre dois átomos, clique sucessivamente em cada um.



Para sair do menu **Measurement**, clicar em **Done**:



- 17) Vamos alterar as cores das linhas para visualizarmos melhor. Para isso, digite na linha de comando
PyMOL> **set dash_color, black**
- 18) Após medir todas as distâncias, clique em **Done**, no Menu **Measurement**, e salve como **Mpro_dist.pse**.