



FOLDIT: ENSINANDO OS PRINCÍPIOS DE ALINHAMENTO ESTRUTURAL DE PROTEÍNAS POR MEIO DE UM JOGO

FOLDIT: TEACHING THE PRINCIPLES OF PROTEIN STRUCTURAL ALIGNMENT THROUGH A GAME

Renato Massaharu Hassunuma  

Universidade Paulista (UNIP)

✉ renato.hassunuma@docente.unip.br

Wilson Massashiro Yonezawa  

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP)

✉ wilson.yonezawa@unesp.br

RESUMO: O alinhamento estrutural de uma proteína permite estimar seu enovelamento e, conseqüentemente, sua estrutura tridimensional, utilizando uma proteína nativa cuja sequência de aminoácidos e conformação tridimensional sejam conhecidas. A determinação da estrutura de uma proteína é essencial para compreender a sua função. Por meio do alinhamento estrutural e da comparação da sequência primária das proteínas, é possível analisar sua homologia e mudanças no processo evolutivo de diferentes organismos. O objetivo principal deste estudo é demonstrar a utilização dos quebra-cabeças do modo educacional do Foldit® na forma de ferramenta de ensino de alinhamento estrutural de proteínas. Foram resolvidos, traduzidos e analisados os 39 quebra-cabeças do modo educacional do jogo Foldit®, sendo selecionados os desafios melhor associados ao alinhamento estrutural. Foram selecionados dois quebra-cabeças do nível 7, intitulados “posicionamento básico” e “alinhando sequências”, os quais foram propostos na qualidade de estratégia pedagógica no ensino de alinhamento estrutural. Os desafios selecionados são uma interessante ferramenta no ensino de alinhamento estrutural de proteínas, uma vez que ocorrem em um ambiente de jogo. Esse fato também facilita a compreensão do aluno, uma vez que a pontuação do jogo serve de *feedback* para que o aluno acompanhe seu desempenho durante a realização do alinhamento da proteína problema. Vale ressaltar ainda que, devido ao fato do Foldit® ser um jogo, o aluno pode repetir a atividade quantas vezes desejar e os quebra-cabeças também podem ser utilizados como atividade para que o aluno possa exercitar e fixar os conhecimentos apresentados no jogo.

PALAVRAS-CHAVE: Jogos educacionais. Dobramento de proteínas. Alinhamento de sequência.

ABSTRACT: The structural alignment of a protein allows estimating its folding and, consequently, its three-dimensional structure, using a native protein whose amino acid sequence and three-dimensional conformation are known. Determining the structure of a protein is essential to understanding its function. Through structural alignment and comparison of the primary sequence of proteins, it is possible to analyse their homology and changes in the evolutionary process of different organisms. The main objective of this study is to demonstrate the use of Foldit® educational mode puzzles as a tool for teaching protein structural alignment. The 39 puzzles of the educational mode of the Foldit® game were solved, translated and analysed, and the challenges best associated with structural alignment were selected. Two level 7 puzzles were selected, entitled “basic positioning” and “aligning sequences”, which were proposed as a pedagogical strategy in teaching structural alignment. The selected challenges are an interesting tool in teaching protein structural alignment, since they occur in a game environment. This fact also facilitates the student's understanding, since the game's score serves as feedback for the student to monitor his performance while performing the alignment of the problem protein. It is also worth mentioning that, due to the fact that Foldit® is a game, the student can repeat the activity as many times as he wants and the puzzles can also be used as an activity so that the student can exercise and fix the knowledge presented in the game.

KEY WORDS: Educational games. Protein folding. Sequence alignment.

Introdução

As proteínas são macromoléculas presentes nos seres vivos capazes de, espontaneamente, se enovelar, formando estruturas tridimensionalmente complexas, que desempenham um papel crítico em suas funções (Rodrigues & Schmidler, 2014).

O termo alinhamento estrutural se refere à determinação da conformação de uma proteína problema baseada em outra estruturalmente semelhante, cuja estrutura tridimensional seja conhecida. Assim, de forma resumida, o alinhamento estrutural tem por objetivos determinar se duas proteínas compartilham do mesmo dobramento e avaliar as similaridades e diferenças estruturais a partir da análise de suas sequências primárias (Szustakowski & Weng, 2000).

O alinhamento estrutural de proteínas está entre os recursos mais importantes na determinação da homologia entre essas biomoléculas, a fim de determinar a semelhança entre proteínas em relação à sua estrutura primária, ou seja, a comparação da sequência de resíduos de aminoácidos das proteínas e suas estruturas secundária e terciária, ou a comparação de suas conformações tridimensionais (Rodrigues & Schmidler, 2014).

O estudo da semelhança estrutural entre proteínas permite avaliar essas biomoléculas no contexto evolutivo, auxiliando a elucidar as relações evolutivas entre diferentes organismos. Proteínas homólogas de espécies diferentes podem ter origem de uma evolução divergente quando estão presentes em seres vivos que têm um mesmo ancestral em comum; ou por evolução convergente, quando proteínas apresentam homologia por serem de linhagens diferentes que chegaram independentemente a uma mesma estrutura devido ao número limitado de formas energeticamente favoráveis (Cheng *et al.*, 2008).

A comparação da estrutura primária de proteínas, isto é, de suas sequências de resíduos de aminoácidos pode ser útil quando se analisam biomoléculas de organismos cujas distâncias evolutivas sejam mais curtas. Na comparação de proteínas de organismos evolutivamente distantes, a conservação da sequência pode ser reduzida, dificultando o estabelecimento de relações. Entretanto, curiosamente, em termos de escala evolutiva, a estrutura de uma proteína é mais fortemente conservada do que a sua própria sequência de aminoácidos. Isso ocorre porque a função de uma proteína é determinada principalmente pela sua estrutura tridimensional. Assim, uma mutação, que altere sua composição significativamente, pode ocorrer sem que a sua função seja alterada (Rodrigues & Schmidler, 2014).

Referencial Teórico

Jogos no Ensino de Química e o Foldit®

Há vários autores que tentam explicar o que são jogos e, por isso, há uma grande dificuldade de conceituá-los (Kishimoto, 1995), especialmente devido à grande polissemia que existe no Brasil, no que se refere ao vocábulo “jogo”, em que palavras como brincadeira e brinquedo muitas vezes são consideradas sinônimas, embora tenham significados distintos (Rezende & Soares, 2019). Segundo Scott Rogers (2012), podemos considerar um jogo uma atividade que requeira no mínimo um jogador, que tenha regras e condição de vitória. De acordo com Oliveira e Soares (2005), o jogo, de forma resumida, pode ser considerado qualquer atividade lúdica competitiva ou não, que, dependendo do objetivo, promova a brincadeira.

Quando um jogo é considerado educativo, além de apresentar uma função lúdica que proporciona diversão ao jogador, deve ter uma função educativa, trazendo conhecimento ao indivíduo (Kishimoto, 1995).

Na área de Química, tem se observado, nas últimas décadas, um aumento na utilização de jogos e atividades lúdicas com a proposta de ensino (Rezende & Soares, 2019; Soares, 2008; Soares,

2016), embora o desenvolvimento de novos jogos seja feito por um número consideravelmente pequeno de grupos de pesquisadores no Brasil (Soares, 2016).

Este estudo propõe a utilização de quebra-cabeças do modo educacional do jogo Foldit® como ferramenta de ensino de alinhamento estrutural de proteínas. O modo educacional consiste em um tutorial de 39 desafios, organizados em 11 níveis. Em cada quebra-cabeça, o jogador aprende a utilizar recursos do jogo e obtém informações científicas sobre diferentes proteínas.

De acordo com a classificação dos jogos educacionais formais, proposta por Cleophas, Cavalvanti e Soares (2018), podemos considerar que o modo educacional do Foldit® seja um jogo pedagógico, uma vez que foi desenvolvido para auxiliar professores durante a pandemia, causada pelo vírus SARS-CoV-2, enquanto o modo campanha é um jogo didático, pois pode ser adaptado para o ensino de Bioquímica. Mas ambos os modos podem ser utilizados para complementar, rever, promover, fomentar, motivar e avaliar o conhecimento durante o processo de ensino-aprendizagem.

Vários fatores podem levar professores a utilizar o Foldit® em sala de aula como recurso didático, além de: o jogo ser gratuito e disponibilizado na internet; poder ser utilizado na maior parte dos computadores; não requerer muito conhecimento sobre bioquímica, bioinformática ou computação. O fato de, no Foldit®, o ensino ocorrer em um ambiente de jogo é a principal (mas não única) motivação para os professores utilizarem os quebra-cabeças em sala de aula (Dsilva et al., 2019).

Há outros fatores que também podem levar professores a utilizar jogos no ensino de Química, pois eles melhoram a relação entre os alunos e os professores, favorecem o diálogo entre eles durante o processo ensino e aprendizagem e, conseqüentemente, melhoram o aprendizado dos alunos (Miranda & Soares, 2020), além de favorecer que os alunos deixem de ter um comportamento passivo no processo de aprendizagem e assumam um comportamento mais ativo na busca de conhecimento (Oliveira, Soares & Vaz, 2015).

Softwares de Alinhamento de Proteínas

Com a evolução genômica, o alinhamento estrutural de proteínas se tornou uma importante ferramenta de pesquisa biológica. Por meio dele, é possível compreender melhor a homologia e as relações funcionais e evolutivas, além de estabelecer classificações estruturais e funcionais de diferentes proteínas (Pirovano *et al.*, 2008).

Os recursos de comparação de estrutura de proteínas também são importantes para investigar a presença de motivos estruturais (Szustakowski *et al.*, 2005), os quais são formados a partir da combinação de alfa-hélices e fitas beta, gerando estruturas supersecundárias. Dessa forma, proteínas que apresentem sequências homólogas também podem apresentar o mesmo motivo estrutural. Os motivos estão relacionados ao enovelamento das proteínas, porém, não estão diretamente relacionados à sua função, uma vez que proteínas com motivos iguais podem ter funções diferentes (Campbell & Farrell, 2011; Hassunuma & Souza, 2016).

Atualmente, há diversos programas computacionais baseados em diferentes algoritmos desenvolvidos que podem ser utilizados para o alinhamento estrutural de proteínas, como o CE (*Combinatorial Extension*) (Shindyalov & Bourne, 1998); COMPARE (Sali & Blundell, 1990); Dali (*Distance matrix alignment*) (Holm, 2020; Holm & Sander, 1993); DaliLite (Holm & Park, 2000); DBali (Martí-Renom *et al.*, 2001); FAST (Zhu & Weng, 2005); KENOBI (Szustakowski & Weng, 2000); MAMMOTH (MAtching Molecular Models Obtained from THEory) (Ortiz *et al.*, 2002); MUSTANG (MUltiple STructural AligNment AlGorithm) (Konagurthu *et al.*, 2006); ProSup (Lackner *et al.*, 2000); SABERTOOTH (Teichert *et al.*, 2007); SSAP (*Sequential Structure Alignment Program*) (Orengo & Taylor, 1996; Taylor & Orengo, 1989); SSM (*Secondary-Structure Matching*) (Krissinel

& Henrick, 2004); TetraDA (Roach *et al.*, 2005); TM-Align (Zhang & Skolnick, 2005); TOPOFIT (Ilyin *et al.*, 2004); VAST (*Vector Alignment Search Tool*) (Gibrat *et al.*, 1996), entre outros.

Alguns *softwares* como o CE-MC (*Combinatorial Extension and Monte Carlo*) (Guda *et al.*, 2004), MASS (*Multiple Alignment by Secondary Structures*) (Dror *et al.*, 2003) e MAMMOTH-Multi (MATCHing Molecular Models Obtained from Theory - Multi) (Lupyan *et al.*, 2005) têm o diferencial de realizar o alinhamento estrutural de várias proteínas simultaneamente (diferentemente dos programas computacionais mencionados anteriormente, que geralmente alinham apenas um par de proteínas).

Outros programas computacionais de alinhamento estrutural utilizam algoritmos que fazem análises diferentes dos demais. O MASS (*Multiple Alignment by Secondary Structures*), já mencionado anteriormente, também é capaz de localizar motivos estruturais em comum nas biomoléculas analisadas (Dror *et al.*, 2003). O PocketMatch utiliza um algoritmo desenvolvido especialmente para comparar a estrutura de sítios ativos de proteínas (Yeturu & Chandra, 2008).

Dentre todos os *softwares* de alinhamento estrutural de proteínas, destaca-se o Foldit® (<https://fold.it/>) pelo fato de as análises ocorrerem em um ambiente de jogo. Esse jogo é constituído por uma série de quebra-cabeças científicos, em que o jogador compete com outros no intuito de determinar a melhor conformação de uma proteína de estrutura tridimensional desconhecida. O jogo funciona em várias plataformas para computadores, sendo disponível para os sistemas operacionais Windows 7, 8 e 10, OSX 10, 12 ou posterior e Linux 64-bit. Foi lançado ao público em 2008, a partir da colaboração de um grupo de bioquímicos e desenvolvedores da *University of Washington Center for Game Science, University of Washington Institute for Protein Design, Northeastern University, Vanderbilt University, University of California, Davis, University of Massachusetts, Dartmouth e University of Denver*.

No Foldit®, jogadores de todo o mundo podem contribuir na determinação da estrutura de proteínas por meio do alinhamento estrutural dessas nos quebra-cabeças científicos disponibilizados no *site*. Vale ressaltar que, normalmente, o cálculo preciso dos alinhamentos estruturais das proteínas demanda um tempo computacional muito longo, em parte devido à complexidade de suas estruturas (Teichert *et al.*, 2007).

Assim, quando um jogador resolve um quebra-cabeça científico, ele está colaborando com pesquisadores na descoberta da estrutura tridimensional de uma determinada proteína. Dessa forma, neste estudo, propõe-se que os quebra-cabeças do modo educacional do Foldit® sejam usados no ensino do alinhamento estrutural de proteínas.

Percurso Metodológico

Essa pesquisa foi realizada entre julho e agosto de 2022, sendo analisados 39 quebra-cabeças, organizados em 11 níveis, do modo educacional do jogo Foldit®, sendo selecionados e analisados aqueles que poderiam ser utilizados como ferramenta didática para a aprendizagem de alinhamento estrutural de proteínas no ensino superior.

O Foldit® foi obtido gratuitamente no endereço eletrônico: <https://fold.it/>, sendo disponível para os sistemas operacionais Windows 7, 8 e 10, OSX 10, 12 ou posterior e Linux 64-bit. Após realizar o *download*, o arquivo “.exe” foi instalado seguindo as instruções. Vale ressaltar que, ao utilizar o jogo em aulas práticas em laboratórios de informática, o professor ou um técnico de informática pode realizar a instalação prévia do *software*, ou pode instruir seus alunos a realizarem a instalação, oportunizando a utilização do equipamento.

O jogo é aberto clicando duas vezes no ícone disponibilizado na área de trabalho do computador. Caso o jogador não queira criar uma conta, no acesso ao programa, pode ser selecionada a versão *Jogar offline (Play Offline)*. Com menu principal aberto, é possível encontrar os modos campanha (*Campaign*), educacional (*Education*) e os quebra-cabeças científicos (*Science puzzles*). Os

quebra-cabeças do modo educacional foram escolhidos devido ao fato de terem sido desenvolvidos com propósito pedagógico durante a pandemia, causada pelo vírus SARS-CoV-2, para auxiliar professores no período de ensino a distância emergencial (Miller *et al.*, 2020). Além disso, nesse modo, o professor pode escolher com quais quebra-cabeças deseja trabalhar em sala de aula, diferentemente do modo campanha, em que os desafios devem ser resolvidos na ordem proposta.

Na análise dos quebra-cabeças, observou-se que cada desafio apresenta janelas de texto que auxiliam o jogador na maneira de utilizar as ferramentas do jogo, a obter conhecimento relativo aos assuntos tratados em cada quebra-cabeça (por exemplo, o conceito de alfa-hélice, folhas beta, entre outros) e dicas para resolver o desafio proposto. Assim, foram analisados os 39 quebra-cabeças do modo educacional do Foldit® e os desafios selecionados tiveram suas janelas de texto traduzidas. Como critério de seleção, foram escolhidos apenas aqueles que apresentassem conteúdo relacionado ao alinhamento estrutural de proteínas.

Resultados e Discussão

Após a resolução e a análise dos 39 quebra-cabeças do modo educacional do Foldit®, observou-se que o alinhamento estrutural das proteínas é realizado por meio da ferramenta de alinhamento (*alignment tool*), o qual é apresentado pela primeira vez no quebra-cabeça intitulado “posicionamento básico” (*basic threading*) (Figura 1), que corresponde ao quarto desafio do nível 7: “da estrutura primária à terciária” (*level 7: from primary to tertiary structure*).

Nesse desafio, apresenta-se uma proteína hipotética cujo enovelamento está incorreto (I) no modo *Cartoons*, onde as alfa-hélices são representadas por espirais, as fitas beta por tiras e o restante da proteína na forma de cordão.

Para solucionar esse quebra-cabeça, o jogador deve determinar sua estrutura utilizando por modelo uma proteína nativa cujas estruturas primárias (ou seja, a sequência de resíduos de aminoácidos que compõem a proteína), secundária e terciária (ou seja, a conformação espacial da molécula) já são conhecidas. Esse desafio utiliza o alinhamento estrutural de proteínas como solução para o quebra-cabeça.

Para realizar alinhamento estrutural das proteínas, o jogador deve clicar no botão indicado pelo número II na Figura 1. Esse botão habilitará a ferramenta de alinhamento, a qual exibirá a proteína nativa (III) representada no modelo de bolas e varetas com os carbonos alfa representados em diferentes cores, sendo que cada esfera representa um carbono alfa de um determinado resíduo de aminoácido.

A ferramenta de alinhamento também habilitará o painel de alinhamento (*alignment panel*) (IV), o qual exibe a sequência de resíduos de aminoácidos da proteína problema (V) e da proteína nativa (VI). Observa-se que, nesse painel, os resíduos de aminoácidos estão representados pela abreviatura de uma letra e cada resíduo está colorido em uma cor diferente. Percebe-se, também que, na proteína nativa, a cor do aminoácido no painel de alinhamento é a mesma cor que o carbono alfa está representado na molécula.

Nessa primeira atividade, o professor pode apresentar a ferramenta de alinhamento aos alunos e explicar o que é o alinhamento estrutural de proteínas. Observa-se que o painel de alinhamento apresenta os resíduos de aminoácidos de forma numerada, sendo que a proteína problema apresenta 38 resíduos de aminoácidos (V), enquanto a proteína nativa apresenta 40 (VI). No painel de alinhamento, observa-se também que o alinhamento das proteínas já está pronto, pois cada resíduo de aminoácido da proteína problema já está alinhado acima de outro resíduo de aminoácido igual (mesma letra e mesma cor) da proteína nativa, com exceção dos últimos aminoácidos C e Y que estão presentes na proteína nativa e ausentes na proteína problema. Dessa forma, é possível que o aluno perceba que essas proteínas não são idênticas, porém apresentam

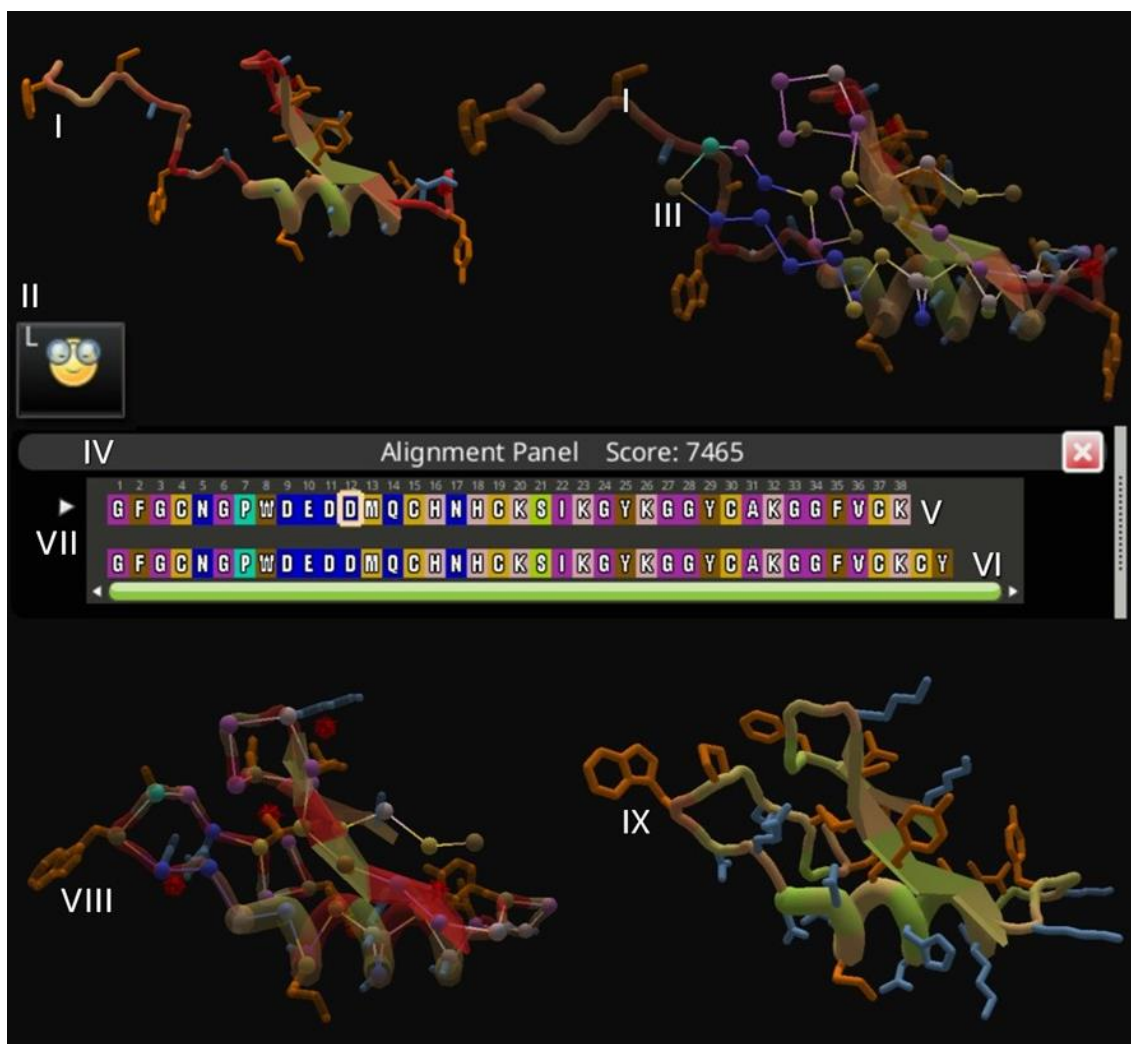
uma estrutura primária bastante similar. A semelhança na sequência de aminoácidos determina que essas proteínas também apresentem estruturas tridimensionais parecidas. Esse é o princípio básico no alinhamento estrutural de uma proteína.

Feito o alinhamento dos aminoácidos, o jogador pode clicar no botão posicionar (*threading*) (VII). Esse comando reposicionará a proteína problema seguindo por modelo a proteína nativa (VIII). Esse movimento que acaba de ser realizado corresponde ao alinhamento estrutural das proteínas, podendo ser resumido na seguinte sequência: 1) comparação dos resíduos de aminoácidos das proteínas problema e nativa; 2) sobreposição da proteína problema sobre a proteína nativa de acordo com os resíduos de aminoácidos que estiverem alinhados.

Após o alinhamento estrutural ser realizado, o painel de alinhamento pode ser fechado, o que desabilitará a visualização da proteína nativa. Para finalizar esse quebra-cabeça, o jogador pode usar as ferramentas sacudir (*shake*) e mexer (*wiggle*) para corrigir as posições da cadeia principal e das cadeias laterais (IX) e alcançar a pontuação necessária.

Um fato a ser mencionado é que o jogo apresenta uma pontuação (*score*), conforme pode ser observado no painel de alinhamento (IV na Figura 1). Essa pontuação é atualizada simultaneamente aos procedimentos realizados durante a resolução do quebra-cabeça. Esse é um item importante, pois a pontuação funciona como um *feedback* para o jogador, permitindo que ele avalie se o comando utilizado ou movimento realizado melhorou ou piorou a conformação espacial da proteína problema.

Figura 1: Quebra-cabeça “posicionamento básico”



Fonte: Foldit® (2022).

No painel de alinhamento, na proteína nativa, os aminoácidos das proteínas são representados em um padrão de cores desenvolvido especialmente para o jogo, que está apresentado no Quadro 1, juntamente com a abreviatura de uma letra de cada aminoácido.

Em relação ao padrão de cores utilizado na proteína problema (observe os itens I e IX na Figura 1), as cadeias laterais hidrofóbicas dos aminoácidos são representadas em azul, enquanto as hidrofóbicas são representadas em laranja. Já a cadeia principal da proteína é colorida de acordo com o seu dobramento. Os trechos da cadeia principal coloridos em tons de verde até amarelo indicam um bom posicionamento das cadeias principal e/ou laterais. A cor alaranjada indica um posicionamento regular e o vermelho indica uma conformação ruim para o segmento colorido.

Em relação ao padrão de cores utilizadas na proteína nativa, vale comentar que as cores escolhidas funcionam muito bem em relação à proposta de *design* dos quebra-cabeças, pois o colorido da proteína nativa se destaca quando comparado ao padrão de cores usado na proteína problema. Entretanto, a utilização de cores iguais para dois ou mais aminoácidos pode dificultar a identificação dos resíduos. Nesse padrão, cada aminoácido é representado por uma única cor que não é repetida para os demais (Hassunuma, 2017).

Quadro 1: Lista alfabética das abreviaturas de uma letra e padrão de cores dos aminoácidos representados no painel de alinhamento.

Abreviatura de uma letra	Aminoácidos	Cor	Amostra de cor	Código RGB
A	Alanina	Roxo		163, 41, 163
C	Cisteína	Ouro		204, 163, 0
D	Ácido aspártico	Azul		0, 0, 203
E	Ácido glutâmico	Azul		0, 0, 203
F	Fenilalanina	Marrom		122, 82, 0
G	Glicina	Roxo		163, 41, 163
H	Histidina	Rosa claro		204, 163, 163
I	Isoleucina	Roxo		163, 41, 163
K	Lisina	Rosa claro		204, 163, 163
L	Leucina	Roxo		163, 41, 163
M	Metionina	Ouro		204, 163, 0
N	Asparagina	Azul		0, 0, 203
P	Prolina	Azul petróleo		0, 204, 163
Q	Glutamina	Azul		0, 0, 203
R	Arginina	Rosa claro		204, 163, 163
S	Serina	Verde		163, 204, 0
T	Treonina	Verde		163, 204, 0
V	Valina	Roxo		163, 41, 163
W	Triptofano	Marrom		122, 82, 0
Y	Tirosina	Marrom		122, 82, 0

Fonte: Elaborado pelos Autores (2022).

Durante a resolução do quebra-cabeça “posicionamento básico”, são exibidas diversas janelas de ajuda que orientam o jogador a resolver o desafio; apresentadas ferramentas e comandos do jogo e informações científicas sobre as proteínas. Essas janelas são apresentadas originalmente no idioma inglês e estão traduzidas no Quadro 2.

Quadro 2: Textos apresentados no quebra-cabeça “posicionamento básico”.

<i>Puzzle: Basic threading</i>	Quebra-cabeça: Posicionamento básico
<i>These levels will introduce the ALIGNMENT tool! It will let you use the structures of real proteins, called TEMPLATES, by THREADING. Next.</i>	Esses níveis introduzirão a ferramenta ALINHAMENTO! Ela permitirá que você use as estruturas de proteínas reais, chamadas MODELOS, por POSICIONAMENTO. Próximo.
<i>Click this button to bring up the ALIGNMENT tool. Back/OK.</i>	Clique neste botão para utilizar a ferramenta ALINHAMENTO. Voltar/Ok.
<i>This 3D structure shows the backbone of the TEMPLATE. Back/Next.</i>	Esta estrutura 3D mostra a cadeia principal do MODELO. Voltar/Próximo.
<i>The bottom row of letters is the TEMPLATE's SEQUENCE (aka PRIMARY STRUCTURE). You can see it in 3D as spheres connected by lines.</i>	A linha inferior de letras é a SEQUÊNCIA DO MODELO (também conhecida como

<i>Back/Next.</i>	ESTRUTURA PRIMÁRIA). Você pode vê-lo em 3D por meio de esferas conectadas por linhas. Voltar/Próximo.
<i>The top row of letters is the SEQUENCE (aka PRIMARY STRUCTURE) for your protein. Back/Next.</i>	A linha superior de letras é a SEQUÊNCIA (também conhecida como ESTRUTURA PRIMÁRIA) para sua proteína. Voltar/Próximo.
<i>When you THREAD, your protein will change itself to match the 3D TEMPLATE. Back/Next.</i>	Quando você POSICIONAR, sua proteína será reposicionada para corresponder ao MODELO 3D. Voltar/Próximo.
<i>Click this button to THREAD. Back/OK.</i>	Clique neste botão para POSICIONAR. Voltar/Ok.
<i>Now that you've threaded it, close the alignment panel and try a shake and wiggle! Back/OK.</i>	Agora que você posicionou, feche o painel de alinhamento e tente um Sacudir e Mexer! Voltar/Ok.

Fonte: Foldit® (2022).

Enquanto no quebra-cabeça “posicionamento básico” o alinhamento estrutural de proteínas é apresentado, no desafio seguinte, o jogador pode fazer o alinhamento do começo ao fim. Esse quebra-cabeça é intitulado “alinhando sequências” (Figura 2) e corresponde ao quinto e último desafio do nível 7: “da estrutura primária à terciária.

Esse desafio tem início apresentando a proteína problema (indicado por I na Figura 2), a proteína nativa (II) representada no modo bola e varetas com a representação dos carbonos alfa de cada aminoácido por esferas de diferentes cores e o painel de alinhamento (III e IV). Observe que, neste quebra-cabeça, os resíduos de aminoácidos não estão alinhados, ou seja, os resíduos das proteínas problema e nativa de mesma cor e letra não estão posicionados um sobre o outro.

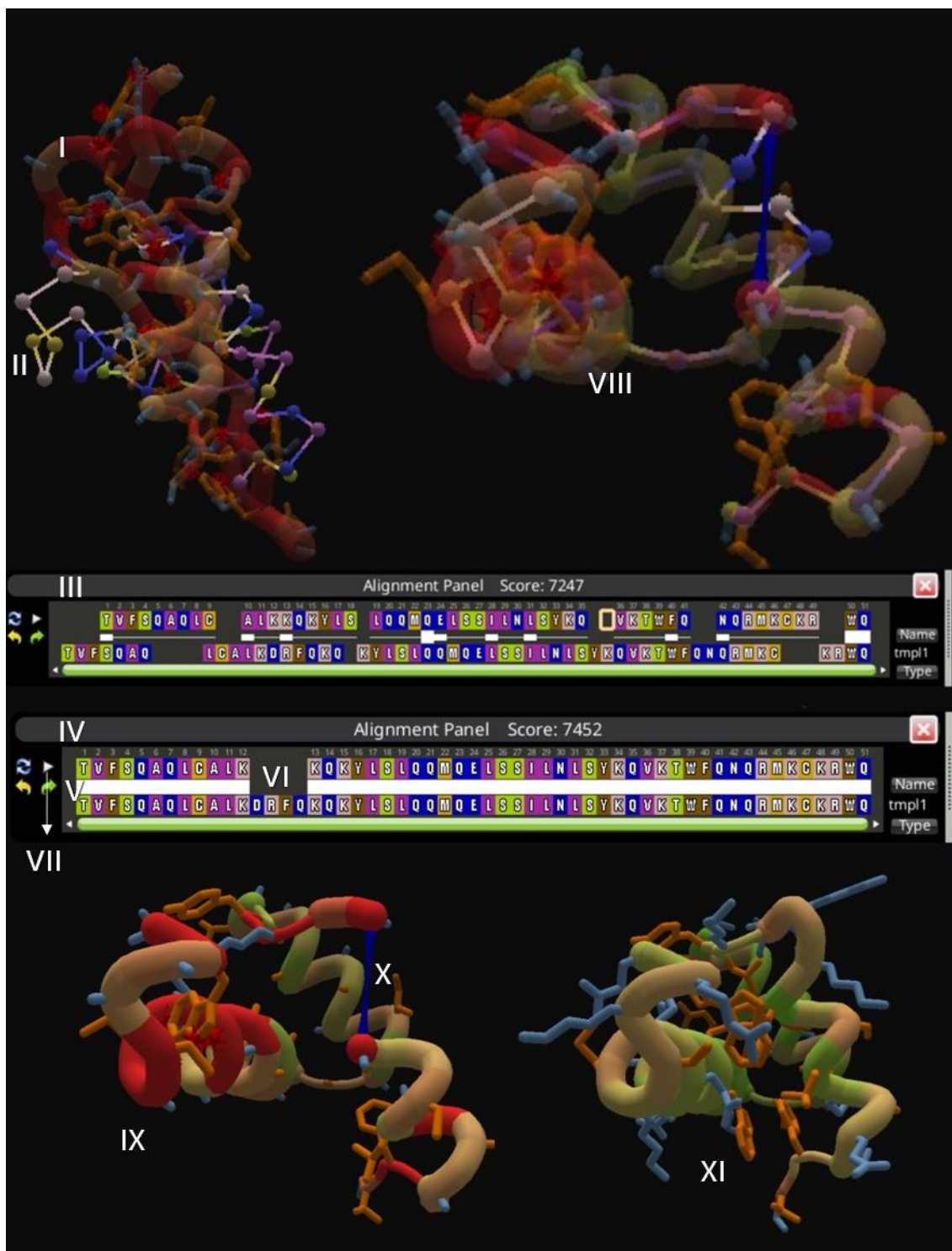
Para fazer o alinhamento dos aminoácidos das proteínas problema e nativa, o jogador deve clicar sobre os resíduos de aminoácidos da proteína problema com o botão esquerdo do *mouse* e arrastá-los para o lado direito ou esquerdo, alinhando com o resíduo de aminoácido da proteína nativa. Observe que o alinhamento de resíduos de aminoácidos idênticos leva à formação de uma barra branca (V) entre os resíduos das proteínas teste e modelo. Percebe-se também que nem sempre é possível parear todos os resíduos de aminoácidos. Nesse caso, haverá uma lacuna de não alinhamento de aminoácidos (VI) e a barra branca não será formada nesta região.

Com o alinhamento realizado, o jogador pode clicar no botão posicionar (VII) para mudar a conformação da proteína modelo, de acordo com as sequências idênticas da proteína nativa, havendo a sobreposição das proteínas (VIII).

Após o alinhamento estrutural das proteínas ser feito, o painel de alinhamento pode ser fechado, permanecendo em exibição apenas a proteína problema (IX). Nessa proteína, o jogador deve ainda remover o trecho indicado em azul (X), por meio da aproximação das alfa-hélices localizadas próximas à região de corte e da substituição dessa região por resíduos de aminoácidos, dando um duplo clique com o botão esquerdo do *mouse* sobre a área de corte.

Para concluir o desafio (XI), o jogador deve utilizar as ferramentas sacudir (*shake*) e mexer (*wiggle*) para corrigir as posições da cadeia principal e das cadeias laterais e assim atingir a pontuação necessária.

Figura 2: Quebra-cabeça “alinhando sequências”



Fonte: Foldit® (2022).

Da mesma forma que, no desafio anterior, durante a resolução do quebra-cabeça “alinhando sequências”, também são exibidas janelas de ajuda que estão apresentadas traduzidas no Quadro 3.

Quadro 3: Textos apresentados no quebra-cabeça “alinhando sequências”.

Puzzle: Aligin' sequences	Quebra-cabeça: Alinhando sequências
---------------------------	-------------------------------------

<p><i>This time the letters and colors in the sequences are not lined up well! Lining them up better will increase your SCORE.</i></p> <p><i>Next.</i></p>	<p>Desta vez, as letras e cores nas sequências não estão bem alinhadas! Alinhá-las melhor aumentará sua pontuação.</p> <p>Próximo.</p>
<p><i>This middle row shows how well each letter matches; a bigger white bar means a better match. These matches are determined by how similar the properties of the amino acids are.</i></p> <p><i>Back/Next.</i></p>	<p>Esta linha do meio mostra o quão bem cada letra combina; uma barra branca maior significa uma combinação melhor. Essas combinações são determinadas pelo quão semelhante as propriedades dos aminoácidos são.</p> <p>Voltar/Próximo.</p>
<p><i>For example, a threonine (T) and a serine (S) are different amino acids, but they both are small-ish and have hydroxyl groups.</i></p> <p><i>Back/Next.</i></p>	<p>Por exemplo, uma treonina (T) e uma serina (S) são aminoácidos diferentes, mas ambas são pequenas e têm grupos hidroxila.</p> <p>Voltar/Próximo.</p>
<p><i>You can click and drag or use the arrow keys to move the letters around.</i></p> <p><i>Back/Next.</i></p>	<p>Você pode clicar e arrastar ou usar as teclas de seta para mover as letras.</p> <p>Voltar/Próximo.</p>
<p><i>Double clicking THREADING will let you see your changes as you make them, or you can wait until you're done to THREAD.</i></p> <p><i>Back/Next.</i></p>	<p>Clicar duas vezes no POSICIONAR permitirá que você veja suas alterações à medida que as fizer, ou você pode esperar até terminar o POSICIONAMENTO.</p> <p>Voltar/Próximo.</p>
<p><i>Try to line up the colors. It's okay if there are spaces, but fewer spaces are better.</i></p> <p><i>Back/Next.</i></p>	<p>Tente alinhar as cores. Tudo bem se houver espaços, mas, quanto menos espaços, melhor.</p> <p>Voltar/Próximo.</p>
<p><i>Why are there spaces? In nature, proteins will change over time through mutation and natural selection. This causes changes to amino acids like a Threonine to Serine, but it can also cause deletions of proteins. Sometimes these changes to the PRIMARY STRUCTURE are small enough that they don't change the TERTIARY STRUCTURE of the protein, but bigger changes are more likely to change it. At the protein level, this is how evolution occurs.</i></p> <p><i>Back/Next.</i></p>	<p>Por que existem esses espaços? Na natureza, as proteínas mudarão com o tempo por meio de mutação e seleção natural. Isso causa alterações em aminoácidos, como uma treonina para uma serina, mas também pode causar supressões de proteínas. Às vezes, essas alterações na ESTRUTURA PRIMÁRIA são pequenas o suficiente para que não alterem a estrutura terciária da proteína, mas mudanças maiores são mais propensas a alterá-la. Em nível de uma proteína, é assim que a evolução ocorre.</p> <p>Voltar/Próximo.</p>
<p><i>When there's a gap in the alignment, a blue CUT is inserted. When you're done aligning, MOVE the two pieces together, then WIGGLE to bring the two ends of the cut together. When the cutpoint turns YELLOW, the two ends are close enough to close the cut by clicking on it.</i></p> <p><i>Back/Next.</i></p>	<p>Quando há uma lacuna no alinhamento, um CORTE azul é inserido. Quando terminar de alinhar, MOVA as duas peças juntas, em seguida, MEXA para unir as duas extremidades do corte. Quando a área de corte ficar AMARELA, as duas extremidades estarão perto o suficiente para fechar o corte clicando nele.</p> <p>Voltar/Próximo.</p>
<p><i>Click the cuts when they turn YELLOW to close the cut.</i></p>	<p>Clique nos cortes quando ficarem AMARELOS para fechar o corte.</p>

Back/OK.

Voltar/Ok.

Fonte: Foldit® (2022).

Antes de propor o desenvolvimento dessa atividade na forma de prática em laboratórios de informática, alguns fatores devem ser considerados. O primeiro deles é que o professor deve avaliar o conhecimento de informática de seus alunos, para determinar se eles serão capazes de realizar procedimentos como a instalação do programa e qual será o tempo estimado nessa etapa. Entretanto, vale ressaltar que, para os alunos que não têm conhecimento básico do uso de computadores, esta será uma excelente oportunidade de trazer essas informações em sala de aula.

Vale ressaltar, nos quebra-cabeças do modo educacional do Foldit®, assim como em outros jogos pedagógicos, que se faz necessário ao professor preparar os conteúdos a serem explorados nos desafios propostos para discussão e construção de conceitos, da mesma forma que é feita em aulas tradicionais; além de prever as dificuldades que poderão surgir (Cavalcanti & Soares, 2009).

Ao aplicar os quebra-cabeças, é importante também que o professor estabeleça o equilíbrio entre a função lúdica e educativa daqueles, para que o jogo não perca a função lúdica e se torne um material didático, nem perca a função educacional e se torne apenas entretenimento ao aluno (Kishimoto, 1995; Oliveira, Soares & Vaz, 2015).

Considerações Finais

Os quebra-cabeças “posicionamento básico” e “alinhando sequências” do modo educacional do Foldit® se mostraram um excelente recurso didático para o ensino do alinhamento estrutural de proteínas, especialmente considerando que podem ser resolvidos de forma breve. O fato de a atividade ocorrer em um ambiente de jogo pode motivar, simplificar e facilitar o entendimento pelo aluno. As principais vantagens e desvantagens da utilização dos quebra-cabeças selecionados para o ensino de alinhamento estrutural de proteínas estão resumidas no Quadro 4.

Quadro 4: Vantagens e desvantagens do uso do Foldit® no ensino de alinhamento estrutural de proteínas.

Vantagens	Desvantagens
1. Os quebra-cabeças propostos para o alinhamento estrutural de proteínas podem ser repetidos pelo aluno quantas vezes desejar, podendo ser reproduzidos também na residência do aluno, uma vez que o <i>software</i> está disponibilizado na <i>internet</i> para <i>download</i> gratuito.	1. Apenas dois dos 39 quebra-cabeças se mostraram relacionados ao ensino de alinhamento estrutural de proteínas.
2. No Foldit®, o ensino ocorre em um ambiente de jogo.	2. É necessário que o professor apresente ao aluno alguns conceitos referentes ao jogo, como, por exemplo, a sua interface.
3. Os quebra-cabeças propostos no modo educacional do Foldit® para o ensino de alinhamento estrutural de proteínas são mais fáceis de serem utilizados que outros <i>softwares</i> usados tradicionalmente.	3. O modo educacional do Foldit® consiste em um tutorial que o professor pode realizar em sala de aula com os alunos. Para utilizar seus recursos na forma de fonte de pesquisa, é necessário que o professor desenvolva, para o <i>software</i> , uma atividade com proteínas a

	serem alinhadas, utilizado a ferramenta <i>Recipes</i> .
4. Os quebra-cabeças selecionados para o ensino de alinhamento estrutural de proteínas são atividades rápidas que não consomem muito tempo de aula.	4. Para os quebra-cabeças propostos, mesmo sendo resolvidos rapidamente, é necessário que o professor apresente conceitos referentes à estrutura das proteínas e da interface do jogo, a fim de que o aluno possa compreender melhor o funcionamento do programa.
5. O Foldit® exige computadores com configuração relativamente simples, sendo disponível para vários sistemas operacionais, e necessitando do uso de <i>internet</i> apenas para instalação do programa e uso <i>on-line</i> dele.	5. É necessário que o professor disponha de conhecimento de informática e laboratório de informática com computadores para os alunos, caso deseje desenvolver a atividade de forma individual ou em grupos.
6. Parte do jogo, incluindo as principais janelas apresentadas durante os quebra-cabeças, está disponível em português.	6. Nem todas ferramentas do jogo e menus estão traduzidos para a língua portuguesa.
7. Nos quebra-cabeças selecionados, a pontuação necessária para cada desafio é alcançada facilmente, reduzindo o tempo de jogo.	7. Depois que a pontuação é alcançada, o jogador pode continuar a enovelar a proteína para obter uma pontuação mais alta, fazendo com que o jogo não tenha um fim.
8. Por meio do Foldit®, o professor pode apresentar conceitos referentes à estrutura e formas de representação das proteínas, além do alinhamento estrutural.	8. No painel de alinhamento, o Foldit® utiliza um padrão de cores para representação dos aminoácidos, que poderia ser melhorado se cada aminoácido fosse indicado por uma cor diferente, sem que houvesse a repetição de cores.

Fonte: Autores (2022).

Referências

- Campbell, Mary K., & Farrell, Shawn O. (2011). *Bioquímica: volume 1, bioquímica básica* (1a ed., cap. 4, pp. 87-121). São Paulo: Cengage Learning.
- Cavalcanti, Eduardo L. D., & Soares, Márlon H. F. B. (2009). O uso de jogos de roles (roleplaying game) como estratégia de discussão e avaliação do conhecimento químico. *Revista Eletrônica de Enseñanza de las Ciencias*, 48(1), 255-82. Recuperado em 27 novembro, 2022 de http://reec.uvigo.es/volumenes/volumen8/ART14_Vol8_N1.pdf.
- Cheng, Hua, Kim, Bong-Hyun, & Grishin, Nick V. (2008). Discrimination between distant homologs and structural analogs: lessons from manually constructed, reliable data sets. *Journal of Molecular Biology*, 377(4), 1265-78. Recuperado em 31 julho, 2022 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4494761/>.
- Cleophas, Maria. G., Cavalcanti, Eduardo L. D., & Soares, Márlon H. F. B. (2018). Afinal de contas, é jogo educativo, didático ou pedagógico no Ensino de Química/Ciências? Colocando os pingos nos "is". In: Cleophas, Maria G., & Soares, Márlon H. F. B. (Orgs.). *Didatização Lúdica no Ensino de Química/Ciências*. (1ª ed., p. 33-43). São Paulo: Livraria da Física.
- Dror, Oranit, Benyamini, Hadar, Nussinov, Ruth, & Wolfson, Haim J. (2003, November). Multiple structural alignment by secondary structures: algorithm and applications. *Protein Science*, 12(11), 2492-507. Recuperado em 31 julho, 2022 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2366961/>.

Dsilva, Lorna, Mittal, Shubhi, Koepnick, Brian, Flatten, Jeff, Cooper, Seth, & Horowitz, Scott. (2019, March). Creating custom Foldit puzzles for teaching biochemistry. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 47(2), 133-9. Recuperado em 31 julho, 2022 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6428574/>.

Gibrat, Jean-Francois, Madej, Thomas, & Bryant, Stephen H. (1996, June). Surprising similarities in structure comparison. *Current Opinion in Structural Biology*, 6(3), 377-85. Recuperado em 03 agosto, 2022 de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959440X96800583>.

Guda, Chittibabu, Lu, Sifang, Scheeff, Eric D., Bourne, Philip E., & Shindyalov, Ilya N. (2004, July 01). CE-MC: a multiple protein structure alignment server. *Nucleic Acids Research*, 32(Suppl_2), W100-3. Recuperado em 03 agosto, 2022 de https://academic.oup.com/nar/article/32/suppl_2/W100/1040721.

Hassunuma, Renato M. (2017). *Guia de comandos em software de simulação computacional de biomoléculas* (1a ed., cap. 7, pp. 26-8). Bauru: Canal 6 Editora.

Hassunuma, Renato M., & Souza, Aguinaldo R. (2016). *Desenvolvimento de scripts em software de simulação computacional para visualização de biomoléculas* (1a ed., cap. 11, pp. 163-96). São Paulo: Cultura Acadêmica.

Holm, Liisa. (2020). Using Dali for protein structure comparison. *Methods in Molecular Biology*, 2112, 29-42. Recuperado em 31 julho, 2022 de https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-0716-0270-6_3.

Holm, Liisa, & Park, Jong. (2000). Dalilite workbench for protein structure comparison. *Bioinformatics*, 16(6), 566-7. Recuperado em 03 agosto, 2022 de <https://academic.oup.com/bioinformatics/article/16/6/566/178186>.

Holm, Liisa, & Sander, Chris. (1993, September 05). Protein structure comparison by alignment of distance matrices. *Journal of Molecular Biology*, 233(1), 123-38. Recuperado em 03 agosto, 2022 de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022283683714890>.

Ilyin, Valentin A., Abyzov, Alexej & Leslin, Chesley M. (2004, July). Structural alignment of proteins by a novel TOPOFIT method, as a superimposition of common volumes at a topomax point. *Protein Science*, 13(7), 1865-74. Recuperado em 03 agosto, 2022 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2279929/>.

Kishimoto, Tizuko M. (1995, Junho). O jogo e a educação infantil. *Pro-Posições*, 6(2), 46-63. Recuperado em 26 novembro, 2022 de <https://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/proposic/article/view/8644269/0>.

Konagurthu, Arun S., Whisstock, James C., Stuckey, Peter J., & Lesk, Arthur M. (2006, August 15). MUSTANG: a multiple structural alignment algorithm. *Proteins*, 64(3), 559-74. Recuperado em 31 julho, 2022 de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/prot.20921>.

Krissinel, Evgeny, & Henrick, Kim. (2004, December). Secondary-structure matching (SSM), a new tool for fast protein structure alignment in three dimensions. *Acta Crystallographica, Section D, Biological Crystallography*, 60(Pt. 12 Pt. 1), 2256-68. Recuperado em 03 agosto, 2022 de <http://scripts.iucr.org/cgi-bin/paper?S0907444904026460>.

Lackner, Peter, Koppensteiner, Walter A., Sippl, Manfred J., & Domingues, Francisco S. (2000, November). ProSup: a refined tool for protein structure alignment. *Protein Engineering*, 13(11), 745-52. Recuperado em 03 agosto, 2022 de <https://academic.oup.com/peds/article/13/11/745/1567005>.

Lupyan, Dmitry, Leo-Macias, Alejandra, & Ortiz, Angel R. (2005, August 01). A new progressive-iterative algorithm for multiple structure alignment. *Bioinformatics*, 21(15), 3255-63. Recuperado em 03 agosto, 2022 de <https://academic.oup.com/bioinformatics/article/21/15/3255/195798>.

Martí-Renom, Marc A., Ilyin, Valentin A., & Sali, Andrej. (2001, August). DBAli: a database of protein structure alignments. *Bioinformatics*, 17(8), 746-7. Recuperado em 31 julho, 2022 de <https://academic.oup.com/bioinformatics/article/17/8/746/235016>.

Miller, Josh. A., Khatib, Firas, Hammond, Haley, Cooper, Seth & Horowitz, Scott. (2020 September). Introducing Foldit Education Mode. *Nature Structural & Molecular Biology*, 27(9), 769-70. Recuperado em 27 novembro, 2022 de <https://www.nature.com/articles/s41594-020-0485-6>.

Miranda, Ana F. S. & Soares, Márlon H. F. B. (2020, maio/agosto). Jogos educativos para o ensino de química: adultos podem aprender jogando? *Debates em educação*, 12(27), 649-66. Recuperado em 25 novembro, 2022 de <https://www.seer.ufal.br/index.php/debateseducacao/article/view/8781>.

Oliveira, Alessandro S., & Soares, Márlon H. F. B. (2005, maio). Júri químico: uma atividade lúdica para discutir conceitos químicos. *Química Nova na Escola*, 21, 18-24. Recuperado em 26 novembro, 2022 de <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc21/v21a04.pdf>.

Oliveira, Jorgiano S., Soares, Márlon H. F. B., & Vaz, Wesley F. (2015, novembro). Banco químico: um jogo de tabuleiro, cartas, dados, compras e vendas para o ensino do conceito de soluções. *Química Nova na Escola*, 37(4), 285-93. Recuperado em 27 novembro, 2022 de http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc37_4/08-RSA-22-13.pdf.

Orengo, Christine A., & Taylor, William R. (1996). SSAP: sequential structure alignment program for protein structure comparison. *Methods in Enzymology*, 266, 617-35. Recuperado em 31 julho, 2022 de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0076687996660388>.

Ortiz, Angel R., Strauss, Charlie E. M., & Olmea, Osvaldo. (2002 Nov). MAMMOTH (matching molecular models obtained from theory): an automated method for model comparison. *Protein Science*, 11(11), 2606-21. Recuperado em 03 agosto, 2022 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2373724/>.

Pirovano, Walter, Feenstra, K. Anton, & Heringa, Jaap. (2008, December 23). The meaning of alignment: lessons from structural diversity. *BMC Bioinformatics*, 23(9), 556. Recuperado em 03 agosto, 2022 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2630330/>.

Rezende, Felipe A. M., & Soares, Márlon H. F. B. (2019, dezembro 12). Análise teórica e epistemológica de jogos para o ensino de Química publicados em periódicos científicos. *RBPEC*, 19, 747-74. Recuperado em 26 novembro, 2022 de <https://periodicos.ufmg.br/index.php/rbpec/article/view/12296>.

Roach, Jeffrey, Sharma, Shantanu, Kapustina, Maryna, & Carter Jr., Charles W. (2005, July 01). Structure alignment via Delaunay tetrahedralization. *Proteins*, 60(1), 66-81. Recuperado em 03 agosto, 2022 de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/prot.20479>.

Rodrigues, Abel, & Schmidler, Scott C. (2014). Bayesian protein structure alignment. *The Annals of Applied Statistics*, 8(4), 2068-95. Recuperado em 31 julho, 2022 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4767181/>.

Rogers, Scout. (2012). *Level up: um guia para o design de grandes jogos* (1a ed., cap 1, pp. 25-45). São Paulo: Blucher.

Salit, Andrej, & Blundell, Tom L. (1990, March 20). Definition of general topological equivalence in protein structures. A procedure involving comparison of properties and relationships through simulated annealing and dynamic programming. *Journal of Molecular Biology*, 212(2), 403-28. Recuperado em 03 agosto, 2022 de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0022283690901348>.

- Shindyalov, Ilya N., & Bourne, Philip E. (1998, September). Protein structure alignment by incremental combinatorial extension (CE) of the optimal path. *Protein Engineering*, 11(9), 739-47.
- Soares, Márlon H. F. B. (2008, julho 21-4). Jogos e Atividades Lúdicas no Ensino de Química: Teoria, Métodos e Aplicações. *Anais do XIV ENEQ*. Recuperado em 26 novembro, 2022 de <http://www.quimica.ufr.br/eduquim/eneq2008/resumos/R0309-1.pdf>.
- Soares, Márlon H. F. B. (2016, outubro). Jogos e atividades lúdicas no ensino de Química: uma discussão teórica necessária para novos avanços. *REDEQUIM*, 2(2), 5-13. Recuperado em 26 novembro, 2022 de <https://www.journals.ufrpe.br/index.php/REDEQUIM/article/view/1311>.
- Szustakowski, Joseph D., & Weng, Zhiping. (2000, March 01). Protein structure alignment using a genetic algorithm. *Proteins*, 38(4), 428-40. Recuperado em 31 julho, 2022 de [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1097-0134\(20000301\)38:4%3C428::AID-PROT%3E3.0.CO;2-N](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1097-0134(20000301)38:4%3C428::AID-PROT%3E3.0.CO;2-N).
- Szustakowski, Joseph D., Kasif, Simon, & Weng, Zhiping. (2005, September 1). Less is more: towards an optimal universal description of protein folds. *Bioinformatics*, 21(Suppl 2), ii66-71. Recuperado em 31 julho, 2022 de https://academic.oup.com/bioinformatics/article/21/suppl_2/ii66/227071.
- Taylor, William R., & Orengo, Christine A. (1996, July 05). Protein structure alignment. *Journal of Molecular Biology*, 208(1), 1-22. Recuperado em 03 agosto, 2022 de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0022283689900843>.
- Teichert, Florian, Bastolla, Ugo, & Porto, Markus. (2007, October 31). SABERTOOTH: protein structural alignment based on a vectorial structure representation. *BMC Bioinformatics*, 8, 425. Recuperado em 31 julho, 2022 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2257979/>.
- Yeturu, Kalidas, & Chandra, Nagasuma. (2008, December 11). PocketMatch: a new algorithm to compare binding sites in protein structures. *BMC Bioinformatics*, 17(9), 543. Recuperado em 31 julho, 2022 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2639437/>.
- Zhang, Yang, & Skolnick, Jeffrey. (2005). TM-align: a protein structure alignment algorithm based on the TM-score. *Nucleic Acids Research*, 33(7), 2302-9. Recuperado em 31 julho, 2022 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1084323/>.
- Zhu, Jianhua, & Weng, Zhiping. (2005, February 15). FAST: a novel protein structure alignment algorithm. *Proteins*, 58(3), 618-27. Recuperado em 31 julho, 2022 de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/prot.20331>.