


RELAZIONE DI BIOLOGIA MOLECOLARE 2: SWISS PDB VIEWER

Swiss PDB Viewer è un programma che permette di visualizzare la struttura delle proteine, ma anche di manipolarla per estrarre informazioni in maniera più diretta rispetto ai file di testo.

In questa miniguia si tenterà di fornire gli strumenti di base per un corretto uso di Swiss PDB Viewer.


Per convenzione in questo tutorial saranno indicati in blu i comandi della barra dei menu e in verde i comandi della tastiera.

PER INIZIARE:




Cliccare sull'icona del software . Appare una finestra di dialogo; cliccare sopra per visualizzare la barra dei menu:



Caricare una proteina da [FILE-IMPORT](#). Si apre una finestra con un campo nome dove inserire il codice pdb della proteina di interesse o il suo nome; a questo punto premere [INVIO](#). Nel primo caso la proteina è immediatamente visualizzata nella finestra grafica di Swiss PDB nella sua struttura amminoacidica colorata di bianco, rosso e blu. Nel secondo caso viene caricato un elenco di proteine corrispondenti alla query con il relativo codice pdb; scegliere quella di interesse cliccando sul codice pdb.

Per risalire al file pdb con relative informazioni sulla proteina, cliccare sull'icona .

Per migliorare la visualizzazione della proteina, sono utili tre icone:

- per spostare orizzontalmente la proteina cliccare su  oppure il tasto destro del mouse;
- per ruotare la proteina cliccare su  oppure il tasto sinistro del mouse;
- per zoomare cliccare su  oppure contemporaneamente tasto destro e sinistro del mouse.

PANNELLO DI CONTROLLO:

Cliccare su [WIND-CONTROL PANEL](#) se il pannello di controllo non compare automaticamente. Si tratta di uno strumento molto utile per lavorare sulla visualizzazione grafica della proteina ed è costituito da sette colonne:

- group elenca gli AA dall'N terminale al C terminale con relativa posizione sulla sequenza. I singoli residui sono preceduti da due lettere: la prima indica la struttura secondaria a cui

appartiene l'AA e può essere h per alpha elica, s per foglietto beta o spazio vuoto per strutture non definite; la seconda indica la catena di cui il residuo fa parte; dopo la lista degli AA che fanno parte della proteina si possono trovare anche eventuali interattori (ligandi, cofattori,...) che sono stati risolti con la proteina stessa;

- show permette di decidere se visualizzare in backbone gli AA oppure no, cliccando rispettivamente su - e +; il backbone è una rappresentazione dei legami tra atomi in forma di linee
- side dà la possibilità di visualizzare oppure no la catena laterale degli AA sempre cliccando + o -;
- labl permette di identificare sulla finestra grafica gli AA con il loro identificativo sempre utilizzando + e -
- v permette di visualizzare l'ingombro sterico dei singoli atomi
- ribn consente di visualizzare la struttura secondaria degli AA.

NB: da **DISPLAY** si può attivare **RENDER SOLID 3D** per visualizzare il backbone invece che con delle linee, con degli sticks.

VISUALIZZARE LA SEQUENZA:

gli AA costituenti la proteina possono essere visualizzata sempre dall'N-terminale al C-terminale in tre modi:

- dal file pdb nel campo SEQRES
- da **WIND-ALIGNMENT** dalla barra dei menu
- dal pannello di controllo

STRUMENTI DI SELEZIONE:

gli AA possono essere selezionati in diversi modi e in ogni caso vengono identificati in rosso nel pannello di controllo.

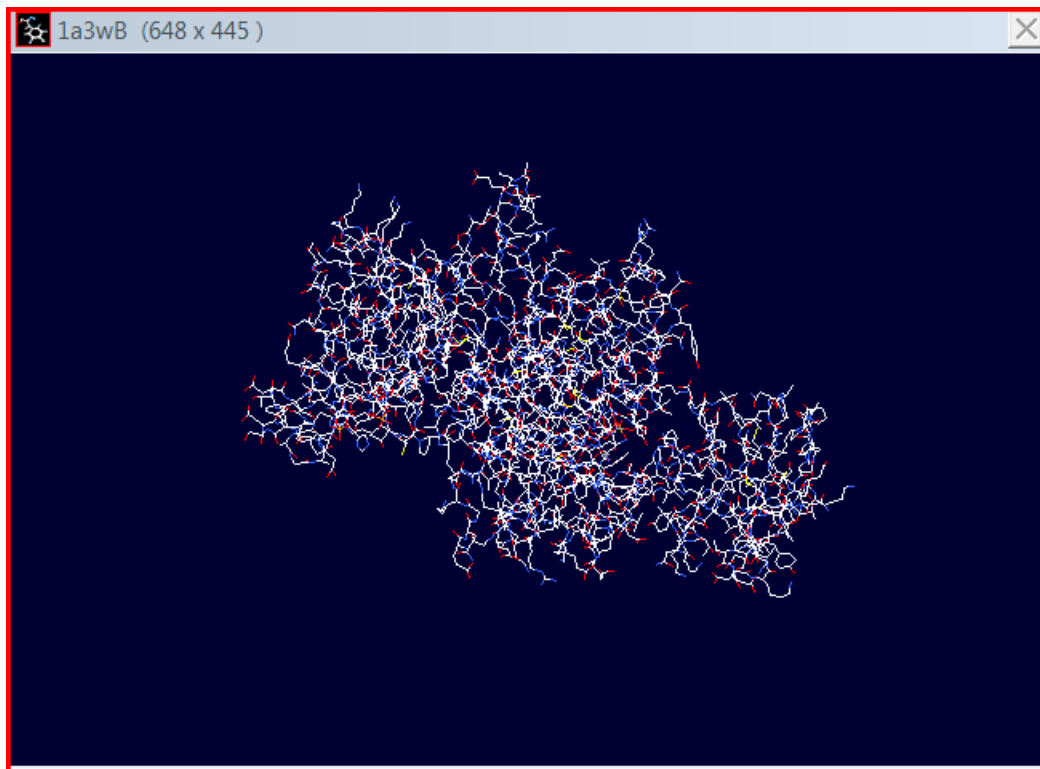
Bisogna ricordare però di usare comandi della tastiera (**INVIO+SHIFT**) perché la finestra grafica mostri solo i residui selezionati.

Le diverse tecniche sono:

- usare il pannello di controllo: cliccare con il tasto sinistro del mouse l'AA di interesse; se ce ne sono più di uno trascinare il cursore dal primo all'ultimo AA su cui vogliamo avere informazioni. Per selezionare AA non consecutivi cliccare con il mouse tenendo premuto **CTRL**. Per selezionare gli AA appartenenti ad una certa struttura

Control Panel				
1a3wB				
		visible	?	can move
group		+	-	
	show	side	labl	ribn
		+	-	ool
B	SER2	v	v	<input type="checkbox"/>
B	h ARG3	v	v	<input type="checkbox"/>
B	h LEU4	v	v	<input type="checkbox"/>
B	h GLU5	v	v	<input type="checkbox"/>
B	h ARG6	v	v	<input type="checkbox"/>
B	h LEU7	v	v	<input type="checkbox"/>
B	h THR8	v	v	<input type="checkbox"/>
B	SER9	v	v	<input type="checkbox"/>
B	LEU10	v	v	<input type="checkbox"/>
B	SER16	v	v	<input type="checkbox"/>
B	ASP17	v	v	<input type="checkbox"/>
B	LEU18	v	v	<input type="checkbox"/>
B	ARG19	v	v	<input type="checkbox"/>
B	ARG20	v	v	<input type="checkbox"/>
B	THR21	v	v	<input type="checkbox"/>
B	SER22	v	v	<input type="checkbox"/>
B	ILE23	v	v	<input type="checkbox"/>
B	ILE24	v	v	<input type="checkbox"/>
B	GLY25	v	v	<input type="checkbox"/>
B	THR26	v	v	<input type="checkbox"/>
B	ILE27	v	v	<input type="checkbox"/>
B	GLY28	v	v	<input type="checkbox"/>
B	PRO29	v	v	<input type="checkbox"/>
B	LYS30	v	v	<input type="checkbox"/>
B	THR31	v	v	<input type="checkbox"/>
B	ASN32	v	v	<input type="checkbox"/>
B	ASN33	v	v	<input type="checkbox"/>
B	h PRO34	v	v	<input type="checkbox"/>
B	h GLU35	v	v	<input type="checkbox"/>
B	h THR36	v	v	<input type="checkbox"/>
B	h LEU37	v	v	<input type="checkbox"/>
B	h VAL38	v	v	<input type="checkbox"/>
B	h ALA39	v	v	<input type="checkbox"/>
B	h LEU40	v	v	<input type="checkbox"/>
B	h ARG41	v	v	<input type="checkbox"/>
B	h LYS42	v	v	<input type="checkbox"/>
B	h ALA43	v	v	<input type="checkbox"/>
B	GLY44	v	v	<input type="checkbox"/>
B	LEU45	v	v	<input type="checkbox"/>
B	s ASN46	v	v	<input type="checkbox"/>
B	s ILE47	v	v	<input type="checkbox"/>
B	s VAL48	v	v	<input type="checkbox"/>
B	s ARG49	v	v	<input type="checkbox"/>
B	s MET50	v	v	<input type="checkbox"/>
B	s ASN51	v	v	<input type="checkbox"/>

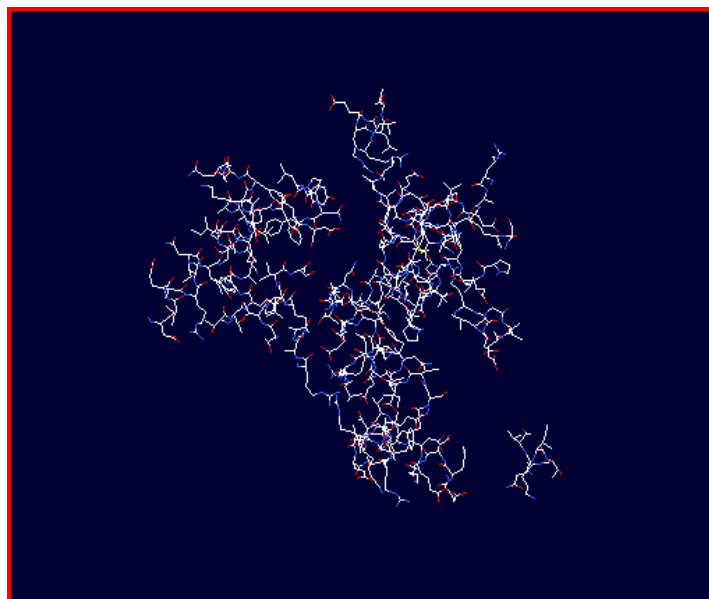
Supponiamo che il primo output sia quello di interesse: è sufficiente cliccare sul codice pdb associato perché la proteina appaia nella finestra grafica:



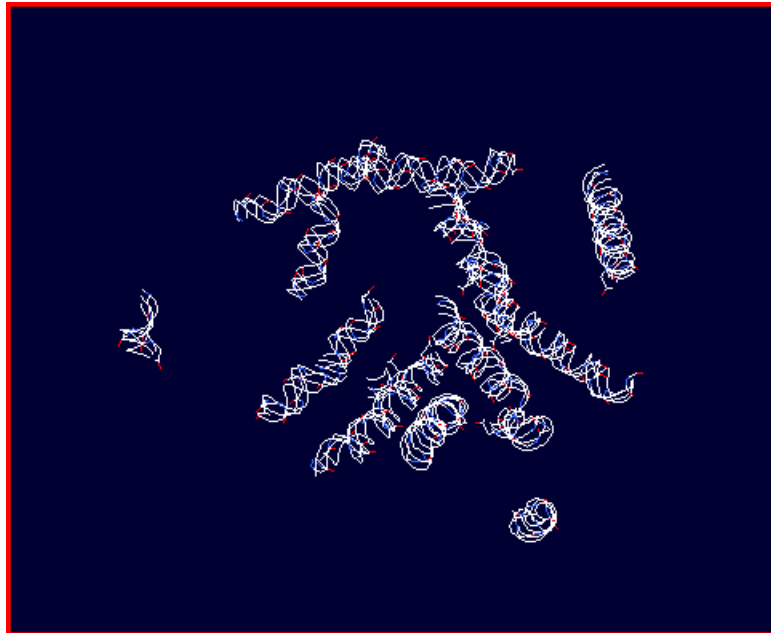
Automaticamente compare anche il pannello di controllo.

Applicare ora una serie di comandi:

- visualizzare le alpha eliche. Scegliere un procedimento, per es. [SELECT-SECONDARY STRUCTURE-HELIX](#) e poi premere [INVIO+SHIFT](#). In questo modo sul pannello di controllo in rosso ci sono solo gli AA che appartengono ad alpha eliche e sulla finestra grafica sono visualizzati esclusivamente questi AA:



- visualizzare solo la catena principale delle alpha eliche, cliccando su – nella colonna side: scompaiono le catene laterali dei residui amminoacidici
- visualizzare solamente i ripiegamenti ad alpha elica, impostando + ribn, - side e -show:



- visualizzare esclusivamente gli AA acidi da **SELECT-GROUP PROPERTY-ACIDIC** e cliccare poi **INVIO+SHIFT**
- visualizzare tutti gli AA tranne quelli acidi da **SELECT-INVERSE SELECTION** e **INVIO+SHIFT**
- visualizzare gli interattori della proteina, selezionandoli dal pannello di controllo e premendo **INVIO+SHIFT**

VISUALIZZARE I PONTI IDROGENO:

è uno strumento importante per evidenziare questo tipo di legame molto importante per l'integrità strutturale delle proteine, ma può essere utilizzato anche come strumento di selezione.

Il comando essenziale è dalla barra dei menu **TOOLS-COMPUTE H BONDS** seguito da **DISPLAY-SHOW H BONDS**.

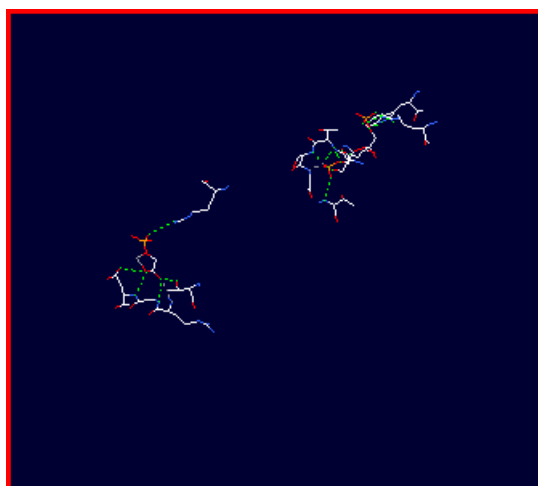
Segue un esempio utile per capire le implicazioni di questo comando.

ESEMPIO:

- caricare la piruvato chinasi di lievito
- visualizzare gli AA che interagiscono con gli interattori: selezionare gli interattori dal

pannello di controllo, poi cliccare su **SELECT-INVERSE SELECTION** con **INVIO+SHIFT** per visualizzare tutti e solo gli AA

- visualizzare i ponti idrogeno, da **COMPUTE H-BONDS** e poi **DISPLAY-SHOW H BONDS**
- selezionare sul pannello i ligandi senza però rimuovere gli altri AA dalla rappresentazione grafica (in altre parole senza premere **INVIO+SHIFT**)
- cliccare su **DISPLAY-ONLY H BONDS FROM SELECTION** e poi **DISPLAY-SHOW ONLY GROUPS WITH VISIBLE HBONDS**. Compaiono così sull'interfaccia grafica gli AA interagenti con gli interattori. Questi AA però non sono selezionati sul pannello di controllo dove in rosso ci sono solo gli interattori. Per sapere quali sono gli AA interagenti: **SELECT-VISIBLE GROUPS** e gli AA vengono colorati in rosso sul pannello; **SELECT-INVERSE SELECTION** (senza **INVIO+SHIFT**) e **+ ribn** sul pannello di controllo per visualizzare gli AA interagenti con gli interattori, e la struttura secondaria del resto della proteina:



STRUMENTI PER COLORARE:

colorare gli AA è uno strumento utile perché migliora la capacità di visualizzare meglio alcuni AA rispetto agli altri. Per fare ciò il metodo più semplice è usare **COLOR** dalla barra dei menu:

- **COLOR-ACT ON** per scegliere su cosa agire con i colori (backbone, ribbon,...);
- **COLOR-SECONDARY STRUCTURE SUCCESSION** per colorare gli AA della struttura secondaria con gradazione dal blu al rosso man mano che si passa dall'N-terminale al C-terminale. Gli AA non facenti parte di struttura secondaria vengono colorati in grigio;
- **COLOR-CHAIN** per colorare allo stesso modo tutti gli AA appartenenti ad un catena. Ogni catena ha perciò un colore diverso;
- **COLOR ACT ON SIDENCHAINS+COLOR TYPE** per colorare i gruppi laterali degli AA in

base alle proprietà chimiche: in rosso gli AA acidi, in blu quelli basici...

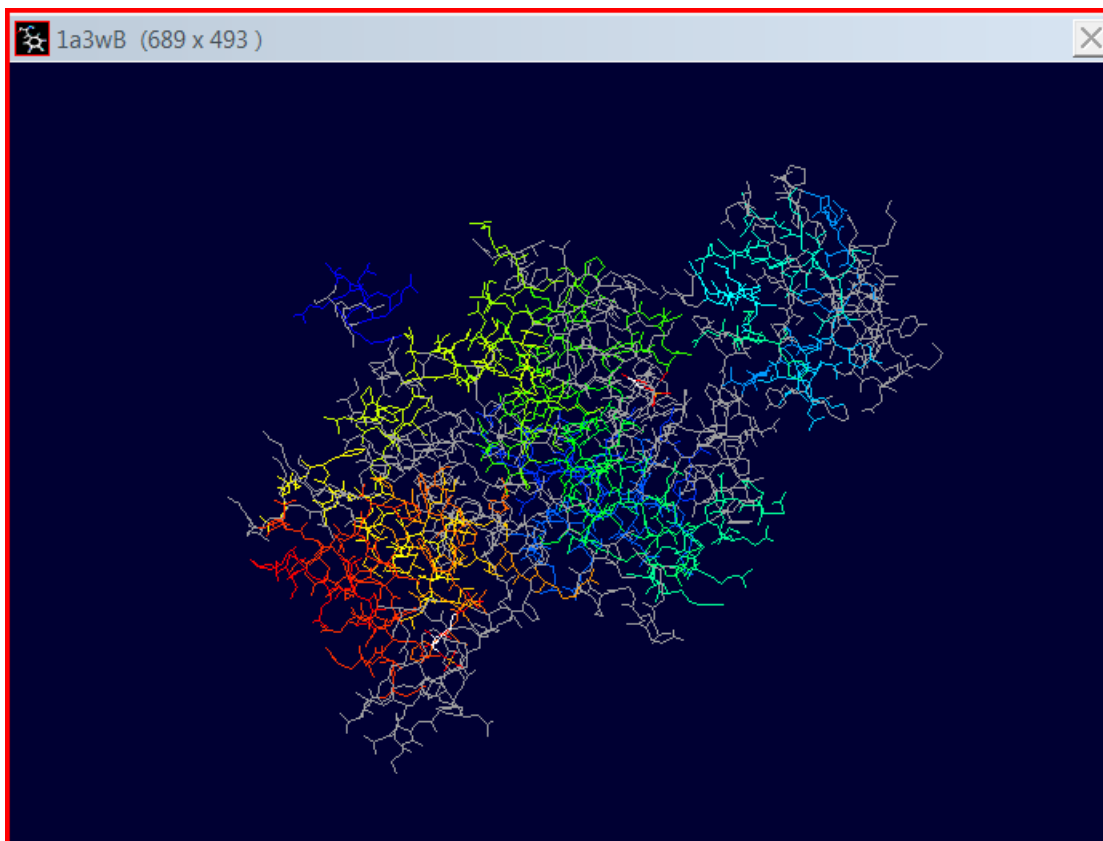
- [COLOR-ACCESSIBILITY](#) per colorare gli AA in base all'accessibilità dall'esterno; quelli viola sono i meno accessibili, quelli rossi i più;
- [COLOR-CDK](#) per tornare alla colorazione standard (per backbone: rosso per ossigeno, blu per azoto, bianco per carbonio e giallo per zolfo).

Dalla barra dei menu non si riescono però a colorare AA specifici. Per fare ciò bisogna selezionare gli AA di interesse e sul pannello di controllo agire sulla colonna col per scegliere il colore da attribuire a quegli AA.

ESEMPIO:

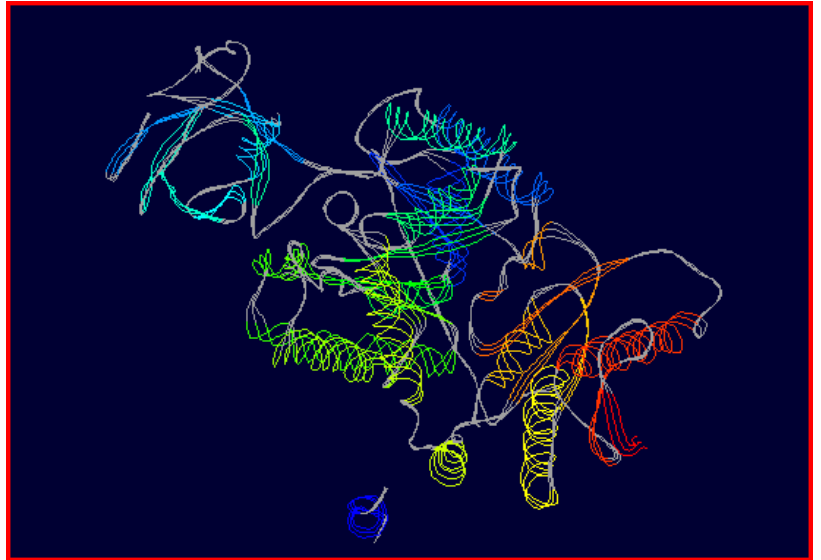
- ricaricare la protein chinasi di *S.cerevisiae*.
- agire con i colori su backbone e sidechain da [COLOR-ACTION-BS](#)
- colorare le strutture secondarie in modo graduato da [COLOR-SECONDARY STRUCTURE](#)

[SUCCESSION:](#)

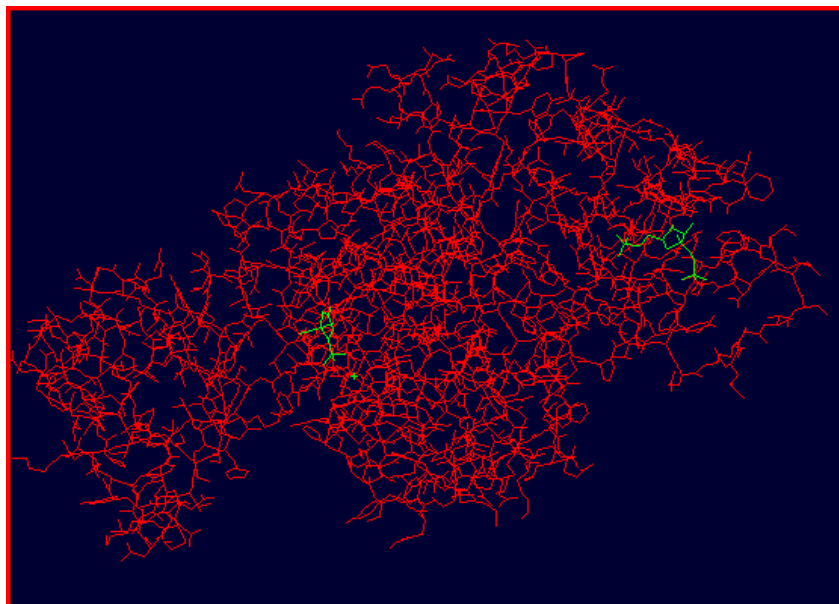


- visualizzare la proteina in ribbon colorando le strutture secondarie in maniera graduata:
 1. [SELECT ALL](#)
 2. nascondere sul pannello di controllo la catena principale e quelle laterali (- show e side)


3. mostrare ribbon (+ ribn)
4. [COLOR-ACT ON-RIBBON](#)
5. [COLOR-SECONDARY STRUCTURE SUCCESSION:](#)




- tornare alla colorazione standard da [COLOR-CPK](#): nel caso di ribbon la colorazione standard è il grigio
- colorare in verde le catene laterali dei primi 60 AA:
 1. [COLOR-ACT ON-SIDECCHAIN](#)
 2. selezionare sul pannello di controllo gli AA di interesse
 3. cliccare su col in alto a destra sul pannello di controllo e scegliere il verde
- tornare alla colorazione standard
- colorare in verde gli AA e in rosso gli inibitori:
 1. [SELECT ALL](#)
 2. [COLOR-ACT ON-BS](#)
 3. selezionare solo gli AA e colorarli in rosso da col sul pannello di controllo
 4. selezionare gli interattori e colorarli in verde:



MISURARE DISTANZE ED ANGOLI:

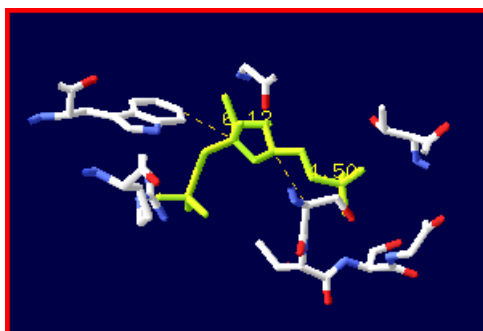
- per misurare la distanza tra due atomi, cliccare l'icona  e cliccare sulla finestra grafica il primo atomo e poi il secondo. Appare una linea tratteggiata che unisce i due atomi e la distanza in Angstrom. Una volta che si clicca sulla icona suindicata, compare sotto di essa l'indicazione dell'AA su cui si trova il cursore nella finestra grafica:



- per deselezionare le distanze cliccare su [DISPLAY-LABELS-CLEAR USER LABELS](#)
- per misurare angoli tra atomi, cliccare l'icona , poi cliccare sulla proteina l'atomo centrale e altri due tra cui misurare l'angolo.
- per deselezionare gli angoli cliccare sempre su [DISPLAY-LABELS-CLEAR USER LABELS](#)

ESEMPIO:

- caricare la piruvato chinasi
- visualizzare interattori e AA interagenti con essi in [RENDER SOLID 3D](#)
- colorare in verde gli interattori
- misurare la distanza tra interattori e AA:



- misurare poi l'angolo:

