

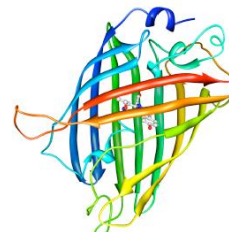
## Seminar 7

Baza de date PDB . (<http://www.rcsb.org>) este o arhiva internationala (RCSB PDB (US), PDB Europe (UK), PDB Japan, and BioMagResBank (US)) pentru macromoleculele biologice (proteine), care are resurse educationale si de cercetare, oferind o varietate de unelte si resurse pentru cautare, vizualizare, si analiza structurilor biomoleculelor

Structura proteinelor se vizualizeaza si se exploreaza cu ajutorul unor programe de pe site-ul RCSB PDB (protein data bank)



Bioinformatics of Green Fluorescent Protein



- I. Gasirea unei structuri proteice folosind instrumentele de cautare de pe site-ul RCSB PDB;
- II. Vizualizarea structurii unei proteine din baza de date
- III. Vizualizarea legaturilor de hidrogen din proteine

**Pentru a demonstra realizarea activitatilor urmatoare, creati un fisier Word (nume\_seminar7.doc) in care sa salvati ("print screen" si apoi "paste") imaginile create!**

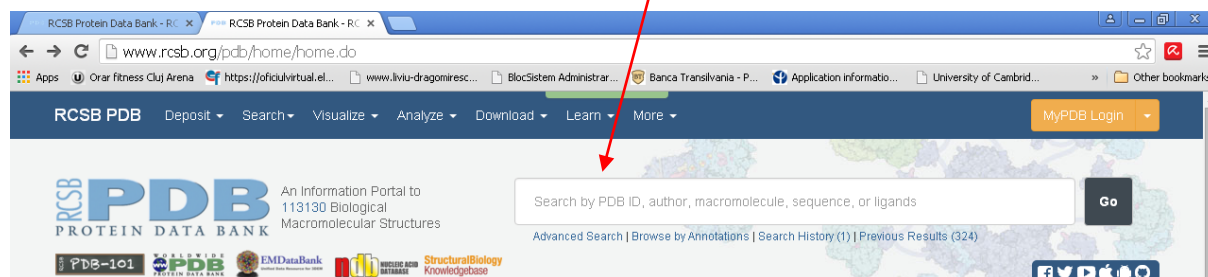
### I. Gasirea unei structuri proteice in baza de date PDB

Green Fluorescent Protein (GFP) = proteina fluorescenta verde; proteina ce provine de la meduza *Aequorea victoria* (PDB ID: **1EMA**)

Pentru a ajunge la pagina dedicata proteinei GFP (pe site-ul RCSB PDB) efectuati urmatoorii pasi:

a) mergeti la <http://www.rcsb.org/>

b) efectuati o cautare "PDB ID or keyword" scriind in bara de cautare "green fluorescent protein"



c) rezultatul cautarii este o pagina ce contine o lista de proteine legate de GFP

Showing 1 - 25 of 324 Results Results : 25 Page: 1 of 13

Filter: Check All View: Detailed Download Results Reports: Select one... Sort: Relevance

**4KW4** Crystal Structure of Green Fluorescent Protein  
 Authors: Barnard, T.J., Yu, X., Noinaj, N., Taraska, J.W.  
 Release: 2014-04-09  
 Experiment: X-RAY DIFFRACTION with resolution of 1.75 Å Residue Count 239  
 Compound: 1 Polymer [ Display Full Polymer Details | Display for All Results ]  
 Citation: PubMed ID is not available.  
 Molecule of the Month: GFP-like Proteins, Green Fluorescent Protein (GFP)  
 Search Hit: Title: Crystal Structure of Green Fluorescent Protein

**4KW8** Crystal Structure of Green Fluorescent Protein  
 Authors: Barnard, T.J., Yu, X., Noinaj, N., Taraska, J.W.  
 Release: 2014-04-09  
 Experiment: X-RAY DIFFRACTION with resolution of 2.46 Å Residue Count 239  
 Compound: 1 Polymer [ Display Full Polymer Details | Display for All Results ]  
 1 Ligand [ Display Full Ligand Details | Display for All Results ]  
 Citation: PubMed ID is not available.  
 Molecule of the Month: GFP-like Proteins, Green Fluorescent Protein (GFP)  
 Search Hit: Title: Crystal Structure of Green Fluorescent Protein

In functie de optiunea de afisare aleasa (in fereastra View) rezultatul cautarii este afisat diferit:

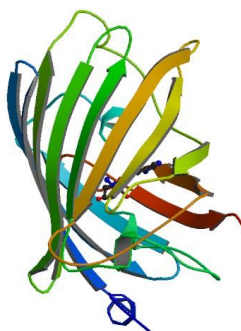
- alegeti pe rand toate optiunile de afisare: Gallery  
Condensed  
Timeline  
Detailed

Showing 1 - 25 of 324 Results Results : 25 Page: 1 of 13

Filter: Check All View: Gallery Download Results Options: Select one... Sort: Relevance

4KW4 4KW8 4KW9 3P28 4LW5 2Y0G 3S05 2QRF 1GFL 2RH7 4EUL  
 4JC2 3LVD 3A15 3ADF 1EMA 4DKN 3VK1 3VIC 2WUR 3LVC 3LVA  
 4HVF 4AS8 1KP5

- vizualizati diverse structuri ("click" pe imaginea corespunzatoare proteinei 1BFP):



- creati cel putin un raport pentru o proteina aleasa in optiunea de afisare "Detailed"

- explorati oportunitatile oferite de aceasta pagina!

Application informatio... University of Cambrid... MyPDB

Results : 25 Page: 1 of 13

Reports: Select one... Sort: Relevance

Select one...  
 Custom Reports  
 List Selected IDs  
 Customizable Table  
 Summary Reports  
 Structure  
 Sequence  
 Ligands  
 Structural Genomics Center  
 Primary Citation  
 Biological Details  
 Sequence Clusters  
 Experimental Reports  
 X-ray  
 Crystallization  
 Data Collection  
 Refinement  
 Refinement Parameters  
 Unit Cell  
 NMR

## II. Vizualizarea unei proteine folosind Protein workshop

a) - proteina (GFP) are codul de identificare (PDB ID): **1EMA**.

La pagina "Structure summary" corespunzatoare proteinei cautate se poate ajunge si introducand ID-ul PDB in bara de cautare din partea de sus a paginii, si activand butonul "Go":

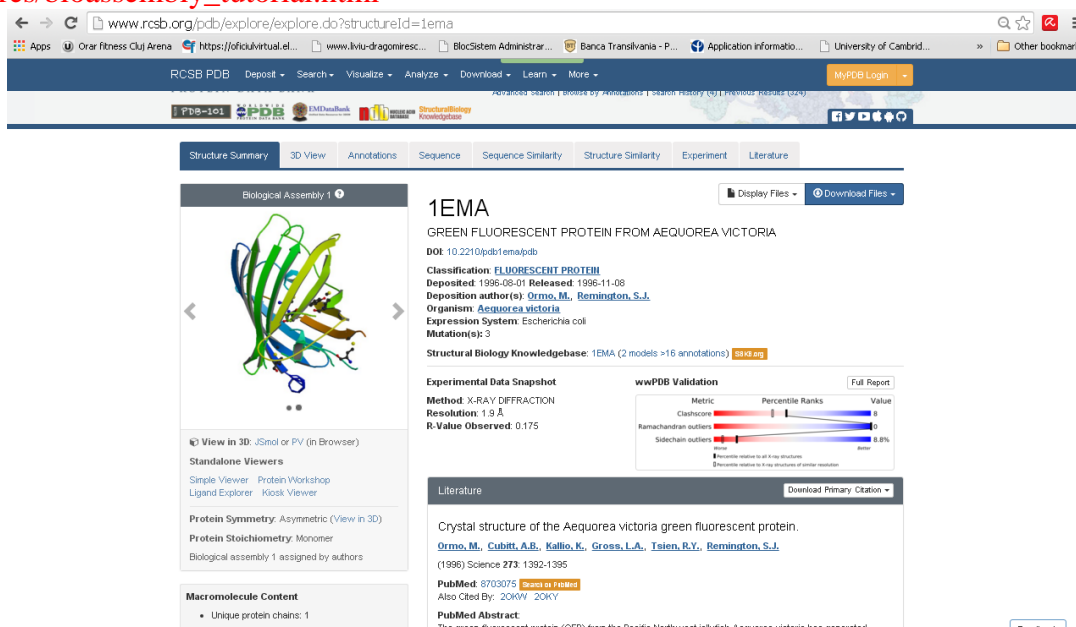


Efectuati o **cautare** "PDB ID or keyword" scriind in bara de cautare "1EMA"

In pagina "Structure Summary" care s-a deschis in urma cautarii, este o imagine a proteinei ce are link-uri catre diferite programe de vizualizare (JSmol, Protein Workshop, etc.).

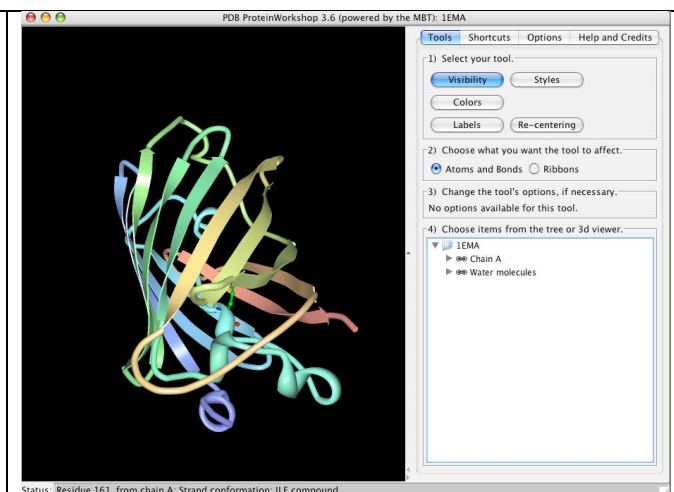
Sagetile din imagine fac trecerea de la "Asymmetric unit" la "Biological Assembly". Unele programe ruleaza numai din fereastra "Asymmetric unit"!

Pentru a intelege diferenta dintre Asymmetric unit" si "Biological Assembly mergeti la adresa: [http://www.rcsb.org/pdb/101/static101.do?p=education\\_discussion/Looking-at-Structures/bioassembly\\_tutorial.html](http://www.rcsb.org/pdb/101/static101.do?p=education_discussion/Looking-at-Structures/bioassembly_tutorial.html)



b) selectati "**Protein workshop**" si acceptati descarcarea programului de vizualizare. Mecanismul de securitate Java va va cere bifarea casutei "trust this application". De asemenea trebuie sa bifati "run" cand se cere!

- rotire: "click and drag" pe structura.
- zoom: "shift+click and drag" pe structura.
- deplasare: ctrl+click and drag" pe structura.



Folosind link-urile urmatoare puteti citi mai multe despre "Green Fluorescent Protein":  
<http://pdb101.rcsb.org/motm/42>, sau puteti afla cum se construiește un model al GFP din hartie:  
<http://pdb101.rcsb.org/learn/resource/green-fluorescent-protein-gfp-activity-page>"

### c) vizualizarea structurii secundare

În "Protein workshop" se vizualizează automat reprezentarea tip panglică:

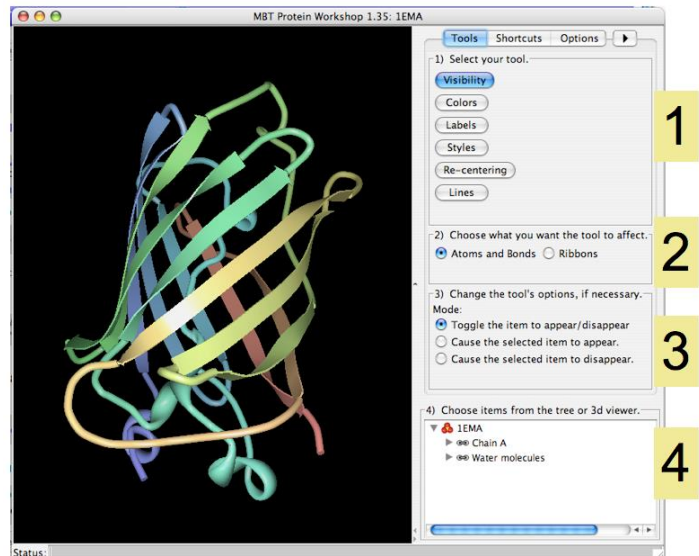
"Ribbon representation":  
- săgeți plate = conformația beta ( $\beta$ -sheet);  
- panglici ondulate = conformația alfa ( $\alpha$ -helix)  
- snur curbat = coil

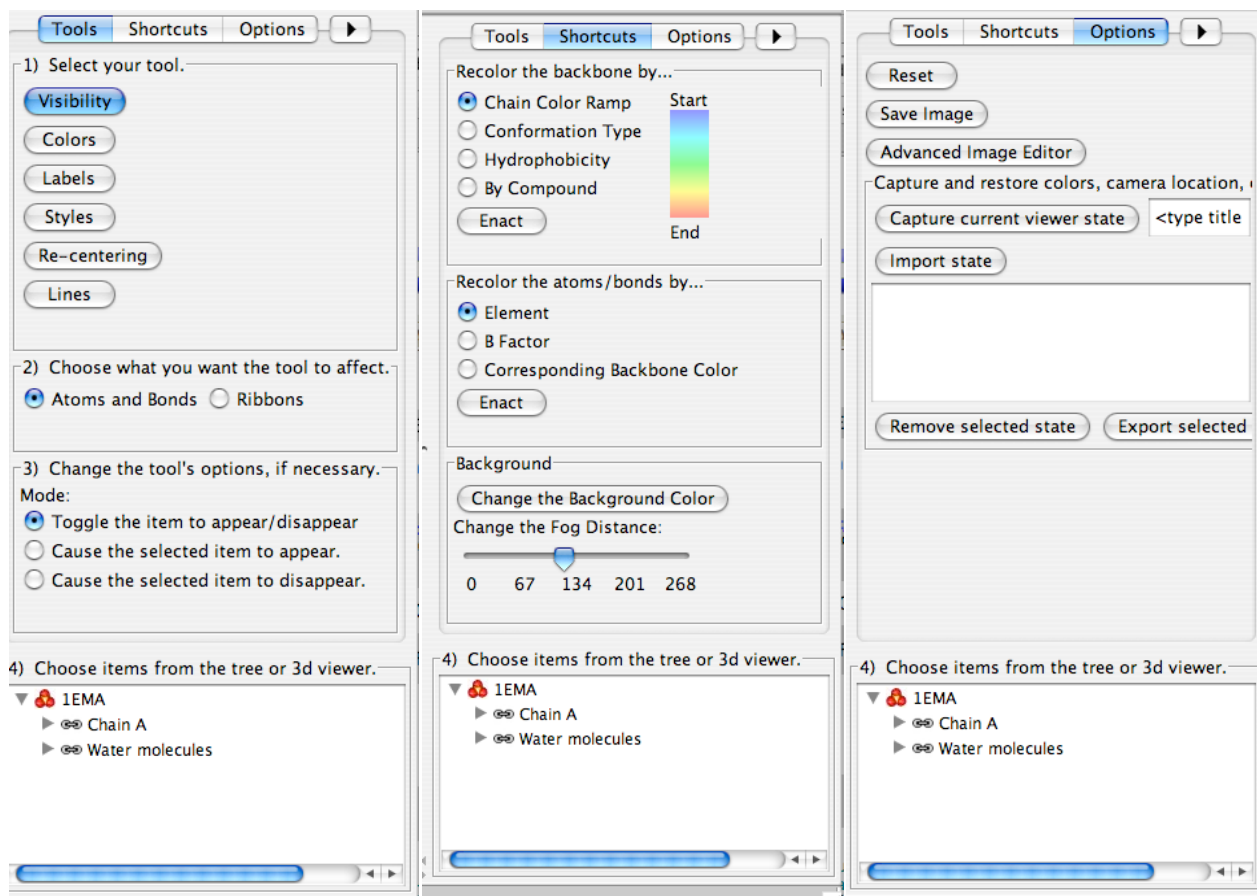
### Protein Workshop

- vedere de ansamblu a formei și structurii proteinei

- nu permite examinarea lanțului de aminoacizi

Panoul de control are 4 zone, care se schimbă când sunt selectate butoanele: "Tools", "Shortcuts" sau "Options"





#### d) vizualizarea atomilor:

- In meniul Tools:

- 1) click "Visibility",
- 2) select Ribbons,
- 4) click *1EMA*

(fereastra va fi neagra deoarece reprezentarea ribbon a fost stearsa)

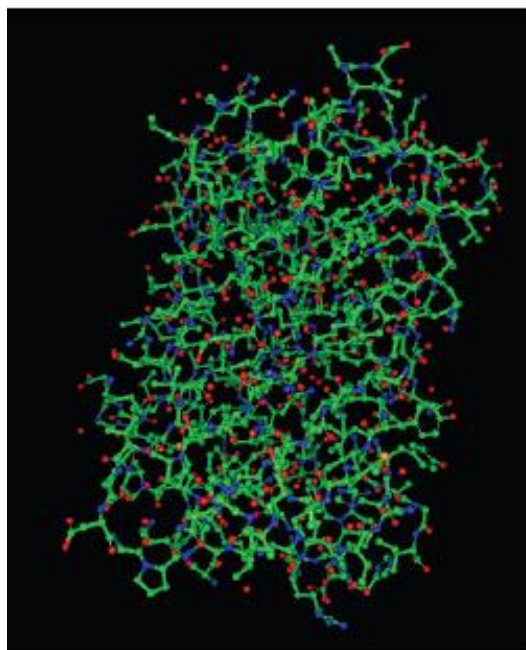
- In meniul Tools:

- 1) click "Visibility",
- 2) select Atoms and Bonds,
- 4) click *1EMA*

(in fereastra apar atomii proteinei si legaturile dintre ei )

#### Cod culori:

- C – verde,
- N - albastru,
- O - rosu,
- S - galben



e) "**zoom**" structura proteinei pentru a observa:

- atomii de sulf (in cisteina si metionina);
- atomii de oxigen singulari (reprezinta moleculele de apa)!
- cromoforul (gruparea responsabila de emisia de fluorescenta verde a proteinei) este dificil de vizualizat (inel cu 5 atomi conectat de unul cu 6 atomi)



f) **vizualizati parti ale proteinei** prin selectarea diferitelor aminoacizi, molecule, sau atomi din vederea tip arbore din cadranul 4).

g) **vizualizarea combinata** (ribbon si atom): se foloseste pentru vizualizarea interactiunii dintre anumiti atomi si parti ale proteinei

*Ex: vizualizarea cromoforului (atomi) peste structura ribbon a proteinei se face in 2 pasi:*

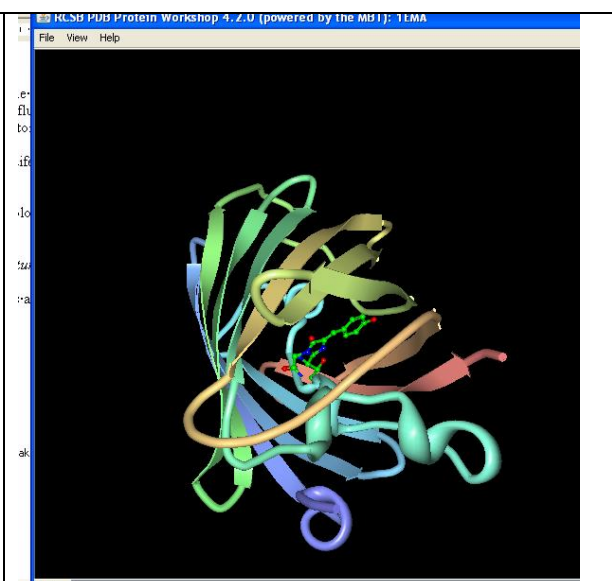
- vizualizati structura ribbon a proteinei

- selectati

"Vizibility tool" in zona 1),

"Atoms and Bonds" in zona 2),

selectati cromoforul (CRO 66) in "chain A" din zona 4).

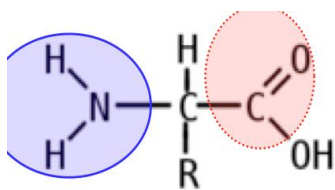


### 3. Vizualizarea legaturilor de hidrogen din proteine

**Structura primara a unei proteine:** aminoacizi se leaga intre ei prin intermediul legaturii peptidice.

**Structura secundara a unei proteine:** este stabilizata de legaturile de hidrogen. Diferite parti ale lantului peptidic sunt grupate cu ajutorul legaturilor de hidrogen (*punti de hidrogen*).

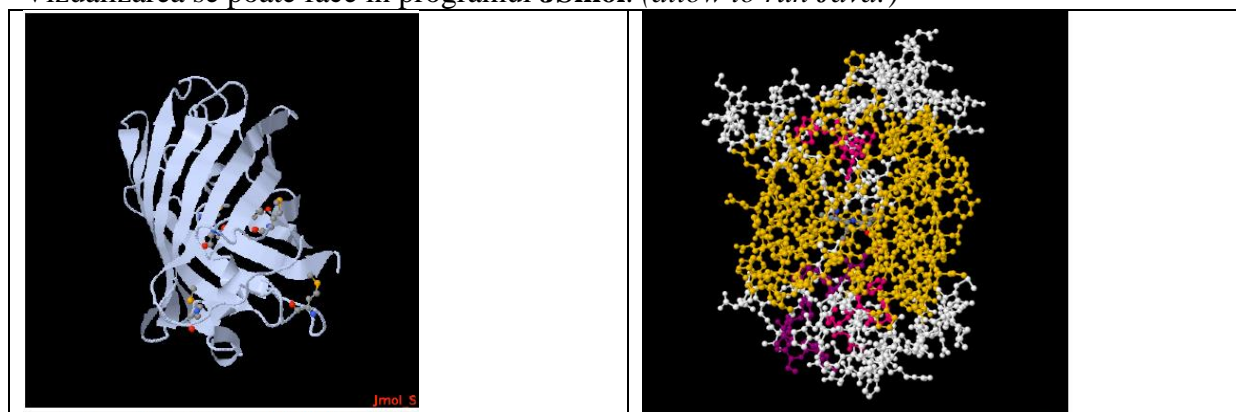
O legatura de hidrogen are lungimea intre 2,5 si 3 Angstromi



Cele mai importante legaturi de H din proteine sunt cele care leaga H din gruparea N - H de oxigenul din gruparea C = O

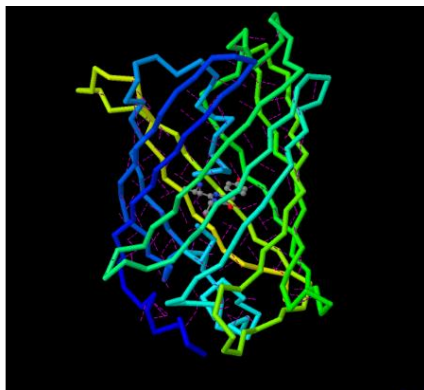
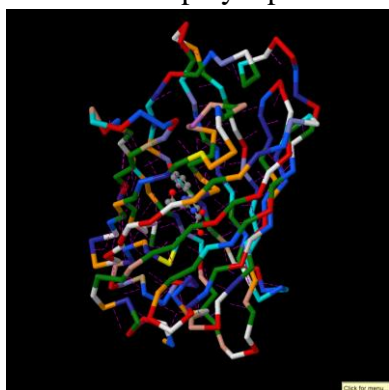
Acidul carboxilic (rosu) a unui aminoacid se leaga de gruparea amino (lbastru) a altui aminoacid printr-o punte de hidrogen, daca distanta dintre ei este  $\sim 3 \text{ \AA}$ .

Vizualizarea se poate face in programul **JSmol**. (*allow to run Java!*)



Sub imagine se poate deschide o fereastră (Script option) unde se introduc comenzile:  
 select protein (type "select protein" in 'input' box and select 'submit' button  
 cartoon off  
 select backbone  
 wireframe 100  
 calculate hbonds

Explorati modul de vizualizare a proteinei modificand parametrii: style, color, surface, H-bond, in fereastră "Display Option"



### Tema:

Raspundeti la urmatoarele intrebari

1. Cate lanturi (chains) se observa in structura proteinei *Aequorea Victoria* GFP ?
2. Care este masa moleculara a proteinei?
3. ce metoda a fost folosita pentru a determina structura GFP?
4. Indicati o referinta a articolului in care a fost publicata structura moleculara a acestei proteine.
5. Indicati ce structuri secundare proteice se observa in GFP?
6. Cate structuri  $\alpha$  helices si cate  $\beta$ -sheets se observa in structura GFP?
7. Numiti primii 5 aminoacizi din secventa peptidica a GFP.
8. Figurati structura cromoforului GFP.
9. Vizualizati cromoforul (HEM) moleculei de hemoglobina (4HHB)
10. Vizualizati moleculele de biotina (300BTN) si moleculele de apa legate de streptavidina (1STP)
11. Vizualizati legaturile de hidrogen ale hemoglobinei (4HHB)
12. Vizualizati legaturile de hidrogen ale streptavidinei (1STP)

Copiatii imaginile obtinute (Printscreen) si introduceti-le (Paste) intr-un document word.  
 Indicati ce reprezinta fiecare imagine din fisier.

Salvati fisierul: **Nume\_tema 7.doc**