

RADIONICA: MOLEKULE U RAČUNALU

1. DNA

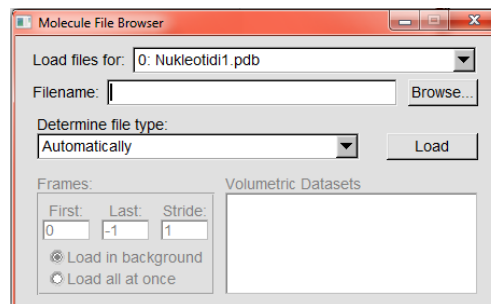
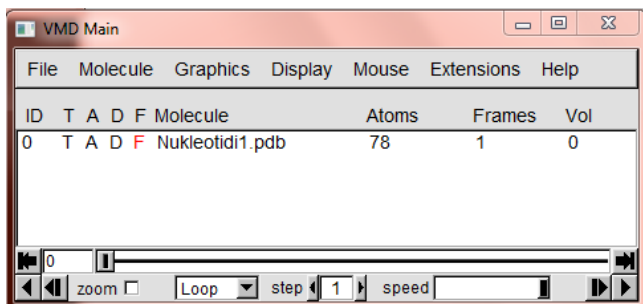
Podebljano - natpisi u programu ili važni pojmovi; *Ukošeno* - imena datoteka; Podcrtano - nazivi prozora

- OTVORITE VMD:** dvostruki klik lijevom tipkom miša na ikonu VMD na radnoj površini.
- UČITAJTE *1Nukleotidi.pdb*** na sljedeći način: otvorite prozor VMD Main. Otvorite prozor za novu molekulu (**File** → **New Molecule**). Kliknite na **Browse**. U mapi koja se otvori pronađite datoteku *1Nukleotidi.pdb*, kliknite **Load**.
- VIZUALIZIRAJTE NUKLEOTIDE:**
Promijenite prikaz molekule tako da prvo otvorite prozor VMD Main, a zatim kliknete na **Graphics** → **Representations**. Otvorit će vam se novi prozor Graphical Representations. U njemu postoji padajući izbornik **Drawing Method** pomoću kojeg izabirete prikaz molekule koji vam se najviše sviđa (**Lines** = tanke crte, **Bonds** = debele crte, **CPK** = kuglica-štapić, **VDW** = kalotni, itd.)
- UKLJUČITE VIZUALIZACIJU EVENTUALNIH VODIKOVIH VEZA:**
Ako ste ga već zatvorili, otvorite prozor Graphical Representations tako da prvo otvorite prozor VMD Main, a zatim kliknete na **Graphics** → **Representations**. U tom prozoru kliknite gumb **Create Rep**. Zatim u izborniku **Drawing Method** izaberite **Hbonds**. Povećajte svojstvo **Line Thickness** barem na **7** kako biste lakše učili vodikove veze kada budu stvorene.
- SPARITE NUKLEOTIDE NA NAČIN DA OSTVARITE MAKSIMALAN BROJ VODIKOVIH VEZA:**
U VMD Graphics može biti uključena **rotacija** (okretanje - pokazivač miša ima oblik strelice) ili **translacija** (pomicanje - pokazivač miša ima oblik ukrštenih strelica). Kako biste uključili **translaciju jedne molekule u odnosu na drugu** pritisnite prvo **R** pa broj **7** na tipkovnici (pokazivač miša dobit će oblik znaka PLUS). Zatim kliknite na atom molekule koju želite translirati, pri tome držeći stisnutu lijevu tipku miša. Sve dok je lijeva tipka miša stisnuta, možete translirati odabranu molekulu. Želite li ju rotirati, stisnite i držite stisnutu tipku SHIFT. Kliknete li lijevom tipkom miša izvan molekule, rotirat ćete obje molekule. Probajte spariti molekule tako da dobijete tri vodikove veze kao na prezentaciji.
- PROVJERA SPARIVANJA:**
Učitajte datoteku *Rj1Nukleoditi1.pdb* (VMD Main → **File** → **New Molecule**). Zatim izaberite VMD Main → **Extensions** → **Analysis** → **RMSD Calculator**. U prozoru RMSD tool umjesto **residue 5 to 85** upišite **all** te isključite opciju **Backbone only**. Kliknite **All in memory**, zatim **Align**, a nakon toga **RMSD**. **All in memory** sprečava neke moguće greške u programu, **Align** preklapa vaš rezultat s ranije dobivenim optimalnim rješenjem, a **RMSD** vrijednost je ocjena vašeg uspjeha – što manja RMSD vrijednost, to je rezultat bolji!

Ponovite isti postupak za datoteku *2Nukleotidi.pdb* gdje sparujete adenin i timin.

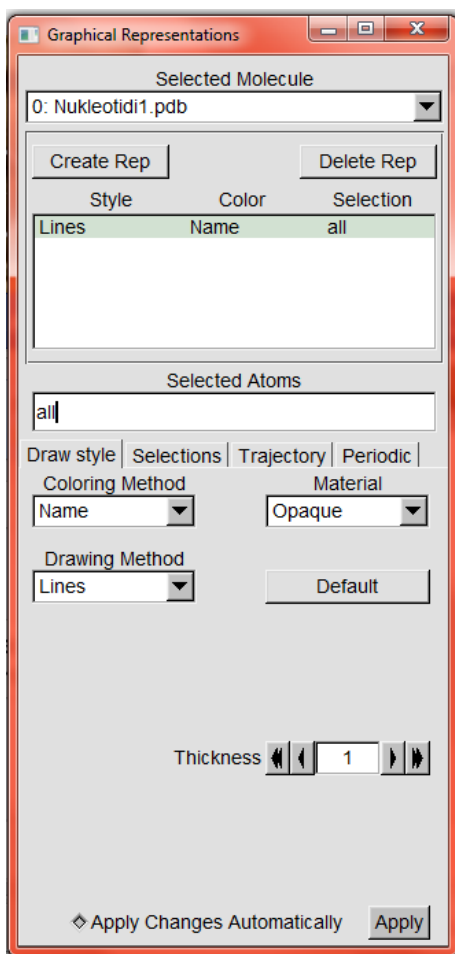
2. HEMOGLOBIN

1. UČITAJTE KRISTALNU STRUKTURU HEMOGLOBINA: VMD Main – **File** – **New Molecule** – **Browse** (nađite *3Hemoglobin.pdb*) – **Load**
2. VIZUALIZIRAJTE SEKUNDARNE STRUKTURE, HEM I KISIK: VMD Main → **Graphics** → **Representations**. Pod **Drawing Method** izaberite **NewCartoon**. Kliknite na **Create Rep** na istom prozoru i u polje **Selected Atoms** umjesto **all** upišite **resname HEM OXY** te stisnite enter. Nakon toga pod **Drawing Method** izaberite **Bonds** ili **CPK**. Poigrajte se malo s molekularnim prikazima te pokušajte izabrati onaj koji vam najviše odgovara.
1. VIZUALIZIRAJTE PROKSIMALNI I DISTALNI HISTIDIN: u prozoru Graphical Representations kliknite **Create Rep**. U polje **Selected Atoms** upišite **resname HIS**
2. ROTIRAJTE I ZUMIRAJTE MOLEKULU TE IZMJERITE UDALJENOST KISIKA OD ATOMA ŽELJEZA U HEMU, UDALJENOST KISIKA OD DUŠIKA DISTALNOG HISTIDINA TE KUT KOJI ZATVARAJU ATOMI MOLEKULE KISIKA I ATOM ŽELJEZA U HEMU – pritiskom slova **C** na tipkovnici pokazivač miša poprima oblik križa. Možete kliknuti na atom koji želite da bude u **središtu rotacije**. Pritiskom na slovo **R** vraćate se na **rotaciju**. Pritiskom na slovo **T** uključujete **translaciju**. Pritiskom na slovo **L**, a odmah zatim na broj **2** uključujete **mjerenje udaljenosti**. Nakon toga trebate kliknuti na dva atoma čiju udaljenost želite izmjeriti. Izmjerite udaljenost između jednog atoma kisika i atoma željeza te između drugog atoma kisika i atoma dušika distalnog histidina. Pritiskom na slovo **L**, a odmah zatim na broj **3** uključujete **mjerenje kuta** koji zatvaraju tri atoma. Izmjerite kut između dva atoma kisika i atoma željeza.
3. ZATVORITE VMD, ZATIM PONOVO OTVORITE NOVI VMD I UČITAJTE *4MonoDeoxyHb.pdb*. VIZUALIZIRAJTE SEKUNDARNE STRUKTURE I HEM (kao u koraku 2) TE PROKSIMALNI I DISTALNI HISTIDIN (**resid 63 92**) (ili **resname HIS** kao u koraku 3)
4. VEŽITE KISIK NA HEM – Kako biste uključili translaciju MOLEKULE KISIKA U ODNOSU NA HEMOGLOBIN pritisnite slovo **R**, a zatim broj **7** (pokazivač miša poprimat će oblik križa). Kliknite na atom molekule kisika i pri tome držite stisnutu lijevu tipku miša. Sve dok držite stisnutu lijevu tipku miša, translirate samo jednu molekulu. Želite li ju rotirati, držite stisnutu i tipku shift. Kada pustite lijevu tipku miša i kliknete izvan molekule, opet rotirate čitav sustav (OBJE MOLEKULE). Kliknete li lijevom tipkom miša izvan molekule, rotirat ćete obje molekule. Pritiskom na slovo **C** i klikom na odabrani atom birate centar rotacije. Prikažite mjere udaljenosti i kuta molekule kisika i atoma željeza u hemoglobinu kako bi adekvatnije postavili kisik na vezno mjesto.
5. PROVJERA VEZANJA: Učitajte datoteku *Rj44MonoDeoxyHb.pdb* (VMD Main → **File** → **New Molecule**). Zatim odite na VMD Main → **Extensions** → **Analysis** → **RMSD Calculator**. U prozoru RMSD tool umjesto **residue 5 to 85** upišite **all** te isključite opciju **Backbone only**. Kliknite **All in memory**, zatim **Align**. Nakon toga zamijenite **all** s **resname OXY** te pritisnite **RMSD**. **All in memory** onemogućuje neke moguće greške u programu, **Align** preklopi vaš rezultat s optimalnim rješenjem, a **RMSD** vrijednost je ocjena vašeg uspjeha – što manja RMSD vrijednost, to je rezultat bolji! Budući da je hemoglobin točno pozicioniran, jedina greška koja vas može zanimati je odstupanje kisika. Zato preklapate cijelu molekulu, a uspoređujete samo **resname OXY**.



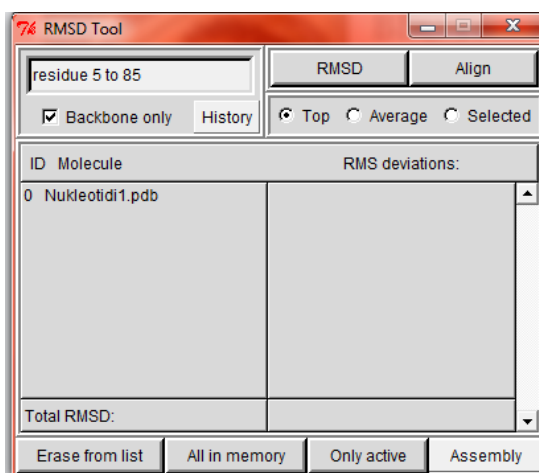
Lijevo: *VMD Main* iz kojeg se mogu otvoriti svi ostali prozori.

Desno: *Molecule File Browser*. Molekula se učitava tako što se klikne na **Browse**, pronađe datoteka s molekulom, klikne **Open**, a zatim **Load**.



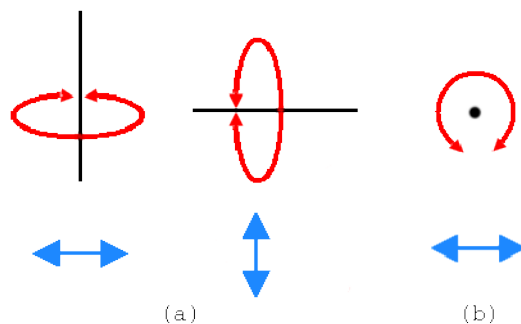
Sa strane – prozor *Graphical Representations*. Otvara se iz *VMD Main* > **Graphics** > **Representations**. Svaka molekula može imati više prikaza (eng. representation). Novi se prikaz napravi tako što se klikne na **Create Rep** te se može izbrisati pritiskom na **Delete Rep**. U kućici **Selected Atoms** može se upisati koje točno atome želimo prikazati u trenutačnom prikazu. Pod **Coloring Method** možemo odabrati način bojenja atoma. Kad bismo, na primjer, imali molekulu DNA, uz pomoć ovoga bismo mogli obojiti sve adenine u jednu boju, timine u drugu, gvanine u treću i citozine u četvrtu. Pod **Drawing Method** može biti izabrano više različitih opcija, primjerice crte (**Lines**), veze (**Bonds**), kalotni model (**VDW**), kuglica-štipić (**CPK**), vodikove veze (**HBonds**), razni načini prikazivanja 3D struktura proteina (**Ribbons**, **NewRibbons**, **Cartoon**, **NewCartoon**), itd. Vodikove su veze vidljive samo ako postoje u strukturi. Ukoliko je uključen samo prikaz vodikovih veza kao jedini prikaz, atomi molekule su zanemareni te je stoga uz vodikove veze poželjno izabrati i još jedan način prikaza s pomoću **Create Rep**.

RMSD Tool se može otvoriti iz *VMD Main* > **Extensions** > **Analysis** > **RMSD Calculator**. RMSD (eng. root mean square deviation) je statistika koji pokazuje kolika je identičnost između dvije strukture (dvije konformacije molekule). U prikaznim vježbama koristi se kao mjera uspješnosti izvođenja vježbe.



Što je manja vrijednost RMSD, to se rezultati bolje slažu s eksperimentalno određenom strukturom. Za računanje RMSD vrijednosti potrebno je prethodno poravnati (eng. align) molekule. Poravnavanje molekula postiže se na slijedeći način: u kućicu se umjesto **residue 5 to 85** upiše **all**, isključi **Backbone only**, klikne na **All in memory** te klikne **Align**. Nakon toga se može izračunati RMSD cijelog ili dijela rezultata tako što se **all** zamijeni s odabranim molekulama (ili ostavi za usporedbu svega) te klikne na **RMSD**.

U prozoru *VMD OpenGL Display* rotira se lijevom i desnom tipkom miša. Kotačićem miša se zumira. Prebacivanje između rotacije i translacije ide pritiskom slova **R** i **T** na tipkovnici. Za odabir atoma koji je središte rotacije treba pritisnuti **C** te zatim kliknuti na odabrani atom. Lijevom tipkom miša rotira se oko prve dvije osi, a desnom oko treće osi prikazane na sljedećem crtežu



preuzeto s: <http://www.ks.uiuc.edu/Training/Tutorials/vmd/tutorial-html/node2.html>