

Základy práce s programem VMD

1. Web programu VMD: <http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/>
2. Soubory je možné nalézt v adresáři: **/home/kulhanek/Documents/C2150/structures**

3. Spuštění programu

Spouštíme z terminálu. Nahrajeme příslušný modul: *module add vmd* a pak spustíme: *vmd* (bez ampersandu, protože program lze též ovládat z příkazového řádku). Program lze ovládat jak zadáváním příkazů v terminálu tak prostřednictvím okna s menu. Některé funkce jsou k dispozici pouze přes terminál (konzoli).

4. Načtení molekuly

Do svého adresáře si zkopírujte PDB soubor *mbco.pdb*. Načtěte molekulu *Menu: File / New Molecule* stiskněte tlačítko *Browse* a vyberte soubor s myoglobinem *mbco.pdb*. Stiskněte tlačítko *Load* a v grafickém okně se zobrazí načtená molekula.

5. Manipulace s molekulou – rotace, translace, změna velikosti

Existují tři základní režimy: rotace, translace a změna velikosti (angl. scaling) mezi kterými s přepíná pomocí kláves **r**, **t** a **s** (aktuální režim poznáme podle vzhledu kurzoru myši). Ovládání myši je následující:

- režim rotace – levé tlačítko myši slouží k rotaci kolem os ležících v rovině obrazovky, prostřední tlačítko rotuje kolem předozadní osy. Při rychlém pohybu bude molekula samovolně rotovat
- režim translace – levé tlačítko myši slouží k translaci v rovině obrazovky, prostřední k translaci dopředu a dozadu
- režim změny velikosti – obě tlačítka myši mění velikost molekuly při pohybu vlevo a vpravo, při použití prostředního tlačítka je však změna větší. Pro změnu velikosti lze také použít rotaci kolečkem myši.

Pravé tlačítko myši u těchto režimů funguje stejně jako prostřední.

Stisknutím klávesy = se pozice/orientace/velikost molekuly vrátí do výchozího stavu. Též lze dosáhnout pomocí *Menu: Display / Reset View*.

Změna centra rotace: stiskneme klávesu **c** a klikneme myši na atom, který se stane novým centrem rotace.

6. Výpis informací o atomu

V grafickém okně s molekulou stiskněte klávesu 0 (nula) a klikněte na libovolný atom. Na obrazovce terminálu se vypíše informace o atomu (a residuu atd.).

7. Výběr atomů

Otevřete okno *Menu: Graphics / Representations*. V poli *Selected Atoms* budeme specifikovat které atomy se mají vybrat. Tyto atomy se po potvrzení klávesou Enter zobrazí, ostatní zůstanou skryté. Výběr atomů lze zadávat následovně:

- Podle typu molekuly: *protein, water, nucleic*. Vyzkoušejte zadat *protein*.
- Atomy podle jména např. *name C*, i více atomů, např. *name C CA NO*. Názvy atomů odpovídají názvům uvedeným v PDB souboru. Vyzkoušejte zadat *name C CA NO* (jedná se o atomy peptidické páteře).
- Podle jména residuí, např. *resname HEM*.
- Podle pořadí residuí, např. *resid 20* zobrazí residuum 20. Lze specifikovat i více residuí *resid 31 35 41 58* nebo rozmezí *resid 27 to 32*.
- Lze používat regulární výrazy, např. *name "C.*"* zobrazí všechny atomy jejichž jméno začíná na C.
- Můžeme zadat negaci *not*, např. *not protein* zobrazí všechny atomy které nejsou součástí proteinu. Vyzkoušejte zadat *not protein*.

- Lze používat logické výrazy *and* a *or*, např. *rename HEM and not name "N.*"* zobrazí všechny nedusíkové atomy v hemové skupině.
- Peptidickou páteř lze zobrazit pomocí *backbone*.
- Je možné specifikovat atomy v udané vzdálenosti od jiných atomů *within <distance> of <selection>*, např. atomy ve vzdálenosti 6 Angstrom od hemu: *within 6 of rename HEM*.
- Podle hodnoty souřadnic *x, y, z*, např. *x > 1 and x < 5*.
- Pro konstrukci složitějších výrazů použijeme záložku *Selection*.
- Pro zobrazení všech atomů zadáme *all*.

8. Popisky atomů, měření

Vybereme *Menu: Mouse / Label / Atoms* a klikáme na jednotlivé atomy. Chceme-li popisky schovat, opět klikneme na daný atom. Pro měření vzdáleností mezi atomy, úhlů a dihedrálních úhlů vybereme v menu *Bonds, Angles, Dihedrals* a pak klikáme postupně na 2, 3 nebo 4 atomy. (Pro testování je vhodné zobrazit pouze několik residuí, např. *resid 1 to 4*). Namísto menu lze použít klávesy **1, 2, 3, 4**.

Další operace s popisky je možné dělat v okně *Menu: Graphics / Labels*. Zde je možné jednotlivé popisky zobrazit nebo skrýt nebo vymazat. Pro označení více položek použijte <Shift>. Na záložce *Picked Atom* se zobrazí informace o atomu (resp o atomu na který bylo kliknuto jak poslední při specifikaci vybraného popisku).

9. Nastavení grafické reprezentace molekuly

Budeme pracovat v *Menu: Graphics / Representations*. Jednotlivé části struktury myoglobinu zobrazíme pomocí různých grafických reprezentací.

- Peptidickou páteř proteinu zobrazíme reprezentací *cartoon*:
 - Nejdříve zobrazíme pouze atomy peptidické páteře: do políčka *Selected Atoms* napište *backbone* a stiskněte tlačítko *Apply* (nebo klávesu *Enter*).
 - Páteř proteinu zobrazíme reprezentací *cartoon* a obarvíme podle typu sekundární struktury: v položce *Drawing Method* vyberte *NewCartoon* a v položce *Coloring Method* vyberte *Secondary Structure*.
 - Vytvoříme novou reprezentaci – stiskněte tlačítko *Create Rep*
- Molekulu hemu zobrazíme reprezentací *licorice*: do políčka *Selected Atoms* napište *rename HEM* a v položce *Coloring Method* vyberte *Type* a v položce *Drawing Method* vyberte *Licorice*. Opět vytvořte novou reprezentaci stisknutím tlačítka *Create Rep*.
- Iont SO_4 a molekulu CO zobrazíme pomocí vdW koulí: do políčka *Selected Atoms* napište *rename SO4 CO*, v položce *Coloring Method* ponechte *Type* a v *Drawing Method* vyberte *VDW*. Opět vytvořte novou reprezentaci stisknutím tlačítka *Create Rep*
- Histidiny 64 a 93 zobrazíme pomocí CPK: do políčka *Selected Atoms* napište *resid 93 64*, v položce *Coloring Method* ponechte *Type* a v *Drawing Method* vyberte *CPK*.
- Zobrazení povrchů – v *Drawing method* vybereme *QuickSurf* (alternativně *Surf, MSMS*). Můžeme nastavit *Material* na *Transparent*. Povrch vyčleňte jako samostatnou reprezentaci (stisknutím tlačítka *Create Rep*). Povrch pak můžeme zobrazit jako průsvitný (*Material: Transparent*) a skrze něj budeme vidět reprezentace schované pod povrchem. Zkuste např. zobrazit povrch residuí v okolí hemu do 6 Angstrom (*protein and within 6 of rename HEM*). Pro nastavení jednotné barvy povrchu vyberte *Coloring Method* položku *Color ID* a vyberte požadovanou barvu.
- Skrytí/zobrazení reprezentace – dvojkliknutím levým tlačítkem myši na jméno reprezentace v seznamu reprezentací je lze skrýt nebo opět zobrazit.

10. Ukládání zobrazeného stavu molekul

- Zobrazený stav uložte pomocí *Menu: File / Save Visualization State* a specifikujte jméno souboru (dejte mu koncovku *.vmd*). Takto uložený grafický stav můžete kdykoliv znovu načíst pomocí *Menu: File / Load Visualization State*.
- Aby tato funkcionality fungovala správně, musí být VMD spuštěno ze stejného adresáře jako předtím a zdrojové soubory (PDB) musí být dostupné v původních adresářích. V případě problémů s nalezením souboru je potřeba editovat uložený soubor a zkontrolovat cesty k souborům na řádcích s příkazy *mol new*, *mol addfile* a *mol load*.

11. Rendering obrázku

Vybereme *Menu: File / Render* a v položce *Render the current scene using* vyberte *Snapshot* a zadejte vhodné jméno souboru s koncovkou *.tga* a potvrdíme tlačítkem *Start Rendering*. Soubor si můžete prohlédnout například pomocí programu GIMP (spustíte z příkazového řádku příkazem *gimp*).

Alternativně můžete v *Render the current scene using* vybrat *Tachyon* a ve *Filename* zadáte vhodné jméno souboru (bez koncovky *.tga*). Vygenerují se dva soubory, soubor s obrázkem bude mít koncovku *.tga*.

12. Hlavní okno – seznam molekul

obsahuje možnost práce s více molekulami. Při dvojkliknutí na písmena T A D F můžeme:

- T – specifikuje výchozí molekulu an kterou se budou aplikovat zadávané příkazy. Pouze jedna molekula může být takto označena.
- A – specifikuje, že molekula je aktivní, tj. budou na ni aplikovány některé příkazy (např. animace)
- D – specifikuje, zdali bude molekula zobrazena/skryta v grafickém okně
- F – specifikuje, zda-li bude molekula zafixována, tj. nebude reagovat na rotace a translace
- Dvojkliknutím na název molekuly můžeme změnit její jméno.

Vymažte načtenou molekulu (klikněte pravým tlačítkem myši na molekulu v seznamu a vyberte *Delete Molecule*). Poté znovu načtěte soubor *mbco.pdb* a potom soubor *star.pdb* (*star.pdb*), který obsahuje také strukturu myoglobinu ale s molekulou CO v jiné pozici. Vyzkoušejte si schovávání a zobrazení jednotlivých molekul. V okně *Menu: Graphics / Representations* nastavte různou barvu pro jednotlivé struktury. Pro obě molekuly zobrazte pouze hem, CO a residua 64 93 (*rename HEM CO or resid 64 93*). Prozkoumejte rozdíly mezi oběma strukturami. Zkuste změnit polohu jedné struktury vůči druhé (pomocí písmena F v seznamu molekul) – původní polohu molekul lze obnovit klávesou = (resp. *Menu: Display / Reset View*).

Pokročilá práce s programem VMD

1. Zobrazení vodíkových vazeb

- Načtete strukturu *Dhla_CBT.pdb*
- Otevřete okno *Menu: Graphics / Representations*. Vytvořte novou reprezentaci (tlačítkem *Create Rep*) a u ní nastavte *Drawing Method* na *HBonds*. Tloušťku čáry *Line Thickness* je vhodné nastavit na vyšší hodnotu (např. 5). Je-li *Coloring Method* nastaveno na *Name*, zobrazí ze modře vodíkové vazby, jejichž donorem je N a červeně je-li donorem O. Vazby jsou lépe viditelné pokud se nastaví na barvu oranžovou (*Coloring Method: ColorID*, barva č. 3). Pro lepší přehlednost je možné zobrazit první grafickou reprezentaci jako *NewCartoon*.
- Je možné nastavit kritéria pro detekci vodíkových vazeb: *Distance Cutoff* – maximální vzdálenost D-A (zkuste ji zvýšit na 3.4), *Angle Cutoff* – maximální úhel D-H-A

2. Zobrazení sekvence

- Vyberte *Menu: Extensions / Analysis / Sequence Viewer*. V zobrazeném okně můžeme klikat na jednotlivá residua, která se zvýrazní.
- Více residuí najednou lze označit přiděním <Shift> a klikáním na jednotlivá residua. Tažením myši lze označit více residuí. Označení residua zrušíme pravým tlačítkem myši.
- Označená residua se zobrazí též v seznamu reprezentací, kde můžeme nastavit odlišný způsob zobrazení případně je skrýt/zobrazit (dvojkliknutím v seznamu reprezentací).
- Vpravo dole je vysvětleno barevné kódování. Zkratky znamenají: T – ohyb (turn), E – beta list (extended conformation), B – isolated bridge, H – alfa helix, G – 3-10 helix, I – pi-helix, C – neuspořádaný úsek (coil).

3. Ramachandranův diagram

- Vyberte *Menu: Extensions / Analysis / Ramachandran Plot*. V seznamu *Molecule* vyberte první molekulu.
- Klikáním na jednotlivé body v grafu se nalevo zobrazí příslušná informace o residuu.
- Chceme-li zobrazit v grafu jen některá residua, zadáme výběr do políčka *Selection* (např. *resid 1 to 100*).
- Také lze zobrazit 3D-histogram pomocí příslušných tlačítek (histogram se zobrazí v grafickém okně kde se zobrazují struktury). Histogram zobrazuje četnost výskytu residuí v různých oblastech grafu.

4. Vytváření animací

- Vyberte *Menu: Extensions / Visualization / Movie Maker*.
- Pomocí tlačítka *Set working directory* vyberte složku kam se bude ukládat vytvořený video soubor a v poli *Name of movie* uveďte jméno vytvářeného souboru. Nastavte *Movie duration* na vhodný počet sekund (4-10). Stiskněte tlačítko *Make Movie*. Generování souboru může trvat až desítky sekund. Po celou dobu generování videa musí být okno se strukturou zobrazené a viditelné.
- Vytvořený videosoubor (zpravidla s koncovkou *.mpg*) lze přehrát přehrávačem *totem* nebo *mplayer* (spouští se *mplayer jmeno_souboru*).
- Vyzkoušejte možnosti nastavení v menu *Movie Settings*. Vyzkoušejte *Rotation about Y axis*.

5. Práce s trajektoriemi

- Vyberte *Menu: File / New Molecule*, tlačítkem *Browse* vyberte soubor *alanin.psf* a stiskněte tlačítko *Load*. Potom stejným způsobem načtěte soubor s trajektorií *alanin.dcd*. Po načtení se spustí animace. Znovu ji můžeme spustit pomocí tlačítek v dolní části okna s načtenými strukturami – vyzkoušejte funkci těchto tlačítek a dalších nastavení animace.
- Načteme trajektorii simulace polyalaninu ve vakuu. Budeme potřebovat základní soubor popisující molekulu *alanin.psf* a soubor s trajektorií *alanin.dcd* (obsahuje souřadnice atomů v jednotlivých bodech trajektorie).
- Zobrazte Ramachandrov diagram (*Menu: Extensions / Analysis / Ramachandran Plot*), vyberte molekulu *alanin.psf* v seznamu molekul. Po spuštění animace se graf bude aktualizovat pro každý snímek trajektorie. Kliknutím na bod v grafu se pomocí nevyplněných čtverečků zobrazí pozice danéh residua v rámci ostatních snímků trajektorie (na tyto čtverečky také můžeme klikat a zobrazí se nám příslušný snímek).
- Vyzkoušejte si vytvoření souboru s animací trajektorie – viz, předchozí bod **Vytváření animací**. V menu *Movie Settings* vyberte *trajectory*.
- Vyzkoušejte načíst oba soubory ještě jednou, první soubor ale načtěte jako novou molekulu a k ní načtěte *alanin.dcd*. Druhou molekulu obarvěte odlišnou barvou. Vyzkoušejte si v seznamu molekul, jak můžete deaktivovat (dvojklikněte na písmenko A) jednotlivé molekuly, které pak nebudou animovány