

CCM Bio II - 2025

Atividade 1

Prof. Roberto K. Salinas

Data: 06/03/25

Nome:

1. Visualização da estrutura de um fator de transcrição ligado ao DNA

Use ChimeraX para analisar e aprender algo sobre essa estrutura (PDB 2BJC):

open 2bjc

Essa é a estrutura do complexo entre o *lac headpiece* e o sítio operador com 22 pares de base. A estrutura corresponde a um conjunto de 16 modelos calculados a partir de dados de RMN em solução. Você pode encontrar os dados experimentais depositados no PDB e também pode baixar o arquivo da estrutura e examinar o formato.

- Quais regiões da estrutura apresentam diferentes conformações? O que essa observação pode nos dizer sobre a precisão dessas regiões?
- Qual é a fenda maior, e qual é a fenda menor do DNA?
- Quais são as hélices da proteína que estão em contato com o DNA?
- Que tipo de interações inter-moleculares seriam responsáveis por estabilizar o complexo?

2. Visualização de uma estrutura resolvida por criomicroscopia eletrônica

O estudo estrutural de proteínas de membrana sempre foi limitado devido à dificuldade em se obter cristais. No entanto, o desenvolvimento dos métodos de EM tem permitido resolver estruturas tridimensionais de diversas proteínas de membrana. Você vai analisar a estrutura da porção extracelular do receptor de insulina que foi resolvida por Cryo-EM em resolução quase atômica e depositada no PDB sob o código de acesso 7sth (Li et al (2022) doi: 10.1038/s41594-022-00750-6). Primeiro você vai abrir o mapa de densidade obtido por criomicroscopia eletrônica:

```
open 25428 from emdb
```

Ajuste o nível do mapa:

```
volume #1 level 0.03
```

Ajuste a definição do mapa:

```
volume #1 step 1
```

Agora abra o modelo atômico que foi construído com base nesse mapa (código de acesso do PDB 7sth):

```
open 7sth
```

Vamos apagar o mapa e colorir em amarelo as cadeias polipeptídicas C e D que correspondem à insulina:

```
hide #1 model  
color #2 bychain  
surface #2  
select /D  
color sel yellow  
select /C  
color sel yellow
```

Agora vamos examinar uma região do mapa que descreve uma das hélices da insulina. Vamos apagar os modelos e mostrar apenas a hélice que corresponde aos resíduos 8-19 da cadeia D:

```
select clear  
hide #2 surface  
select /D:8-19  
hide ~sel ribbon
```

Agora vamos mostrar o mapa novamente, e prestar atenção na região dessa hélice:

```
show #1 models
```

volume zone #1 near sel range 3
volume #1 style mesh
show sel
color sel byhet

Depois de concluir as etapas acima, responda às perguntas abaixo:

- a) Qual é a estrutura quaternária do receptor de insulina?
- b) O mapa de densidade permite observar detalhes das cadeias laterais?
- c) Quais domínios formam a estrutura do receptor de insulina?

3. Vamos agora visualizar a estrutura cristalográfica da protease do SARS-CoV-2

Você vai abrir a estrutura cristalográfica da protease principal do SARS-Cov-2 em complexo com o inibidor paxlovid:

```
open 7rfw
```

Vamos colorir o inibidor para diferenciá-lo do restante da proteína:

```
select ligand  
color sel magenta  
color sel byhet
```

Vamos observar em que região da protease o inibidor está ligado:

```
select clear  
surface
```

O aminoácido E166 é importante para a ligação de inibidores. A mutação E166V reduz a afinidade do nirmatrelvir em 100x:

```
surface close  
color :166 orange
```

Para compreendermos melhor o mecanismo de ação do inibidor, vamos comparar essa estrutura com a estrutura da protease ligada ao substrato:

```
open 7dvw
```

Vamos sobrepor as duas estruturas. Para isso vamos minimizar o RMSD entre elas:

```
matchmaker #2 to #1
```

E vamos colorir o substrato em laranja:

```
color #2/C orange
```

O substrato é clivado entre os resíduos 6 e 7:

```
color #2/C:1-6 red
```

Será que as sequências das duas construções, a construção utilizada para formar o complexo com paxlovid e a construção utilizada para a ligação do peptídeo são iguais?

```
matchmaker #2 to #1 show true  
sequence header conservation show
```

Uma mutação foi observada no resíduo 41 (H41A):

sel :41

Observe que as construções utilizadas nas duas estruturas diferem na posição 41!

Antes de prosseguir, responda às perguntas abaixo:

- a) Qual é o RMSD entre as duas estruturas?
- b) Qual é o possível mecanismo de inibição do paxlovid?
- c) Como foi possível resolver a estrutura da protease sem que ela clive o substrato?