

MODELISATION EN CHIMIE

Utilisation de VMD pour l'analyse de sites enzymatiques (séance 3) :

Étude du cas du complexe bioluminescent des lucioles (PDB : 4G37)

Contexte La luciférase est l'enzyme qui catalyse une réaction bioluminescente (transformation du substrat luciférine en produit oxyluciférine). L'oxyluciférine, le produit de la réaction est obtenu dans un état électroniquement excité et émet de la lumière lorsqu'il retourne à son état fondamental. La structure 4G37 contient une molécule qui ressemble à un des intermédiaires de réaction (DLSA). La protéine a été légèrement modifiée en liant deux résidus qui ne sont pas consécutifs par un lien de liaisons covalentes.

Les données recueillies seront écrites au fur et à mesure dans un fichier d'éditeur de texte (type word) qu'on nommera avec son nom-TP3.docx et qu'on pensera à sauvegarder au fur et à mesure.

Recherche dans la Protein Data Bank (PDB)

Ouvrez la page web <http://www.rcsb.org> et récupérez la structure cristallographique 4G37.

De quel organisme provient l'enzyme cristallisée ?

Combien de chaînes sont dans la structure cristallographique ?

Cette structure contient 4 ligands : un ligand qui est l'intermédiaire de réaction DLSA, un lien (XLX) entre les deux résidus CYS108 et CYS447, et des ions. Quels sont les noms de ces différentes espèces ? Quelles sont leurs formules brutes ? Quels sont les codes à 3 (ou 2) lettres qui les définissent dans le fichier pdb ? Sont-elles présentes dans toutes les chaînes (on rappelle que les chaînes sont celles données par les auteurs (author en anglais) et donc notées auth A et auth B sur le site) ?

Récupérez le fichier PDB et l'ouvrez avec un logiciel d'édition de texte (ex wordpad en changeant la police à 8 ou word en format A3 pour avoir les lignes entières).

Attendez-vous à avoir des informations sur la position des atomes d'hydrogène dans le fichier pdb ?

Faites en sorte de créer un fichier pdb avec la chaîne A et ses ligands, le tout protoné. Quel logiciel avez-vous utilisé ?

Utilisation de VMD

1) Ouvrir le fichier pdb de la chaîne A protonée et de ses ligands protonés avec VMD.

2) Changer la couleur du fond en blanc (voir TP précédent)

Enlever les axes (x,y,z) de la figure (VMD Main, Display, Axes off)

3) On va créer plusieurs représentations (Create Rep) pour pouvoir ensuite faire des figures.

Une fois créées, pour les faire apparaître ou disparaître de l'écran d'affichage, on va double-cliquer dans la liste sur les différentes représentations. Les représentations écrites en rouge correspondent aux structures qui ne sont pas visibles, celles en noir les visibles. Créer :

-Une avec toute la chaîne A en forme NewRibbons, de couleur bleue (rappel colorID choisir 0 pour bleue)

-Une avec uniquement le ligand DLSA en licorice et chacun des atomes avec une couleur propre (coloring Method Name)

-Une avec le lien XLX en licorice et couleur orange (rename XLX)

-Une avec seulement les deux résidus attachés au lien XLX en licorice et rouge (resid 108 447)

-Une avec les deux résidus attachés au XLX et aussi le XLX en licorice et rouge (resid 108 447 or rename XLX). On remarque qu'alors VMD représente les liaisons entre les résidus.

-On peut refaire une copie de celle de XLX seul en orange pour pouvoir la superposer à la précédente.

-Une avec les résidus qui ont au moins un atome à moins de 5 Angströms du ligand DLSA en représentation « line » (grosseur du trait 3), (on sélectionnera : same resid as within 5 of resname SLU)

-Cette représentation est dupliquée pour faire apparaître les liaisons hydrogène de cette sélection (à moins de 5 Å de DLSA). Pour faire apparaître les liaisons H (représentation : Hbonds). On peut faire grossir les traits « Lines Thickness ».

Vous devez au bout de cette question avoir 8 représentations dans la liste des représentations.

4) Dans un premier temps, on ne veut faire apparaître que le ligand DLSA de la chaîne A. Pour cela, on peut faire réapparaître en double cliquant dessus la représentation déjà créée pertinente.

FIGURE 1 : Sauver l'image obtenue (imprime écran ou capture d'écran ou Majuscule+touche windows+touche S) et mettre un titre et une légende.

5) On va rajouter les deux représentations montrant l'environnement proche de DLSA. Identifier les résidus qui font des liaisons H avec DLSA (faire apparaître les labels en cliquant sur le chiffre 1. On peut voir les infos des atomes cliqués en ouvrant la fenêtre VMD Main/Graphics/Label. On peut grossir/épaissir l'écriture des labels avec l'onglet « global propriety ». On doit changer la couleur des labels de vert à noir avec VMD Main/color/ choisir Label puis atom puis la couleur 16).

FIGURE 2 : Sauver l'image et donner un titre et une légende.

Faire un zoom sur une des liaisons H est faire apparaître les labels des atomes (chiffre 1 puis cliquer sur l'atome), de la longueur de la liaison H (chiffre 2 puis un clic sur chaque atome qui constitue la liaison H---Y), de l'angle de la liaison H (chiffre 3 puis un clic sur chaque atome dans l'ordre X-H...Y).

Dans la fenêtre Label, on peut en double cliquant sur les labels faire disparaître ou réapparaître les labels.

FIGURE 3 : Sauver l'image et donner un titre et une légende.

6) Pour revenir à la taille de départ, on peut faire VMD Main/ Display/ Reset View).

Faire disparaître les résidus autour de DLSA et les liaisons H ainsi que les labels (dans la fenêtre Label, on 'Hide' les labels).

Garder DLSA et faire réapparaître la chaîne A ainsi que le pont et les deux résidus concernés.

Créer une représentation ruban pour la chaîne A et faire apparaître dedans les DLSA en licorice et le lien en bleue et licorice. Sauver l'image et mettre un titre explicatif.

Faire une figure qui montre les liaisons hydrogène de DLSA avec les résidus de la protéine.

FIGURE 4 : Orienter et zoomer avant de sauver l'image et donner un titre et une légende.

7) Sauver votre travail dans : VMD Main /File /Save Visualization state

choisir comme nom TP3.vmd

Ce fichier pourra être utilisé sur un autre ordinateur à condition de changer avec un éditeur de texte la ligne (par exemple):

```
mol new /Users/Nom1/Desktop/4g37.pdb type pdb first 0 last -1 step 1 filebonds 1 autobonds 1 waitfor all
```

par :

```
mol new /chemin1/chemin2/4g37.pdb type pdb first 0 last -1 step 1 filebonds 1 autobonds 1 waitfor all
```

où /chemin1/chemin2/4g37.pdb est le chemin où se trouve le fichier 4g37.pdb sur le nouvel ordinateur (il faudra donc le télécharger au préalable).