

Actividades a Realizarse en el área Biológica para el programa Rasmol

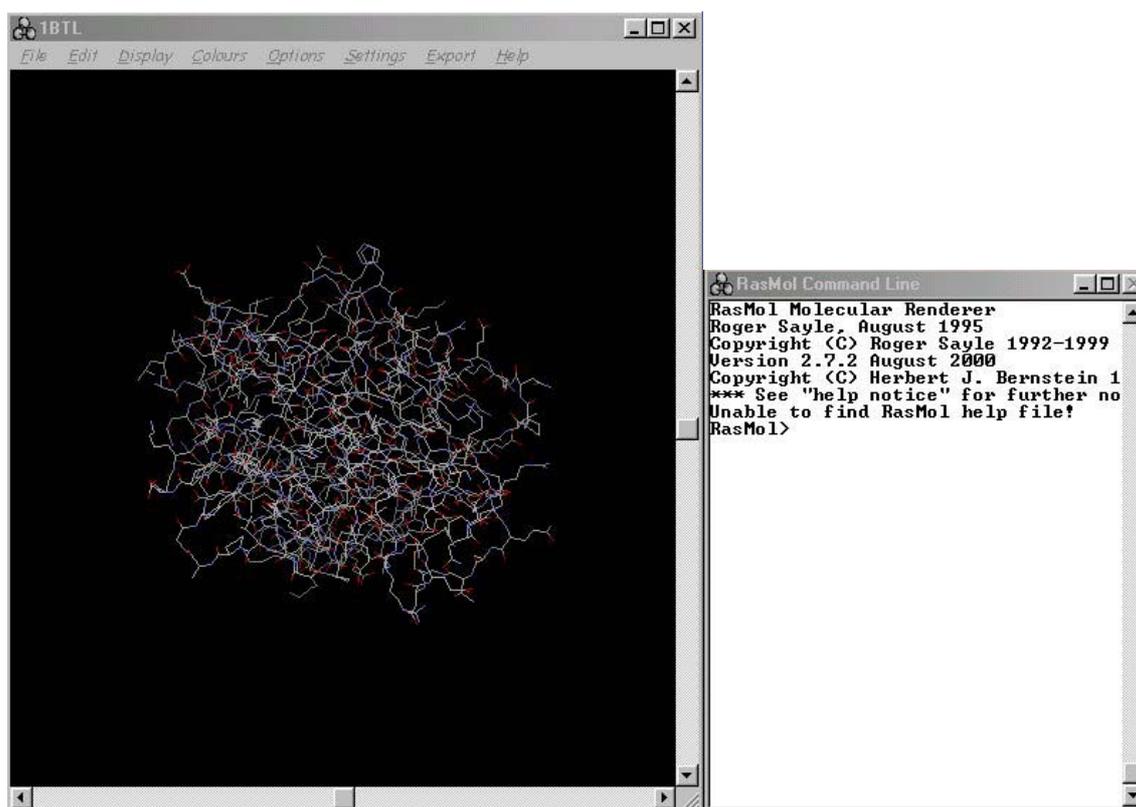
Caracterización del Sitio Activo de una Proteína.

Primero haz doble clic sobre el icono del programa rasmol o ejecuta el programa, se abrirán dos ventanas una de visualización (de fondo negro) y otra de comandos (fondo blanco) luego ajusta las ventanas de manera que puedan trabajar con ambas simultáneamente.

Luego abre un archivo de extensión pdb, para esto haz clic en el menú “**File**” (archivo) y luego en el ítem “**open**” (abrir) por ejemplo *1BTL.pdb* que corresponde al archivo de una β -lactamasa de *Escherichia coli*. Las β -lactamasa son enzimas que las bacterias poseen y que le tienen la capacidad de hidrolizar antibióticos del tipo de las penicilinas haciéndolos ya ineficaces.

Por defecto aparecerá el fondo negro y la imagen de la β -lactamasa en “**wireframe**” (estructura de alambres). Mientras en la pantalla de comandos se observa información general sobre la molécula.

Tú verás algo así.



Ahora para ahorrar tinta en las impresiones de las imágenes cambiemos el fondo de visualización. Para ello en la ventana de comandos, la de la derecha, donde el cursor parpadea haremos un clic con el mouse y tecleamos “**background white**”, con esto cambiamos el fondo (background) de visualización desde negro a blanco.

Uso del mouse, para usar este se sigue la secuencia clic y arrastrar, a continuación se observa una tabla resumen:

Acción	Mouse
Rotar X, Y	Botón izquierda
Trasladar X, Y	Botón derecha
Rotar Z	Shift derecha
Zoom	Shift izquierda
Plano seleccionado (<i>Slab</i>)	Control izquierda

Práctica los controles del mouse sobre la molécula.

Luego para mejorar la visualización en el menú “**Display**” y seleccionaremos los items:

Display	Despliegue de la estructura
Wireframe	Alambres
Backbone	Esqueleto
Sticks	Bastones
Spacefill	Esferas de espacio relleno
Ball & Stick	Bolas y bastones
Ribbons	Cintas
Strands	Hebras
Cartoons	Cartones

Estas son las distintas opciones para visualizar nuestra molécula, selecciona aquella en la que se represente mejor los que quieres mostrar u observar. En el ejemplo se seleccionó “**cartoons**”.

Después selecciona en el menú “**Colours**” (colores) y prueba todos los items de esta opción:

Colours	Coloreada por
Monochrome	Un sólo color
CPK	Defecto de elemento
Shapely	Forma
Group	Grupos
Chain	Cadenas
Temperature	Temperatura
Structure	Estructura secundaria
User	Usuario
Model	Modelo
Alt	

. Nosotros seleccionamos en el ejemplo “**structure**”.

De este modo nuestra molécula se verá aproximadamente así:



Ahora ensayaremos las distinta opciones de visualización en el menú “**Options**” tales como:

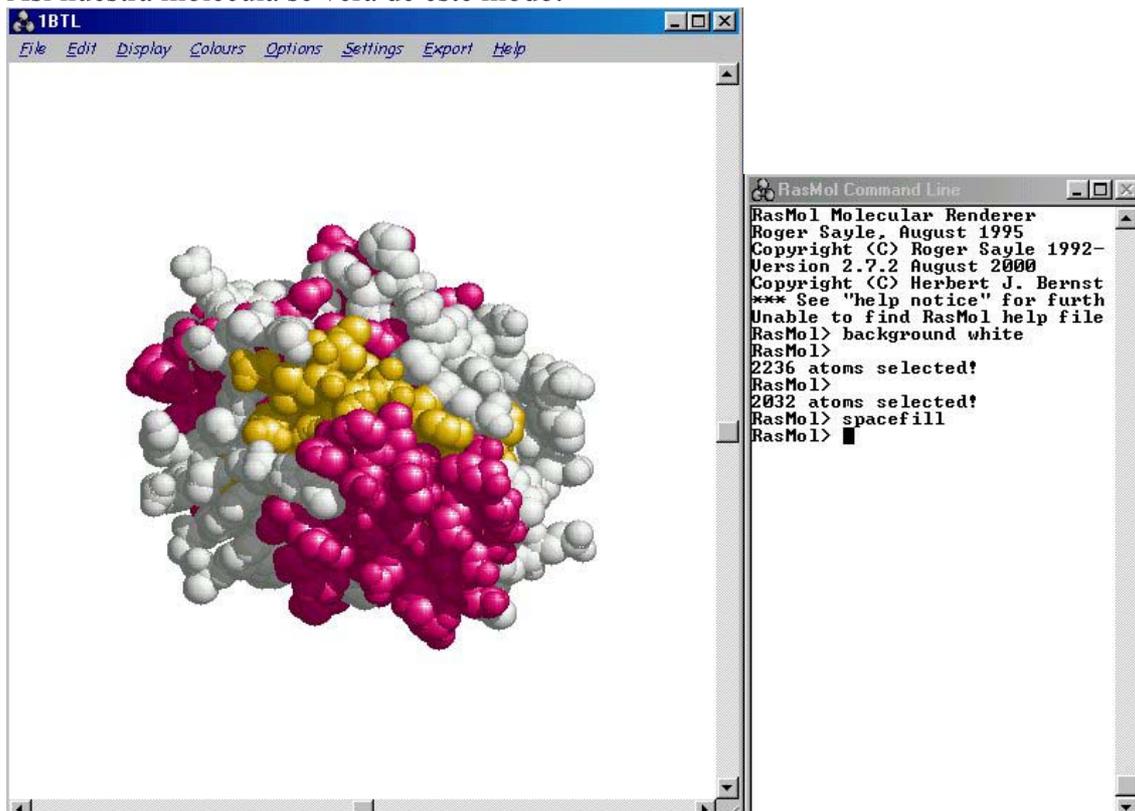
Slab Mode	Muestra la molécula cortada por el eje Z
Hydrogens	Muestra los hidrógenos
Hetero Atoms	Muestra heteroátomos
Specular	Ilumina las zonas opacas de la molécula
Shadows	Sobrea la molécula
Stereo	Muestra la molécula en dos planos idénticos
Labels	Etiqueta la molécula

En nuestro ejemplo la opción “**Hydrogens**” no nos será útil ya que nuestra molécula no los contiene, la opción “**Hetero Atoms**” tampoco nos servirá, ya que esta molécula tampoco contiene heteroátomos.

En nuestro ejemplo seleccionaremos opción “**Specular**” y “**Shadows**”, pero al seleccionar la última opción no se observará cambio para visualizar el efecto de ésta en nuestra ventana de visualización en el menú “**Display**” seleccionaremos “**spacefill**” o lo tipearemos en la línea de comandos.

Nota: Observa que al hacer clic sobre algún parte de la molécula en la ventana de visualización en la ventana de comandos aparece la descripción e identificación de dicho átomo, sin embargo esto no significa que éste se haya seleccionado.

Así nuestra molécula se verá de este modo:



El sitio activo de las β -lactamasas se encuentra principalmente determinado por el residuo crítico Serina número 70 (Ser70). Qué es el encargado de estabilizar el intermediario acil-enzima (antibiótico-enzima).

Para visualizar el sitio activo de la enzima en la barra de menú **Display** seleccionar el ítem “**Backbone**” (sí utilizamos “**Spacefill**” tipeado en la línea de comandos es necesario tipear en ella “**Spacefill off**”), luego seleccionamos “**select 69-79**”, luego “**color cyan**” y en el menú “**Display**” el ítem “**Sticks**”.

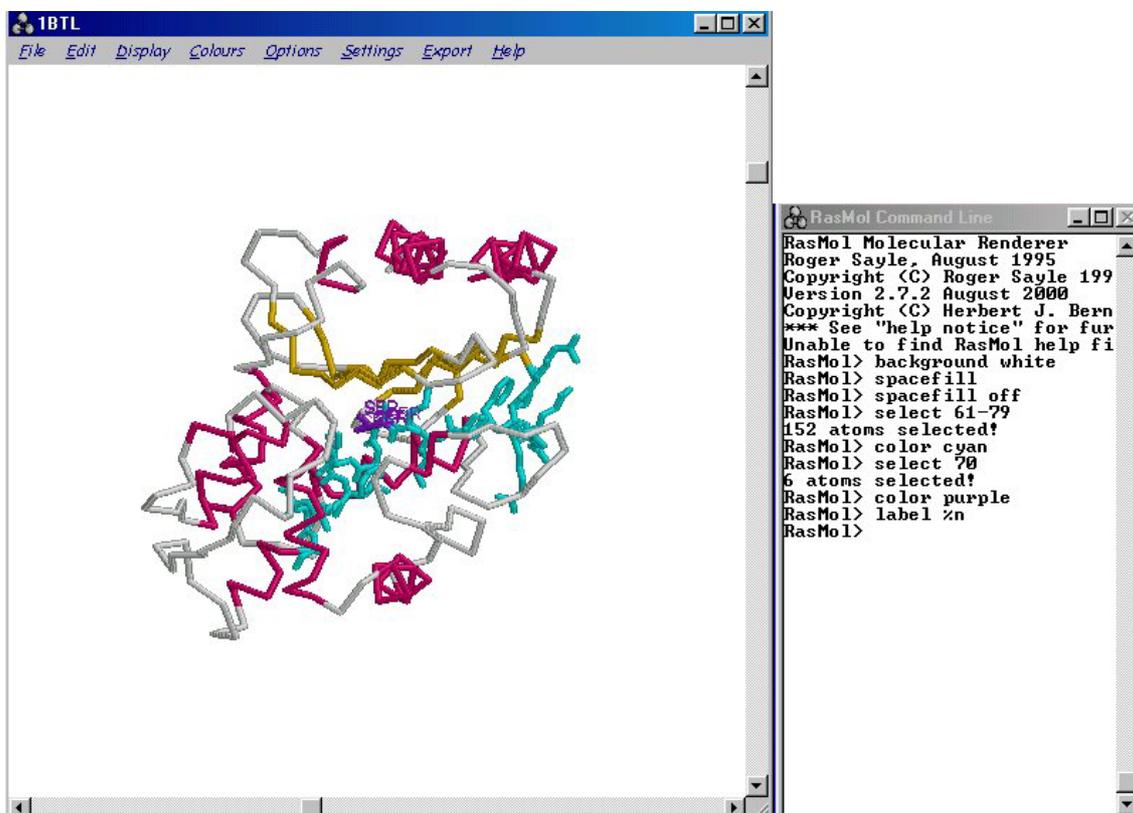
Además si quieres etiquetar tus residuos primero debes seleccionar, y luego tipear en la línea de comandos “**label**” para etiquetar el átomo y este puede ir acompañado de otros parámetros cómo:

%a	Nombre del átomo
%b, %t	Factor B/temperatura
%c, %s	Identificador de cadena
%e	Símbolo del elemento atómico
%i	Número seriado del átomo.
%n	Nombre de residuo en código tres letras
%r	Número de residuo
%M	Número del modelo NMR
%A	Identificador de conformación alternativa

Nota: Los comandos ejecutados desde el menú de la ventana de visualización y aquellos ejecutados desde la línea de comandos se visualizan en forma independiente por los que se pueden superponer, de este modo si se necesita desactivar algún comando desde la línea de

comando se escribe este más la palabra **"off"**, por ejemplo **"spacefill off"**.

En la ventana de comandos tipearemos **"select 70"** (para seleccionar la Ser70), luego **"color purple"**, y finalmente **"label %n"** obtendríamos lo siguiente:

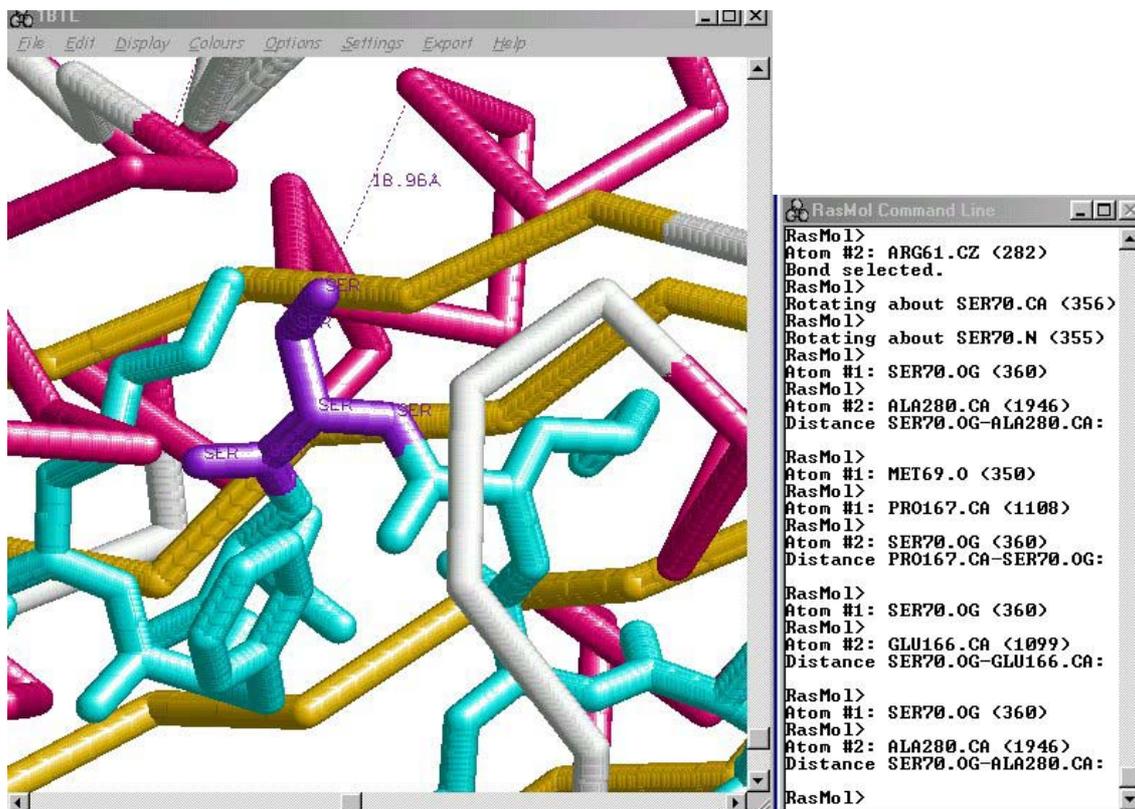


Analizaremos el sitio activo haciendo un zoom sobre este con el mouse más la tecla shift izquierda cómo se realizó anteriormente o por medio del comando **"zoom"** más una factor en este caso utilizaremos 350, para ello en la línea de comandos tipearemos **"zoom 350"**.

Y se utilizarán los comandos del menú **"Settings"**:

Pick off	Desactiva la opción de pinchar un átomo
Pick ident	Activa la opción de pinchar un átomo
Pick distance	Selecciona dos átomos y la retorna la distancia entre ellos
Pick monitor	Selecciona el plano del monitor
Pick angle	Selecciona tres átomos y entrega el ángulo
Pick torsion	Entrega la torsión del plano
Pick label	Etiqueta el átomo seleccionado al pinchar
Pick centre	Centra la imagen donde se pinche
Pick coord	El átomo que se pincha entrega sus coordenadas X,Y,Z en la ventana de comandos
Pick bond	Crea enlaces entre dos átomos pinchados
Rotate bond	Rota alrededor de un enlace
Rotate mol	Rota alrededor de la molécula
Rotate all	Rota todo

Así el análisis del sitio activo se realizará de la siguiente forma, cómo se ve en el ejemplo:



En fin existen otros comandos que nos pueden ser útiles para obtener información de la molécula en estudio estos se deben tippear en la ventana de comandos como por ejemplo:

Show information	Muestra información sobre la molécula
Show sequence	Muestra la secuencia de residuos de la molécula
Show phi/psi	Muestra los ángulos phi/psi
Show selected	Muestra los átomos seleccionados
Show symmetry	Muestra la celda unitaria y la simetría de la molécula
Show ramprint	Muestra un gráfico de Ramachandran
Structure	Muestra la estructura secundaria
Ssbonds	Representa los puentes disulfuro en la molécula
Colour ssbonds green	Cambia el color de los puentes disulfuro
H-bonds	Representa los puentes hidrógeno
Colour H-bonds cyan	Cambia el color de los puentes hidrógeno

Se puede usar el menú “**Files**” en los ítems para abrir archivos, obtener información, imprimir, configurar la impresión, cerrar el archivo o salir del programa. En el menú “**Export**” se pueden exportar la imagen en pantalla en los formatos bmp, gif, epsf, ppm y rast, para ser utilizada en otros programas. Para acceder a ayuda esta el menú “**Help**”.

Para mayores detalles visite <http://www.bernstein-plus-sons.com/software/rasmol/>
O para cualquier consulta escribe al e-mail lilianmontes@educarchile.cl