



Übung 1: *UCSF Chimera*

Interaktive Visualisierung molekularer Strukturen

1. Einführung

Die folgende Übung soll Sie mit der Arbeit in *UCSF Chimera* (www.cgl.ucsf.edu/chimera/) vertraut machen. *UCSF Chimera* - im Folgenden einfach *Chimera* genannt - ist ein im Bereich der strukturellen Bioinformatik sehr beliebtes Programm zur interaktiven Visualisierung von Molekülen. Allerdings ist *Chimera* nicht nur zur Darstellung von Molekülen geeignet sondern bietet dank einer umfangreichen Sammlung integrierter Werkzeuge auch vielfältige Möglichkeiten zur Analyse und Modifikation molekularer Strukturen. Für die nächsten Übungen wird vorausgesetzt, dass Sie mit der Arbeit in *Chimera* vertraut sind.

2. Starten von *Chimera*

Chimera lässt sich direkt über die Konsole starten. Geben Sie hierzu den folgenden Befehl in die Eingabeaufforderung Ihrer Shell ein:

```
/usr/local/zbhtools/chimera/Chimera64-1.6.2/bin/chimera &
```

3. Das Chimera Tutorial

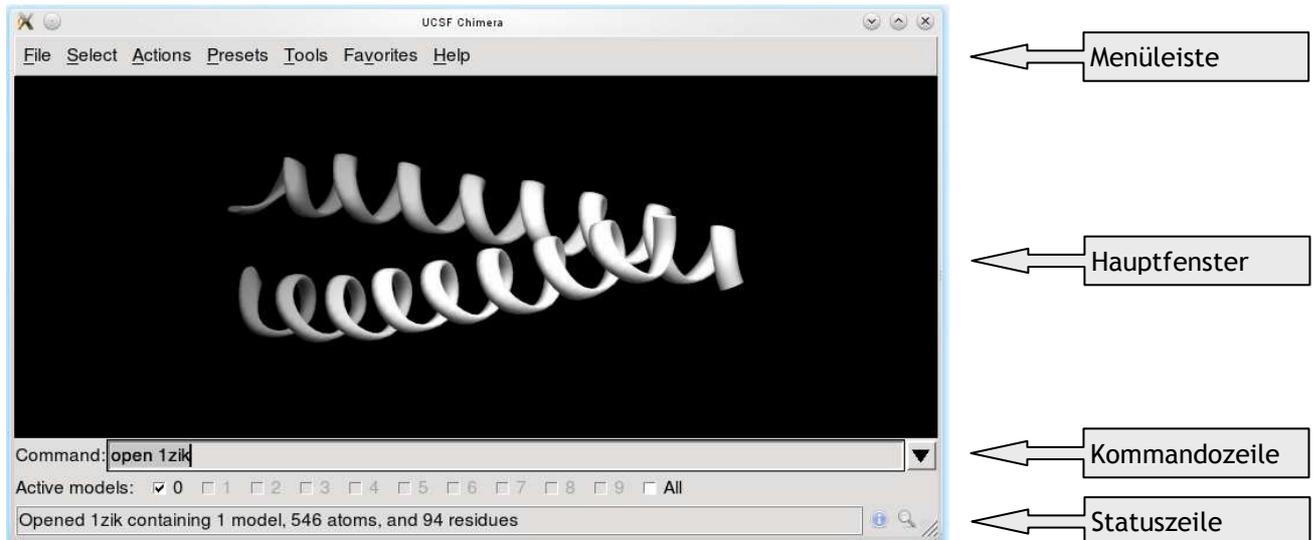
Die Aufgabenzusammenstellung dieser Übung wurde dem *Chimera*-Tutorial entnommen, welches Interessierte unter folgendem Link finden können:

```
http://www.cgl.ucsf.edu/chimera/docs/UsersGuide/indextut.html
```

Einführung für Chimera-Neulinge

Das Programm *Chimera* lässt sich gleichermaßen über die Eingabeaufforderung einer programminternen Kommandozeile als auch direkt über die Menüleiste des Programms bedienen. Da einige Werkzeuge nicht über die Kommandozeile angesprochen werden können und einige Befehle nicht über das Menü verfügbar sind, möchten wir Sie mit beiden Bedienungsarten von *Chimera* vertraut machen.

Das *Chimera*-Arbeitsfenster



Das Arbeitsfenster unterteilt sich in die folgenden Bereiche:

- eine Menüleiste, über welche die meisten Funktionalitäten von Chimera verfügbar sind,
- das Hauptfenster, in welchem die molekularen Strukturen angezeigt werden, mit denen Sie gerade arbeiten,
- eine Kommandozeile, in welche Sie von Chimera auszuführende Befehle eingeben können, und zuletzt
- eine Statuszeile, welche Sie darüber informiert, was *Chimera* gerade macht.

Typographische Konventionen dieser Übung:

Wann immer wir in dieser Übung wünschen, dass Sie eine Aktion über das Menü starten, werden wir dies mit Pfeilen andeuten:

Beispiel: **Tools**→**General Controls**→**Command Line** bedeutet, dass Sie über das *Tools*-Menü in das Untermenü *General Controls* wechseln und hier die Kommandozeile (*Command Line*) auswählen müssen. Diese Aktion sollten Sie direkt ausführen, da wir mit der Kommandozeile in dieser Übung fortlaufend arbeiten werden.

Vor Befehle, die in die Kommandozeile einzugeben sind, werden wir **Command:** schreiben.

Command: BeispielbefehlXY bedeutet also, dass Sie *BeispielbefehlXY* in die Eingabeaufforderung der Kommandozeile schreiben müssen.

Herunterladen von PDB-Dateien:

Chimera kann PDB-Dateien über das Internet direkt aus der Proteindatenbank (Protein Data Bank oder kurz PDB) beziehen oder alternativ aus einem lokalen Verzeichnis auf Ihrem Rechner.

Öffnen einer Struktur:

Verwenden Sie den folgenden Befehl, um eine Struktur direkt aus der PDB zu beziehen:

Command: *open 1zik*

Die Struktur *1zik* wird anschließend direkt im Hauptfenster angezeigt (siehe Abbildung auf der vorherigen Seite). Es ist eine Leucin-Zipper, die von zwei Peptiden geformt wird.

Wechseln zwischen atomarer und Ribbon-Darstellung:

Alle Strukturen werden standardmäßig in der so genannten Ribbon-Darstellung geöffnet. Diese hebt die übergeordneten Sekundärstrukturelemente wie α -Helices und β -Faltblätter hervor, zeigt aber nicht die einzelnen Atome an.

Mit dem folgenden Befehl können Sie zu einer atomaren Darstellungsart wechseln:

Command: *preset apply int 2*

Ein "preset" ist eine vordefinierte Zusammenstellung von Anzeigeeinstellungen. Die Voreinstellung 2 bedeutet, dass alle Nicht-Kohlenstoffatome entsprechend ihres Elements in den typischen Farben angezeigt werden (Sauerstoff in rot, Stickstoff in blau, ...). Nur Kohlenstoff wird in der Farbe des Modells angezeigt (in unserem Fall braun).

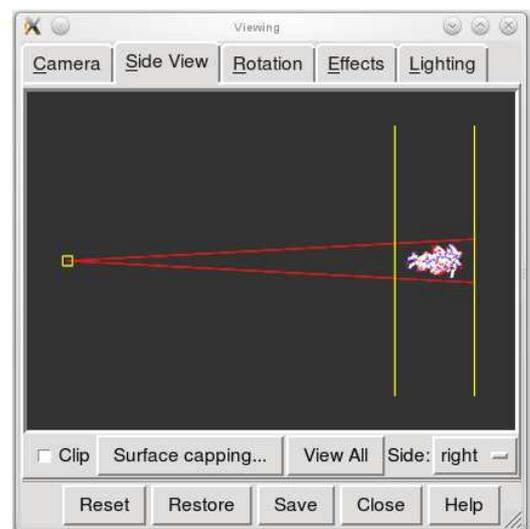
Kommandozeilenverlauf:

Wenn möglich sparen sich Informatiker gerne unnötige Schreiarbeit. Wenn Sie einen Kommandozeilenbefehl zum wiederholten Male verwenden möchten, brauchen Sie diesen nicht erneut einzugeben. Stattdessen können Sie mit dem „▼“-Button neben der Kommandozeile zuvor eingegebene Befehle einsehen und auswählen. Alternativ ist es möglich, mit den Pfeiltasten Ihrer Tastatur zwischen alten Kommandozeilenbefehlen hin und her zu wechseln.

Seitenansicht:

Favorites* → *Side View

Sehr nützlich ist die Möglichkeit, sich die geöffneten Moleküle in einer Miniatur-Ansicht von der Seite anzuzeigen zu lassen. In dieser Seitenansicht wird das Verhältnis zwischen Augenposition, den dargestellten

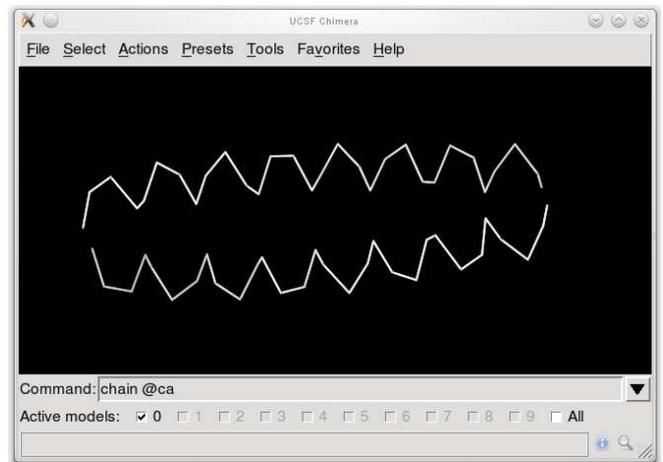


Molekülstrukturen und den Sichtbarkeitsebenen veranschaulicht. Alles was außerhalb der Sichtbarkeitsebenen liegt, ist für den Betrachter unsichtbar. Bewegen Sie nun mit der linken Maustaste die Augenposition (das kleine gelbe Quadrat) und die Sichtbarkeitsebenen (dargestellt durch gelbe vertikale Linien) und achten Sie darauf, was sich verändert.

Vereinfachung der Anzeige:

Command: *chain @ca*

Dieser Befehl bewirkt, dass nur noch das Rückgrat der Peptide dargestellt wird: Angezeigt werden nur noch Atome mit der Bezeichnung CA (die C_α-Atome). Zwischen zwei C_α-Atomen wird in dieser Ansicht eine Bindung dargestellt, wenn die entsprechenden Restgruppen verbunden sind.



Bewegen von Molekülen mit der Maus:

Mit Hilfe der Maus können Sie die im Hauptfenster dargestellten Moleküle frei bewegen.

Bewegen Sie hierzu den Mauscursor und drücken Sie gleichzeitig

- die linke Maustaste, um das Molekül zu rotieren
- die mittlere Maustaste (das Mousrad) für eine Bewegung innerhalb der Darstellungsebene (die XY-Ebene) oder
- die mittlere Maustaste und gleichzeitig die Ctrl-Taste für eine Bewegung in Z-Richtung

Es ist außerdem möglich in die Darstellungsebene hinein und aus der Darstellungsebene heraus zu zoomen. Drücken Sie hierzu die rechte Maustaste, während Sie die Maus bewegen, oder drehen Sie das Mousrad.

Nutzen Sie das Kommando *linewidth*, um die Dicke der angezeigten Linien zu verändern:

Command: *linewidth 1*

Command: *linewidth 2*

Auswahl einzelner Atome:

Wenn Sie Atome oder Bindungen auswählen möchten, dann müssen Sie diese durch Anklicken mit der linken Maustaste auswählen, während Sie gleichzeitig die Ctrl-Taste gedrückt halten. Eine bereits bestehende Auswahl wird dadurch aufgehoben. Wenn ein auszuwählendes Atom nicht die bestehende Auswahl ersetzen sondern zu ihr hinzugefügt werden soll, muss bei Auswahl zusätzlich die Shift-Taste gedrückt gehalten werden. Die getroffene Auswahl wird in grüner Farbe hervor gehoben und in der Statuszeile wird die Anzahl von Atomen und Bindungen angezeigt, die zur aktuellen Auswahl gehören.

Versuchen Sie jetzt zwei C_α-Atome auszuwählen, jeweils eines von jedem Peptid (Ctrl + Shift + linke Maustaste).

Beschriftungen:

Ausgewählte Atome können beschriftet werden:

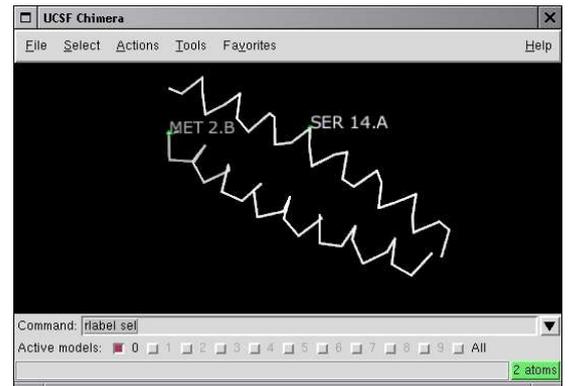
Command: *rlabel sel*

Die Beschriftungen haben folgendes Format:

Restgruppenname Restgruppen-Nummer.Kette

Offensichtlich bildet das eine Peptid die Kette A und das andere die Kette B.

Auch ohne Beschriftungen können Sie Informationen über ein bestimmtes Atom erhalten. Halten Sie hierzu einfach den Mauscursor für einen kurzen Moment über ein Atom (ohne zu klicken), bis eine kleine Informationsanzeige sichtbar wird.



Wenn Sie eine bestehende Auswahl von Atomen und Bindungen wieder aufheben möchten, können Sie entweder einen Auswahlklick (Ctrl + Shift + linke Maustaste) in einem Bereich ausführen, in dem gar keine Atome sind, oder Sie verwenden das Menü:

Select → Clear Selection

Nutzen Sie den folgenden Befehl um Beschriftungen wieder zu entfernen:

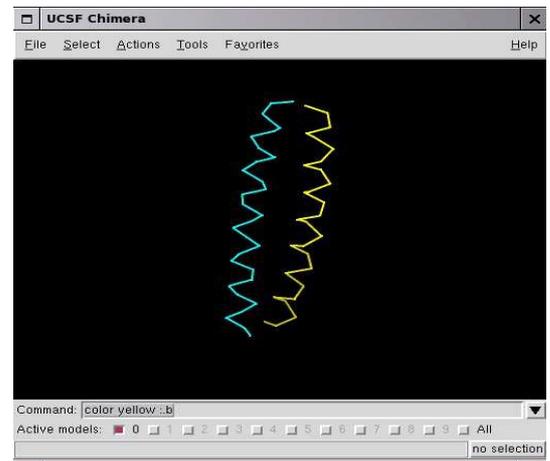
Command: *-rlabel*

Einfärben von Molekülen:

Es ist möglich, die beiden Peptidketten in unterschiedlichen Farben zu zeichnen:

Command: *color cyan :.a*

Command: *color yellow :.b*



Die geöffnete Struktur enthält auch Wassermoleküle:

Command: *disp : HOH*

Dieser Befehl zeigt alle Wassermoleküle an (in kristallographisch aufgeklärten Strukturen sind allerdings nur die Sauerstoffatome sichtbar).

Lassen Sie sich nur noch Atome anzeigen, die zur A-Kette gehören.

Command: *show :.a*

Nur das Rückgrat der A-Kette soll noch angezeigt werden:

Command: *chain :.a@n,ca,c*

Wenn wir im obigen Befehl die Kette nicht mit “:*a*” spezifiziert hätten, würden die Rückgrate beider Peptidketten angezeigt werden.

Jetzt sollen wieder alle Atome angezeigt (*Command: disp*) und entsprechend ihres Elementes gefärbt werden (*Command: color byelement*).

Es ist möglich, eine geöffnete Struktur zu inaktivieren. Sie ist dann zwar immer noch sichtbar, kann aber nicht mehr bewegt werden. Das ist sehr nützlich, wenn mehrere Strukturen gleichzeitig geöffnet wurden, da diese dann unabhängig voneinander bewegt werden können. Unterhalb der Kommandozeile ist eine Reihe von Kontrollkästchen zu sehen - eines für jede geöffnete Struktur. Durch (de)aktivieren des Kontrollkästchens wird auch die Struktur (de)aktiviert.

Schließen Sie jetzt die geöffnete Molekülstruktur:

Command: close 0

Öffnen einer weiteren Struktur:

Command: open 6bna

Sie haben die Struktur einer kurzen DNA-Doppelhelix geöffnet. An die DNA ist ein Oligopeptid gebunden.

Wechseln Sie zu einer Darstellung, bei der Ihnen die einzelnen Atome angezeigt werden:

Command: preset apply int 2

Wir wollen nun die einzelnen Nukleotide je nach Typ unterschiedlich einfärben:

Command: color blue :DA

Command: color magenta :DT

Command: color yellow :DG

Command: color cyan :DC

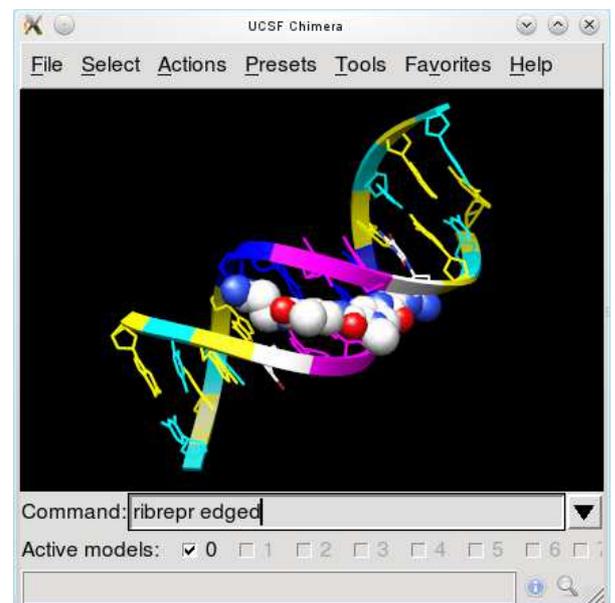
Verstecken Sie die Wassermoleküle

Command: -disp :HOH

und aktivieren Sie die Ribbon-Darstellung für das Zucker-Phosphat-Rückgrat der DNA.

Command: ribbon

Command: ribrepr edged



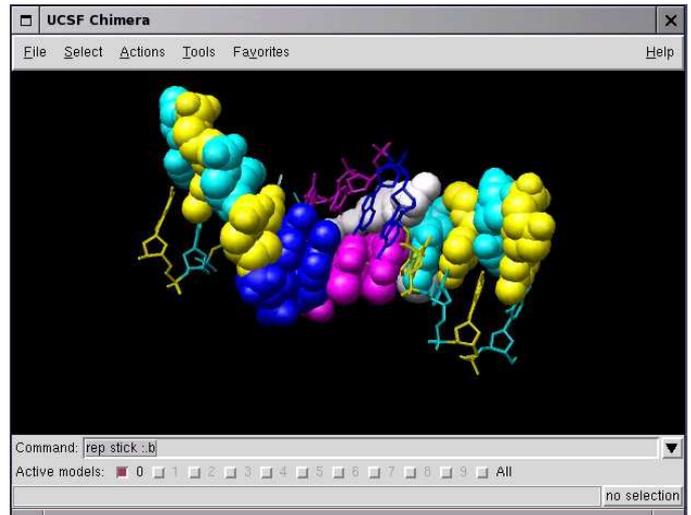
Als nächstes wollen wir ein paar alternative Darstellungstypen ausprobieren. Diese lassen sich auch miteinander oder mit verschiedenen Oberflächendarstellungen (mehr dazu später) kombinieren.

Command: *-ribbon*

Command: *represent stick*

Command: *repr sphere*

Command: *rep stick :.a*



Da sich der letzte Befehl nur auf die Kette A bezieht (*:.a*), wird diese anschließend in der Stäbchen-Darstellung (*stick*) angezeigt, während die restlichen Atome der geöffneten Struktur weiterhin als Kugeln (*sphere*) dargestellt werden. Dies ist das so genannte Kalottenmodell. In diesem Modell werden die einzelnen Atome durch Kugeln repräsentiert und die Radien dieser Kugeln entsprechen den Van-der-Waals-Radien der jeweiligen Atome.

Ein kleiner Hinweis zu den *Chimera*-Kommandozeilenbefehlen: Diese Befehle lassen sich nämlich beliebig abkürzen, solange eindeutig ist, welches Kommando gemeint ist. Dies gilt allerdings nur für die Befehle selbst (z.B. *represent*), nicht aber für Schlüsselwörter (z.B. *stick* oder *sphere*).

Beispiel: Anstelle des Befehls *represent* können Sie auch *repr* oder sogar *rep* schreiben. (Im Anhang dieser Übung finden Sie eine Übersicht über alle verfügbaren *Chimera*-Befehle.)

Zeigen Sie die geöffnete Struktur im Kugel-Stab-Modell (*ball & stick*) an:

Command: *repr bs*

Wählen Sie nun eines der Atome des Moleküls aus, welches nicht Teil der DNA ist (*Ctrl + Left click*). Die grüne Umrandung eines Atoms zeigt an, dass dieses markiert wurde.

Anzeige der Restgruppenbeschriftung:

Command: *rlabel picked*

Das obige Kommando zeigt, dass die ausgewählte Restgruppe die Bezeichnung NT trägt. Dieses Molekül ist das Oligopeptid Netropsin. Neben dem Netropsin sollten Ihnen noch zwei Cytosin-Reste in der DNA-Doppelhelix auffallen, welche nicht eingefärbt sind. Offensichtlich enthalten diese beiden Reste jeweils ein Atom, das in Standard-Cytosin-

Resten nicht vorkommt. Wählen Sie diese beiden Atome aus und markieren Sie sie:

Command: rla picked

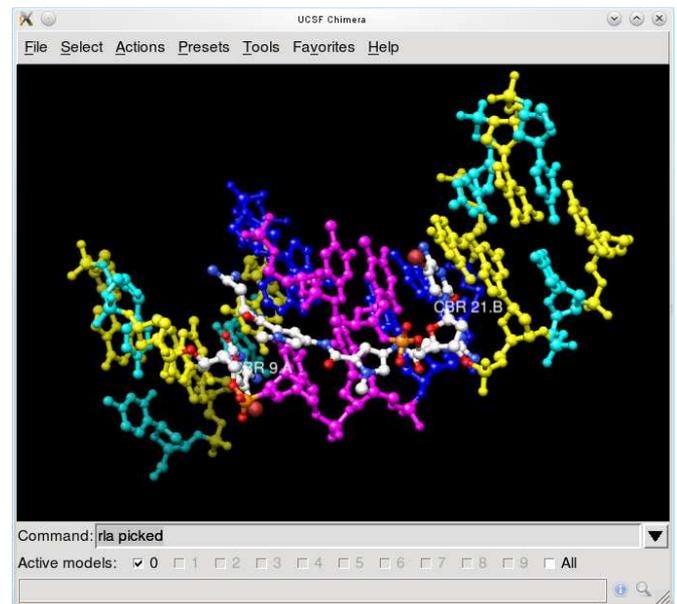
Wie sich zeigt, gehört jeweils einer der beiden bromierten Cytosin-Reste (*CBR*) zur Kette A, der andere zu Kette B.

Löschen Sie die aktuelle Auswahl:

Select → Clear Selection

Lassen Sie anschließend die Beschriftungen wieder verschwinden:

Command: ~rla



Eine PDB-Datei enthält meist nicht nur eine Hauptstruktur (*main*) wie in diesem fall die DNA-Doppelhelix, sondern zusätzlich meist auch viele Wassermoleküle (*solvent*), Ionen (*ions*) und gelegentlich auch weitere Moleküle (*ligand*) wie hier das Oligopeptid Netropsin. Zur Erleichterung der Auswahl einer dieser Untergruppen gibt es in Chimera Bezeichner (die Schlüsselwörter in Klammern), mit denen diese direkt angesprochen werden können.

Jetzt wollen wir uns noch mit der Darstellung von Oberflächen beschäftigen. Mit dem Befehl *surface* können Sie sich die Oberfläche der geöffneten Molekülstrukturen anzeigen lassen. Falls nicht anders festgelegt, wird der Befehl nur auf die Hauptstruktur angewendet. Auch mit aktivierter Oberflächendarstellung können Moleküle beliebig bewegt, rotiert und skaliert werden.

Command: surface

Command: ~surface

Command: surface ligand oder

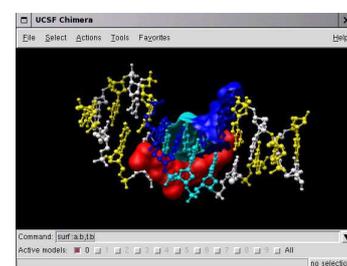
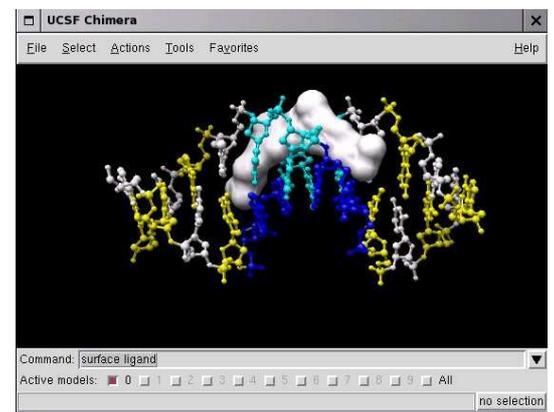
Command: surface :nt

Standardmäßig hat die Oberfläche dieselbe Farbe wie die Atome, für die sie berechnet wurde. Es ist allerdings möglich die Oberflächenfarbe separat festzulegen.

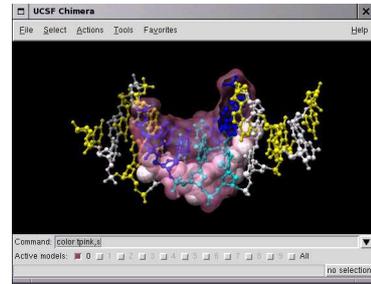
Command: surfrepr mesh

Command: color red,s :nt

Command: surfrepr solid



Command: surf :DA.b,DT.b
Command: surf :DA,DT
Command: repr sphere :nt
Command: color green,s :DT



Manchmal ist es hilfreich, die feste Oberfläche (*solid*) transparent zu machen. Hierzu müssen wir zunächst mit **colordef** eine transparente Farbe definieren und diese dann beim Färben der Oberfläche verwenden:

Command: colordef tpink 1 .5 .7 .4 (Achtung: Nicht die Leerzeichen übersehen!)
Command: color tpink,s

Die ersten drei Zahlen im **colordef** Befehl legen den Rot-, Grün- und Blauanteil der neuen Farbe fest. Die vierte Zahl gibt die Lichtundurchlässigkeit (Opazität) an. Eine Opazität von 0 bedeutet, dass die so gefärbte Oberfläche komplett durchsichtig und damit nicht zu sehen ist. Bei einer Opazität von 1 ist die Oberfläche vollständig undurchsichtig.

Schließen Sie die geöffnete Struktur:

Command: close 0

Bedienen von Chimera über das Menü

Im folgenden Abschnitt wollen wir *Chimera* bevorzugt über das Menü und nicht mehr über die Kommandozeile bedienen.

Öffnen einer Struktur:

File → Fetch by ID...

Wählen Sie **PDB** im „Fetch Structure by ID“-Fenster aus und beziehen Sie die Strukturdaten von *1zik* (**fetch**).

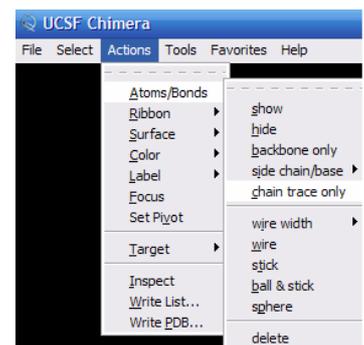
Vereinfachung der Darstellung:

Presets → Interactive 2 (all atoms)

Actions → Atoms/Bonds → hide

Actions → Atoms/Bonds → backbone only → chain trace

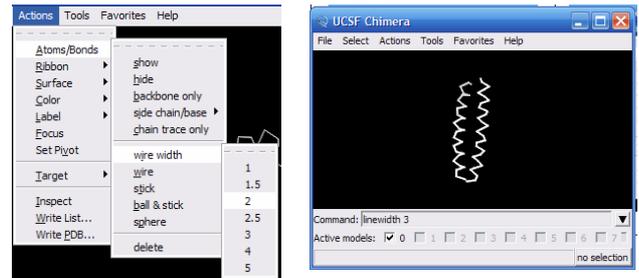
Jetzt sind nur noch die C_α-Atome der Leucin-Zipper sichtbar.



Verdicken / Verschmälern der Linien:

Actions → Atoms/Bonds → wire width → 2

Die über das Menü ausgewählten Aktionen werden immer auf die aktuelle Auswahl angewendet. Wenn Sie nichts ausgewählt haben, werden die Aktionen stets auf alles angewendet.



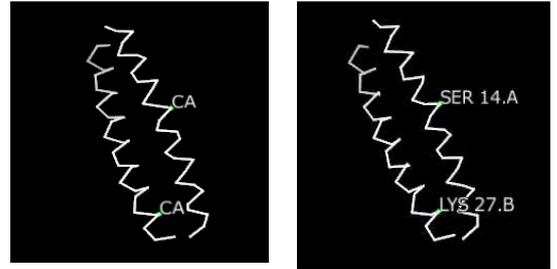
Beschriftungen:

Wählen Sie jeweils ein C_α-Atom von jeder der beiden Ketten aus und beschriften Sie diese Atome mit ihren Namen und anschließend mit Name und Nummer des entsprechenden Aminosäurerestes:

Actions » Label » name

Actions » Label » off

Actions » Label » residue » name + specifier



Wie schon im vorherigen Teil der Übung wird klar, dass die geöffnete Struktur aus zwei Peptiden besteht (Kette A und Kette B).

Heben Sie nun die Auswahl der Atome wieder auf:

Select → Clear Selection

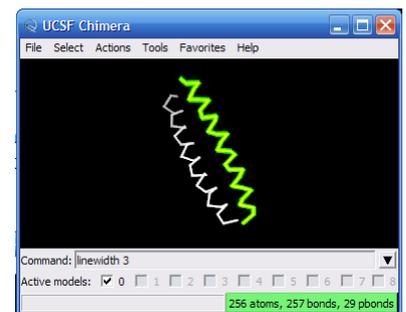
Ausblenden der Beschriftungen:

Actions → Label → residue → off

Färben Sie die zwei Peptid-Ketten mit unterschiedlichen Farben:

Select → Chain → A

Actions → Color → yellow



Mit Hilfe der Pfeiltaste ↑ können Sie die bestehende Auswahl eines Atoms auf die ganze Restgruppe, die Kette oder gar die ganze Molekülstruktur ausweiten. Probieren Sie dies aus: Markieren Sie ein Atom der Kette B, markieren Sie die ganze Kette durch zweimaliges drücken der Pfeiltaste ↑ und färben Sie diese Kette cyanblau.

Sichtbarmachen der Wassermoleküle:

Select → **Structure** → **solvent**

Actions → **Atoms/Bonds** → **show**

Select → **Clear Selection**

Alternativ können Sie die Wassermoleküle auch wie folgt auswählen:

Select → **Residue** → **HOH**

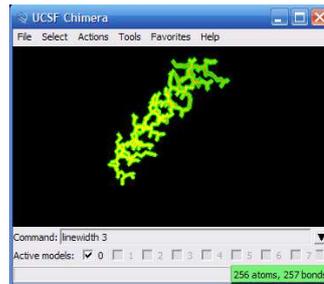
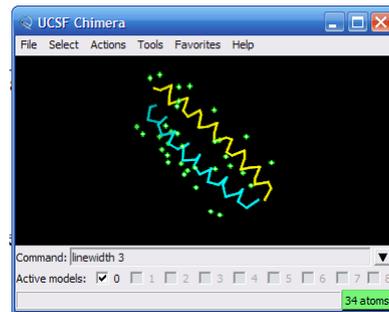
Lassen Sie sich allein die Atome von Kette A anzeigen:

Select → **Chain** → **A**

Actions → **Atoms/Bonds** → **show only**

Nur Atome des Rückgrats anzeigen:

Actions → **Atoms/Bonds** → **Backbone only** → **full**



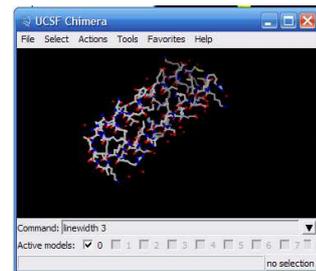
Da die Auswahl für Kette A noch nicht aufgehoben wurde, wird auch nur das Rückgrat von Kette A angezeigt.

Mit den folgenden Menü-Aktionen können Sie sich wieder alle Atome anzeigen lassen und diese entsprechend der für das jeweilige Element typischen Farbe einfärben lassen.

Select → **Clear Selection**

Actions → **Atoms/Bonds** → **show**

Actions → **Color** → **by element**



Rufen Sie das *Model Panel* auf:

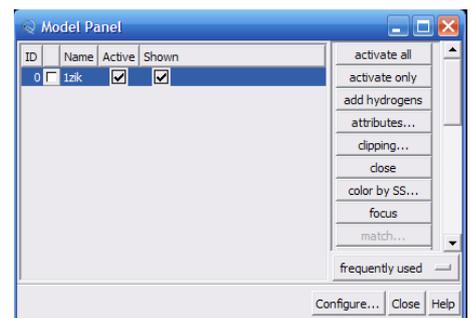
Tools → **General Controls** → **Model Panel**, oder

Favorites → **Model Panel**

Das *Model Panel* gibt Ihnen eine Übersicht über alle geöffneten Modelle (in diesem Fall nur eines) und erlaubt es Ihnen, ein breites Spektrum verschiedener Aktionen auf diese Modelle anzuwenden. Im weiteren Verlauf dieser Übung werden wir noch häufiger mit dem Model Panel arbeiten.

In den Spalten “Active” und “Shown” gibt es jeweils ein Auswahlkästchen, mit denen Sie Aktivitätszustand und die Sichtbarkeit eines Modells festlegen können. Ein inaktives Modell lässt sich nicht bewegen, was bei der Arbeit mit mehreren Modellen von Vorteil sein kann, wenn diese unabhängig voneinander bewegt werden sollen.

Wählen Sie nun im Model Panel **1zik** aus und klicken Sie dann auf **close** (rechte Seite des Model Panels).



Wechseln zwischen verschiedenen Darstellungsarten über das Menü

Öffnen Sie die Struktur *6bna* und lassen Sie sich alle Atome anzeigen:

Presets*→*Interactive 2 (all atoms)

Färben Sie alle Adenin-Reste in einer Farbe Ihrer Wahl:

Select*→*Residue*→*DA

***Actions*→*Color*→...**

Färben Sie auch alle anderen Nukleotid-Reste mit unterschiedlichen Farben.

Färben Sie das Netropsin-Molekül weiß:

Select*→*Residue*→*NT

Actions*→*Color*→*white

Blenden Sie wie oben die Wassermoleküle (rote Punkte) aus und probieren Sie nun unterschiedliche Darstellungsarten für die geöffnete DNA-Struktur aus:

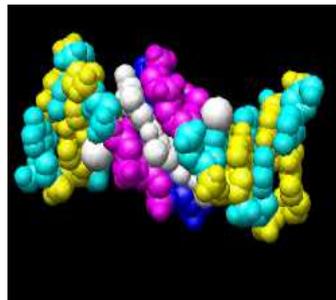
Select*→*Clear Selection

Actions*→*Ribbon*→*show

Actions*→*Ribbon*→*hide

Actions*→*Atoms/Bonds*→*stick

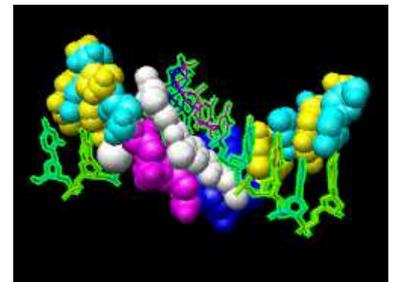
Actions*→*Atoms/Bonds*→*sphere



Ändern Sie jetzt die Darstellung allein für Kette A:

Select*→*Chain*→*A

Actions*→*Atoms/Bonds*→*stick



Als nächstes wollen wir alles im Kugel-Stab-Modell anzeigen lassen:

Select*→*Clear Selection

Actions*→*Atoms/Bonds*→*ball & stick

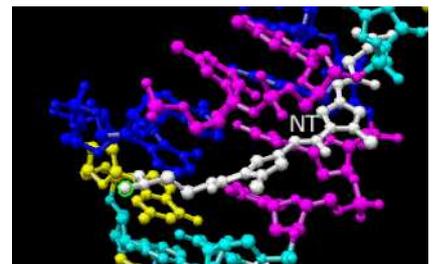
Wählen Sie jetzt ein Atom des Netropsin-Moleküls aus und lassen Sie sich den Namen der zugehörigen Restgruppe anzeigen.

Actions*→*Label*→*residue*→*name

Da dies eine Beschriftung für das ganze Netropsin-Molekül ist, kann es sein, dass die Beschriftung näher an anderen Teilen des Moleküls ist als am markierten Atom.

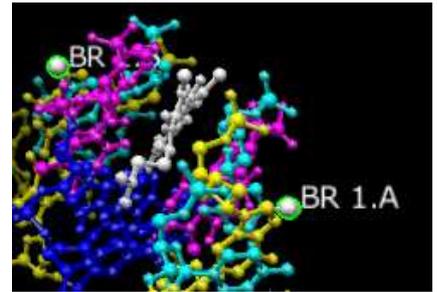
Entfernen Sie die Beschriftung wieder:

Actions*→*Label*→*residue*→*off



Das Untermenü *Actions* → *Label* ist für die Beschriftung einzelner Atome zuständig. Innerhalb dieses Untermenüs gibt es das Untermenü *residue*, welches für Restgruppenbeschriftungen zuständig ist. Lassen Sie sich nun den Namen des markierten Atoms anzeigen:

Actions → *Label* → *name*



Wie Ihnen bereits im ersten Teil dieser Übung aufgefallen ist, enthält die geöffnete DNA-Doppelhelix der Struktur *6bna* zwei modifizierte Cytosin-Reste. Selektieren Sie jeweils ein Atom in diesen beiden Restgruppen und beschriften Sie diese:

Actions → *Label* → *residue* → *name + specifier*

Wie Sie sehen, enthält jede der beiden Ketten jeweils ein bromiertes Cytosin.

Entfernen Sie die Markierungen jetzt wieder und blenden Sie alle Beschriftungen aus:

Select → *Clear Selection*

Actions → *Label* → *residue* → *off*

Actions → *Label* → *off*

Nun wollen wir uns noch einmal mit den Oberflächendarstellungen in Chimera beschäftigen:

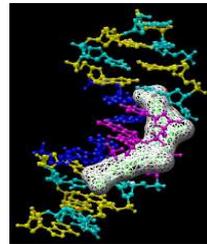
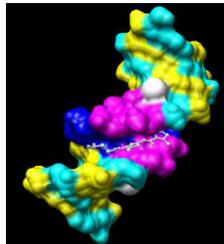
Actions → *Surface* → *show*

Actions → *Surface* → *hide*

Select → *Structure* → *ligand*

Actions → *Surface* → *show*

Actions»*Surface*»*mesh*



Wie Sie bereits wissen, bekommen Oberflächen standardmäßig die Farbe der darunter liegenden Atome zugewiesen. Es ist aber möglich, die Oberflächenfarbe separat zuzuweisen. Ändern Sie hierzu die Oberflächenfarbe des (immer noch ausgewählten) Netropsin-Moleküls, indem Sie zunächst das Fenster *Color Actions* öffnen:

Actions → *Color* → *all options*

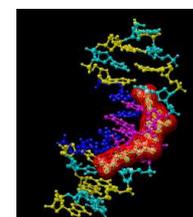
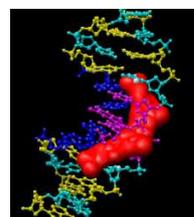
Wählen Sie jetzt unter *Coloring applies to:* den Eintrag *surfaces* aus, klicken Sie auf „red“ und anschließend auf „Close“. Durch das Schließen des Fensters wird der Eintrag unter *Coloring applies to:* automatisch auf *all of the above* zurück gesetzt.

Heben Sie jetzt die aktuelle Auswahl auf, lassen Sie sich anschließend die vollständige Oberfläche anzeigen (*solid*) und blenden Sie dann die Oberfläche wieder aus:

Select → *Clear Selection*

Actions → *Surface* → *solid*

Actions»*Surface*»*hide*



Als Beispiel für einen etwas aufwändigeren Auswahlprozess wollen wir uns nun die Oberflächen aller Adenin- und Thymin-Reste in der Kette B anzeigen lassen.

Zunächst ändern wir den Auswahlmodus:

Select → Selection Mode → append

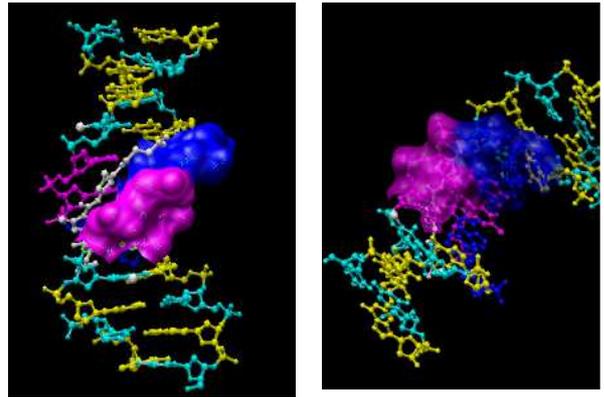
Select → Residue → DA

Select → Residue → DT

Select → Selection Mode → intersect

Select → Chain → B

Action → Surface → show



Die Änderung des Auswahlmodus von *replace* zu *append* hat bewirkt, dass eine neue Auswahl von Atomen die alte nicht mehr ersetzt sondern stattdessen zu ihr hinzugefügt wird. Für den Rest dieser Übung möchten wir aber wieder mit dem Auswahlmodus *replace* arbeiten:

Select → Selection Mode → replace

Select → Clear Selection

Oft ist es hilfreich, eine Oberfläche transparent zu machen:

Actions → Surface → transparency → 50%

Schließen Sie das geöffnete Modell.

Sie kennen jetzt einige der wichtigsten Funktionen zur Visualisierung von Molekülen in *Chimera*. Was die Bedienung angeht, wollen wir es ab jetzt Ihnen überlassen, ob Sie *Chimera* über das Menü oder doch lieber über die Kommandozeile bedienen möchten.

Im letzten Teil dieser Übung wollen wir uns etwas näher mit dem Model Panel von *Chimera* beschäftigen.

Einführung zur Benutzung des Model Panels in *Chimera*

Im folgenden Abschnitt möchten wir Sie mit dem **Model Panel** vertraut machen. Das **Model Panel** ist eines der nützlichsten Fenster in *Chimera*. Es zeigt Ihnen alle geöffneten Strukturmodelle an und erlaubt Ihnen Zugriff auf eine Reihe von Operationen, die auf diese Modelle angewendet werden können.

Sie haben in dieser Übung bereits einige Male eine PDB-Datei über die Proteindatenbank bezogen. Bisher enthielten diese PDB-Dateien immer genau ein Strukturmodell. Häufig, insbesondere wenn es sich um NMR-Daten handelt, enthält eine PDB-Datei aber gleich eine

ganze Reihe vieler, (leicht) unterschiedlicher Strukturvarianten für dasselbe Protein bzw. Polynukleotid. Am Beispiel einer solchen PDB-Datei wollen wir die Handhabung und Analyse von Struktur-Ensembles mit Hilfe des **Model Panels** trainieren. Es sei allerdings darauf hingewiesen, dass das Model Panel auch dann nützlich ist, wenn Sie lediglich auf einer einzigen Struktur arbeiten.

Wählen Sie über das Menü

File → Fetch by ID.

Es öffnet sich ein Dialogfenster (siehe Abbildung rechts). Markieren Sie in diesem Fenster die Checkbox „Keep dialog up after Fetch“, damit sich das Fenster nicht gleich wieder schließt, sobald Sie die erste Struktur geöffnet haben. Beziehen Sie nun die folgenden zwei PDB-Dateien von der Proteindatenbank:

1dwz: enthält ein Ensemble von 20 Strukturmodellen
für ein Fragment eines Rinder-Prionenproteins

1dwy: enthält eine einzelne energiminimierte
Struktur für dasselbe Fragment

Klicken Sie auf **Close** um das Dialogfenster „Fetch Structure by ID“ wieder zu schließen.

Alle geöffneten Strukturmodelle werden uns in der Ribbon-Darstellung angezeigt. Wir wollen jetzt zu einer vereinfachten Darstellung wechseln, bei der uns lediglich die das Rückgrat formenden N-, C- und C_α-Atome angezeigt werden.

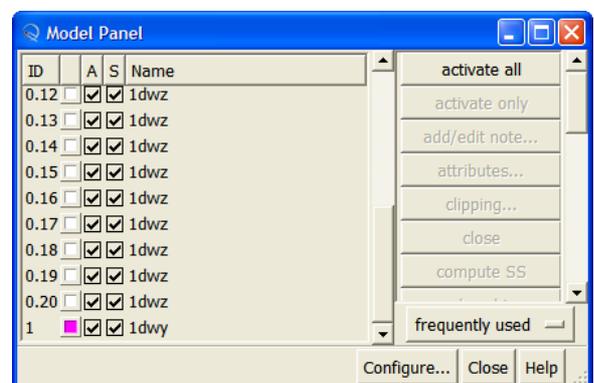
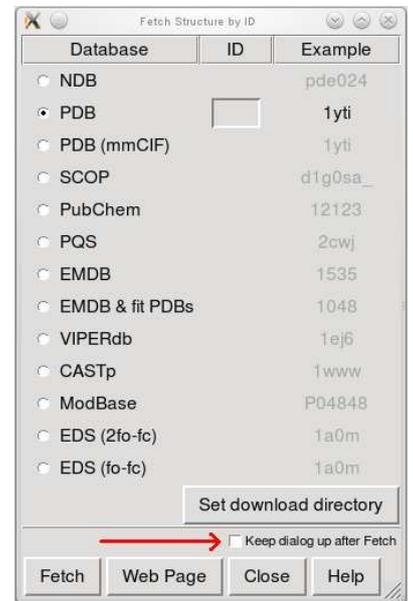
Presets → Interactive 2 (all atoms)

Actions → Atoms/Bonds → backbone only → full

Öffnen Sie jetzt das Model Panel (**Favorites → Model Panel**). Markieren Sie den Eintrag für **1dwz** und klicken Sie in der Buttonleiste (rechts) auf „group/ungroup“, damit alle Modelle des Ensembles **1dwz** im Model Panel angezeigt werden. Wie Sie sehen wird jeder geöffnete Strukturdatensatz in *Chimera* als eigenes Modell mit einer eigenen Modell-ID-Nummer verwaltet. Wenn eine PDB-Datei mehrere Modelle enthält, wie das bei der geöffneten Datei **1dwz** der Fall ist, dann bekommt jede einzelne von diesen eine eigene ID (siehe nebenstehende Abbildung).

Jedem Modell wird außerdem automatisch eine Modellfarbe zugeordnet, welche standardmäßig neben der ID-Nummer zu sehen ist. Auf der rechten Seite des Model Panels ist eine Button-

Leiste zu sehen, welche Zugriff auf eine Reihe unterschiedlicher Funktionen erlaubt, die



auf die Modelle angewendet werden können. Zunächst sind diese Funktionen nicht verfügbar und die entsprechenden Buttons grau unterlegt. Sobald Sie jedoch ein oder auch mehrere Modelle ausgewählt haben, können Sie auf die Funktionen zugreifen. Für manche Funktionen ist es erforderlich, dass Sie mindestens zwei Modelle gleichzeitig ausgewählt haben.

Durch Anklicken können Sie ein Strukturmodell auswählen. Wenn Sie weitere Modelle zur aktuellen Auswahl hinzu fügen möchten, müssen Sie die Strg-Taste gedrückt halten, während Sie das nächste Modell auswählen. Es ist auch möglich, einen ganzen Block von Modellen auf einmal auszuwählen. Hierzu muss zunächst das erste Modell dieses Blocks ausgewählt und anschließend die Shift-Taste gedrückt gehalten werden, während das letzte Modell des Blocks ausgewählt wird. Markieren Sie auf diese Weise die Modelle *1dwz* 0.6 bis 0.20. Wählen Sie in der Button-Leiste des Model-Panels anschließend **close**, um diese Modelle zu schließen. (Achtung: Es ist nicht der Button **Close** gemeint, mit dem Sie das **Model Panel** schließen!)

Einige der Funktionen, die Sie im **Model Panel** auf Ihre Strukturmodelle anwenden können, zählen als „selten genutzt“ und werden daher der Übersichtlichkeit halber nicht standardmäßig in der Buttonleiste auf der rechten Seite angezeigt. Hierzu gehört beispielsweise die Funktion „trace chains“. Um diese Funktion verfügbar zu machen, müssen sie die Radiobuttons unterhalb der Buttonleiste von „favorites“ auf „all“ umstellen, anschließend die Checkbox für die Funktion „trace chains“ aktivieren und danach die Radiobuttons wieder auf „favorites“ stellen. Wählen Sie nun im **Model Panel** das Modell *1dwy* aus und testen Sie in der angegebenen Reihenfolge die folgenden Funktionen:

show only	versteckt die übrigen Modelle
trace chains	zeigt den Verlauf des Rückgrats an, nur C _α -Atome werden angezeigt
show all atoms	zeigt alle Atome an
select	wählt das komplette Modell (im Hauptfenster!) aus

Führen Sie nun die folgenden Aktionen über das Menü aus:

Actions → **Color** → **by element**

Select → **Chemistry** → **element** → **H**

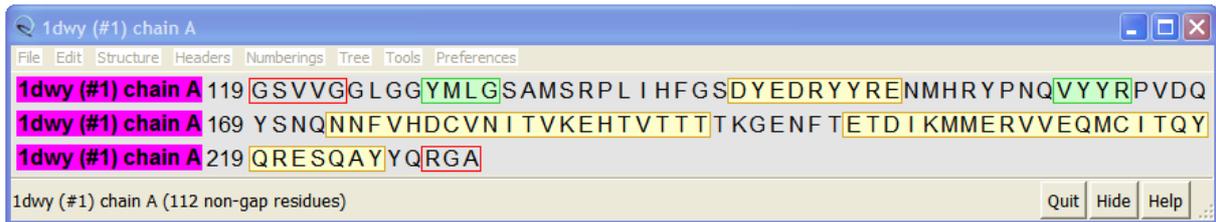
Actions → **Atoms/Bonds** → **hide**

Select → **Clear Selection**

Der letzte Schritt (**Clear Selection**) ist wichtig, da andernfalls die nun unsichtbaren Wasserstoffatome weiterhin ausgewählt bleiben würden.

Zurück zum **Model Panel**:

Wählen Sie **sequence** aus, um ein Fenster zu öffnen, welches Ihnen die Sequenz des gewählten Strukturmodells (*1dwy*) anzeigt.



Markieren Sie in diesem Fenster mit der Maus einen oder mehrere Reste der Sequenz und beobachten Sie wie die entsprechenden Reste auch im Hauptfenster ausgewählt werden.

Klicken Sie nun auf „Quit“, um dieses Fenster zu schließen, und lassen Sie sich den ausgewählten Bereich als Kalottenmodell darstellen:

Actions → **Atoms/Bonds** → **sphere**

Select → **Clear Selection**

Zurück zum **Model Panel**:

attributes... öffnet ein Fenster, welches Ihnen Zugriff auf eine Reihe von Modelleigenschaften gewährt. Deaktivieren Sie die Checkbox für „Molecule Attributes“ und wählen Sie dann „Component Residue Attributes“ aus (siehe Abbildung rechts).

Aktivieren Sie die Ribbondarstellung:

ribbon display → **on**

Wählen Sie die kantige Ribbondarstellung aus:

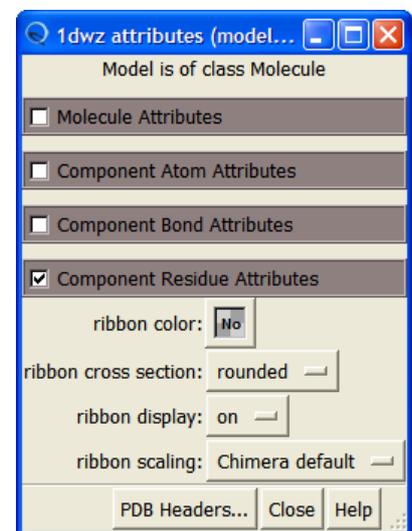
ribbon cross section → **edged**

Deaktivieren Sie die Ribbondarstellung wieder und schließen Sie das Fenster.

ribbon display → **off**

Close

Deaktivieren Sie im Model Panel die **Shown** Checkbox (**S**) für *1dwy* und aktivieren Sie diese danach wieder. Wie Sie sehen, ist die Verwendung der **Shown** Checkbox nicht dasselbe wie die Verwendung des Kommandos **display**, welches auf einzelne Atome und nicht auf das gesamte Strukturmodell wirkt: Durch markieren der **Shown** Checkbox wird das entsprechende Modell zwar angezeigt, aber die Darstellungseinstellungen für die einzelnen Atome bzw. Bindungen bleiben davon unberührt. So sind beispielsweise die versteckten Wasserstoffatome anschließend immer noch versteckt. Deaktivieren Sie jetzt die **Active** Checkbox (**A**) für *1dwy*. Dieses Modell kann nun nicht mehr bewegt werden. Um wieder alle Modelle sichtbar zu machen, aktivieren Sie die **Shown** Checkboxes aller geöffneten Modelle (*1dwy* 0.1 bis 0.5 und *1dwy*). Verschieben Sie nun im Hauptfenster die sechs



geöffneten Modelle so, dass sich diese nicht mehr überlappen. Hierbei könnte es hilfreich sein, den Zoomfaktor anzupassen (rechte Maustaste gedrückt halten und Maus bewegen oder am Mousrad drehen). Auch das bereits vorgestellte Fenster **Side View** könnte Ihnen helfen. Aktivieren Sie das Modell *1dwy* anschließend wieder über die **Active Checkbox (A)** im **Model Panel**.

Wählen Sie jetzt im **Model Panel** die 5 geöffneten *1dwz* Modelle nacheinander aus und färben Sie sie über das Menü (Auswahl **Actions**) in unterschiedlichen Farben. Heben Sie danach die Auswahl wieder auf und schließen Sie das **Model Panel**.

Select → Clear Selection

Untersuchung von Struktur-Ensembles:

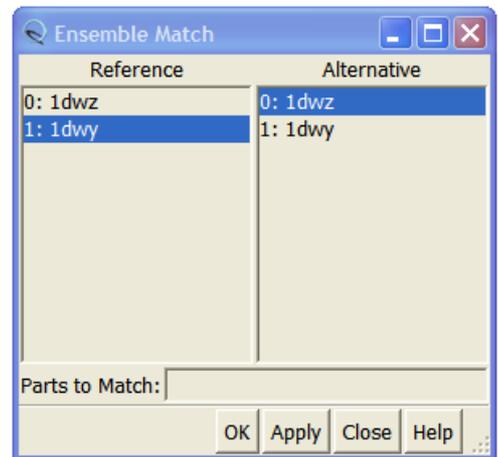
In der Bioinformatik haben wir es des Öfteren mit Ensembles von Molekülstrukturen zu tun. Dies ist, wie erwähnt, zum Beispiel dann der Fall, wenn die Molekülstruktur NMR-spektroskopisch aufgeklärt worden ist. Ein Ensemble von Strukturen wird üblicherweise über eine einzige PDB-Datei eingelesen. Die entsprechende PDB-Datei enthält dann mehrere Einträge und jeder dieser Einträge repräsentiert ein eigenes Modell (vgl. *1dwz*). In der nächsten Übung werden wir distanzgeometrische Methoden verwenden, um anhand gegebener Distanzinformationen, wie Sie aus einem NMR-Experiment stammen können, Gruppen von Strukturen für ein Protein zu generieren. Die einzelnen Vertreter eines solchen Molekülstruktur-Ensembles sind strukturell nicht identisch aber meist mehr oder weniger ähnlich. Wenn ein Bioinformatiker nun wissen möchte, wie ähnlich sich zwei Strukturen sind, dann wird er üblicher Weise den so genannten RMSD-Wert berechnen. Dieser Wert ist ein quantitatives Maß für den durchschnittlichen Abstand zwischen den sich entsprechenden Atomen zweier überlagerter Strukturen. Von allen möglichen Überlagerungen zweier Strukturen ist diejenige Überlagerung optimal, bei welcher der RMSD-Wert am kleinsten ist. Wie sich RMSD-Werte berechnen lassen, werden Sie im Rahmen der Vorlesung lernen. Zum jetzigen Zeitpunkt genügt es für Sie zu wissen, dass sich zwei Strukturen umso ähnlicher sind je kleiner ihr RMSD-Wert ist.

EnsembleMatch ist ein in *Chimera* integriertes Programm, mit welchem Sie unterschiedliche Strukturvarianten für dasselbe Molekül zu Vergleichszwecken optimal überlagern können. Sie werden **EnsembleMatch** verwenden, um die ersten fünf NMR-Strukturen aus der PDB-Datei *1dwz* mit der energieminierten Struktur von *1dwy* zu vergleichen.

Starten Sie **EnsembleMatch**:

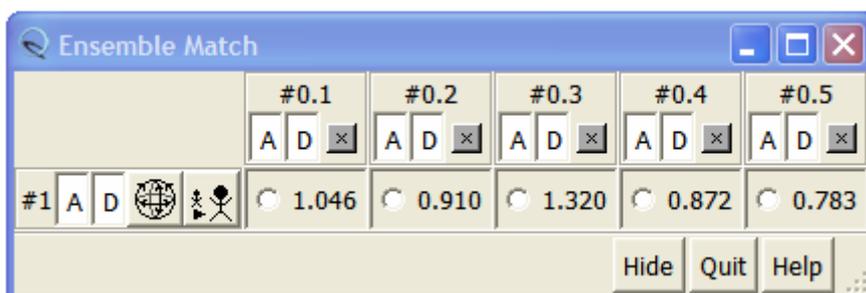
Tools → MD/Ensemble Analysis → EnsembleMatch

Wählen Sie jetzt die energieminierte Struktur (*1dwy*) als Referenzstruktur (Reference) und die Strukturen des Modells 0 (*1dwz*) als Alternative aus. Über das Eingabefeld **Parts to Match** werden die Atome festgelegt, welche bei der Überlagerung der Strukturen berücksichtigt werden sollen. Wenn Sie nichts weiter in dieses Feld eintragen, dann fließen die Koordinaten aller Atome in die Berechnung mit ein. Meist ist das Ergebnis aber aussagekräftiger, wenn man sich auf die Atome des Rückgrats oder sogar nur die C_α-Atome beschränkt. Tragen Sie den Atom-Spezifizierungsausdruck `@n@ca@c` hier ein, um nur die Atome des Rückgrats zu berücksichtigen. Es ist außerdem möglich, nur bestimmte Restgruppen für die Überlagerung zu berücksichtigen. Der Atom-Spezifizierungsausdruck `:124-227.a@n@ca@c` bedeutet beispielsweise, dass für die Berechnung nur Atome des Rückgrats verwendet werden und auch nur von den Restgruppen 124 bis 227.



Unabhängig davon, was Sie auswählen, muss die verglichene Anzahl von Atomen in allen paarweise zu überlagernden Strukturen stets gleich sein. Wenn Sie beispielsweise `@ca` als Atom-Spezifizierungsausdruck wählen, dann wird das erste C_α-Atom der einen Struktur mit dem ersten C_α-Atom der anderen Struktur verglichen, das zweite mit dem zweiten, usw. Bei einer unterschiedlichen Anzahl von Atomen geht die Eindeutigkeit dieser Zuordnung verloren.

Klicken Sie auf **OK** um das **EnsembleMatch** Fenster zu öffnen. In diesem Fall zeigt es eine 1x5-Tabelle, welche für jeden paarweisen Vergleich zwischen der Referenz-Struktur #1 und einer der fünf geöffneten Strukturen aus der PDB-Datei *1dwz* (#0.1 bis #0.5) einen RMSD-Wert als Eintrag enthält:



Über die A- and D-Buttons jedes Modells können Sie festlegen, welche Modelle bewegbar sein sollen (A) und welche im Hauptfenster angezeigt werden (D). Im Hauptfenster wurden die Strukturen allerdings bisher noch nicht überlagert. Das passiert erst, wenn Sie in das entsprechende Tabellenfeld klicken. Gleichzeitig wird Ihnen dann auch die Anzahl der Atome, die für die Berechnung des RMSD-Wertes verwendet wurde, in der Statuszeile angezeigt. Klicken Sie jetzt in alle 5 Tabellenfelder um die Strukturmodelle *#0.1 bis #0.5* mit der Referenzstruktur (*1dwy*) zu überlagern.

Abschließend wollen wir noch die Funktion *Tile Structures* ausprobieren. Mit dieser Funktion können Sie die einzelnen Vertreter eines Molekülstruktur-Ensembles gleichmäßig im Raum verteilen. Neben der direkten Überlagerung ist dies eine weitere hilfreiche Ansicht bei der Analyse von Struktur-Ensembles:

Tools → *MD/Ensemble Analysis* → *Tile Structures*

Im sich öffnenden *Tile Structures* Fenster sind bereits alle geöffneten Modelle standardmäßig ausgewählt. Klicken Sie jetzt auf **OK**.

Wir sind Ende des praktischen Teils dieser Übung angelangt. Schließen Sie nun *Chimera*:
File → **Quit**

4. Zusammenfassung

Die vorliegende Übung hat Sie in mehrere Bereiche der Arbeit mit *Chimera* eingeführt:

- Menü- und mausbasierte Auswahl von Molekülen und deren Teilstrukturen sowie die Änderung deren Darstellung über das Menü oder über die Kommandozeile
- Darstellung von Molekülen durch Anzeige Ihrer Oberfläche
- Änderung der Zustände, in denen sich ein Modell oder eine Gruppe von Modellen befinden kann (active, inactive, hidden, displayed)
- Handhabung von Strukturmodell-Ensembles, wie Sie beispielsweise im Fall von NMR-Daten häufig auftreten

5. Aufgaben

Bitte beantworten Sie die folgenden Fragen und bringen Sie Ihre Antworten zur Übung am **26. Oktober 2015** mit. Der Zufall bestimmt, welche Studenten Ihre Lösungen präsentieren werden.

- a) Welchen Teil der doppelsträngigen DNA bindet Netropsin? (6P)
- b) Was ist der Unterschied zwischen den Kommandos *label* and *rlabel*? (6P)
- c) Was bedeutet *#0:1-50.a@C*? Wann würden Sie diesen Ausdruck verwenden? (6P)
- d) Welche Darstellung würden Sie in *Chimera* für ein Protein wählen, wenn Sie an der Sekundärstruktur interessiert sind? (6P)
- e) Welche verschiedenen Typen von Oberflächendarstellungen gibt es in *Chimera*? (6P)