

MODELISATION EN CHIMIE**Utilisation de VMD pour l'analyse de sites enzymatiques (séance 2) :
Etude du cas du complexe du Cytochrome P450 avec l'érythromycine
(PDB : 2j0d)****Contexte**

Les enzymes comme le cytochrome P450 détruisent les produits toxiques dans le corps humain. Ainsi, elles permettent de nous protéger des molécules poisons ingérées ou inhalées, mais aussi détruisent les médicaments. Les effets des médicaments sont donc réduits au bout de quelques heures.

Nous nous intéressons au cytochrome P450 3A4 complexé avec l'antibiotique érythromycine. Nous allons étudier le site de fixation du médicament dans l'enzyme et les données qu'on peut récupérer depuis la PDB (<http://www.rcsb.org>). Les données recueillies seront écrites au fur et à mesure dans un fichier d'éditeur de texte.

Recherche dans la Protein Data Bank (PDB)

Ouvrez la page web <http://www.rcsb.org> et faites les recherches suivantes :

Dans le moteur de recherche, tapez Erythromycin (en anglais, il n'y a pas de « e » final). Vous devez avoir environ 70 entrées.

Pour chacune des entrées, les informations résumées suivantes sont données : code PDB (4 caractères), titre, auteurs, titre et référence de la publication, informations sur la cristallographie, et l'information « unique ligands : » suivie des codes de 2 ou 3 lettres des ligands. Chercher le code ligand « ERY » et cliquer pour ouvrir la page.

Dans cette page, vous voyez la structure de l'érythromycine A. Noter sa formule brute.

Sur la droite, vous pouvez lire « ERY as free ligands, exist in 17 entries ». Cliquer sur le lien pour avoir toutes les structures contenant le ligand ERY.

Vérifiez que parmi les entrées, la structure 2J0D est proposée.

Cliquer sur cette entrée pour avoir plus de détails.

De quel organisme provient l'enzyme cristallisée ?

Combien de chaînes sont dans la structure cristallographique ?

Combien de ligand possède-t-elle ? Quels sont leurs noms et leur formule brutes ?

Récupérer le fichier PDB et l'ouvrir avec un logiciel d'édition de texte (ex wordpad).

Combien de résidus n'ont pas pu être détectés ? (chercher le mot clef « MISSING RESIDUES »)

Chercher les ligands dans le fichier (chercher soit avec le mot clef « HETATM » ou avec le code de 3 lettres des ligands). Notez le numéro des atomes correspondant (2^{ème} colonne).

Les chaînes A et B ont-elle les mêmes ligands ?

Quel est le code 3 lettres pour le solvant ? (le solvant est toujours mis en fin de fichier avant les données de connexion).

Quels atomes manquent dans l'ensemble du fichier ? (regarder attentivement les données du solvant)

Utilisation de VMD

Ouvrir le fichier pdb avec VMD.

Dans un premier temps, ne faire apparaître que le ligand ERY de la chaîne A : il faut donc sélectionner la sélection : « rename ERY and chain A ». Choisir les couleurs et la représentation adéquate.

Sauver l'image obtenue et mettre un titre.

Faites de même pour l'hème.

Créer une représentation ruban pour la chaîne A et faire apparaître dedans les deux ligands en « licorice ». Sauver l'image et mettre un titre explicatif.

Dans une représentation de l'ensemble de la structure, faites la méthode de dessin « HBonds ». Que constatez-vous ? Est-ce normal ?

Protonation de la structure

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/>) et MOLprobit (<http://molprobit.biochem.duke.edu/index.php>).

Nous vous proposons d'utiliser MOLprobit.

Dans la page web d'accueil de MOLprobit, taper 2J0D dans la case de recherche.

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) : ne garder que la chaîne A.

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

Récupérer 2j0d_editH.pdb et l'ouvrir avec VMD

H-bond in VMD

Vérifier qu'on n'a bien que la chaîne A. Faire apparaître la protéine en ruban et les deux ligands en licorice. Faire apparaître les résidues qui sont proches (moins de 5 Angströms) de la molécule ERY en représentation « Lines », pour cela, choisir dans la sélection (pour avoir les atomes proches de ERY): « within 5 of rename ERY », ou bien : « same resid as within 5 of rename ERY » (pour avoir les acides aminés dont au moins un des atomes est proche de ERY). Dupliquer cette sélection et faire apparaître les liaisons hydrogènes (on peut jouer sur la largeur de la représentation (line thickness) ou les critères d'angle et de distance (qu'on laissera à la valeur par défaut). Y a-t-il des liaisons H entre le ligand et la protéine ? Sauvez l'image.

Regarder les liaisons H autour du ligand hème et vérifier s'il y a des liaisons H entre l'hème et la protéine. Identifier les atomes du hème et de la protéine impliqués : Pour avoir le label d'un atome, on clique sur 1 puis on clique sur l'atome. Noter la longueur de la liaison : Pour avoir le label de la mesure de la distance entre deux atomes, on clique sur 2 puis on clique sur les 2 atomes. Noter la valeur de l'angle de la liaison H : Pour avoir la valeur d'un angle, on clique sur 3 puis sur les 3 atomes impliqués dans l'angle.

Sauvez l'image et donner un titre.

Exercice supplémentaire :

Chercher dans la PDB la structure 2J0C (cytochrome P450 complexé avec un autre médicament) et produisez des images montrant l'interaction entre la protéine et le ligand.