

## POSSIBILIDADES DIDÁTICAS DA UTILIZAÇÃO DO SOFTWARE RASMOL NO ENSINO DE MACROMOLÉCULAS BIOLÓGICAS

### DIDACTIC POSSIBILITIES OF THE RASMOL SOFTWARE IN THE TEACHING OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES

Bárbara Sampaio Dias Martins Mansano<sup>1</sup>, barbarasdmm@gmail.com

Renato Massaharu Hassunuma<sup>1</sup>, rhassunuma@gmail.com

Paula Martins da Silva<sup>1</sup>, educapaula@globo.com

Aguinaldo Robinson de Souza<sup>2</sup>, arobinso@fc.unesp.br

<sup>1</sup>Universidade Paulista - UNIP, Bauru, São Paulo

<sup>2</sup>Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Bauru, São Paulo

Submetido em 02/11/2016

Revisado em 10/11/2016

Aprovado em 25/01/2017

**Resumo:** Quando comparado com o aprendizado utilizando modelos mecânicos, os softwares de simulação computacional oferecem várias vantagens ao aluno. Atualmente, é possível encontrar softwares gratuitos, como, por exemplo, o software RasMol, que facilitam a compreensão da natureza estrutural de biomoléculas. Neste âmbito, é discutida a importância dos softwares de simulação computacional para a representação de moléculas aplicadas ao ensino de Bioquímica.

**Palavras chave:** RasMol. Bioquímica. Biologia Molecular Computacional.

**Abstract:** The computational simulation software offer many advantages to the student when compared to mechanical modeling learning. Currently, it is possible to find free software, for example the RasMol software, that facilitate the understanding of the structural nature of biomolecules. In this context, it is discussed the importance of computer simulation software for the representation of molecules applied in Biochemistry learning.

**Keywords:** RasMol. Biochemistry. Computational Molecular Biology.

## Introdução

No ensino de Química, Bioquímica ou Biologia Molecular, são utilizados, tradicionalmente, modelos construídos com bolas e varetas para representação e visualização de modelos moleculares tridimensionais. Entretanto, o alto custo dos kits, assim como sua fragilidade e seu difícil manejo, juntamente com a disponibilidade limitada de peças e a difícil execução em relação à posição correta dos átomos, constituem um grande problema para a aplicação em sala de aula para a demonstração de moléculas de alto peso molecular ou para um número muito grande de alunos.

Em comparação com o aprendizado utilizando modelos mecânicos, os exercícios usando softwares de simulação computacional oferecem vantagens particulares como: a gama de representações, a velocidade de cálculos numéricos e a visualização de muitas imagens variadas que são mais bem retidas pelos alunos. Além disso, as imagens geradas em computador são relativamente fáceis de serem construídas, manipuladas e muito atrativas (HARRIS et al., 2009; ROBERTS et al., 2005; YUNTA et al., 2011).

Os softwares de Simulação Computacional em Biomoléculas podem ser utilizados pelos alunos de diferentes formas como: pesquisas a respeito da estrutura, função e interações da molécula com ligantes, produção de imagens para a elaboração de trabalhos escritos e apresentações orais, execução de tarefas que o aluno pode desenvolver em sua casa, atividades práticas a serem desenvolvidas em laboratórios de informática, desenvolvimento de material para Web Sites, desenvolvimento de pesquisas em bioquímica estrutural, entre outras (BOOTH et al., 2005).

Em unanimidade, vários artigos na literatura descrevem a utilização de softwares de Simulação Computacional como importantes ferramentas no processo de ensino-aprendizagem, especialmente por melhorar o aprendizado e a motivação dos alunos, incrementando o interesse dos alunos ao “aprender fazendo” (BOOTH et al., 2005; HARRIS et al., 2009).

O pouco entusiasmo dos alunos no estudo da modelagem molecular de estruturas complexas como as proteínas está relacionado com a dificuldade dos mesmos em conseguir visualizar o arranjo espacial dos átomos e as interações covalentes e não covalentes que estabilizam a estrutura e determinam a

reatividade da biomolécula e, portanto, a sua função biológica (RAY; COOK, 2006). Assim sendo, a utilização de programas de simulação computacional de biomoléculas no processo de ensino e de aprendizagem justifica-se pela dificuldade do professor em apresentar de uma maneira eficaz e completa a estrutura tridimensional de proteínas utilizando métodos de ensino tradicionais que apresentam a estrutura da biomolécula numa visão bidimensional.

Com isso, a utilização de ferramentas de Simulação Computacional para a visualização de biomoléculas pode facilitar o processo de ensino e de aprendizagem de conceitos básicos relacionados a modelos moleculares e representações simbólicas, por incentivar possíveis reflexões a respeito dos conceitos que estão sendo desenvolvidos na sala de aula (NATIONAL, 2014). O uso interativo de softwares de simulação computacional de biomoléculas pode trazer uma contribuição única e importante à aprendizagem dos estudantes das Disciplinas de Bioquímica e Biologia Molecular em quaisquer níveis. Devem ser considerados dois objetivos complementares na utilização de softwares educacionais: a aprendizagem dos conceitos e o desenvolvimento de novas habilidades (CRACIUN; ISVORAN, 2009).

### **Objetivo**

Com o objetivo de aproximar a Simulação Computacional de Biomoléculas aos alunos, o atual artigo visa utilizar o software RasMol como uma ferramenta pedagógica para o estudo da estrutura e função de biomoléculas através da criação de scripts exemplificados neste artigo pela Albumina do Soro Humano (HSA).

### **Material e Métodos**

#### **Protein Data Bank (PDB)**

O banco de dados de proteínas Protein Data Bank (PDB) possui os dados primários sobre a estrutura 3D de proteínas e um repertório de coordenadas atômicas e informações que descrevem proteínas e outras macromoléculas importantes para o processamento e distribuição de dados de suas estruturas tridimensionais, principalmente obtidas principalmente por

cristalografia de raios X ou ressonância magnética nuclear (RMN). Além de apresentar informações estruturais, os arquivos PDB, obtidos gratuitamente no site <http://www.rcsb.org/pdb/>, podem ser utilizados em diversos softwares de Simulação Computacional para a produção de imagens tridimensionais. Programas como o RasMol são capazes de verificar as coordenadas atômicas de uma molécula e exibi-la em uma alta variedade de esquemas de cores e representações moleculares (MERKA, 2009).

### **O software RasMol**

O RasMol, disponível para download gratuito no site <http://openrasmol.org/>, é um software desenvolvido para visualização e exploração da estrutura de proteínas, ácidos nucleicos e pequenas moléculas (HOME, 2014; RHODES, 2011; SHORT, 2014). Nele, a manipulação de uma estrutura pode ser facilmente realizada, mesmo para iniciantes, dependendo apenas do uso correto do mouse e do conhecimento dos comandos propostos para dispor a estrutura em uma conformação que permita uma melhor compreensão (MARTINEZ et al., 2006). O software permite que sejam observados resultados instantâneos a partir de programação, possibilitando diferentes formas de representação de uma estrutura. Devido às inúmeras facilidades e vantagens em se usar este programa computacional, o RasMol é considerado por muitos autores um dos programas de simulação tridimensional de moléculas mais versáteis e mais populares no mundo (BOHNE-LANG et al., 2005).

No RasMol é possível visualizar a estrutura de diferentes modos utilizando os comandos do Menu Display (wireframe, backbone, sticks, spacefill, ball & stick, ribbons, strands, cartoons, molecular surface e trace) e também em diferentes padrões de colorização (monochrome, CPK, shapely, group, chain, temperature, structure, user, model e alt). O software também permite a exibição de ligantes e heteroátomos, criação de imagens tridimensionais, identificação dos átomos, aminoácidos e nucleotídeos, medir distâncias, ângulos, valores de torção, entre outras funções. Mais informações sobre o RasMol podem ser obtidas no *RasMol Version 2.6-beta-2 Reference Manual* (Disponível em: <http://www.umass.edu/microbio/rasmol/distrib/rasman.htm>).

## Resultados

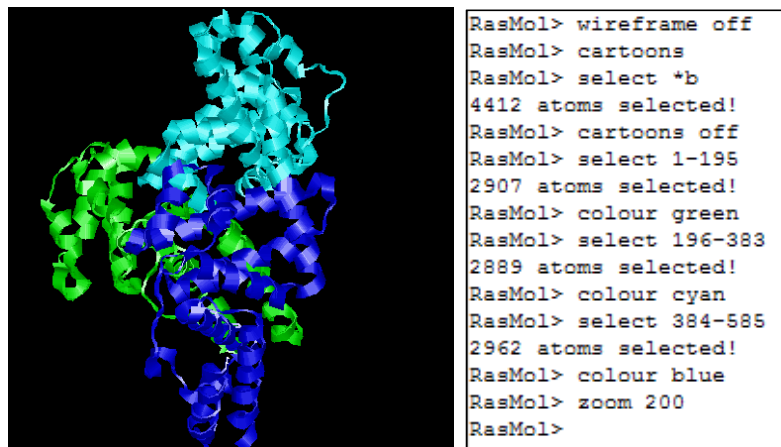
Com o objetivo de demonstrar a aplicabilidade do RasMol, será utilizado como modelo o arquivo 2BXC.pdb, referente albumina do soro humana ligada à fenilbutazona. Este arquivo pode ser obtido gratuitamente na página: <<http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=2bxc>>, clicando em Download Files e selecionando PDB File (Text).

A albumina representa 50% das proteínas plasmáticas humanas, estando presente em concentrações que variam de 35-45 g/L, o que explica seu importante papel na pressão osmótica sanguínea. É a principal proteína do plasma humano responsável pelo transporte de ácidos graxos hidrofóbicos, bilirrubina e drogas. A presença de sítios para ligação de uma grande variedade de drogas, incluindo salicilatos, barbitúricos, sulfonamidas, penicilina e varfarina torna a molécula de significativa relevância farmacológica (FRASER, 2010). A fenilbutazona ( $C_{19}H_{20}N_2O_2$ ) é um fármaco que possui propriedades anti-inflamatórias, antipiréticas e analgésicas sendo utilizado em casos de espondilite anquilosante, artrite reumatoide e artrite reativa (PHENYLBUTAZONE, 2015).

A albumina é uma proteína toda alfa de 66kDa que possui três domínios homólogos: I (resíduos 1-195), II (resíduos 196-383) e III (resíduos 384-585). Cada domínio é dividido em subdomínios A e B, que contém seis e quatro hélices alfa, respectivamente (SUGIO et al., 1999).

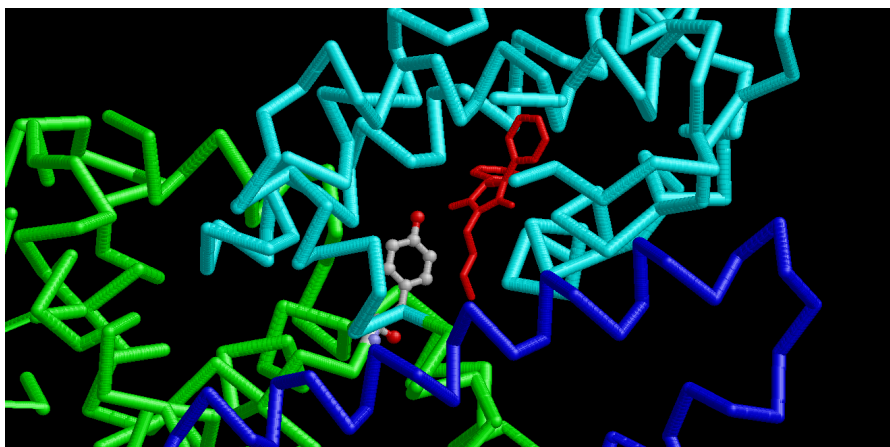
Estes domínios podem ser observados no software RasMol. Para visualização da molécula, primeiramente carrega-se o arquivo 2BXC.pdb no RasMol, por meio do Comando Open no Menu File. Como sugestão, podem ser utilizados, na Janela RasMol Command Line, os seguintes comandos: wireframe off <ENTER>, cartoons <ENTER>, select \*b <ENTER>, cartoons off <ENTER>, select 1-195 <ENTER>, colour green, select 196-383 <ENTER>, colour cyan <ENTER>, select 384-585 <ENTER>, colour blue <ENTER> e zoom 200 <ENTER>. Na FIGURA 1, observa-se à esquerda a figura obtida, com o domínio I em verde, o domínio II em ciano e o domínio III em azul e as hélices alfa representadas como espirais.

FIGURA 1 - Imagem e script desenvolvidos no RasMol para visualização dos domínios I, II e III da albumina humana



A interação da fenilbutazona com a albumina humana ocorre a partir de uma única ponte de hidrogênio com o grupo hidroxila (OH 1131) do resíduo de tirosina 150, que corresponde ao último resíduo da hélice alfa 3 do subdomínio b do domínio I (Ib-h3). Para visualização da interação entre a fenilbutazona e a albumina humana, foi desenvolvido um script no RasMol que forneceu a imagem apresentada na FIGURA 2.

FIGURA 2 - Imagem desenvolvida no RasMol para visualização da interação entre a fenilbutazona (no Modo Wireframe 50 em vermelho) e o resíduo de tirosina 150 (no Modo Wireframe 50 e Spacefill 125 no padrão de cores CPK). O grupo hidroxila OH 1131 que interage com a fenilbutazona está representada pelo átomo de oxigênio visualizada como a esfera em vermelho próxima ao fármaco.



O script desenvolvido para obter a imagem apresentada na FIGURA 2 está apresentado e explicado no QUADRO 1.

Comando	Função
load 2bxc.pdb	Carrega o arquivo 2BXC.pdb no RasMol
wireframe off	Desativa o modo de exibição wireframe
select *a	Seleciona a cadeia A
backbone 100	Ativa o modo de exibição Backbone. O número indica a espessura da linha
select 1-195	Seleciona os resíduos 1 a 195
colour green	Colore a estrutura selecionada em verde
select 196-383	Seleciona os resíduos 196-383
colour cyan	Colore a estrutura selecionada em ciano
select 384-585	Seleciona os resíduos 384-585
colour blue	Colore a estrutura selecionada em azul
zoom 900	Amplia a estrutura. O número indica o grau de ampliação
translate x 8	Desloca a estrutura no eixo x. O número indica o valor do deslocamento
translate y 11	Desloca a estrutura no eixo y. O número indica o valor do deslocamento
slab 75	Apresenta a molécula em diferentes planos no eixo z. O programa exhibe apenas a parte da molécula que está além do plano Slab. Valores integrais variam de 0 (em que o plano Slab está atrás da molécula) a 100 (em que o plano Slab está em frente da molécula). Valores intermediários determinam a porcentagem de molécula a ser exibida.
select ligand	Seleciona o ligante
wireframe 50	Ativa o modo de exibição Wireframe. O número indica a espessura da linha
colour red	Colore a estrutura selecionada em vermelho
select 150	Seleciona o resíduo de número 150
wireframe 50	Ativa o modo de exibição Wireframe. O número indica a espessura da linha
spacefill 100	Ativa o modo de exibição Spacefill. O número indica a espessura da esfera
colour CPK	Ativa o modo de cor CPK. Neste padrão de cores, cada átomo é representado por uma cor diferente. O carbono em cinza, o oxigênio em vermelho, o nitrogênio em azul e assim por diante.

### Considerações finais

Assim sendo, os softwares de visualização molecular podem ser considerados um importante recurso em sala de aula no ensino da Bioquímica e Biologia Celular. O surgimento de diferentes programas tem melhorado o ensino de conceitos estruturais, tais como as interações não covalentes e os níveis de organização nas proteínas. Alguns tutoriais também estão disponíveis para serem utilizados durante a aula ou para os estudantes explorarem a estrutura molecular fora da sala de aula.

Por meio da utilização de softwares de Simulação Computacional, os alunos podem obter novos conhecimentos sobre conceitos como sítios ativos, estrutura secundária e terciária. A utilização de softwares de Simulação Computacional também favorece o reforço visual, a compreensão a respeito da estrutura molecular e a interpretação de conceitos e princípios.

## Referências

BOHNE-LANG, A.; GROCH, W.; RANZINGER, R. AISMIG – an interactive server-side molecule image generator. **Nucleic acids research**, v. 33, Web Server issue, p. W705-9, Jul. 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1160199/pdf/gki438.pdf>>. Acesso em: 06 out. 2014.

BOOTH, D.; BATEMAN, R. C. Jr.; SIROCHMAN, R.; RICHARDSON, D. C.; RICHARDSON, J. S.; WEINER, S. W.; FARWELL, M.; PUTNAM-EVANS, C. Assessment of molecular construction in undergraduate biochemistry. **J. Chem. Educ.**, v. 82, n. 12, p. 1854-8, Dec. 2005. Disponível em: <<http://ocean.otr.usm.edu/~w304739/BatemanJCE2005.pdf>>. Acesso em: 24 set. 2014.

CRACIUN, D.; ISVORAN, A. Teaching Molecular Biology using computational tools and tacking into account the learning styles of students. **Romanian Biotechnological Letters**, v. 14, n. 4, p. 4567-74, 2009. Disponível em: <<http://ebooks.unibuc.ro/biologie/RBL/rbl4vol14/10.pdf>>. Acesso em: 13 jan. 2015.

FRASER, W. D. Sangue: células e proteínas plasmáticas. In: BAYNES, J. W.; DOMINICZAK, M. H. **Bioquímica médica**. 3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. cap. 3, p. 33-42.

HARRIS, M. A.; PECK, R. F.; COLTON, S.; MORRIS, J.; CHAIBUB NETO, E.; KALLIO, J. A combination of hand-held models and computer imaging programs helps students answer oral questions about molecular structure and function: a controlled investigation of student learning. **CBE – Life Sci. Educ.**, v. 8, n. 1, p. 29-43, Spring 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2649655/pdf/cbe29.pdf>>. Acesso em: 23 Set. 2014.

HOME page for RasMol and OpenRasMol. Molecular graphics visualization tool. Disponível em: <<http://rasmol.org/>>. Acesso em: 18 out. 2014.

MARTINEZ, A. E. C.; ZAPATA, P. D. Aplicación de un trabajo práctico autoguiado para la formación en el uso de herramientas bioinformáticas de alumnos de pregrado en Bioquímica Clínica. **Educación Médica**, v. 9, n. 4 (Parte B), p. 207-11, Dez. 2006. Disponível em: <<http://scielo.isciii.es/pdf/edu/v9n4b/original2.pdf>>. Acesso em: 02 out. 2014.

MERKA, M. Searching for binding sites of metal atoms in proteins. 2009. 66 f. **Master Thesis – Masaryk University, Brno**, 2009. Disponível em: <[http://is.muni.cz/th/98961/fi\\_m/MgrThesis.pdf](http://is.muni.cz/th/98961/fi_m/MgrThesis.pdf)>. Acesso em: 18 nov. 2014.

NATIONAL Science Foundation. Molecular Visualization in Science Education. Disponível em: <[http://helios.hampshire.edu/~nasCCS/papers\\_and\\_reports/chemviz\\_workshop\\_report\\_final.pdf](http://helios.hampshire.edu/~nasCCS/papers_and_reports/chemviz_workshop_report_final.pdf)>. Acesso em: 18 nov. 2014.

PHENYLBUTAZONE. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/phenylbutazone>>. Acesso em: 29 Jul. 2015.



RAY, G. B.; COOK, J. W. Molecular modeling of heme proteins using MOE. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, v. 33, n. 3, p. 194-201, 2005. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bmb.2005.494033032449/pdf>>. Acesso em: 18 nov. 2014.

RHODES, G. Introduction to molecular modeling: a tutorial for RasMol. Disponível em: <<http://spdbv.vital-it.ch/TheMolecularLevel/RasTut/index.html>>. Acesso em: 07 nov. 2014.

ROBERTS, J. R.; HAGEDORN, E.; DILLENBURG, P.; PATRICK, M.; HERMAN, T. Physical models enhance molecular three-dimensional literacy in an introductory biochemistry course. **Biochem. Mol. Biol. Educ.**, v. 33, n. 2, p. 105-10, 2005. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bmb.2005.494033022426/pdf>>. Acesso em: 24 set. 2014.

SHORT, non-technical introduction to RasMol. Disponível em: <<http://www.umass.edu/microbio/rasmol/nontech.htm>>. Acesso em: 02 out. 2014.

SUGIO, S.; KASHIMA, A.; MOCHIZUKI, S.; NODA, M.; KOBAYASHI, K. Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution. **Protein Engineering**, v. 12, n. 6, p. 439-46, jun. 1999. Disponível em: <<http://peds.oxfordjournals.org/content/12/6/439.full.pdf+html>>. Acesso em: 29 jul. 2015.

YUNTA, M. J. R.; PÉREZ, L. C.; BENJUMEA, M. C. C.; PLAZA, A. M. S. Materiales para el aprendizaje on-line de conceptos básicos de química en el área de ciencias de la salud. **Relada**, v. 5, n. 2, p. 143-9, 2011. Disponível em: <<http://polired.upm.es/index.php/relada/article/view/1375>>. Acesso em: 03 nov. 2014.