

AST Übung 1 - *UCSF Chimera*

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 etabliertes Programm zur interaktiven Visualisierung von Molekülen. Dank einer umfangreichen Sammlung integrierter Werkzeuge sind auch vielfältige Möglichkeiten zur Analyse und Modifikation molekularer Strukturen gegeben. Für die nächsten Übungen wird vorausgesetzt, dass Sie mit der Nutzung von *Chimera* vertraut sind.

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

```
/usr/local/zbhtools/chimera/1.13/bin/chimera &
```

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 Kommandozelle schreiben müssen.

Grundlagen

Öffnen einer Struktur

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. 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 Domäne, 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).

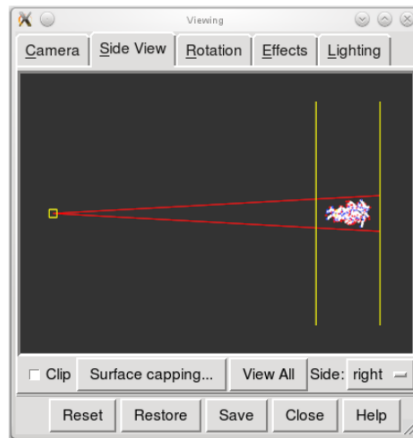
Kommandozeilenverlauf

Wenn 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 anzeigen zu lassen. In dieser Seitenansicht wird das Verhältnis zwischen Augenposition, den dargestellten Molekülstrukturen und den Sichtbarkeits Ebenen veranschaulicht. Alles was außerhalb der Sichtbarkeits Ebenen liegt, ist für den Betrachter unsichtbar. Bewegen Sie nun mit der linken Maustaste die Augenposition (das kleine gelbe Quadrat) und die Sichtbarkeits Ebenen (dargestellt durch gelbe vertikale Linien) und achten Sie darauf, was sich verändert.



Vereinfachung der Anzeige

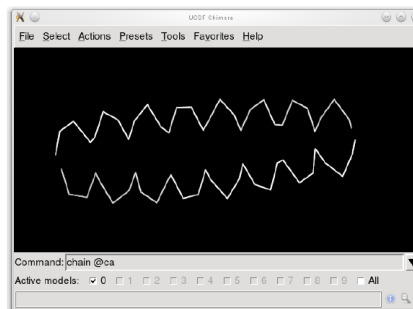
Command: chain @ca

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.

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

Command: linewidth 1

Command: linewidth 2



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 Mausrad) 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 Mausrad.

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 hervorgehoben 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`).

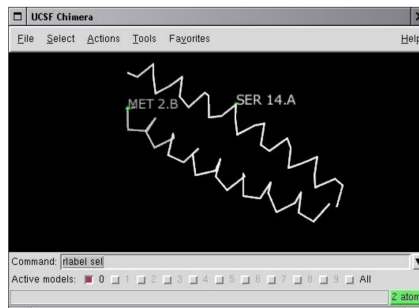
Beschriftungen

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 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

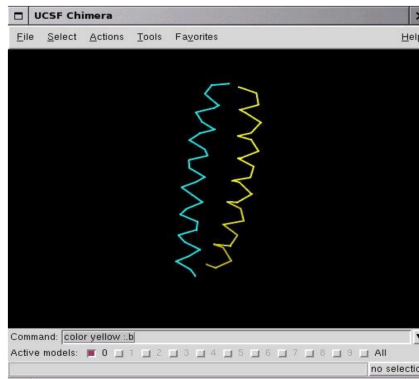
Nutzen Sie den folgenden Befehl um Beschriftungen wieder zu entfernen: Command: `~rlabel`

Einfärben von Molekülen

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

Command: `color cyan :.a`

Command: `color yellow :.b`



Sichtbarkeit

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 „deaktivieren“. 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`

Speichern von Sessions

Der aktuelle Zustand des Programms (d.h. alle geöffneten Modelle, ihre Positionen, Visualisierungen usw.) lässt sich als Datei speichern und zum späteren Fortsetzen der Arbeit wieder öffnen. Sollten Sie ein Übungsblatt an einem Termin nicht fertigstellen können, speichern Sie die aktuelle Session in Ihrem home Verzeichnis mit:

```
File -> Save Session As
```

Einfache Untersuchung mittels der Kommandozeile

```
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:

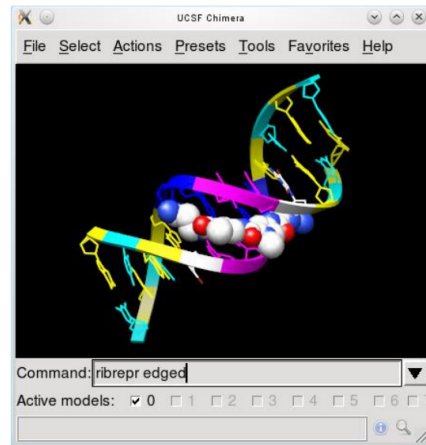
```
Command: color blue :DA
Command: color magenta :DT
Command: color yellow :DG
Command: color cyan :DC
```

Verstecken Sie die Wassermoleküle

```
Command: ~disp : HOH
```

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

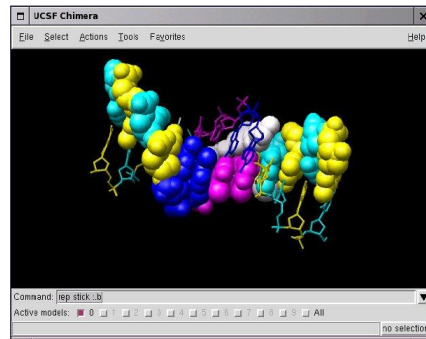
```
Command: ribbon
Command: ribrepr edged
```



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 + linke Maustaste). 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:

Command: ~sel

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 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

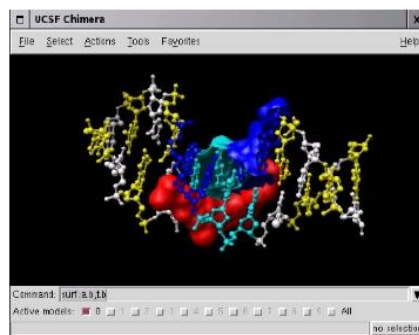
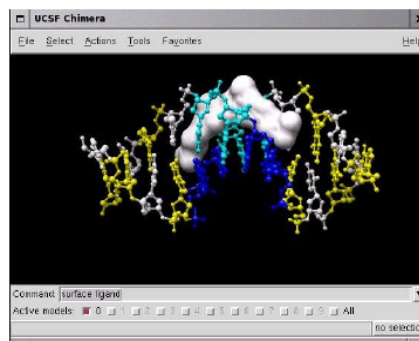
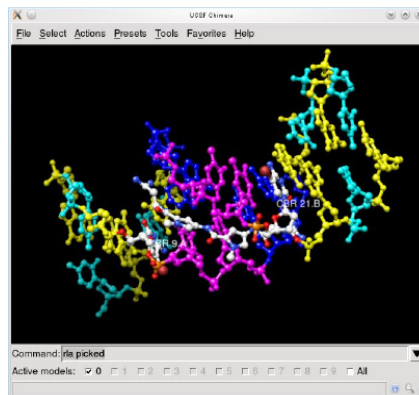
Command: surfrepr solid

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: (**Achtung: Nicht die Leerzeichen übersehen!**)

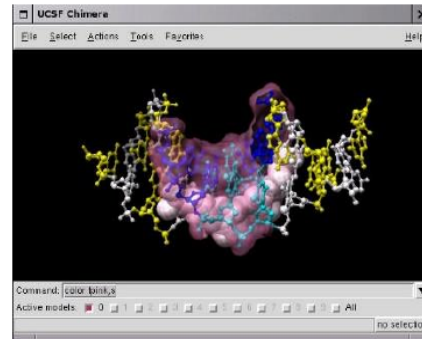
```
Command: colordef tpink 1 .5 .7 .4
```

```
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.

Vereinfachung der Darstellung

Presets -> Interactive 2 (all atoms)

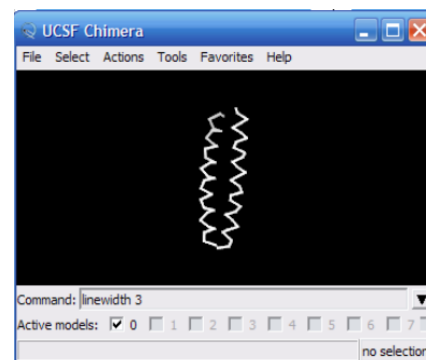
Actions -> Atoms/Bonds -> hide

Actions -> Atoms/Bonds -> backbone only
-> chain trace

Jetzt sind nur noch die C_{α} -Atome der Leucin-Zipper sichtbar.

Actions -> Atoms/Bonds -> wire width -> 2

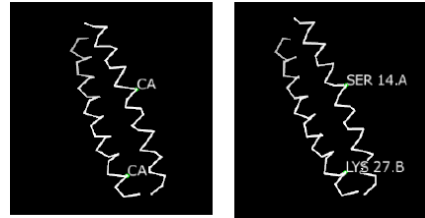
Die über das Menü ausgewählten Aktionen werden immer auf die aktuelle Auswahl angewendet. Wenn Sie nichts ausgewählt haben, werden die Aktionen stets auf alles angewendet.



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 klar wurde, besteht die geöffnete Struktur aus zwei Peptiden (Kette A und Kette B). Heben Sie nun die Auswahl der Atome wieder auf:

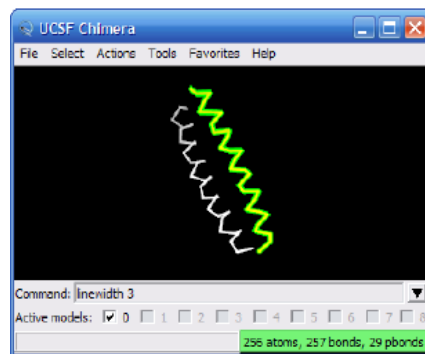
```
Select -> Clear Selection
```

Ausblenden der Beschriftungen:

```
Actions -> Label -> residue -> off
```

Färben Sie die zwei Peptid-Ketten mit unterschiedlichen Farben:

```
Select -> Chain -> A
Actions -> Color -> yellow
```



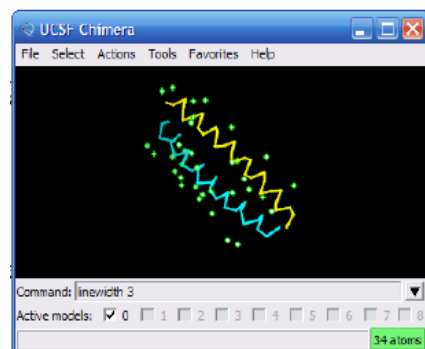
Mit Hilfe der Pfeiltaste ↑ können Sie die bestehende Auswahl eines Atoms auf die ganze Restgruppe, die Kette oder gar die ganze Molekülstruktur ausweiten. Probieren Sie dies aus: Markieren Sie ein Atom der Kette B, markieren Sie die ganze Kette durch zweimaliges drücken der Pfeiltaste ↑ und färben Sie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

Sichtbarkeit

```
Select -> Structure -> solvent
Actions -> Atoms/Bonds -> show
Select -> Clear Selection
```

Alternativ können Sie die Wassermoleküle auch wie folgt auswählen:

```
Select -> Residue -> HOH
```



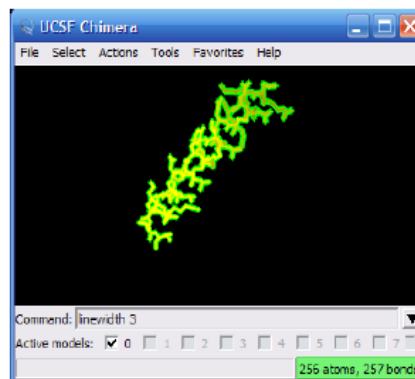
Lassen Sie sich allein die Atome von Kette A anzeigen:

Select -> Chain -> A

Actions -> Atoms/Bonds -> show only

Nur Atome des Rückgrats anzeigen:

Actions -> Atoms/Bonds -> Backbone only
-> full

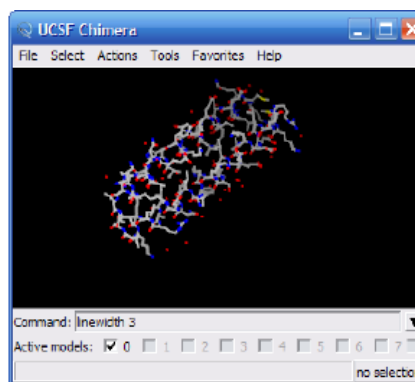


Da die Auswahl für Kette A noch nicht aufgehoben wurde, wird auch nur das Rückgrat von Kette A angezeigt. Mit den folgenden Menü-Aktionen können Sie sich wieder alle Atome anzeigen lassen und diese entsprechend der für das jeweilige Element typischen Farbe einfärben lassen.

Select -> Clear Selection

Actions -> Atoms/Bonds -> show

Actions -> Color -> by element



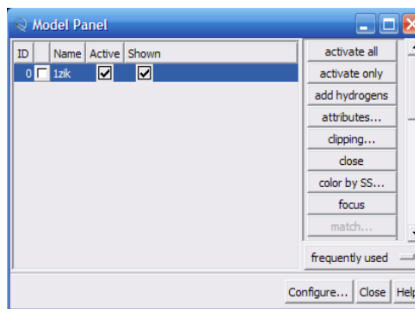
Rufen Sie das Model Panel auf:

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 1zk 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:

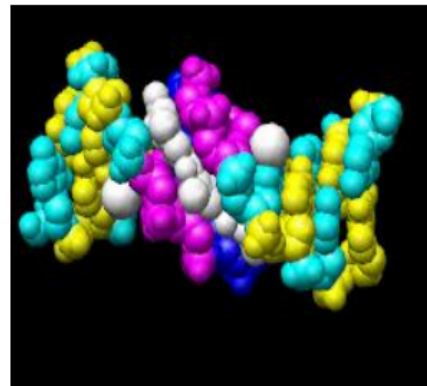
```
Select -> Residue -> DA  
Actions -> Color -> ...
```

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
```

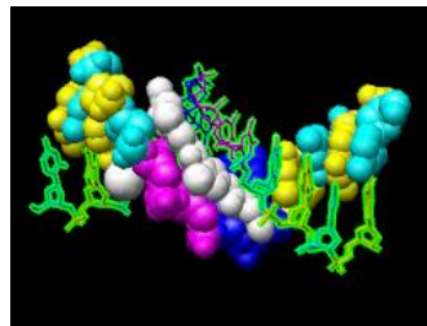


Ändern Sie jetzt die Darstellung allein für Kette A:

```
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
```

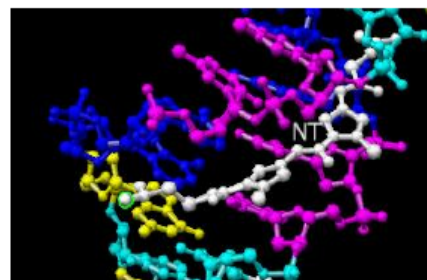


Wählen Sie jetzt ein Atom des Netropsin-Moleküls aus und lassen Sie sich den Namen der zugehörigen Restgruppe anzeigen.

```
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
```



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
```

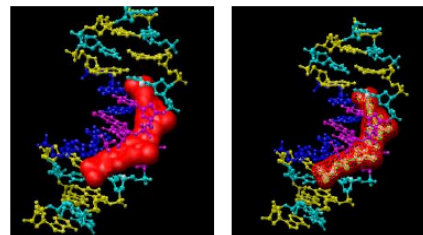
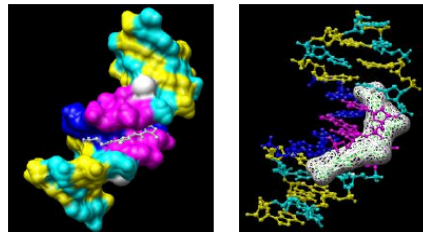
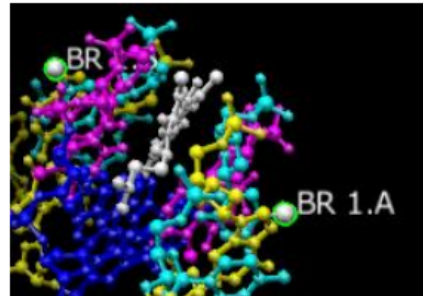
Wie Sie bereits wissen, bekommen Oberflächen standardmäßig die Farbe der darunter liegenden Atome zugewiesen. Es ist aber möglich, die Oberflächenfarbe separat zuzuweisen. Ändern Sie hierzu die Oberflächenfarbe des (immer noch ausgewählten) Netropsin-Moleküls, indem Sie zunächst das Fenster Color Actions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

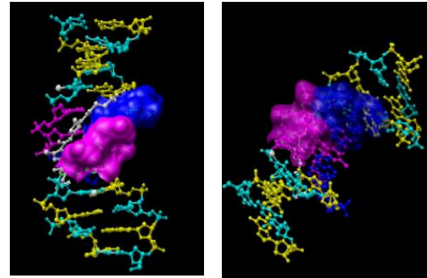
Heben Sie jetzt die aktuelle Auswahl auf, lassen Sie sich anschließend die vollständige Oberfläche anzeigen (solid) und blenden Sie dann die Oberfläche wieder aus:

```
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 energieminierte Struktur für dasselbe Fragment

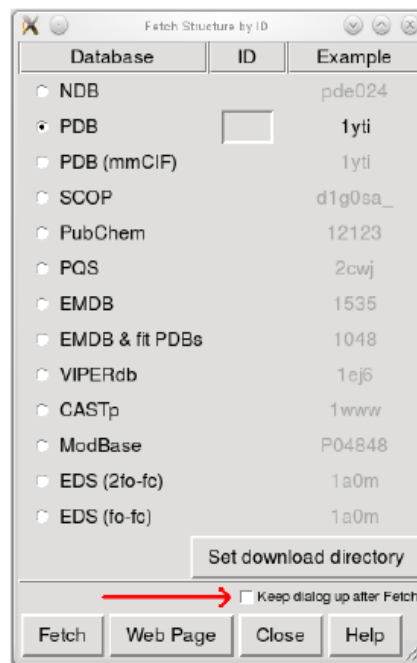
Klicken Sie auf *Close* um das Dialogfenster *Fetch Structure by ID* wieder zu schließen.

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.

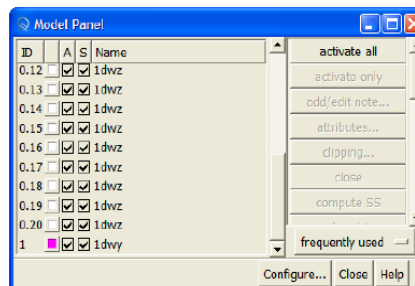
Presets -> Interactive 2 (all atoms)

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.



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 hinzufügen möchten, müssen Sie die `Ctrl`-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:

<code>show only</code>	versteckt die übrigen Modelle
<code>trace chains</code>	zeigt den Verlauf des Rückgrats an, nur C_{α} -Atome werden angezeigt
<code>show all atoms</code>	zeigt alle Atome an
<code>select</code>	wählt das komplette Modell (im Hauptfenster!) aus

Führen Sie nun die folgenden Aktionen über das Menü aus:

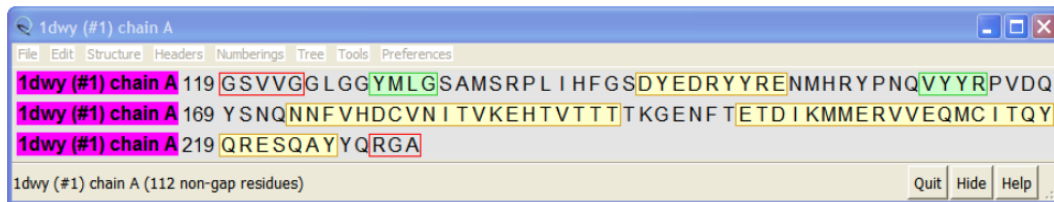
```

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`

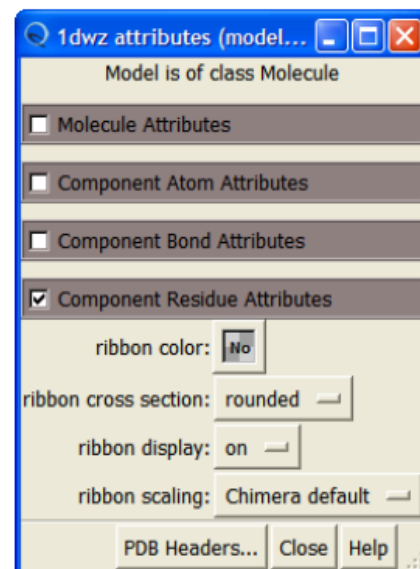
Wählen Sie die kantige Ribbondarstellung aus:

`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 1dwz 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 1dwz. Dieses Modell kann nun nicht mehr bewegt werden. Um wieder alle Modelle sichtbar zu machen, aktivieren Sie die **Shown** Checkboxes aller geöffneten Modelle (1dwz 0.1 bis 0.5 und 1dwz).

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 Mausrad drehen). Auch das bereits vorgestellte Fenster **Side View** könnte Ihnen helfen. Aktivieren Sie das Modell 1dwz 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 (Actions) in unterschiedlichen Farben. Heben Sie danach die Auswahl wieder auf und schließen Sie das Model Panel.

Select -> Clear Selection

Untersuchung von Struktur-Ensembles

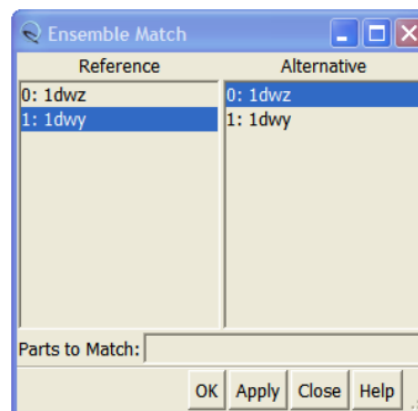
In der Bioinformatik haben wir es des Öfteren mit Ensembles von Molekülstrukturen zu tun. Dies ist, wie erwähnt, zum Beispiel dann der Fall, wenn die Molekülstruktur NMR-spektroskopisch aufgeklärt worden ist. Ein Ensemble von Strukturen wird üblicherweise über eine einzige PDB-Datei eingelesen. Die entsprechende PDB-Datei enthält dann mehrere Einträge und jeder dieser Einträge repräsentiert ein eigenes Modell (vgl. 1dwz). 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 (*root mean square deviation*) 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:

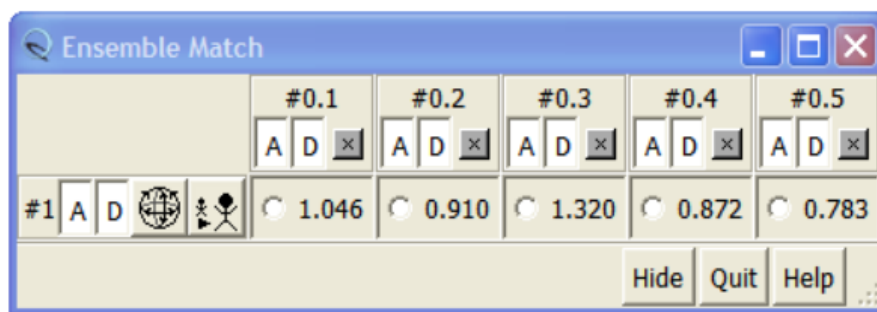
Tools -> MD/Ensemble Analysis -> EnsembleMatch

Wählen Sie jetzt die energieminierte Struktur (1dwz) 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-Spezifizierungsdruck `@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-Spezifizierungsdruck `: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-Spezifizierungsdruck 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 (1dwz) 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

Fragen

1. Sie möchten die strukturelle Ähnlichkeit zweier Proteine grob untersuchen. Welche Darstellungsform eignet sich in *Chimera* dazu?
2. Welche, wenn Sie die Zugänglichkeit von Liganden oder Lösungsmitteln untersuchen wollen?
3. Nennen Sie eine sinnvolle Anwendung für die atomare bzw. ball & stick Darstellung.
4. Was wird mit `#0:1-50.a@C` spezifiziert? Wofür sind Ausdrücke dieser Art nützlich?
5. Nennen Sie Befehle, welche hintereinander ausgeführt werden müssen um
 - in der betrachteten Struktur alle Wassermoleküle in gelber Farbe anzuzeigen;
 - die Oberfläche aller Lysin-Reste der Kette A in halb-transparentem Rot anzuzeigen