

Séance de TP

Amarrage moléculaire avec Autodock

Répertoire de travail

Les fichiers que vous utiliserez au cours de cette séance de travail se trouvent sous le bureau virtuel.

Système étudié

La **β -galactosidase** est une protéine dont le rôle est de décomposer des β -galactosides en oses (= sucres simples). Elle intervient dans le métabolisme du galactose et des sphingolipides, ainsi que dans la biosynthèse de glycosphingolipides.

Son absence (ou faible présence) dans l'intestin est la principale cause de l'incapacité à digérer le lactose chez l'homme : on parle d'intolérance au lactose.

But du TP

Le but de ce TP est d'utiliser le logiciel de docking AutoDock afin de caractériser le site d'interaction du galactose et de la β -galactosidase. AutoDock est une suite d'outils destinés à l'amarrage moléculaire (« molecular docking »). Le docking consiste à prédire comment des ligands, comme des substrats ou des médicaments potentiels, se fixent sur un récepteur de structure tridimensionnelle connue.

La procédure de docking avec AutoDock se décompose en deux étapes principales :

- 1. génération de cartes d'interactions du récepteur avec le programme AutoGrid**
- 2. amarrage proprement dit du ligand au récepteur avec le programme AutoDock**

Pour caractériser l'interaction du galatose avec la β -galactosidase, il vous est proposé de procéder en deux étapes :

étape 1 : utilisation l'interface graphique AutoDockTools (ADT) pour mettre en place une expérience d'amarrage moléculaire (visualisation et préparation du docking) et générer les fichiers de dockings.

étape 2 : mise en place d'un protocole (utilisation de scripts) permettant une exploration exhaustive de la protéine (utilisation de grilles recouvrantes).

Etape 1 : Utilisation d'ADT

Préparation du ligand

AutoDock a besoin de connaître les charges et types atomiques de chaque atome, ainsi qu'une liste des liaisons avec libre rotation présentes dans le ligand.

- Lancer ADT
- Charger le ligand

Ligand → Input → Open... → PDB files → "galactose.pdb"

AutoDockTools lit le ligand et effectue les étapes suivantes : calcul des charges atomiques de type Gasteiger, fusion des hydrogènes non-polaires, attribution des types atomiques, détection du nombre de degrés de liberté en torsion.

Les types atomiques et les charges sont utilisés dans les termes de mécanique moléculaire de la fonction de score d'AutoDock. Le nombre de degrés de liberté en torsion du ligand détermine sa flexibilité et intervient également dans le calcul de la pénalité entropique d'association.

- Détecter l'atome racine

Ligand → Torsion Tree → Detect Root...

Le plus petit groupe rigide de la molécule inclut cet atome et tous les atomes connectés à lui par des liaisons sans libre rotation.

- Choisir les torsions

Ligand → Torsion Tree → Choose Torsions...

Les liaisons sans libre rotation apparaissent en rouge, celles qui pourraient subir une rotation mais qui sont marquées comme inactives apparaissent en violet, enfin les liaisons marquées comme actives apparaissent en vert. Laisser la définition par défaut qui correspond à 6 degrés de liberté.

Ligand → Torsion Tree → Set Number of Torsions...

Dans le cas présent, le nombre de degrés de liberté (= 6) est assez faible et correspond au plus petit nombre d'atomes impliqués ("fewest atoms").

- Sauvegarder le ligand

Ligand → Output → Save as PDBQT... → "galactose.pdbqt"

Préparation du récepteur

Grid → Macromolecule → Open... → PDB files → "3thc.pdb"

AutoDockTools lit le récepteur et comme pour le ligand effectue les étapes de calcul des charges atomiques de type Gasteiger, fusion des hydrogènes non-polaires et attribution des types atomiques.

Sauvegarder le récepteur sous le nom "3thc.pdbqt".

Préparation des cartes quadrillées (« grid maps »)

Il est nécessaire de générer une carte d'interaction pour chaque type atomique du ligand plus une carte pour l'électrostatique et une carte pour la désolvatation.

- Lire les types atomiques du ligand

Grid → Set Map Types → Choose Ligand... → "galactose" → Select Ligand

- Choisir la taille et la position de la grille

Grid → Grid Box...

Centrer la position du centre de la grille sur la protéine (Center → Center on macromolecule) et 126 pour le nombre de points de la grille dans les directions x, y et z.

File → Close saving current

- Sauvegarder le fichier de paramètres de quadrillage (.gpf)

Grid → Output → Save GPF... → "3thc.gpf"

Le fichier .gpf contient les paramètres pour le programme AutoGrid.

- Générer les cartes quadrillées

Dans la console, lancer la commande suivante :

```
autogrid4 -p 3thc.gpf -l 3thc.glg &
```

Les cartes produites sont écrites dans le répertoire courant et ont l'extension .map.

Docking

- Charger le récepteur

Docking → Macromolecule → Set Rigid Filename... → "3thc.pdbqt"

- Charger le ligand

Docking → Ligand → Choose... → "galactose" → Select Ligand → Accept

- Choisir les paramètres de docking

Docking → Search Parameters... → Genetic Algorithm...

Réduire le nombre d'évaluations de l'algorithme génétique à 250000 ("short") puis cliquer sur Accept.

- Sauvegarder le fichier de paramètres de docking (.dpf)

Docking → Output → Lamarckian GA... → "galactose.dpf"

Le fichier .dpf contient les paramètres pour le programme AutoDock. On a choisi l'algorithme génétique Lamarckien comme méthode d'échantillonnage conformationnel.

- Lancer le docking

Dans la console, lancer la commande suivante :

```
autodock4 -p galactose.dpf -l galactose.dlg &
```

Analyse des résultats

- Réinitialiser ADT

Edit → Delete → Delete All Molecules

- Lire les résultats du docking

Analyze → Dockings → Open... → "galactose.dlg"

- Afficher le récepteur

Analyze → Macromolecule → Open...

- Visualiser les conformations

Analyze → Conformations → Play, ranked by energy...

Une barre de contrôle apparaît et permet de parcourir les conformations trouvées par le docking. La conformation 0 est celle du départ.

Changer les options en cliquant sur le bouton "&" de la barre.

Sélectionner "Show Info" et examiner les termes énergétiques affichés.

Parcourir les conformations.

Changer le mode de représentation et de coloration du ligand et du récepteur. On pourra par exemple afficher la surface moléculaire du récepteur pour visualiser la complémentarité de forme avec le ligand.

- Écrire la meilleure conformation dans un fichier PDB

Se positionner sur la meilleure conformation avec la barre de contrôle.

Build Current

Un nouvel objet "galactose_conf_1" est créé.

Sélectionner cet objet.

Sauvegarder la structure dans un fichier PDB

File → Save → Write PDB → "galactose_conf_1.pdb" → OK

- Comparer la meilleure conformation trouvée par le docking à la conformation expérimentale (fichier Complexe_BetaGal_Galactose.pdb)

Etape 2 : Exploration exhaustive de la protéine

Lors de la préparation du docking avec ADT, vous avez pu constater qu'avec une seule grille de $126 \times 126 \times 126$ points et un espacement de grille (distance entre deux points adjacents) de $0,375 \text{ \AA}$ il n'est pas possible de contenir la totalité de la protéine dans le volume ainsi défini. Une solution pourrait consister à augmenter l'espacement de grille, mais le risque serait alors de diminuer la qualité de la description de la protéine. Afin de ne pas altérer la description de la protéine, une alternative consiste en la mise en place de grilles recouvrantes d'espacement inférieur ou égal à $0,375 \text{ \AA}$. Développer une méthodologie qui permettra de conduire en parallèle 27 ($3 \times 3 \times 3$ grilles) expériences de calculs de grilles puis 27 expériences de docking de façon à n'**oublier** aucune partie de la protéine.