

## MODELISATION MULTI-EHELLE

### Champs de force et préparation d'une protéine

#### Contexte

Les protéines sont modélisées avec des champs de force dits classiques. Dans la banque de donnée PDB (<http://www.rcsb.org>), un certain nombre d'atomes (notamment les atomes d'hydrogène) ne sont pas déterminés. Le but de ce TP est de voir comment modéliser ces atomes manquants.

La résolution des méthodes cristallographiques ne permet pas de déterminer l'emplacement des protons. Nous allons donc utiliser un logiciel pour pouvoir modéliser l'emplacement des hydrogènes. Plusieurs logiciels sont disponibles, parmi eux : H++ (<http://biophysics.cs.vt.edu/>), MOLprobit (<http://molprobit.biochem.duke.edu/index.php>) ou reduce (<http://kinemage.biochem.duke.edu/software/reduce.php>)

Nous travaillerons sous un environnement Linux (besoin pour reduce, pas forcément pour le reste mais on se connecte pour toute la séance sous Linux)

#### Exercice 1 : Protonation d'une structure cristallographique

Le but de cet exercice est de se familiariser avec les logiciels et les formats des différents des champs de force :

##### a) Utilisation de H++

La plateforme internet H++ (<http://biophysics.cs.vt.edu/>) est une plateforme internet qui permet d'obtenir les protéines qui sont « nettoyées », c'est à dire protonées.

- 1) Dans la PDB, récupérer le fichier du lysosyme : 1W08.pdb
- 2) Dans le serveur H++, faites traiter le fichier 1W08. On choisira les valeurs par défaut, sauf pour les molécules d'eau : TIP3P. Notez vos choix (imprime écran)
- 3) Pendant le temps de calcul du serveur, avec VMD, visualiser ce fichier sous format NewRibbon. Faites apparaître avec les couleurs les structures secondaires
- 4) Dans l'éditeur de texte vi (voir la fiche « vi » pour les commandes de recherche), regarder les remarques et noter s'il y a des ponts dissulfures, s'il y a des boucles manquantes. Repérez les histidines.
- 5) Une fois que H++ a produit ses résultats, récupérer les fichiers.
- 6) Avec VMD, ouvrir le fichier .pdb créé par H++. Noter les différences avec le fichier 1W08.pdb. Sont-elles visibles avec une représentation NewRibbon ? Si non, quelle représentation et couleur permettent de voir les différences ?
- 7) Regarder les histidines : quel choix a-t-il été fait ?
- 8) Changer le pH (pH basique) et resoumettez votre demande au serveur H++. Comparez vos résultats avec le précédent. On pourra faire apparaître dans VMD des liaisons hydrogène pour les résidus protonés ou chargés.
- 9) Mettez vous à pH 6.5 et choisissez une boîte d'eau octaédrique, dont les bords sont à 10Å de la protéine. Choisissez de neutraliser avec des contre-ions.
- 10) Observer le pdb obtenu avec VMD.

##### b) Utilisation du logiciel reduce

Le programme reduce : c'est un programme qui comme H++ permet de protoner les protéines. Il s'utilise comme ligne de commande linux et est téléchargeable ici : <http://kinemage.biochem.duke.edu/software/reduce.php>

- 1) Dans le répertoire où vous avez récupéré 1W08.pdb, taper :  
reduce -FLIP 1w08.pdb > 1w08flipH.pdb
- 2) Avec VMD, vérifier que le nouveau fichier créé est bien protoné.
- 3) Créer un fichier avec reduce avec l'option -NOFLIP
- 4) Comparer les fichiers créés dans 1) et 3) avec le commande linux diff (et sdiff)
- 5) Visualiser les deux fichiers dans VMD et noter les différences.

##### c) Utilisation de la plateforme MolProbit

Nous vous proposons d'utiliser MOLprobit.

Dans la page web d'accueil de MOLprobit, taper 1W08 dans la case de recherche (attention c'est un zéro pas un O).

Dans la page suivante, les informations lues sur le PDB sont résumées, taper sur « continue »

On peut modifier le fichier PDB en cliquant sur « Edit PDB file » (image du ciseau) : ici vous n'avez qu'une seule chaîne mais si vous aviez plusieurs chaînes, vous pourriez choisir de n'en garder qu'une.

Puis choisir « Add hydrogens ». Choisir la structure éditée. Choisir « No flips » et « Electron-cloud x-H ». Start adding H.

Récupérer 1w08\_edith.pdb et l'ouvrir avec VMD. Noter les différences avec les autres méthodes.

#### Exercice 2 : observation d'un champs de force AMBER

- 1) Lors des calculs avec H++, vous avez récupéré des fichiers .top et .crd. Ces fichiers vont donner les informations sur le champ de force utilisé et sur les coordonnées des atomes de la protéine.
- 2) Vous pouvez les ouvrir avec un éditeur de texte comme vi
- 3) Sur le site internet <http://ambermd.org/formats.html>, regarder la signification et le format de ces deux fichiers.
- 4) Nous allons aussi regarder les fichiers de formats généraux pour les champs de forces (format .dat et .frcmod). Ouvrez le fichier frcmod.ff03 et le fichier all\_amino03.in qui sont à l'adresse : <http://alpha.univ-mlv.fr/MODELISATION-MASTER/frcmod.ff03> et [http://alpha.univ-mlv.fr/MODELISATION-MASTER/all\\_amino03.in](http://alpha.univ-mlv.fr/MODELISATION-MASTER/all_amino03.in)  
Avec l'aide du site de amber (question 3) indiquez les types d'atome pour la glycine, cherchez les paramètres utilisés pour décrire les liaisons, les angles, les torsions qui sont impliqués dans la glycine.