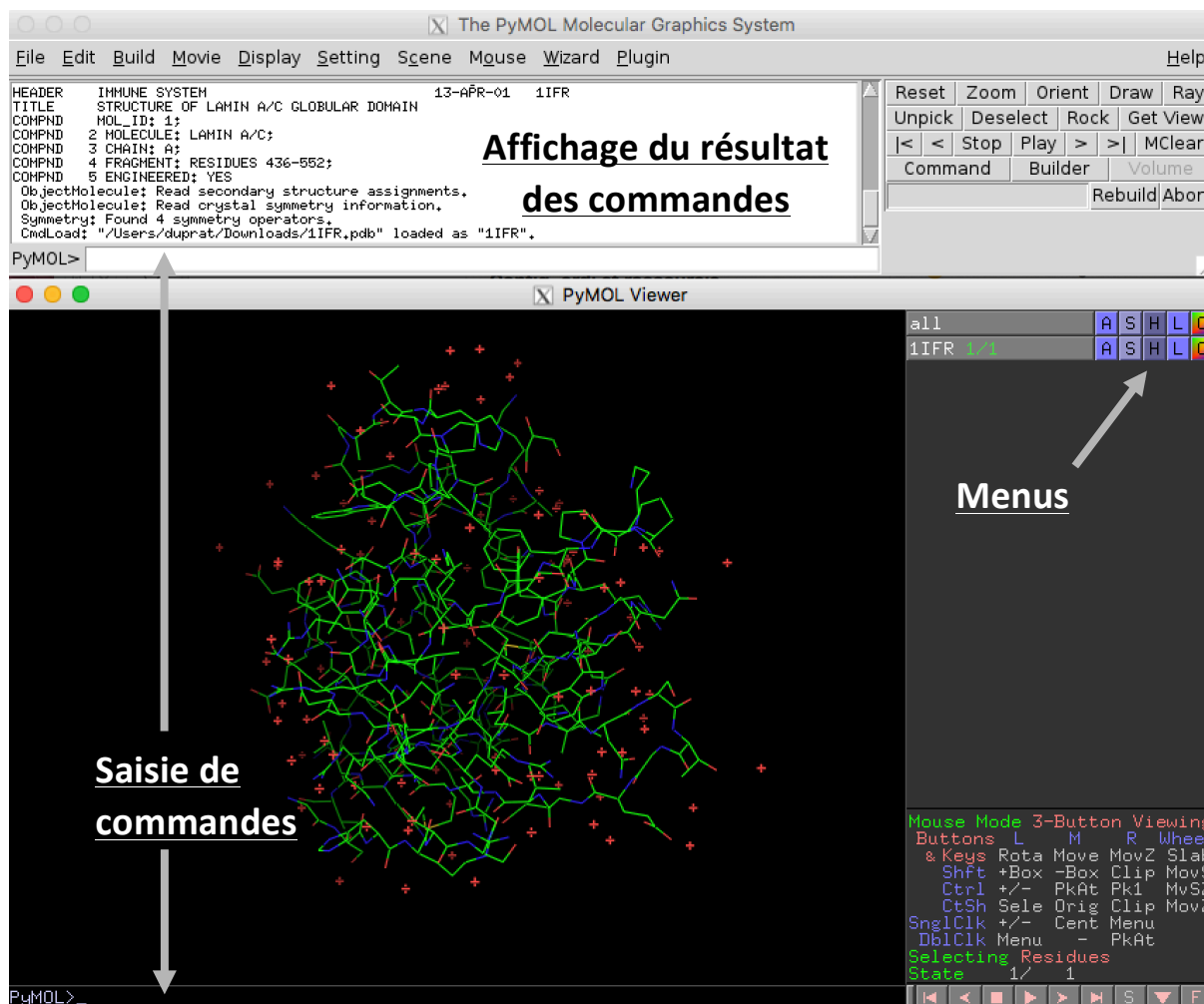


PyMOL : guide d'utilisation et premiers pas

(1) Ouvrir le fichier 1IFR.pdb avec PyMOL.

L'objet 1IFR est chargé. PyMOL propose deux modalités d'action : par des commandes interactives (syntaxe PyMOL, décrite sur la page Wiki <http://pymolwiki.org/index.php/Category:Commands>) ou par les menus associés à chaque objet : **A** (Action), **S** (Show), **H** (Hide), **L** (Labels), **C** (Colors).

Afficher la séquence en acides aminés (code 3 lettres, puis code 1 lettre) de chaque chaîne : Onglet *Display > Sequence* (sélectionner le *Mode* adéquat).



Pour appliquer un mouvement à la molécule :

- **rotation** : clic gauche en déplaçant la souris (toutes directions)
- **zoom** : clic droit en déplaçant la souris verticalement

Quelques actions par Menu :

S (show) ou **H** (hide) >

- **cartoon** : représentation **simplifiée** des **structures secondaires** (telle qu'assignées dans le fichier PDB)
- **ribbon** : représentation **simplifiée** de la **chaîne principale** (pas de structure secondaire, pas de chaîne latérale)
- **sticks / lines** : représentation des **liaisons covalentes** (code couleur dans : **C** > by atom) ; on peut masquer les chaînes latérales (**H** > side chains)

- **spheres** : représentation des **atomes** comme des sphères pleines (rayon de van de waals)
- **surface** : représentation de la **surface moléculaire**, obtenue en faisant rouler une molécule d'eau (représentée par une sphère de rayon 1.4 angströms) sur la représentation des rayons de van der Waals ; cette surface prend en compte le recouvrement des creux par la sphère représentant le solvant.

C (Color) > by Chain (Chaîne polypeptidique), by SS (Structures Secondaires), ...

A (Action) >

- Visualisation des liaisons H entre atomes de la chaîne principale :
find > polar contacts > just intra-main chain
- Représentation du potentiel électrostatique de surface :
generate > vacuum electrostatics > protein contact potential (local)
- Superposition de deux objets (mobile, référence) :
align [mobile] > to molecule > [choix référence]

(2) Ouvrir également dans PyMOL (c'est-à-dire sans fermer l'application) le fichier 1UFG.pdb :
File > Open > [Adresse fichier]

Note : chaque objet chargé peut être affiché ou masqué en cliquant sur le nom correspondant.

Quelques commandes : **help** [commande]

Exécuter les commandes ci-dessous et décrire leur action (pensez à consulter les affichages dans la boîte de dialogue).

```
select obj1, object 1IFR and chain A and resn Cys
select obj2, /1IFR//A/Cys
select obj3, /1IFR//A/C
select fragment, object 1UFG and chain A and resi 100-110
distance /1IFR//A/541/NE, /1IFR//A/443/O
distance d, /1IFR//A/*N*, /1IFR//A/*O, 3.2, mode=2
align /1IFR//A//CA, /1UFG//A//CA, object=ali1
align /1UFG//A//CA, /1IFR//A//CA, object=ali2
align /1UFG//A//CA, /1IFR//A//CA, cutoff=1.5, object=ali3
save align.aln, ali3
```

Ouvrir le fichier d'alignement `align.aln`. Comment interpréter-vous les paires d'acides aminés alignés, qui tout en étant identiques, ne sont pas désignées par le caractère * ? A l'aide de PyMOL, localiser ces positions dans les structures 3D ; dans quel type de structure secondaire les trouve-t-on ? Conclure.

```
align /1UFG//A//CA, /1IFR//A//CA, cutoff=2.5, object=ali4
align 1UFG and name n+ca+c+o, 1IFR and name n+ca+c+o, object=ali5
distance /1IFR//A/505/CA, /1UFG//A/105/CA
show sticks, /1IFR//A/505/
show sticks, /1UFG//A/105/
```

Comparer le résultat des commandes suivantes. Conclure.

```
phi_psi /1UFG//A/104
```

```
get_dihedral /1UFG//A/103/C, /1UFG//A/104/N, /1UFG//A/104/CA,  
/1UFG//A/104/C
```

```
get_dihedral /1UFG//A/104/N, /1UFG//A/104/CA, /1UFG//A/104/C,  
/1UFG//A/105/N
```

Application 1 : Analyse d'une interface domaine/domaine intramoléculaire (PDB : 2G98)

Chaque chaîne de cette structure 3D est composée de deux domaines homologues. Par l'**analyse de la séquence protéique** correspondante, identifier ces domaines et indiquer leurs bornes.

Pourquoi dit-t-on que ces domaines sont homologues ?

Après avoir présenté succinctement la protéine étudiée (nom, organisme, substrat, fonction, ..., *et toute autre information qui vous semble pertinente*) et la méthode expérimentale utilisée pour la résolution de cette structure 3D, décrire sa structuration secondaire, tertiaire et quaternaire (à partir des informations extraites du fichier PDB et/ou visualisées avec PyMOL).

Par l'**analyse de la structure PDB de la chaîne B** avec PyMOL, répondez aux questions suivantes :

Quels sont les acides aminés (position et nature) à l'interface entre ces deux domaines ?

Découper les 2 domaines en objets (on utilisera pour cela la commande `copy to object`, dans le Menu Action de PyMOL). Superposer ces deux objets de telle sorte que leur RMSD calculé sur les carbone alpha soit minimum. Quel est le RMSD calculé ? Quelles régions diffèrent significativement ? Les bornes des domaines déterminées par l'analyse de séquences vous semblent-elles pertinentes ?

Que pouvez-vous dire des propriétés physico-chimiques de l'interface domaine/domaine de cette protéine ?

Les 2 domaines sont-ils équivalents en terme de liaisons H intra-domaine ?

Application 2 : Analyse d'une interface enzyme/substrat (PDB : 2HA3)

Après avoir présenté succinctement la protéine étudiée (nom, organisme, substrat, fonction, ...) et la méthode expérimentale utilisée pour la résolution de cette structure 3D, décrire sa structuration secondaire, tertiaire et quaternaire.

Dans PyMOL, visualiser la chaîne latérale de chacun des acides aminés du site catalytique, et identifier leurs interactions potentielles avec le substrat. Argumentez (type de liaison, distance, ...).

Application 3 : Analyse d'un changement conformationnel (PDBs : 1T45, 1PKG)

Quelles protéines sont représentées par ces deux structures (nom, organisme, fonction, substrat...)?

Ouvrir les deux structures avec PyMOL et superposer leurs chaînes A. Quelles sont les différences principales entre les deux. Sélectionner et colorer les régions concernées pour les faire ressortir.