

MODELISATION MULTI-ECHELLE

Utilisation de VMD pour l'analyse de sites enzymatiques

Contexte

La visualisation des structures des macromolécules biologiques comme les protéines est un outil d'analyse très utilisé. Le nombre de structures cristallographiques des protéines est de plus en plus grand. Le graphisme moléculaire permet de mieux comprendre ces structures et de pouvoir prédire de nouveaux modèles.

La Protein Data Bank (PDB)

Les structures cristallographiques des protéines obtenues par des méthodes de cristallographie de rayon X, une analyse RMN, par reconstruction 3D à partir de microscopie cryo-électron, ou bien par modélisation, sont répertoriées dans une banque de données la PDB (Protéine Data Bank). Le site internet de cette banque de donnée est : <http://www.rcsb.org>

Il y a plus de 100000 structures disponibles dans la PDB en 2015. Les statistiques peuvent se trouver sur la page :

<http://www.rcsb.org/pdb/statistics/contentGrowthChart.do?content=total&seqid=100>

Les structures cristallographiques sont répertoriées avec un code PDB, alphanumérique de 4 caractères. L'identifiant PDB est publié par les auteurs qui ont déterminé la structure. Pour chaque identifiant, une page web donne les informations sur la structure et un fichier dit en format PDB donne l'ensemble des informations lisibles par des logiciels de modélisation.

Une protéine peut avoir plusieurs entrées dans la banque de données car elle peut être cristallisée par plusieurs groupes, ou avec des mutations, ou dans des conditions différentes (pH par ex), avec des ligands différents....Par exemple l'hémoglobine a plus de 400 entrées. Lorsqu'on utilise un structure PDB, on donne le code référence et on cite la publication origine de la structure.

Format d'un fichier PDB

Les fichiers .pdb sont des fichiers de texte qui peuvent s'ouvrir avec un éditeur de texte (Wordpad, vi, textedit ...). Chaque ligne commence par un mot clé et a un format spécifique.

Le format des fichiers .pdb peut se trouver en cliquant sur le menu Learn /Understanding pdb data ou en allant directement :

http://www.rcsb.org/pdb/101/static101.do?p=education_discussion/Looking-at-Structures/intro.html

La première partie du fichier donne des informations générales et importantes sur la structure. Elle commence par le mot clé HEADER et finit lorsque le mot clé ATOM commence. On peut vérifier dans les rubriques HEADER, TITLE, COMPND et SOURCE qu'on a bien la structure souhaitée.

La partie commençant par ATOM/HETATM donne les coordonnées des atomes. ATOM est le mot clé devant les atomes d'une protéine ou d'un acide nucléique, le mot HETAM correspond aux autres molécules (ligand, ions, solvant ...). Le mot clé TER permet de définir la fin d'une chaîne.

Exemple :

```
ATOM 1 N HIS A 6 49.668 24.248 10.436 1.00 25.00
```

Cette ligne correspond à l'atome d'azote, qui est l'atome 1 du résidu Histidine numéro 6 de la chaîne A avec les coordonnées $x=49.668$ Angström $y=24.248$ Angström $z=10.436$ Angström. Taux d'occupation « Occupancy » 1 (il n'y a pas de conformations autres détectées, sinon ce nombre serait plus petit que 1), facteur de température ou B-factor (plus l'atome bouge, plus ce nombre est grand) de 25.0

Applications

Exercice 1 : Prise en main

Le but de cet exercice est de se familiariser avec la PDB et le logiciel VMD. Nous allons prendre comme exemple la protéine aquamarine CFP de la figure ci-dessous :

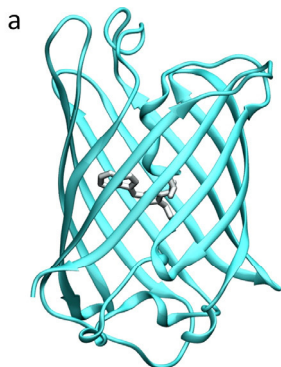


Figure 1 de la référence :Mérola et al, l'actualité chimique – juin-juillet 2015 , 297-398, p 23-28 (a) Structure tridimensionnelle de l'Aquamarine, une protéine fluorescente cyan (CFP), montrant le chromophore (molécule qui émet de la lumière) enfoui dans la protéine.

- 1) Récupérer la structure : Dans le moteur de recherche de la PDB, taper Cyan Fluorescent Protein. Vous devez trouver 3 entrées : 10XD.pdb, 10XE.pdb et 10XF.pdb
- 2) Télécharger 10XD.pdb
- 3) Avec VMD, ouvrir 10XD.pdb : on voit tous les atomes représentés sous un fond noir.
- 4) Dans la fenêtre Graphics puis Representation, choisir Drawing Method : New Ribbons (voir ce que les autres Drawing Method proposent comme représentation).
- 5) Un clic sur la touche R puis un clic gauche permet de faire tourner la molécule dans l'espace. Un clic sur la touche S puis clic gauche permet de zoomer ou dézoomer. Un clic sur la touche T puis clic gauche permet de déplacer la molécule.

- 6) Dans la fenêtre Graphical Representation, regarder ce que les choix de Coloring Method (en particulier color ID et les nombres correspondants aux couleurs : 0 bleu, 1 rouge...) et de Material changent.
- 7) Nous allons chercher à faire la même figure que la figure ci-dessus : il faut donc faire apparaître le chromophore. Dans un éditeur de texte, chercher dans le fichier pdb le code à 3 lettres du chromophore. Vous pouvez le trouver aussi sur la page PDB de la structure 10XD.
- 8) Dans Graphical Representation, cliquer sur Create Rep. Cela crée une nouvelle ligne. Dans la fenêtre Selected Atoms taper : « resname » suivi du code à 3 lettres que vous avez repéré dans le fichier pdb. Vous pouvez obtenir la même chose en allant sur l'onglet « selections » puis Keyword « resname » puis choix du code à 3 lettres. Rien ne change sur la figure si vous êtes en drawing Method NewRibbons. Choisir la bonne Drawing Method pour obtenir un dessin proche de la figure. Choisir un Coloring Method adapté.
- 9) Changer la couleur du fond en blanc: onglet dans VMD Main : Graphics Colors Display Background.
- 10) Sauver l'image : VMD main : onglet File Render ou bien en faisant un imprimer écran de Windows.
- 11) Pour sauver les changements faits sur VMD, on peut sauver un fichier .vmd dans File « Save State » et choisir un nom finissant par .vmd. On peut, après avoir fermé VMD, récupérer son travail en faisant File « load State » et choisir le fichier qui fini par .vmd
- 12) Maintenant, chercher une représentation (représentation et couleur) pour que les structures secondaires soient clairement reconnaissables. Sauver votre travail
- 13) Dans VMD Main, onglet Extensions, Analysis, Ramachandran, visualiser et sauver le « Ramachandran plot ».

Exercice 2 : superposer deux structures

On va ouvrir une des autres conformations 10XE.pdb pour comparer avec 10XD.pdb.

1) Si vous avez fermé la fenêtre de travail de l'exercice 1, ouvrez le fichier .vmd que vous avez sauvé avec la commande load State.

2) Ouvrir 10XE.pdb : File, New Molecule , trouver l'emplacement du fichier, load.

Choisir la même drawing Method mais utiliser une couleur différente pour cette molécule. Les deux molécules en forme « New Ribbon » se superposent très bien. Si besoin élargir un des rubans (thickness) pour enlever la double couleur.

3) Dans VMD Main, onglet Extensions, Analysis, RMSD Calculator, choisir de faire le calcul du RMSD (root mean square deviation) entre tous les atomes de la molécule : « all » dans la fenêtre et décocher Backbone only. Un clic sur le bouton RMSD donne la valeur du RMSD. Si on avait besoin de superposer les structures ce qui n'est pas le cas dans cet exemple, on aurait cliqué d'abord sur « align » puis sur « RMSD ».

4) Sur le graphe, repérer la boucle qui diffère entre les deux structures. En cliquant sur 1 puis sur le ruban avant et après la boucle, repérer le numéro des résidus concernant cette boucle. Dans Graphic Représentation, créer une nouvelle représentation pour les deux molécules et sélectionner les numéros des résidus (avec resid XXX to YYY, XXX et YYY sont les numéros

trouvés. Vérifier que la sélection résidu XXX to YYY donne un décalage vers le bas car la numérotation commence à 0 et est linéaire or il manque les résidus 65 et 67 dans le fichier pdb).

5) Faire apparaître le résidu TYR 145 avec le drawing method « licorice » pour les deux structures. Faire un fond blanc, imprimer et sauver votre travail.

6) Questions si vous avez le temps :

a) Dans Analysis, RMSD Calculator, sélectionner les résidus des boucles (resid XXX to YYY) puis calculer le RMSD et faire align, calculer le RMSD, observer les deux structures. Pour revenir aux structures initiales, refaire un align avec un sélection « all ».

b) Regarder la distance entre la Tyrosine TYR 145 et le chromophore : Pour avoir le label de la mesure de la distance entre deux atomes, on clique sur 2 puis on clique sur les 2 atomes. Remarque : pour celui d'un angle, on clique sur 3 puis sur les 3 atomes. On peut effacer les labels dans Graphics/Label/ sélectionner les labels et « Delete ».

c) On peut sélectionner les atomes qui sont à proximité d'une région, par exemple pour avoir les atomes à moins de 5 angströms du résidu CFR, on peut taper dans la sélection:

within 5 of resid 145 pour avoir les atomes à 5 A

ou bien : same resid as within 5 of resid 145 pour avoir les résidus dont les atomes sont à 5A

Faire apparaître les résidus à 5 Angtröms du chromophore en rose (color ID numéro à trouver).

Complément Tutoriel de VMD : http://gvallver.perso.univ-pau.fr/doc/tut_vmd.pdf