

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET ELEKTROTEHNIKE I RAČUNARSTVA

DIPLOMSKI RAD br. 1091

**PROGRAM ZA RAČUNANJE
ELEKTROSTATSKOG POTENCIJALA NA
POVRŠINI MAKROMOLEKULA**

Miljenko Crnković

Zagreb, rujan 2007.

Sadržaj

1. Uvod.....	4
2. Metode	5
2.1. PDB2PQR	5
2.1.1. PDB format	5
2.1.2. PQR format	12
2.2. APBS	13
2.2.1. Računanje potencijala.....	13
2.2.2. APBS ulazna datoteka	15
3. Implementacija programa PotCalc	18
4.1. Naredbena linija.....	22
4.1.1. Konfiguracijska datoteka	23
4.2. Grafičko sučelje	26
4.2.1. Glavni prozor.....	26
4.2.2. Prozor s naprednim opcijama kreiranja PQR datoteka	28
4.2.3. Prozor s naprednim APBS opcijama	30
4.2.4. Prozor za dohvaćanje PDB datoteka s Interneta	34
4.2.5. Izbornik	35
5. Rezultati	36
5.1. APBS izlazna datoteka	36
5.2. Datoteka s potencijalima.....	37
5.3. Rezultati bez korištenja programa PotCalc.....	38
6. Diskusija.....	41
7. Sažetak	42
8. Zaključak	43
9. Literatura	44
10. Dodatak A: Sadržaj pratećeg CD ROM medija	45

1. Uvod

Vežanje bioloških makromolekula jedno je od važnijih područja proučavanja u bioinformatici. Pri vežanju makromolekula elektrostatski potencijal ima značajnu ulogu. Za simulaciju i istraživanje tih vežanja posebno su važne točke na površini makromolekula, te je često potrebno izračunati elektrostatski potencijal u njima. Iako postoji veliki broj programa koji pomažu pri proračunu, niti jedan program do sada nema mogućnost samostalnog obavljanja cijelog proračuna, te je potrebno koristiti više programa u nizu da bi se dobili rezultati. To usporava postupak računanja, povećava mogućnost pogreške korisnika, te onemogućuje obradu većeg broja makromolekula odjednom. U ovom radu razvijen je program PotCalc koji omogućuje obavljanje čitavog proračuna iz jednog programa. Kao sastavni dio programa iskorišteni su postojeći programi PDB2PQR [1][2] i APBS [3][4].

Korišteni programi, metode računanja i formati datoteka prikazani su u poglavlju "2. Metode", a razvijeni program opisan je u poglavlju "3. Implementacija programa PotCalc". Rad s programom opisan je u poglavlju "4. Korištenje programa PotCalc", a rezultati izvođenja u poglavlju "5. Rezultati". Diskusija rezultata dana je u poglavlju "6. Diskusija", a sažetak rada i zaključak u poglavljima "7. Sažetak" i "8. Zaključak". Popis korištene literature nalazi se u poglavlju "9. Literatura".

2. Metode

Za računanje elektrostatskog potencijala ključna su dva koraka, pretvorba PDB formata opisa strukture molekule u PQR format, te rješavanje Poisson-Boltzmannove diferencijalne jednačbe. Za obavljanje ovih koraka korišteni su programi PDB2PQR i APBS.

2.1. PDB2PQR

PDB2PQR je program koji automatizira mnoge zadatke oko pripreme struktura za elektrostatske proračune, od kojih je najvažnija pretvorba PDB datoteka u PQR format. PDB2PQR također ima mogućnost generiranja i ulazne datoteke za APBS, no neodgovarajuće za potrebe računanja potencijala, tako da se ta mogućnost nije koristila pri izradi razvijenog programa PotCalc.

2.1.1. PDB format

Protein Data Bank (PDB) [5] je arhiva eksperimentalno utvrđenih trodimenzionalnih struktura bioloških makromolekula koja služi globalnoj zajednici istraživača, nastavnika i studenata. Podaci sadržani u arhivi uključuju koordinate atoma, bibliografske citate, primarnu i sekundarnu strukturu, informacije, faktore kristalografske strukture i eksperimentalne podatke dobivene nuklearnom magnetskom rezonancom.

Svaka PDB datoteka organizirana je po recima. Svaki redak sastoji se od 80 simbola. Prvih šest simbola u retku određuju tip zapisa. Zapisi se mogu grupirati u kategorije ovisno o tome koliko često se pojavljuju.

U tablici 1 nalaze se zapisi koji se mogu pojaviti samo jednom.

Tablica 1: PDB zapisi koji se mogu pojaviti samo jednom

Tip zapisa	Opis
CRYST1	Parametri ćelije i prostorna grupa
END	Posljednji zapis u datoteci
HEADER	Prvi redak datoteke, sadrži identifikacijski kôd PDB-a, klasifikaciju i datum pohrane
MASTER	Kontrolni zapis
ORIGXn	Transformacija iz ortogonalnih u zadane koordinate (n = 1, 2, 3)
SCALEn	Transformacija iz ortogonalnih u razlomačke kristalografske koordinate (n = 1, 2, 3)

Postoje i zapisi koji se mogu pojaviti samo jednom u datoteci, ali se mogu protezati kroz više linija. Ti zapisi nalaze se u tablici 2.

Tablica 2: PDB zapisi koji se mogu protezati kroz više linija

Tip zapisa	Opis
AUTHOR	Lista autora
CAVEAT	Indikacija ozbiljne pogreške
COMPND	Opis makromolekularnog sadržaja zapisa
EXPDTA	Eksperimentalna tehnika korištena za utvrđivanje strukture
KEYWDS	Popis ključnih riječi koje opisuju makromolekulu
OBSLTE	Navod da je zapis uklonjen iz distribucije i lista identifikacijskih kodova zapisa koji ga zamjenjuju

SOURCE	Biološki izvor makromolekule u zapisu
SPRSDE	Popis zapisa povučenih iz distribucije i zamijenjenih trenutnim zapisom
TITLE	Opis eksperimenta prikazanog zapisom

Druga i sljedeće linije sadrže polje nastavka, koje je desno-poravnati cijeli broj. Ovaj broj se uvećava za jedan za svaku dodatnu liniju zapisa, a slijedi ga praznina.

Većina zapisa može se pojaviti više puta, najčešće u grupama gdje informacije nisu logički spojene, nego su prikazane u obliku liste. Mnogi od ovih tipova zapisa imaju svoju serijalizaciju koja se može koristiti za poredak zapisa, ali i za povezivanja s drugima tipovima zapisa. Zapisi koji se mogu pojavljivati više puta nalaze se u tablici 3.

Tablica 3: PDB zapisi koji se mogu pojavljivati više puta

Tip zapisa	Opis
ANISOU	Anizotropni temperaturni faktori
ATOM	Atomski koordinatni zapisi za standardne grupe
CISPEP	Identifikacija peptidnog ostatka u cis građi
CONNECT	Zapisi o vezama između atoma
DBREF	Referenca na zapis u bazi sekvenci
HELIX	Identifikacija spiralnih substrukture
HET	Identifikacija nestandardnih grupa ili aminokiselinskih ostataka (heterogena)
HETSYN	Sinonimi heterogena

LINK	Identifikacija veza između aminokiselinskih ostataka
MODRES	Identifikacija modifikacija standardnih aminokiselinskih ostataka
MTRIXn	Transformacije koje izražavaju nekristalografsku simetriju (n = 1, 2, 3)
REVDAT	Datum revizije i povezane informacije
SEQADV	Identifikacija konflikata između PDB-a i baze sekvenci
SEQRES	Primarna sekvenca aminokiselinskih ostataka glavnog lanca
SHEET	Identifikacija ravnih podstruktura
SIGATM	Standardne devijacije atomskih parametara
SIGUIJ	Standardne devijacije anizotropnih temperaturnih faktora
SITE	Identifikacija grupa koja sadrži važne stranice
SSBOND	Identifikacija disulfidnih veza
TVECT	Translacijski vektor za beskonačno kovalentno povezane strukture

Postoje i zapisi koji se mogu pojavljivati više puta, ali sadržaj im je duži od dozvoljenih 80 simbola. Ovakvi zapisi se zato nastavljaju kroz sljedeće linije. Njihov popis nalazi se u tablici 4.

Tablica 4: PDB zapisi koji se mogu pojavljivati više puta i kroz više linija

Tip zapisa	Opis
FORMUL	Kemijska formula nestandardne grupe

HETATM	Atomske koordinate heterogena
HETNAM	Ime heterogena

Druga i sljedeće linije sadrže polje nastavka, koje je desno-poravnati cijeli broj. Ovaj broj se uvećava za jedan za svaku dodatnu liniju zapisa, a slijedi ga praznina.

Postoje i tri tipa zapisa koja se koriste za grupiranje drugih zapisa. Prikazani su u tablici 5.

Tablica 5: PDB zapisi koji se koriste za grupiranje

Tip zapisa	Opis
ENDMDL	Zapis za kraj modela za višestruke strukture u zapisu jedne koordinate
MODEL	Specifikacija broja modela za višestruke strukture u zapisu jedne koordinate
TER	Oznaka za kraj lanca

MODEL/ENDMDL zatvaraju grupe ATOM, HETATM, SIGATM, ANISOU, SIGUIJ i TER zapisa. TER zapis označava kraj lanca.

Preostali tipovi zapisa imaju sljedeću strukturu:

Tablica 6: Preostali tipovi PDB zapisa

Tip zapisa	Opis
JRNL	Citat literature koja definira skup koordinata
REMARK	Opće napomene, strukturirane ili slobodno formatirane

PDB zapisi mogu se podijeliti po blokovima. Svaki blok sastoji se od nekoliko tipova zapisa:

Tablica 7: Blokovi PDB zapisa

Blok	Opis	Tipovi zapisa
Naslov	Opisni zapisi	HEADER, OBSLTE, TITLE, CAVEAT, COMPND, SOURCE, KEYWDS, EXPDTA, AUTHOR, REVDAT, SPRSDE, JRNL
Napomena	Bibliografija	REMARK
Primarna struktura	Peptidne i/ili nukleotidne sekvence	DBREF, SEQADV, SEQRES, MODRES
Heterogeni	Opisi nestandardnih grupa	HET, HETNAM, HETSYN, FORMUL
Sekundarna struktura	Opis sekundarne strukture	HELIX, SHEET, TURN
Anotacija povezivosti	Kemijska veze između atoma	SSBOND, LINK, HYDBND, SLTBRG, CISPEP
Razna obilježja	Obilježja makromolekule	SITE
Kristalografija	Opis kristalografske ćelije	CRYST1
Koordinatna transformacija	Operatori koordinatne transformacije	ORIGXn, SCALEn, MTRIXn, TVECT
Koordinate	Atomske koordinate i podaci	MODEL, ATOM, SIGATM, ANISOU, SIGUIJ, TER, HETATM, ENDMDL

Povezivost	Kemijska veze između atoma	CONNECT
Knjigovodstvo	Informacije, oznaka kraja	MASTER, END

Od posebnog interesa u ovom radu su zapisi koordinatnog bloka, i to ATOM zapisi. Struktura ATOM zapisa prikazana je u tablici 8.

Tablica 8: Struktura PDB atom zapisa

Stupci	Tip podatka	Definicija
1 – 6	Ime zapisa	"ATOM "
7 – 11	Cijeli broj	Serijski broj atoma
13 – 16	Atom	Ime atoma
17	Simbol	Indikator alternativne lokacije
18 – 20	Ime ostatka	Ime aminokiselinskog ostatka
22	Simbol	Identifikator lanca
23 – 26	Cijeli broj	Broj sekvence
27	Simbol	Kôd za ubacivanje aminokiselinskog ostatka
31 – 38	Realni broj (8.3)	X koordinata u Å
39 – 46	Realni broj (8.3)	Y koordinata u Å
47 – 54	Realni broj (8.3)	Z koordinata u Å
55 – 60	Realni broj (6.2)	Popunjenost
61 – 66	Realni broj (6.2)	Temperaturni faktor
77 – 78	String	Simbol elementa
79 – 80	String	Naboj

Niže se nalazi primjer ATOM zapisa u PDB datoteci (iz PDB-a 1a1p):

```

0          1          2          3          4          5          6          7          8
12345678901234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890
ATOM      95  C   TRP      7          6.859  -4.883  -1.228  1.00  0.00          C

```

Iz ovog se zapisa može pročitati da se radi o 95. atomu u nizu, da je to atom ugljika koji čini triptofan, da je to sedma sekvenca, nalazi se na koordinati (6.859, -4.883, -1.228) ima popunjenost 1, a temperaturni faktor 0.

Međutim, ovaj format podataka nije prikladan za računanje potencijala jer se u njemu ne nalaze podaci o količini naboja atoma i njegovom radijusu. Za takve proračune se u bioinformatičari koriste datoteke u PQR formatu.

2.1.2. PQR format

PQR format je format u kojem su zadnja dva polja PDB ATOM zapisa, ona o popunjenosti i temperaturnom faktoru, zamijenjena podacima o količini naboja atoma i njegovom radijusu.

Zapis iz prethodnog primjera u PQR datoteci izgleda ovako:

```
0          1          2          3          4          5          6          7          8
1234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901234567890
ATOM      95  C   TRP      7          6.859  -4.883  -1.228  0.5973  1.9080
```

Originalna polja PDB datoteke, popunjenost (1.00) i temperaturni faktor (0.00), zamijenjena su poljima sa vrijednostima naboja (0.5973) i radijusa (1.9080).

Ovakav format prikladan je za vršenje elektrostatskih proračuna, te ga koristi i APBS.

2.2. APBS

APBS (Adaptive Poisson-Boltzmann Solver) je program koji služi za numeričko rješavanje Poisson-Boltzmannove jednačbe, jednog od popularnijih kontinuiranih modela za opis elektrostatskih interakcija molekula.

2.2.1. Računanje potencijala

APBS može računati potencijale na površini molekule, rješavanjem Poisson-Boltzmannove jednačbe. U Poisson-Boltzmannovom pristupu biomolekularnoj elektrostatici svi atomi molekule smatraju se česticama s niskom dielektričnom konstantom (u programu razvijenom kao dio ovog rada koristi se vrijednost 2) i s točkastim nabojima na mjestima atoma. Otapalo koje okružuje molekulu modelirano je visokom dielektričnom konstantom (78.54 za vodu) i površinskom napetošću granice između otapala i molekule.

Prvo se promatra homogeni sustav s dielektričnom konstantom ϵ i bez prisutnih naboja. Elektrostatski potencijal ψ opisan je Laplaceovom jednačbom.

$$\vec{\nabla}[\vec{\nabla}\psi(\vec{r})] = 0$$

Kada je prisutna gustoća naboja ρ dobiva se Poissonova jednačba.

$$\epsilon\vec{\nabla}[\vec{\nabla}\psi(\vec{r})] = -4\pi\rho(\vec{r})$$

Da bi se uzeli u obzir polarizacijski naboji koji se razvijaju na granicama dielektrika, koristi se derivacija dielektrične konstante u ovisnosti o prostoru.

$$\vec{\nabla}[\epsilon(\vec{r})\vec{\nabla}\psi(\vec{r})] = -4\pi\rho(\vec{r})$$

U svakom kompleksnom sustavu čestica u interakciji, gustoću čestice (δ) možemo izraziti relativno u odnosu na gustoću iste te čestice u odsustvu interakcija s drugim česticama u sustavu (δ_0).

$$\sigma(\vec{r}) = g(\vec{r})\sigma_0(\vec{r})$$

Omjer stvarne i prosječne gustoće čestice (g) je distribucijska funkcija te čestice. Distribucija se može izraziti i na sljedeći način, pri čemu je w potencijal srednje sile.

$$g(\vec{r}) = e^{[-w(\vec{r})]/kT}$$

Naziv potencijal srednje sile dolazi iz činjenice da gradijent ovog potencijala daje srednju silu koja djeluje na česticu. Ključna pretpostavka da bi se potencijal izrazio jednadžbom jest ta da je ionski potencijal srednje sile jednak prosječnom elektrostatskom potencijalu pomnoženom s nabojem iona. Kada se ova pretpostavka uključi u Poissonovu jednadžbu dobije se Poisson-Boltzmannova jednadžba.

$$\vec{\nabla}[\epsilon(\vec{r})\vec{\nabla}\psi(\vec{r})] = -4\pi\rho^f(\vec{r}) - 4\pi\sum_i c_i^\infty z_i q \exp\left(\frac{-z_i q \psi(\vec{r})}{kT}\right) \lambda(\vec{r})$$

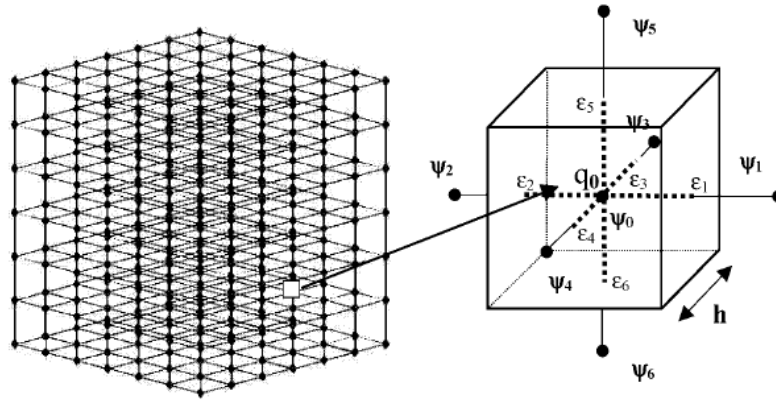
U jednadžbi ρ^f predstavlja naboje molekule, c_i^∞ je koncentracija iona i na beskonačnoj udaljenosti od molekule, z_i njegova valencija, q naboj protona, k Boltzmannova konstanta, T temperatura, a λ opisuje pristupačnost iona.

Ova jednadžba može se linearizirati pod pretpostavkom da je potencijal malen, pa se dobije sljedeća jednadžba.

$$\vec{\nabla}[\epsilon(\vec{r})\vec{\nabla}\psi(\vec{r})] = -4\pi\rho(\vec{r}) + 4\pi\frac{\sum_i c_i^\infty z_i^2 q^2 \psi(\vec{r})}{kT} \lambda(\vec{r})$$

Numerička rješenja Poisson-Boltzmannove jednadžbe ne dobivaju se lako za kompleksne oblike i distribucije naboja [6]. Većina dostupnih programa, uključujući i APBS, koristi metodu diskretizacije molekularnih naboja na

Kartezijevu rešetku, te se onda Poisson-Boltzmannova jednađba rješava u točkama rešetke. Počinje se s velikom rešetkom koja daje grube rezultate, te se zatim rešetka smanjuje i dobivaju se sve točniji rezultati. Za svaku točku rešetke rješava se jednađba prikazana na slici 1.



$$\psi_0 = \frac{\frac{4\pi q_0}{h} + \sum_{i=1}^6 \epsilon_i \psi_i}{\sum_{i=1}^6 \epsilon_i + k_D^2 \epsilon_0 \lambda_0^2 h^2}$$

Slika 1: Shema rešetke korištene za rješavanje Poisson-Boltzmannove jednađbe, te formula za potencijal u svakoj točki rešetke

Važan parametar jednađbe je Debyeova konstanta k_D , koja opisuje eksponencijalno opadanje potencijala u otapalu. Također, kod izgradnje rešetke važno je da je ona dovoljno fine rezolucije da se suprotni naboji (dipoli) ne bi spojili u istu točku.

2.2.2. APBS ulazna datoteka

Za pokretanje APBS-a potrebno je pripremiti PQR datoteku s opisom molekule, ali i ulaznu datoteku s parametrima proračuna.

APBS ulazna datoteka određuje što će se sve i na koji način računati. Ona se generira iz PQR datoteke, a napredne opcije moguće je promijeniti iz razvijenog programa. Primjer APBS ulazne datoteke koja se koristi za

računanje potencijala s opisom naredbi dan je u nastavku. Potencijali se u primjeru računaju dva puta, kada se molekula nalazi u vodi i kada je u vakuumu:

```
read # učitavanje molekule
    mol pqr 1alp.pqr
end
elec # proračun za molekulu u vodi
    mg-manual # mod rada APBS-a
    dime 65 65 33 # dimenzije rešetke
    nlev 4 # dubina računanja
    glen 43.586 33.451 25.662 # duljine rešetke u X, Y i Z
                                smjeru (u angstromima)
    gcent mol 1 # centriranje rešetke na molekulu 1 (1alp.pqr)
    mol 1 # proračun na molekuli 1 (1alp.pqr)
    lpbe # rješavanje linearizirane Poisson-Boltzmannove jednadžbe
    bcfl sdh # rubni uvjeti rješavanja jednadžbe
    pdie 2.0000 # dielektrična konstanta molekule
    sdie 78.54 # dielektrična konstanta otapala (78.54 = voda)
    srfm smol # definicija površine molekule
    chgm spl2 # metoda mapiranja točkastih naboja na rešetku
    sdens 10.00 # broj točaka rešetke po kvadratnom angstromu
    srad 1.40 # radijus molekula otapala
    swin 0.30 # odstupanje od definicije površine
    temp 298.15 # temperatura
    gamma 0.105 # koeficijent površinske napetosti
    calcenergy total # izračun elektrostatske energije
                                molekule
    calcforce no # ne računaju se elektrostatske sile
    write pot dx 1alp_potential1 # računanje potencijala
end
elec # referentni proračun (u vakuumu)
    mg-manual
    dime 65 65 33
    nlev 4
```



```
glen 43.586 33.451 25.662
gcent mol 1
mol 1
lpbe
bcfl sdh
pdie 2.0000
sdie 2.0000
srfm smol
chgm spl2
sdens 10.00
srad 1.40
swin 0.30
temp 298.15
gamma 0.105
calcenergy total
calcforce no
write pot dx lalp_potential2
end
print energy 2 - 1 end # ispis razlike energija u otapalu i
                        vakuumu
quit
```

3. Implementacija programa PotCalc

PotCalc je program koji omogućava računanje elektrostatskog potencijala u zadanim točkama makromolekule. Ulazi u program su PDB datoteka i datoteka s zadanim točkama, a izlazi su standardna APBS izlazna datoteka i datoteka s izračunatim vrijednostima potencijala u zadanim točkama.

Program je razvijen u programskom jeziku Python [7], te radi i pod Linux i pod MS Windows operacijskim sustavima. Za pokretanje programa potrebna je verzija Pythona 2.5 ili viša. Sâm razvoj obavljen je na Ubuntu [8] distribuciji Linuxa. Grafičko sučelje izrađeno je koristeći GTK+ (GIMP Toolkit) biblioteke za Python, PyGTK [9]. Na Windowsima je za korištenje programa potrebno instalirati dotične biblioteke, koje su sadržane u instalacijskoj datoteci programa, dok su u raznim distribucijama Linuxa one uglavnom već prisutne. Instalacijska datoteka za Windowse kreirana je programom NSIS (Nullsoft Scriptable Install System) [10]. Sav softver korišten pri izradi programa je besplatan i otvorenog izvornog kôda.

Za izradu programa iskorišteni su postojeći programi PDB2PQR i APBS, čije su funkcije objašnjene u prethodnim poglavljima. PDB2PQR pisan je u Pythonu, te se koristi kao modul programa PotCalc. APBS je napisan u C-u, a za pristup njemu iz PotCalca koristi se Python *wrapper*, generiran pomoću SWIG-a (Simplified Wrapper and Interface Generator) [11], koji je sastavni dio izvornog kôda APBS-a, te ga je prije upotrebe potrebno prevesti.

PotCalc se jednostavno može nadograditi novijim verzijama dotičnih programa. Nova verzija PDB2PQR-a dodaje se jednostavnim kopiranjem u instalacijsku mapu PotCalca, dok je izvorni kôd APBS-a potrebno prvo prevesti, a onda također kopirati. Za prevođenje na Windows operacijskom sustavu preporuča se MinGW (Minimalist GNU for Windows) [12] paket.

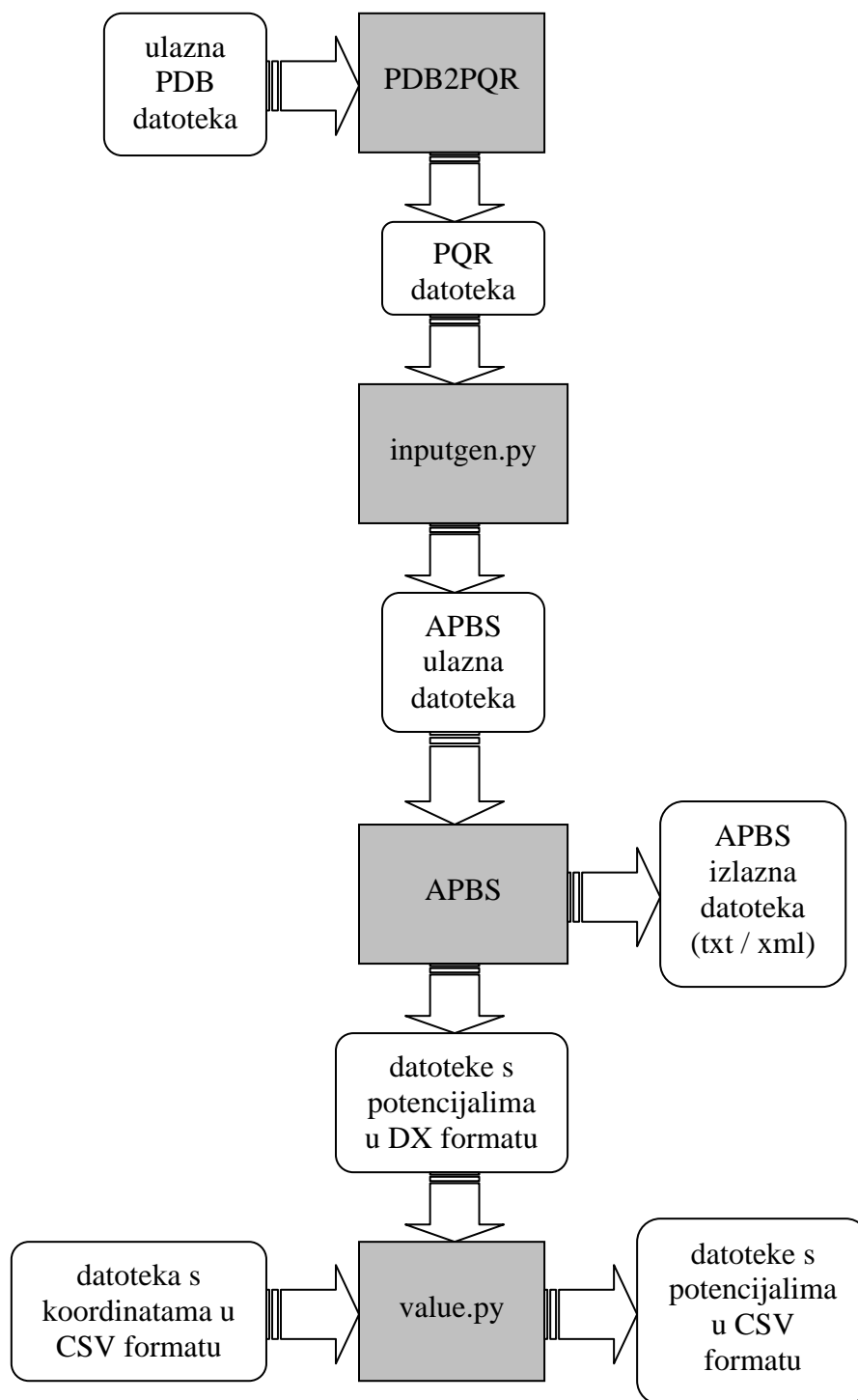
Osim ta dva programa, PotCalc se još sastoji i od skripte za generiranje ulazne datoteke za APBS (`inputgen.py`), te skripte za obradu izlaznih datoteka APBS-a sa izračunatim potencijalima i njihov prikaz u preglednijem CSV formatu (`value.py`). `Inputgen.py` skripta je sastavni dio APBS programskog paketa, no ona ne kreira ulazne datoteke pogodne za izračun potencijala, pa je zato iskorištena samo za generiranje predloška koji se zatim iz programa mijenja zadanim parametrima. `Value.py` skripta je razvijena kao sastavni dio programa, no može se koristiti i zasebno ako imamo već pripremljene datoteke s potencijalima u DX formatu. Nalazi se u `apbs/tools/python/vgrid` mapi, te se može pokrenuti s:

```
python value.py <coords.csv> <pot.dx> <out.csv>
```

pri čemu je `<coords.csv>` ulazna datoteka s koordinatama točaka za koje želimo računati potencijal, `<pot.dx>` datoteka s potencijalima u DX formatu, a `<out.csv>` izlazna datoteka s koordinatama točaka i izračunatim potencijalima.

Svi sastavni dijelovi programa povezani su Python programskim jezikom, te im je dano zajedničko grafičko sučelje koje je razvijeno u alatu za izradu grafičkih sučelja Glade[13]. Sučelje je spremljeno u datoteci `potcalc.glade` u XML formatu, te izgleda identično i na Linux i na Windows operacijskim sustavima.

Povezivanje svih sastavnih dijelova programa, te njihovi ulazi i izlazi, prikazani su grafom na slici 2.



Slika 2: Dijelovi programa PotCalc, te njegovi ulazi i izlazi

4. Korištenje programa PotCalc

PotCalc podržava rad iz grafičkog sučelja, ali i iz naredbene linije. Poziv programa bez argumenata će pokrenuti grafičko sučelje, dok će poziv s dva ili tri argumenta raditi u naredbenoj liniji. Obavezni argumenti su konfiguracijska i PDB datoteka, a opcionalna je datoteka s koordinatama točaka.

Grafičko sučelje pokreće se sljedećim pozivom:

```
python potcalc.py
```

Rad u naredbenoj liniji moguće je pokrenuti na dva načina:

a) Bez računanja potencijala:

```
python potcalc.py config.ini 1a1p.pdb
```

b) S računanjem potencijala:

```
python potcalc.py config.ini 1a1p.pdb coordinats.csv
```

4.1. Naredbena linija

Za rad u naredbenoj liniji program je potrebno pozvati s dva ili tri argumenta. Kao prvi argument potrebno je navesti put do konfiguracijske datoteke, a kao drugi put do ulazne PDB datoteke. Ako želimo računati i potencijale, potrebno je kao treći argument naredbene linije navesti put do CSV datoteke s koordinatama točaka u kojima želimo izračunati potencijal. Sve opcije pri korištenju programa iz naredbene linije zadaju se pomoću konfiguracijske datoteke. S programom je uključena osnovna konfiguracijska datoteka `config.ini` koju korisnik može mijenjati zavisno o potrebama.

Rad u naredbenoj liniji posebno je prikladan za masovnu obradu podataka. Npr. program možemo uzastopno pozivati iz drugog programa ili skripte sa promijenjenom ulaznom PDB datotekom i tako ubrzati obradu podataka. To se može napraviti korištenjem *shell* skripte čiji sadržaj može izgledati ovako:

```
python potcalc.py config.ini 1a1p.pdb coordinats.csv
python potcalc.py config.ini 1c3d.pdb coordinats.csv
python potcalc.py config.ini 1ghq.pdb coordinats.csv
python potcalc.py config.ini 1i3q.pdb coordinats.csv
python potcalc.py config.ini 1i6h.pdb coordinats.csv
```

Ova skripta će sekvencijalno izračunati potencijale za PDB-ove 1a1p, 1c3d, 1ghq, 1i3q i 1i6h sa postavkama iz konfiguracijske datoteke `config.ini`, i to u točkama određenim u datoteci `coordinats.csv`.

4.1.1. Konfiguracijska datoteka

Konfiguracijska datoteka sadrži sve podatke potrebne za rad programa u naredbenoj liniji. Datoteka je u INI formatu, a sastoji se od tri odjeljka koji odgovaraju prozorima u grafičkom sučelju. Odjeljci su "Main", "PDB2PQR" i "APBS".

Popis opcija, mogućih vrijednosti, te odgovarajućih naziva u grafičkom sučelju prikazan je u tablici 9.

Tablica 9: Struktura konfiguracijske datoteke

[Main]	
pqr folder	mapa za spremanje PQR datoteka
calculate potential	0 – ne računaju se potencijali 1 – računaju se potencijali
potential folder	mapa za spremanje datoteka s potencijalom u DX formatu
output folder	mapa za spremanje datoteka s potencijalom u CSV formatu
create apbs output file	0 – ne generira se APBS izlazna datoteka 1 – generira se APBS izlazna datoteka
output format	flat – kreira izlaznu datoteku u TXT formatu xml – kreira izlaznu datoteku u XML formatu
[PDB2PQR]	
force field	amber / charmm / parse / tyl06
debump	0 – ne provodi se <i>debumping</i>

	operacija 1 – provodi se <i>debumping</i> operacija
optimize	0 – ne optimiziraju se vodikove veze 1 – optimiziraju se vodikove veze
assign only	0 – vrše se zadane optimizacije 1 – ne vrše se optimizacije
[APBS]	
method	manual / auto / para / async
solvent	water – voda other – drugo otapalo, mora biti zadan solvent dielectric constant
solvent dielectric constant	broj, dielektrična konstanta otapala
cfac	broj, <i>expand molecular dimensions factor</i>
fadd	broj, <i>molecular dimensions add amount</i>
space	broj, <i>fine mesh resolution</i>
gmemfac	broj, <i>bytes per grid point</i>
gmemceil	broj, <i>max MB for sequential calculation</i>
ofac	broj, <i>overlap factor</i>
redfac	broj, <i>maximum reduction factor</i>
bcfl	zero / sdh / mdh - <i>boundary condition</i>
srfm	mol / smol / spl2 / spl4 - <i>ion-accessibility coefficients</i>
chgm	spl0 / spl2 / spl4 - <i>point charges mapping</i>

Konfiguracijska datoteka može se kreirati iz grafičkog sučelja, ali i ručno. Ako se ručnom izmjenom konfiguracijske datoteke unesu nepravilne vrijednosti, one će biti ignorirane i koristit će se osnovne početne vrijednosti, o čemu će

korisnik biti obaviješten porukom o krivo unesenoj vrijednosti. Redoslijed opcija u konfiguracijskoj datoteci nije bitan.

Primjer konfiguracijske datoteke:

```
[Main]
potential folder = /home/miles
pqr folder = /home/miles
output format = flat
create apbs output file = 1
calculate potential = 1
output folder = /home/miles

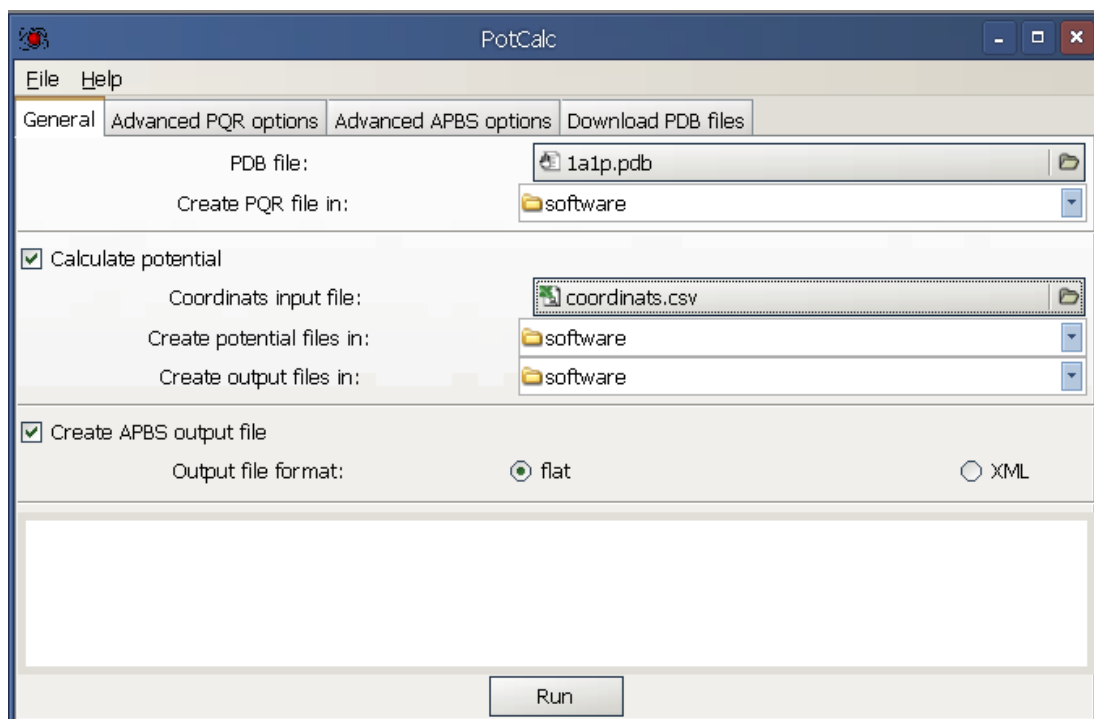
[APBS]
cfac = 1.7
solvent = water
chgm = spl2
space = 0.5
srfm = smol
ofac = 0.1
solvent dielectric constant = 78.54
redfac = 0.25
fadd = 20.0
gmemceil = 400.0
bcfl = sdh
method = manual
gmemfac = 200.0

[PDB2PQR]
force field = amber
debump = 1
assign only = 0
optimize = 1
```

4.2. Grafičko sučelje

Grafičko sučelje PotCalca sastoji se od četiri prozora. To su glavni prozor koji sadrži osnovne opcije, prozor s naprednim opcijama za generiranje PQR datoteka, zatim prozor s naprednim APBS opcijama, te prozor za dohvaćanje PDB datoteka s Interneta.

4.2.1. Glavni prozor



Slika 3: Glavni prozor grafičkog sučelja

Glavni prozor programa (Slika 3) koji prikazuje osnovne opcije sastoji se od sljedećih dijelova:

- a) *PDB file*
Odabir ulazne PDB datoteke.

- b) *Create PQR file in*

Odabir mape u kojoj će se kreirati PQR datoteka (ime datoteke je isto kao i ime PDB datoteke).

c) *Calculate potential*

Opcija računanja potencijala.

d) *Coordinates input file*

Odabir ulazne CSV datoteke s koordinatama točaka za koje želimo računati potencijal.

e) *Create potential files in*

Odabir mape u kojoj će se kreirati datoteke s potencijalima u DX formatu.

f) *Create output files in*

Odabir mape u kojoj će se kreirati CSV datoteke s koordinatama točaka i izračunanim potencijalima u tim točkama.

g) *Create APBS output file*

Opcija kreiranja izlazne APBS datoteke.

h) *Output file format*

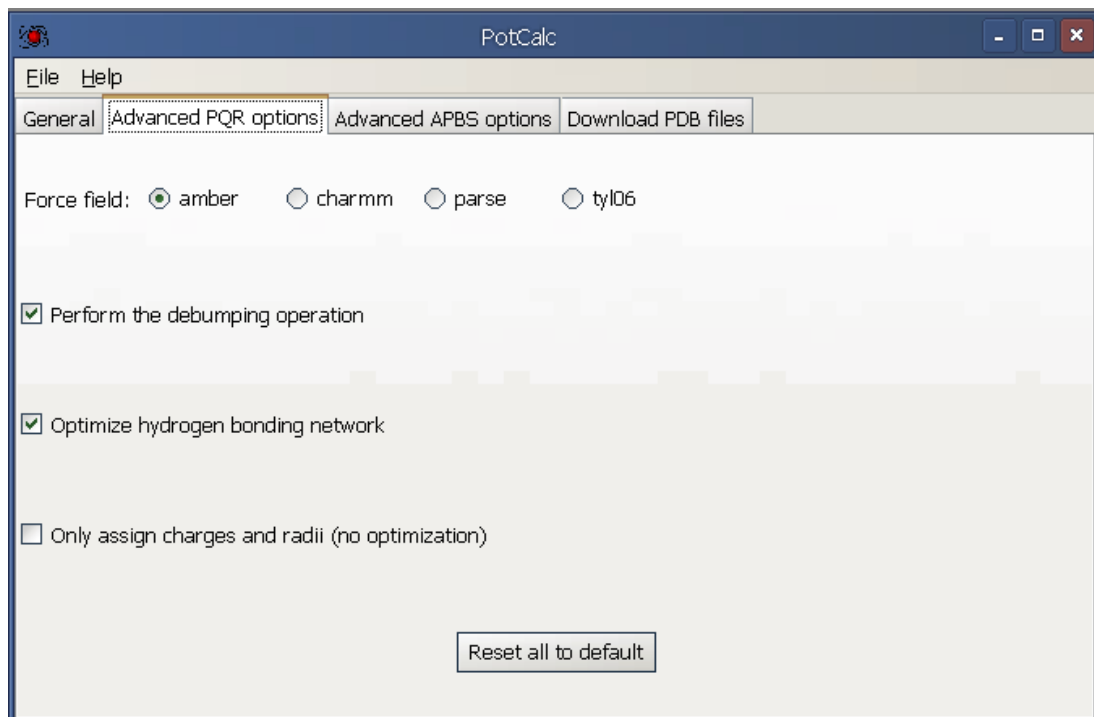
Odabir formata izlazne APBS datoteke (flat ili XML).

i) Polje za ispis događaja (kreirane datoteke i eventualne pogreške).

j) *Run*

Gumb kojim se pokreće izvršavanje programa s odabranim opcijama.

4.2.2. Prozor s naprednim opcijama kreiranja PQR datoteka



Slika 4: Prozor s naprednim opcijama kreiranja PQR datoteka

U prozoru s naprednim opcijama kreiranja PQR datoteke (Slika 4) zadaju se opcije kojima se utječe na kreiranje izlazne PQR datoteke. Ponuđene su sljedeće opcije:

a) *Force field*

Odabir polja koje će se koristiti za izračun naboja i radijusa. Podržana su četiri polja: amber, charmm, parse i tyl06.

b) *Perform the debumping operation*

Ova opcija osigurava da se novi teški ili vodikovi atomi ne dodaju unutar Van der Waalsova radijusa postojećih atoma. Ako se ukaže potreba za ovim, lanac se rotira dok se ne razriješi konflikt.

c) *Optimize hydrogen bonding network*

Ova opcija pokušava optimizirati vodikove veze.

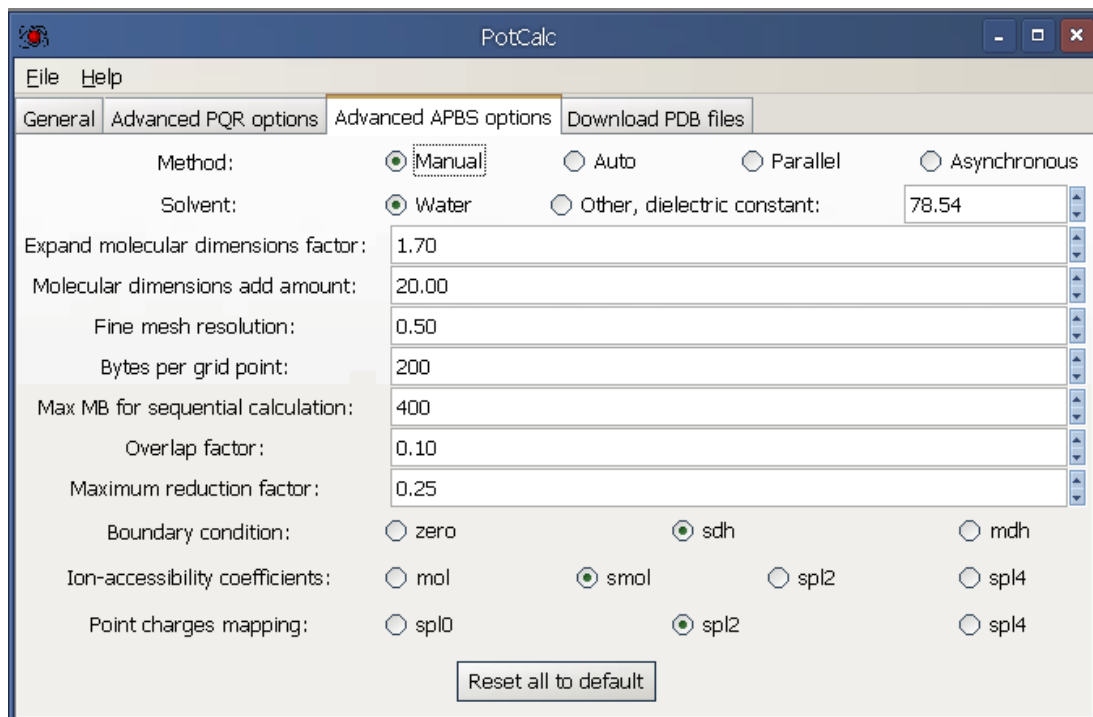
d) *Only assign charges and radii (no optimization)*

Ako je uključena ova opcija, ne vrše se nikakve optimizacije (ni debumping, ni optimiziranje vodikovih veza), nego se samo dodaju podaci o naboju i radijusu.

e) *Reset all to default*

Gumb za vraćanje svih postavki na početne vrijednosti.

4.2.3. Prozor s naprednim APBS opcijama



Slika 5: Prozor s naprednim APBS opcijama

U prozoru koji sadrži napredne APBS funkcije (Slika 5) zadaju se parametri ulazne datoteke za APBS. Na slici 5 prikazane su početne vrijednosti parametara. Moguće je mijenjati sljedeće opcije:

a) *Method*

Metoda korištena za proračun.

Manual – standardni proračun, nudi najveću kontrolu nad parametrima. Ako se žele računati potencijali potrebno je odabrati ovu metodu.

Auto – automatizirana verzija manual metode, dizajnirana za lakše korištenje.

Parallel – za paralelno korištenje na većem broju računala. Koristi MPI (Message Passing Interface) biblioteke.

- b) *Solvent*
Otapalo u kojem se nalazi molekula. Može biti voda ili bilo koje drugo otapalo, a zadaje se upisivanjem dielektrične konstante.
- c) *Expand molecular dimensions factor*
Faktor za koji se uvećavaju dimenzije molekule da bi se dobile grube dimenzije rešetke.
- d) *Molecular dimensions add amount*
Količina koja se dodaje dimenzijama molekule da bi se dobile fine dimenzije rešetke.
- e) *Fine mesh resolution*
Fina rezolucija rešetke.
- f) *Bytes per grid point*
Broj bajtova memorije korištenih za proračun jedne točke rešetke.
- g) *Max MB for sequential calculation*
Maksimalno zauzeće memorije (u megabajtima) dozvoljeno za proračun.
- h) *Overlap factor*
Faktor preklapanja dijelova rešetke.
- i) *Maximum reduction factor*
Maksimalan faktor za koji se dimenzije mogu smanjiti tijekom fokusiranja.
- j) *Boundary condition*

Tip rubnih uvjeta korištenih za rješavanje Poisson-Boltzmannove jednačbe. Ponuđena su tri tipa:

zero – Potencijal na rubu je postavljen na nulu.

sdh – *Single Debye-Hückel* tip rubnih uvjeta. Potencijal na rubu postavlja se na vrijednosti propisane Debye-Hückel modelom sfere.

mdh – *Multiple Debye-Hückel* tip rubnih uvjeta. Potencijal na rubu postavlja se na vrijednosti propisane Debye-Hückel modelom višestrukih sfera s točkastim nabojima.

k) *Ion-accessibility coefficients*

Model korišten za računanje dielektričnih koeficijenata pristupačnosti iona. Ponuđena su četiri modela:

mol – Dielektrični koeficijent baziran je na definiciji površine molekule.

smol – Dielektrični koeficijenti računaju se kao kod *mol* opcije, ali se onda izglađuju harmoničkom funkcijom u devet točaka da bi se smanjila osjetljivost na postavke rešetke.

sp/2 – Dielektrični koeficijenti definirani su površinom kubičnog splajna.

sp/4 – Dielektrični koeficijenti definirani su polinomom sedmog reda.

l) *Point charges mapping*

Metoda mapiranja molekularnih točkastih naboja na rešetku. Ponuđene su tri metode:

sp/0 – Tradicionalna trilinearna interpolacija. Naboj se mapira na najbližeg susjeda na rešetci. Rezultirajući potencijali vrlo su osjetljivi na parametre rešetke.

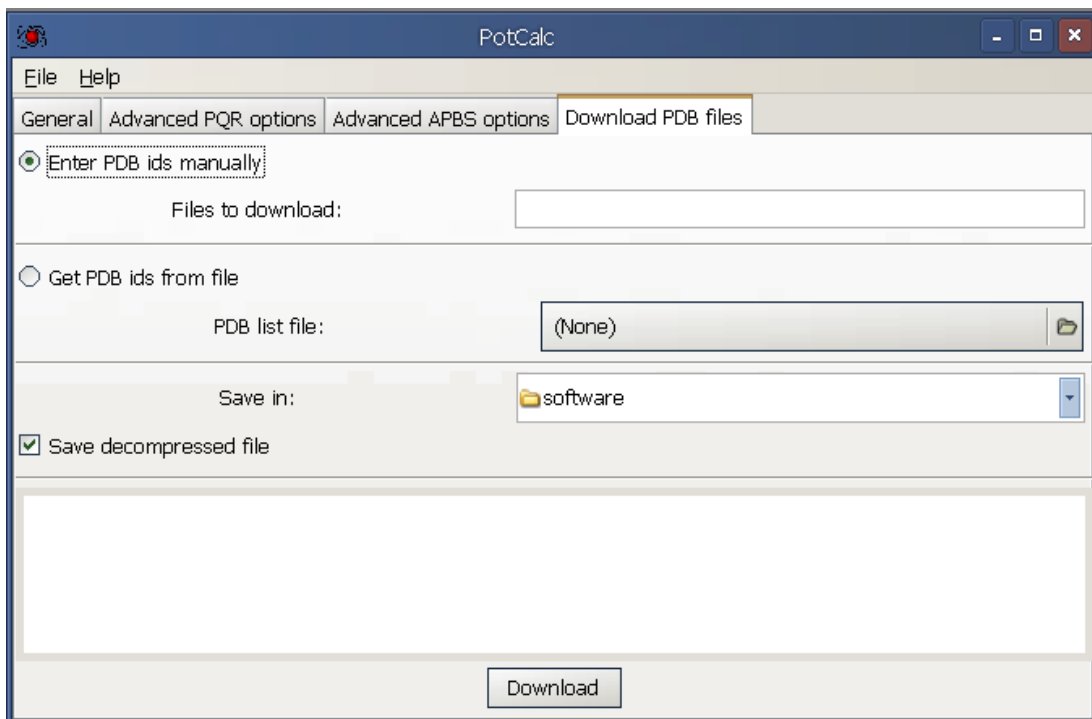
sp/2 – Kubična B-splajn diskretizacija. Naboj se mapira na najbližeg i drugog najbližeg susjeda na rešetci. Rezultirajući potencijali manje su osjetljivi na parametre rešetke od *sp/0* metode.

sp/4 – Kvintna B-splajn diskretizacija. Kao *sp/2*, ali se naboj mapira i na trećeg najbližeg susjeda na rešetci.

f) *Reset all to default*

Gumb za vraćanje svih postavki na početne vrijednosti.

4.2.4. Prozor za dohvaćanje PDB datoteka s Interneta



Slika 6: Prozor za dohvaćanje PDB datoteka s Interneta

Slika 6 prikazuje pomoćni prozor koji omogućava lako dohvaćanje PDB datoteka iz RCSB Protein Data Banka putem FTP protokola.

Datoteke koje želimo skinuti možemo zadati na dva načina:

a) *Enter PDB ids manually*

Upisom identifikacijskih kôdova PDB datoteka odvojenih zarezom u za to predviđeno polje.

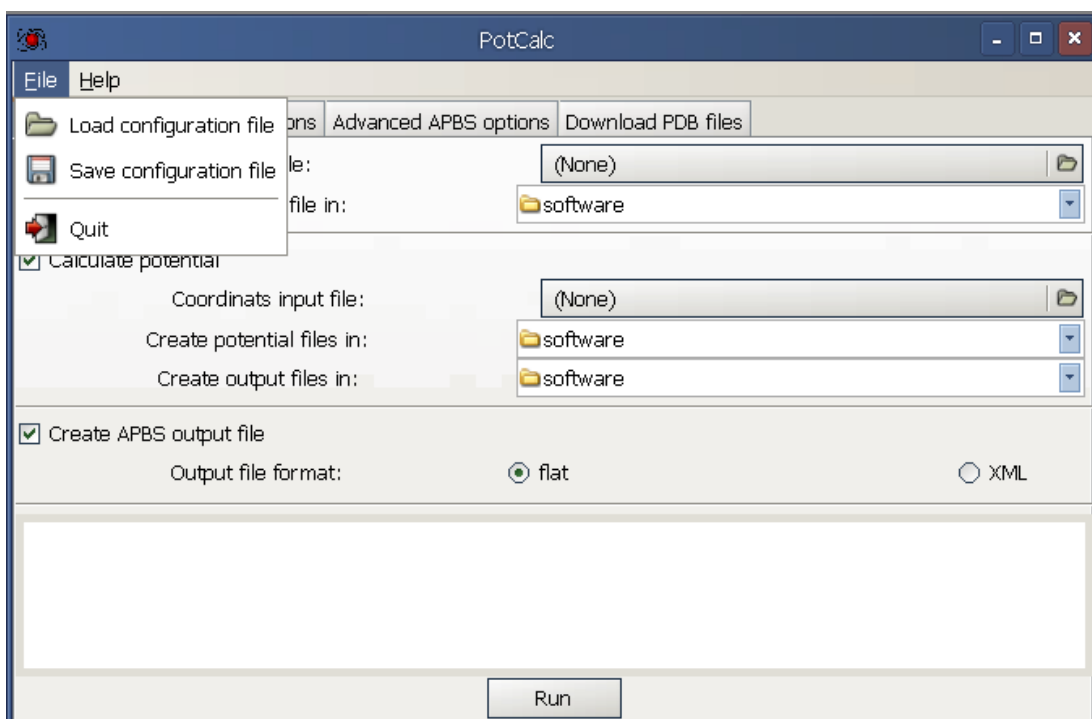
b) *Get PDB ids from file*

Zadavanjem puta do datoteke u kojoj se nalaze identifikacijski kôdovi željenih PDB datoteka, svaki u svom redu.

Prozor osim navedenih sadrži i opciju odabira mape u koju će se spremiti dohvaćene datoteke, te "Save decompressed file" opciju. Ako je uključena

ova opcija program će automatski po dohvaćanju komprimirane datoteke istu otpakirati i sačuvati, dok će se u suprotnom sačuvati komprimirana datoteka. Tu su još i gumb "Download" kojim se pokreće dohvaćanje zadanih datoteka, te područje u kojem se ispisuju informacije o uspješnom dohvaćanju datoteke ili o pogrešci.

4.2.5. Izbornik



Slika 7: Izbornik

U "File" izborniku programa (Slika 7) nalaze se opcije za rad s konfiguracijskom datotekom. Opcija "Load configuration file" postavlja sve opcije programa na one zadane odabranom konfiguracijskom datotekom, dok opcija "Save configuration file" sprema trenutne postavke u odabranu datoteku. Format konfiguracijske datoteke detaljnije je pojašnjen u odjeljku o radu programa u naredbenoj liniji. U izborniku se još nalazi i "Quit" opcija kojom se izlazi iz programa.

5. Rezultati

Rezultati pokretanja programa su APBS izlazna datoteka, te datoteke s potencijalima.

5.1. APBS izlazna datoteka

APBS izlazna datoteka može se kreirati u tekstualnom ili XML formatu. Izlazna XML datoteka za prethodno prikazani primjer ulazne datoteke izgleda ovako:

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<APBS>
  <date>Fri Aug 31 18:24:35 2007</date>
  <elec>
    <type>mg-manual</type>
    <molid>1</molid>
    <nx>65</nx>
    <ny>65</ny>
    <nz>33</nz>
    <pbe>lpbe</pbe>
    <pdie>2.000</pdie>
    <sdie>78.540</sdie>
    <srfm>smol</srfm>
    <srad>1.400</srad>
    <bcfl>sdh</bcfl>
    <temp>298.150 K</temp>
    <calc>
      <id>1</id>
      <hx>0.681 A</hx>
      <hy>0.523 A</hy>
      <hz>0.802 A</hz>
      <xlen>43.586 A</xlen>
      <ylen>33.451 A</ylen>
      <zlen>25.662 A</zlen>
      <totEnergy>6.886740993492E+003 kJ/mol</totEnergy>
    </calc>
  </elec>
  <elec>
    <type>mg-manual</type>
    <molid>1</molid>
    <nx>65</nx>
    <ny>65</ny>
    <nz>33</nz>
```

```

<pbe>lpbe</pbe>
<pdie>2.000</pdie>
<sdie>2.000</sdie>
<srfm>smol</srfm>
<srad>1.400</srad>
<bcfl>sdh</bcfl>
<temp>298.150 K</temp>
<calc>
  <id>2</id>
  <hx>0.681 A</hx>
  <hy>0.523 A</hy>
  <hz>0.802 A</hz>
  <xlen>43.586 A</xlen>
  <ylen>33.451 A</ylen>
  <zlen>25.662 A</zlen>
  <totEnergy>7.453157482764E+003 kJ/mol</totEnergy>
</calc>
</elec>
<printEnergy>
  <equation>2 - 1</equation>
  <localEnergy>5.664164892719E+002 kJ/mol</localEnergy>
  <globalEnergy>5.664164892719E+002 kJ/mol</globalEnergy>
</printEnergy>
</APBS>

```

Izlazna datoteka sadrži podatke iz APBS ulazne datoteke, te u <calc> odjeljcima rezultate proračuna. Izračunate su energije kada se molekula nalazi u vodi, u vakuumu (referentno stanje), te njihova razlika.

5.2. Datoteka s potencijalima

Datoteka s potencijalima je CSV (comma-separated values) datoteka. Za svaki proračun kreiraju se dvije datoteke s potencijalima, za molekulu u vakuumu i u otapalu (vodi ili nekom drugom). Svaki red sastoji se od X, Y i Z koordinata točke, pročitanim iz ulazne datoteke, te izračunatog potencijala. Prvi red sadrži opis polja. Za zadani primjer, datoteka s potencijalima u tri zadane točke kada je molekula u vodi izgleda ovako:

```

X;Y;Z;Potential
5.0;6.0;7.0;10.6533439145
5.5;6.5;7.5;8.84318009817
10.0;10.0;10.0;1.84033411618

```

5.3. Rezultati bez korištenja programa PotCalc

Rezultate je osim korištenjem programa PotCalc moguće dobiti i slijednim pokretanjem PDB2PQR-a, skripte za generiranje APBS ulazne datoteke, APBS-a, te programa za izračun potencijala. Ta četiri koraka bila su potrebna da bi se dobili rezultati prije nego što je razvijen PotCalc. Prvo je potrebno dohvatiti PDB datoteku s RCSB servera i pozvati PDB2PQR da bi se generirala PQR datoteka. Poziv odgovarajući onom korištenom u PotCalcu je sljedeći:

```
python pdb2pqr.py --ff=amber 1alp.pdb 1alp.pqr
```

Nakon generiranja PQR datoteke, potrebno je generirati i APBS ulaznu datoteku. Za to može poslužiti `inputgen.py` skripta koja dolazi s APBS-om i nalazi se u mapi `apbs/tools/manip`. Odgovarajući poziv je:

```
python inputgen.py --METHOD=manual 1alp.pqr
```

Međutim, korištenjem ove skripte ne može se utjecati na sve parametre potrebne za računanje potencijala, tako da se datoteka nakon izvršenja skripte mora još i ručno urediti. Minimalna preinaka je dodavanje naredbe za računanje i ispis potencijala:

```
write pot dx 1alp_potential1
```

Zatim je potrebno pokrenuti APBS s tako kreiranom ulaznom datotekom, te ga konfigurirati da daje izlaz u XML formatu:

```
apbs --output-format=xml --output-file=1alp.xml 1alp.in
```

Takvim pokretanjem dobije se sljedeća izlazna datoteka:

```

<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<APBS>
  <date>Sun Sep 02 18:09:08 2007</date>
  <elec>
    <type>mg-manual</type>
    <molid>1</molid>
    <nx>65</nx>
    <ny>65</ny>
    <nz>33</nz>
    <pbe>lpbe</pbe>
    <pdie>2.000</pdie>
    <sdie>78.540</sdie>
    <srfm>smol</srfm>
    <srad>1.400</srad>
    <bcfl>sdh</bcfl>
    <temp>298.150 K</temp>
    <calc>
      <id>1</id>
      <hx>0.681 A</hx>
      <hy>0.523 A</hy>
      <hz>0.802 A</hz>
      <xlen>43.586 A</xlen>
      <ylen>33.451 A</ylen>
      <zlen>25.662 A</zlen>
      <totEnergy>6.886740993492E+003 kJ/mol</totEnergy>
    </calc>
  </elec>
  <elec>
    <type>mg-manual</type>
    <molid>1</molid>
    <nx>65</nx>
    <ny>65</ny>
    <nz>33</nz>
    <pbe>lpbe</pbe>
    <pdie>2.000</pdie>
    <sdie>2.000</sdie>
    <srfm>smol</srfm>
    <srad>1.400</srad>
    <bcfl>sdh</bcfl>
    <temp>298.150 K</temp>
    <calc>
      <id>2</id>
      <hx>0.681 A</hx>
      <hy>0.523 A</hy>
      <hz>0.802 A</hz>
      <xlen>43.586 A</xlen>
      <ylen>33.451 A</ylen>
      <zlen>25.662 A</zlen>
      <totEnergy>7.453157482764E+003 kJ/mol</totEnergy>
    </calc>
  </elec>
  <printEnergy>
    <equation>2 - 1</equation>
    <localEnergy>5.664164892719E+002 kJ/mol</localEnergy>
    <globalEnergy>5.664164892719E+002 kJ/mol</globalEnergy>
  </printEnergy>
</APBS>

```

Dobivena datoteka identična je onoj dobivenoj PotCalcom, osim naravno <date> polja u kojem je zapisano vrijeme pokretanja programa.

Osim izlazne datoteke, kreiraju se i datoteke s potencijalima u DX formatu. U tim datotekama nalaze se izračunati potencijali za sve točke rešetke, te je iz njih potrebno izvući potencijale za zadane točke. Za postizanje toga bez korištenja programa PotCalc može poslužiti program `value` koji dolazi s APBS-om i nalazi se u `apbs/tools/mesh` mapi. Međutim, taj program ne podržava učitavanje točaka iz datoteke nego se one zadaju kao parametri naredbene linije, te ga je zbog toga potrebno uzastopno pozivati za svaku zadanu točku. Za zadane tri točke iz primjera, potrebni su sljedeći pozivi:

```
value 5 6 7 1alp_potential2.dx  
value 5.5 6.5 7.5 1alp_potential2.dx  
value 10 10 10 1alp_potential2.dx
```

Rezultati koje daje taj slijed poziva su sljedeći:

```
Value = 1.065334391448E+001 kT/e  
Value = 8.843180098165E+000 kT/e  
Value = 1.840334116181E+000 kT/e
```

Usporedbom s rezultatima dobivenim PotCalcom vidi se da su i izračunati potencijali i generirane izlazne APBS datoteke identični kao kod ručnog pozivanja svih komponenti programa, te je time pokazana točnost proračuna PotCalca.

6. Diskusija

Izgrađeni program bitno pojednostavljuje i ubrzava postupak računanja elektrostatskog potencijala u zadanim točkama molekule. Svi potrebni koraci, od dohvaćanja PDB datoteke s Interneta, preko generiranja PQR datoteke, do računanja potencijala pomoću APBS-a, sada se mogu napraviti iz jednog programa. Osim iz naredbene linije, koja je posebno pogodna za izvršavanje velikog broja proračuna odjednom, to je moguće napraviti i iz grafičkog sučelja, što nije bilo moguće ni u jednom dosadašnjem programu te namjene.

Dobiveni rezultati su očekivani i identični onima dobivenim prijašnjom metodom računanja. Format ispisanih rezultata je standardiziran i omogućuje laku upotrebu iz drugih programa.

Računanje potencijala bi se još moglo ubrzati paralelizacijom na višeprosorskim sustavima. Paralelizacija je teoretski moguća ovim programom, no ona nije testirana jer nije bila u okviru ovog rada.

7. Sažetak

Kako elektrostatski potencijal ima značajnu ulogu pri vezanju bioloških makromolekula, često se javlja potreba za njegovim računanjem. Za vezanja makromolekula važne su točke na površini makromolekula, te je zato potrebno imati program koji računa potencijal u zadanim točkama. Programi koji to rade postoje, ali su nepraktični u korištenju, jer nijedan nema mogućnost samostalnog obavljanja čitavog proračuna, pa je potrebno slijedno pozvati nekoliko programa da bi se dobili konačni rezultati.

U sklopu ovog diplomskog rada razvijen je program PotCalc, koji može samostalno obaviti čitav postupak računanja elektrostatskog potencijala u zadanim točkama makromolekule. Točnost proračuna ispitana je usporedbom s dosadašnjom metodom, te je pokazano da su rezultati identični. Program omogućuje rad iz grafičkog sučelja ili naredbene linije, te lako spremanje svih opcija u konfiguracijsku datoteku čime se omogućuje obrada više makromolekula s istim parametrima proračuna. Također, naredbeno-linijsko sučelje pogodno je i za masovnu obradu podataka.

8. Zaključak

U ovom radu razvijen je program za računanje elektrostatskog potencijala na površini makromolekula opisan u diplomskom zadatku. Na praktičnom primjeru pokazani su primjena i rezultati programa.

Rezultati izvođenja programa uspoređeni su s rezultatima dobivenima metodom koja se koristila prije njegovog postojanja, te je pokazano da su rezultati identični, čime je pokazana točnost izračuna. Budući da se prijašnja metoda sastojala od četiri koraka, koja su zahtijevala slijedno pokretanje različitih programa, ali i ručno uređivanje datoteka, razvijeni program bitno ubrzava i olakšava rad, te smanjuje mogućnost pogreške korisnika. Također, naredbeno-linijsko sučelje programa omogućava masovnu obradu podataka pozivanjem iz skripte s različitim ulaznim datotekama, čime bi se trebala povećati učinkovitost istraživanja vezanja makromolekula.

9. Literatura

[1] PDB2PQR: An automated pipeline for the setup, execution, and analysis of Poisson-Boltzmann electrostatics calculations, 2007, <http://pdb2pqr.sourceforge.net/>

[2] Dolinsky TJ, Nielsen JE, McCammon JA, Baker NA. PDB2PQR: an automated pipeline for the setup, execution, and analysis of Poisson-Boltzmann electrostatics calculations. *Nucleic Acids Research*, 32, W665-W667, 2004, http://nar.oupjournals.org/cgi/content/abstract/32/suppl_2/W665

[3] APBS: Adaptive Poisson-Boltzmann Solver, 2007, <http://apbs.sourceforge.net/>

[4] Baker NA, Sept D, Joseph S, Holst MJ, McCammon JA. Electrostatics of nanosystems: application to microtubules and the ribosome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 10037-10041, 2001, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.181342398>

[5] RCSB Protein Data Bank, 2007, <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>

[6] F. Fogolari, A. Brigo, H. Molinari: The Poisson-Boltzmann equation for biomolecularelectrostatics: a tool for structural biology, *J. Mol. Recognit.* 2002; 15: 377-392

[7] Python, 1990-2007, <http://www.python.org/>

[8] Canonical Ltd. Ubuntu, 2007, <http://www.ubuntu.com/>

[9] PyGTK: GTK+ for Python, 2004-2006, <http://www.pygtk.org/>

[10] NSIS: Nullsoft Scriptable Install System, 2006, <http://nsis.sourceforge.net/>

[11] SWIG: Simplified Wrapper and Interface Generator, 2000-2007, <http://www.swig.org/>

[12] MinGW: Minimalist GNU for Windows, 2007, <http://www.mingw.org/>

[13] Glade: A User Interface Designer for GTK+ and GNOME, 2007, <http://glade.gnome.org/>

10. Dodatak A: Sadržaj pratećeg CD ROM medija

Na pratećem mediju nalaze se instalacijske datoteke razvijenog programa, a priložen je i ovaj rad u PDF formatu.

Tablica 10: Sadržaj pratećeg CD ROM medija

Mapa / datoteka	Opis
doc	Mapa s dokumentacijom.
... diplomski.pdf	Diplomski rad u PDF formatu.
install	Mapa s instalacijskim datotekama programa PotCalc.
... linux	Mapa s instalacijskom datotekom za Linux operativne sustave.
..... potcalc.tar.gz	Komprimirana datoteka verzije PotCalca za Linux.
... windows	Mapa s instalacijskim datotekama za Windows operativne sustave.
..... potcalc.exe	Instalacijska datoteka PotCalca. Ne uključuje dodatne biblioteke.
..... potcalc-full.exe	Instalacijska datoteka PotCalca. Uključuje sve dodatne biblioteke potrebne za rad programa.
..... pygtk-setup.exe	Instalacijska datoteka dodatnih biblioteka potrebnih za rad programa (Python, GTK+, PyGTK, PyGObject, Pycairo)