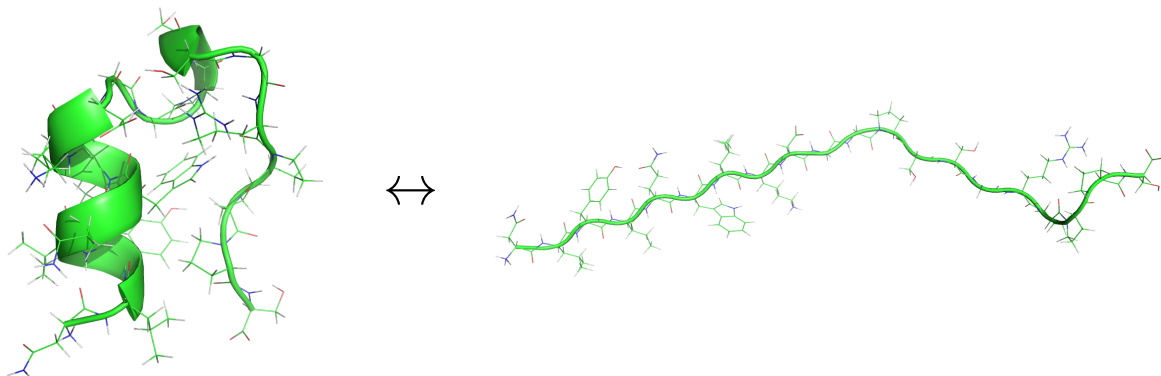


# Structure et stabilité du Trp-cage

L'objectif du TP est d'étudier la structure et la stabilité d'une petite protéine, le Trp-cage.



## Introduction

Le Trp-cage est une petite protéine artificielle de 20 acides aminés, qui a été conçue pour se replier facilement. Sa séquence d'acides aminés est NLYIQWLKDGGPSSGRPPPS. Le problème du repliement des protéines compte parmi les défis les plus importants de la bioinformatique structurale. Il consiste à prédire la structure tridimensionnelle d'une protéine à partir uniquement de l'information de sa séquence.

Nous emploierons les méthodes de la mécanique moléculaire pour modéliser le Trp-cage.

- La dynamique de la protéine repliée à l'équilibre sera d'abord étudiée.
- Puis le dépliement du Trp-cage sera étudié en simulant la dénaturation de la protéine repliée.
- Enfin la partie la plus difficile du TP consistera, en partant d'une conformation dépliée linéaire du Trp-cage, à tenter de replier la protéine par le calcul sans aucune information expérimentale.

## Protocole

### A Dynamique à l'équilibre du Trp-cage replié

1. Examiner les fichiers mis à disposition :

<b>folded.pdb</b>	structure expérimentale (RMN) du Trp-cage replié
<b>unfolded.pdb</b>	structure dépliée linéaire du Trp-cage
<b>amber.rtf</b>	fichier de topologie pour XPLOR
<b>amber.prm</b>	fichier de paramètres pour XPLOR
<b>build.inp</b>	construction du modèle et minimisation de l'énergie
<b>md.inp</b>	dynamique moléculaire à 300K
<b>traj2mpdb.inp</b>	conversion de la trajectoire au format PDB multiple
<b>analyze.inp</b>	analyse de la trajectoire produite
<b>run.sh</b>	script pour piloter les calculs

## 2. Construction du modèle

```
xplor < build.inp > build.out
```

Ce script construit un modèle du Trp-cage avec XPLOR et effectue une minimisation de l'énergie pour améliorer la géométrie.

Examiner le fichier de sortie et visualiser les structures produites.

## 3. Dynamique moléculaire

```
xplor < md.inp > md.out
```

Ce script effectue une dynamique moléculaire du Trp-cage pendant 20ps en assignant des vitesses initiales aléatoires puis en maintenant la température à 300K.

Examiner le fichier de sortie et suivre l'énergie et la température en fonction du temps.

## 4. Visualisation de la trajectoire

```
xplor < traj2mpdb.inp > traj2mpdb.out
```

Ce script convertit le format de la trajectoire produite de DCD à PDB multiple.

On pourra ensuite visualiser la trajectoire avec PyMOL en la chargeant de la façon suivante :

```
load md.multi.pdb, multiplex=0
```

## 5. Analyse de la trajectoire

```
xplor < analyze.inp > analyze.out
```

Ce script lit la trajectoire produite (`md.dcd`) et effectue des calculs structuraux ou énergétiques à chaque pas. Les résultats sont écrits dans un fichier texte (`md.dat`). Les représenter graphiquement.

Les analyses incluses dans le script ne le sont qu'à titre d'exemple, à vous d'en ajouter d'autres plus pertinentes en vous aidant de la documentation d'XPLOR.

- Quels descripteurs de la structure, de la dynamique et de la stabilité du Trp-cage avez-vous étudiés ?
- Le temps de simulation est-il suffisant pour obtenir des résultats convergés ? Prolonger la simulation si nécessaire.
- La simulation du Trp-cage montre-t-elle une structure stable ?
- Indiquer les déformations éventuelles par rapport à la structure expérimentale.

## B Dépliage du Trp-cage

- Imaginer un protocole pour dénaturer le Trp-cage par dynamique moléculaire et l'implémenter en adaptant les scripts XPLOR. Décrire la procédure suivie.
- Peut-on définir une limite entre l'état replié et l'état déplié ?
- Observe-t-on différentes étapes dans le dépliage ?

## C Repliement du Trp-cage

- Adapter les scripts XPLOR et répéter les premières étapes du A) pour construire un modèle du Trp-cage déplié (remplacer « `folded` » par « `unfolded` ») et le simuler par dynamique moléculaire.
- Mettre au point un protocole pour replier le Trp-cage. Ne pas hésiter à s'inspirer de la littérature. Décrire la stratégie suivie.
- Dans quelle mesure avez-vous réussi à replier la protéine ?
- Observe-t-on des états intermédiaires au cours du repliement ?
- Quelles améliorations pourrait-on apporter au modèle ?