

C2150: Zpracování informací a vizualizace v chemii Program TRITON - cvičení

Cvičení 1: Modelování mutantních proteinů

1. Spusťte program TRITON z okna terminálu:
/home/martinp/bin/triton &
2. Vytvořte složku pro projekty: *Menu: Project / New*, vyberte *Project Folder* a specifikujte jméno projektu, např. *Project1*, adresář zvolte např. *~/tprojects/*
3. Vyberte *Add new Project* (nebo zvolte *Menu: Project / New*) a vyberte *Mutagenesis*
4. *Introduction* – stiskněte *Forward*
5. *Create Project* – specifikujte jméno projektu *Mutation*
6. *Specify Structure* – vyberte *Read structure from a file*, stiskněte tlačítko "..." a vyberte soubor /home/martinp/C2150/structs/DhlA.pdb (jedná se o strukturu enzymu haloalkan dehalognáza)
7. *Specify Mutated Residues* – vyberte *Phe172*
8. *Specify Mutants* – vyberte *Asn, Gln a Lys*
9. *Set MODELLER Parameters* – ponechte implicitní nastavení
10. *Modify MODELLER Top File* – ponechte implicitní nastavení
11. *Finish* – vyberte *Run Calculation Automatically* a stiskněte *Finish*
12. Počkejte na dokončení výpočtu (zpravidla trvá několik minut)
13. V seznamu vybírejte jednotlivé mutanty a prozkoumejte namodelované struktury (záložka *Output Structure*)
14. Do stejného okna načtěte původní strukturu DhlA.pdb a porovnejte rozdíly mezi strukturami
15. Prozkoumejte místo kolem mutovaného residua

Cvičení 2: Modelování enzymatické reakce dehalogenázy

1. Zvolte *Menu: Project / New* a vyberte *Reaction*
2. *Introduction* – stiskněte *Forward*
3. *Specify Type of Reaction* – vyberte *Enzymatic Reaction*
4. *Specify Number of Proteins* – vyberte *Single Protein*
5. *Create Project* – specifikujte jméno projektu např. *Reaction*
6. *Specify Structure* – zvolte *Read structure from a file*, stiskněte tlačítko '...' a vyberte soubor /home/martinp/C2150/structs/DhlA.pdb, vyberte formát *PDB*
7. *Select Substrates and Co-substrates* – v seznamu vyberte 600DCE (kliknutím na položku v seznamu)
8. *Select Cavity* – v seznamu residuí vyberte *Asp124*
9. *Specify Reaction Coordinate* – klikněte na atom kyslíku Asp124 a uhlíku ligandu tak aby byly *Atom1: 1985, Atom2: 2* (případně vyplňte příslušné hodnoty v okně wizardu), *Step: -0.05, Dist: 1.2848* (stačí zmáknout tlačítko *Default*)
10. *Select Fixed Atoms* – stiskněte tlačítko *Select Backb.* (označí atomy peptidické páteře)
11. *Set MOPAC Parameters* – nastavte total charge na hodnotu *-1*
12. *Finish* – vyberte *Run Calculation Automatically* a stiskněte *Finish*
13. Výpočet bude ukončen přibližně do 2 minut, ještě před ukončením výpočtu lze zobrazit průběžné výsledky.
14. Vyberte záložku *Output Structures* a prohlédněte si výsledky výpočtu
15. Prozkoumejte graf energií. V grafu elektrostatických interakcí (*Menu: Reaction / Electrostatics Progress Graph*) sledujte změny náboje a elektrostatických interakcí v průběhu reakce
16. Vyzkoušejte stejný výpočet, navíc zahrňte do kavity Trp125
17. Prohlédněte si výpočty systémů zahrnujících více aminokyselin aktivního centra v tutorialu (*Menu: Help/ Tutorial* nebo otevřete projekt /home/martinp/triton/tutorial/TUTORIAL.prj. Prohlédněte si příklady EXAMPLE2, EXAMPLE3, EXAMPLE4.

Cvičení 3: **Dokování monosacharidu (methyl-alpha-L-fukózy) do lektinu (PA-IIL)**

1. Zvolte *Menu: Project / New* a vyberte *Docking*
2. *Introduction* – stiskněte *Forward*
3. *Create Project* – specifikujte jméno projektu např. *Dockfucose*
4. *Specify AutoDock version* – zvolte verzi 3.0
5. *Specify Macromolecule* – zvolte *Read structure from a file*, stiskněte tlačítko '...' a vyberte soubor */home/martinp/C2150/structs/PAIILdimer_prot.pdb*, vyberte formát *PDB*
6. *Macromolecule: Remove Superfluous molecules* – žádná akce
7. *Macromolecule: Add Hydrogens* – žádná akce
8. *Macromolecule: Add Charges* – stiskněte tlačítko *Set Charges* a specifikujte *Amber ff84 – united atoms*, pak stiskněte tlačítko *Merge Non-polar H*
9. *Macromolecule: Add Solvation Parameters* – stiskněte tlačítko *Set Solvat. Parameters*; v seznamu vyhledejte residua *301CA* a *302CA* (na konci seznamu residuí) a manuálně specifikujte následující parametry (použijte tlačítko *Set Atom Parameters*): *1.71* a *0.46*
10. *Macromolecule: Set Unsupported Elements* – v sekci *Parameters for element M* vyberte v políčku *By element* ze seznamu položku *Element Ca*.
11. *Set Grid Box* – specifikujte pozici boxu XYZ (28.8, 18.5, 58.4), velikost boxu (40, 40, 40) a spacing (0.375 Å)
12. *Specify Ligand* zvolte *Read structure from a file*, stiskněte tlačítko '...' a vyberte soubor */home/martinp/C2150/structs/alfucose_prot.pdb*, vyberte formát *PDB*
13. *Ligand: Add Hydrogens* – žádná akce
14. *Ligand: Add Charges* – stiskněte tlačítko *Gasteiger Charges*. V dialogovém okně stiskněte tlačítko *Calc Gasteiger Charges*. Označte volby *Set Hybridization Automatically* a *Set Formal Charge Automatically*, stiskněte *OK*. Zavřete okno *Gasteiger Charges* a v okně wizardu stiskněte *Merge Non-polar H*.
15. *Ligand: Define Aromatic Atoms* – žádná akce
16. *Ligand: Set Rigid Root* – ponechte implicitní nastavení
17. *Ligand: Set Rotatable Bonds* – aktivujte všechny vazby tlačítkem *(Un)activate All*
18. *Set Docking Algorithm* – vyberte *GALS*, nastavte *Number of Runs* na *10*
19. *Set AutoDock parameters* – ponechte implicitní nastavení
20. *Finish* – vyberte *Run Calculation Automatically* a stiskněte *Finish*
21. Výpočet bude ukončen přibližně do 2 minut
22. Vyberte záložku *Output Data* a prohlédněte si výsledky výpočtu
23. Vyzkoušejte afinitní mapy *Menu: Show Affinity Maps*

Ze všech tří cvičení sejměte obrázek z obrazovky (pomocí klávesy Print Screen) na kterém bude zobrazena vizualizace výstupních dat. Obrázek uložte do souboru a ten vložte do odevzdávacího předmětu.