

Assessment of the use of NMR chemical shifts as replica-averaged structural restraints in MD simulations to characterize the dynamics of proteins

Résumé

L'article propose d'utiliser les déplacements chimiques (voir review) directement comme restrainte « replica-averaged » dans le cadre de simulation de dynamique moléculaire. La méthode fournit un modèle qui est ensuite validée par des données expérimentales en l'appliquant à la ribonucléase A. En moyenne, la dynamique moléculaire avec ce type de restrainte fournit de meilleurs résultats que dans le cas d'une simulation MD classique à partir de structure RX.

Introduction

Les déplacements chimiques contiennent, en principe, l'information structurale et dynamique des molécules observées. Qu'est-ce qu'on a comme signal d'une expérience RMN ? Des déplacements chimiques principalement. Ce qui constitue les déplacements chimiques expérimentaux.

Comment reproduire ces données expérimentales à partir de structure définie, typiquement statique ? En réalisant plusieurs simulations de dynamique moléculaire, et en calculant le delta (j'utiliserai delta pour déplacement chimique) moyen de toutes ces simulations, on obtient un delta calculé. Normalement delta calculé devrait être égal à delta expérimental. Cependant le champ de force utilisé en dynamique moléculaire n'est pas parfait, et des différences entre les deux deltas peuvent être observées.

Pour résoudre ceci, et donc *in fine* produire un set de paramètres (en d'autres mots, un modèle) qui reproduit le comportement hautement dynamique de la protéine, deux solutions sont possibles, mais se basent sur la même approche : prendre en compte les déplacements chimiques expérimentaux dans les paramètres. La première approche est implicite, on ajuste les paramètres des termes déjà présents dans le champ de force (le potentiel semi-empirique) pour mieux mimer les deltas expérimentaux. La deuxième est explicite, et rajoute un terme dans la fonction d'énergie ajoutant explicitement une restrainte (restrained MD) prenant en compte, à chaque pas de temps la différence entre le delta calculé et le delta expérimental. On « guide » l'exploration de l'espace des conformations grâce aux déplacements chimiques expérimentaux.

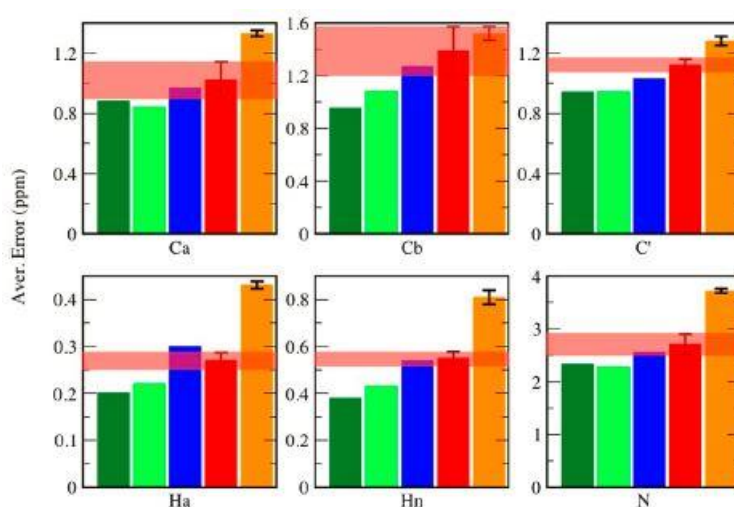
Les biais de cette approche explicite sont au nombre de deux. Le premier est l'incertitude dans la méthode de détermination du déplacement chimique. Le deuxième concerne un problème inhérent aux zones hautement désordonnées, hautement dynamique, caractérisée par des transitions d'états rapides. Plusieurs sous-états sont explorés durant le temps d'échantillonnage de la RMN, et le signal présentent une moyenne des deux. Autrement dit, les déplacements chimiques sont moyennés, et la qualité de la mesure s'en ressent. (Temps d'excitation/relaxation de la RMN > temps de transition d'un état à l'autre)

Le but de cet article est de comparer cette approche prenant en compte les déplacements chimiques à celle ne prenant pas en compte les déplacements chimiques. Pratiquement, ils réalisent 4 ensembles à partir de toutes les structures de la RNase A uniquement. Le premier consiste juste en la structure

PDB de toutes ces structures, le second ensemble (mPDB) correspond à la structure PDB dont l'énergie a été minimisée pour éviter les clashes stériques notamment. Le troisième ensemble d'une structure RX et réalise une MD classique, sans prise en compte des déplacements chimiques. (MD) Le quatrième ensemble réalise de 4 simulations en parallèle, en calculant à chaque pas de temps le déplacement chimique moyen des 4 simulations (replica-averaged chemical shift). (rMD)

Un des principal "reproche" souligné par le prof est que la méthode n'est testée que sur la RNase, et pas sur d'autres types de protéines. On pourrait donc penser que la méthode marche spécifiquement bien avec la RNase de bovin, mais n'est pas extensible à d'autres types de protéines !!

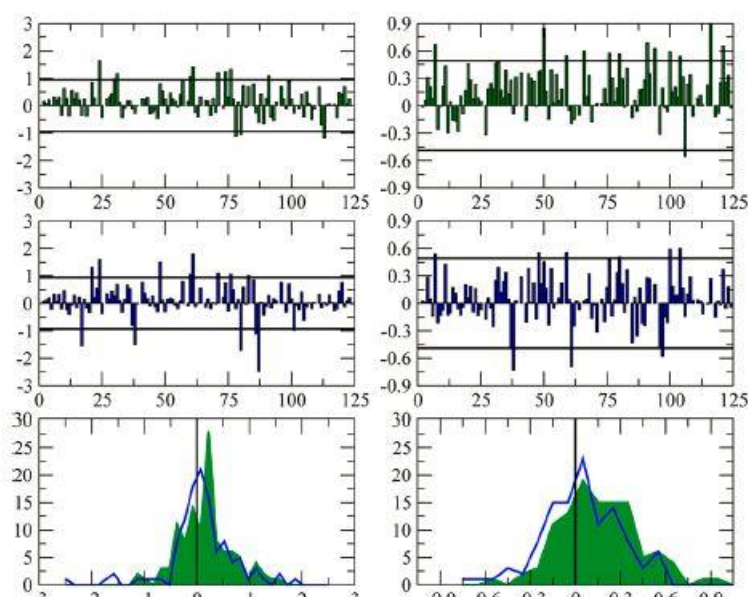
Résultats



L'erreur moyenne (delta calculé-delta expérimental) est représentée sur cette figure, pour PDB (jaune), mPDB (rouge), MD (bleu) et rMD (les deux verts). La bande rouge représente l'erreur standard de mesure pour les déplacements chimiques de mPDB. On remarque que l'erreur moyenne, sur les déplacements chimiques de tous les atomes est moins élevée pour rMD. Une des principales critiques du prof est dans l'utilisation de l'erreur moyenne, ce qui est compréhensible facilement avec ce petit tableau :

Type de noyau	rMD	Erreur = rMD-Expé	Expérimental	Erreur = MD-Expé	MD
H A10	4.23	0.02	4.25	0.05	4.3
H P4	4.54	0.01	4.55	0.05	4.5
H T5	4.7	0.1	4.6	0.05	4.55
		Moyenne : 0,0423		Moyenne : 0,05	

L'erreur moyenne favoriserait la rMD (erreur moyenne inférieure) alors qu'une analyse plus détaillée montre que la MD est plus fiable par rapport aux valeurs expérimentales quand l'analyse est menée au cas par cas (HA10 correspond au delta de l'hydrogène du carbone alpha de l'alanine en position 10)



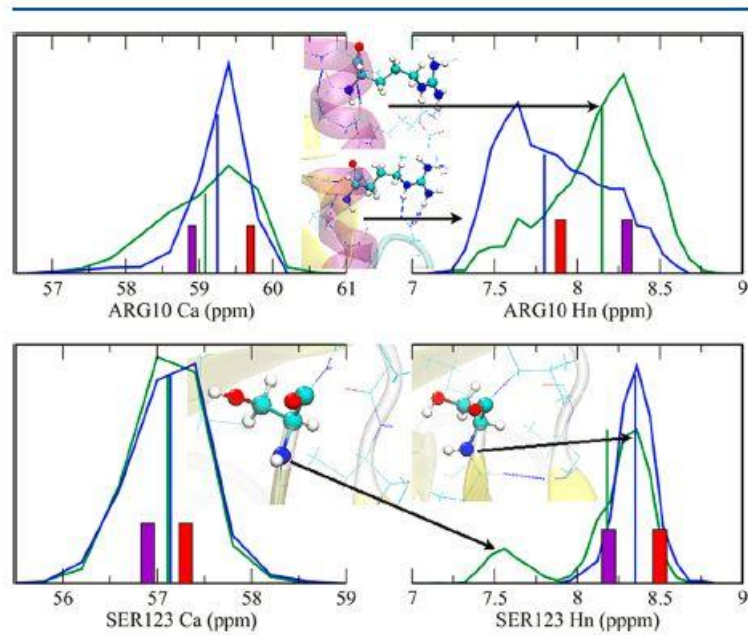
Cette deuxième figure montre globalement l'influence du biais créé par l'imperfection du potentiel semi-empirique utilisé sur la méthode MD (bleu) ou rMD (vert). Les barres noires représentent la limite significative, inhérente à la mesure du potentiel chimique, au-dessus/en-dessous c'est significatif. A gauche/droite, la figure présente les mesures moyennes pour les hydrogènes/azote, pour chaque résidu. Une mesure > 0 correspond à une corrélation plus forte des déplacements chimiques de la méthode considérée avec ceux de la structure expérimentale.

Explication supplémentaire optionnelle : Pour calculer la valeur des pics, on fait :

$$|(\delta_{RX}) - (\delta_{exp})| - |(\delta_{modèle}) - \delta_{exp}|$$

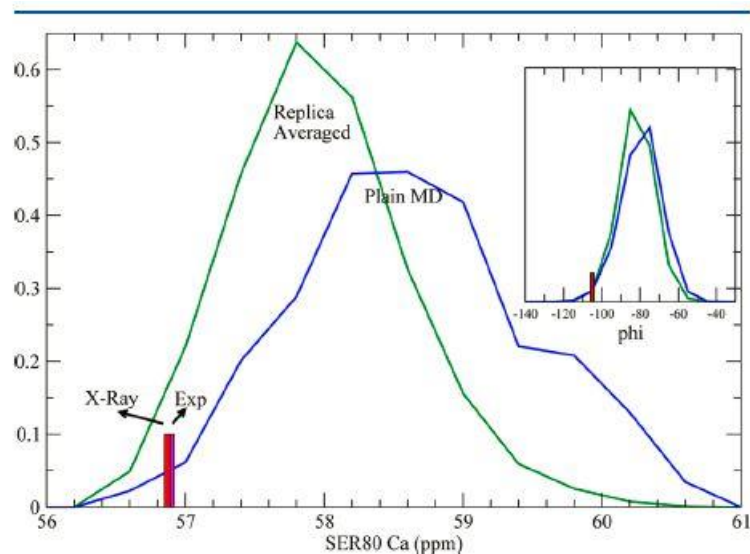
La raison pour laquelle la valeur absolue ($\delta_{modèle} - \delta_{exp}$) est soustraite à ($\delta_{RX} - \delta_{exp}$) pour le calcul est expliquée plus tard. (lire troisième et quatrième graphe)

Par colonne, le graphe tout en bas montre la distribution des valeurs des deux graphes au-dessus. On remarque une moyenne de corrélation positive pour rMD et =0 pour MD. rMD diminue le biais créé par le potentiel



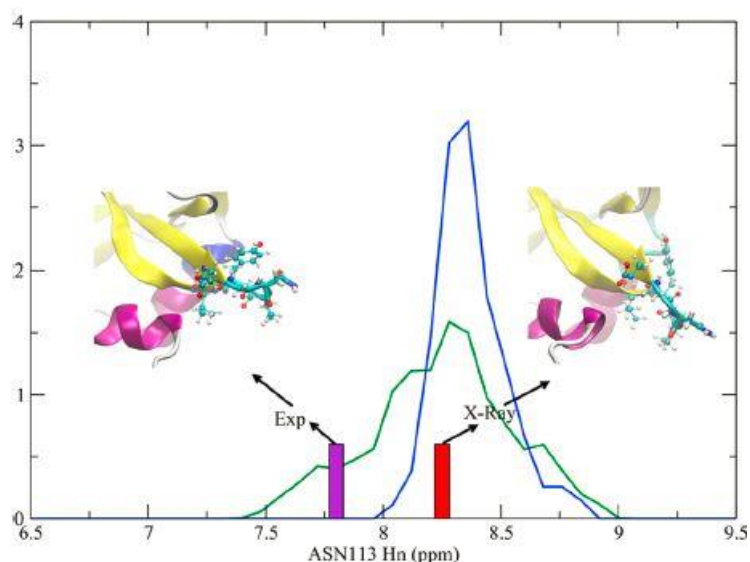
Cette troisième figure montre la distribution (pour n simulations MD en bleu et rMD en vert) des déplacements chimiques pour les atomes C alpha et H associé. Les barres représentent le déplacement chimique de RX (rouge) et expérimental. (Mauve) Pour ces deux résidus spécifiquement (donc pas forcément applicable à l'ensemble) rMD s'en sort mieux que MD. La moyenne des distributions est mieux alignée sur les barres de delta expérimental.

L'écart entre les deux barres est dû au fait que la RX représente 1 structure figée! Si il a deux conformères proches, en termes de stabilité thermodynamique, switchant dynamiquement l'un avec l'autre, la RX ne verra que le majoritaire, tandis que l'expérience sera une moyenne du majoritaire et du minoritaire. Pour l'arginine, on voit que le MD ne mime pas bien cette moyenne de delta, et que rMD y arrive mieux. Pour la sérine, on voit la distribution bimodale caractéristique d'une transition qui par sa vitesse supérieur au temps d'excitation de la RMN est observable par cette spectroscopie.

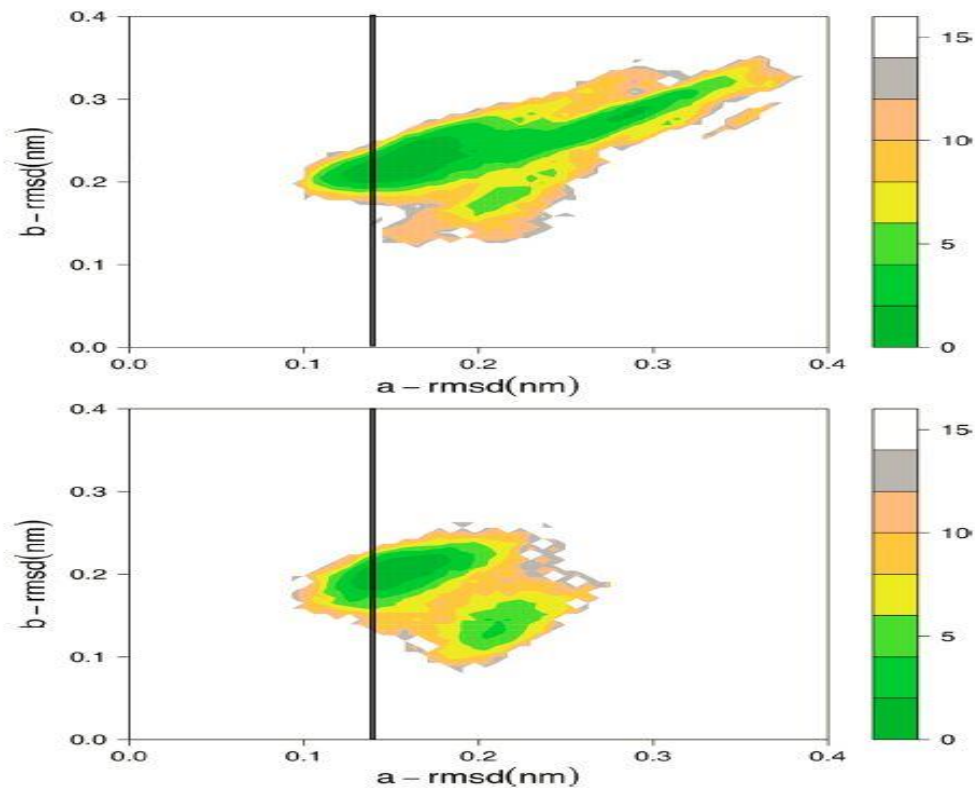


La quatrième figure présente un résidu à corrélation négative (voir deuxième graphe) On voit que la corrélation est moins négative pour rMD que pour MD, rMD diminue l'influence du champ de force.

Explication supplémentaire optionnelle : De plus, on comprend la remarque sur le calcul de la corrélation énoncée dans la description du graphe 2. Si on soustrait l'écart ($\Delta_{\text{modèle}} - \Delta_{\text{expé}}$) à ($\Delta_{\text{RX}} - \Delta_{\text{expé}}$), c'est pour éviter de tenir compte du phénomène expliqué dans la description de la troisième figure qui discriminerait MD par rapport à rMD vis-à-vis de la corrélation. Si ($\Delta_{\text{RX}} - \Delta_{\text{expé}}$) est grand, ça veut dire qu'il y a plusieurs conformères proches l'un de l'autre niveau stabilité. Il faudra une valeur très grande de ($\Delta_{\text{modèle}} - \Delta_{\text{expé}}$) pour passer en corrélation négative.



Cette avant-dernière figure (promis !) montre un résidu pour laquelle les deux méthodes se chient dessus, c'est inhérent à la MD et ça montre l'honnêteté intellectuelle des auteurs, qui montre aussi les résultats négatifs. Le biais du champ de force est trop fort, ou bien le temps d'observation des états par MD est trop faible pour voir la transition (lente) entre les deux états, dont on se doute de l'existence vu la différence des deltas expérimentaux et RX. (Voir explication graphe 3)



Cette dernière figure s'intéresse aux propriétés dynamiques globales de la RNase. On sait qu'elle possède deux conformères principaux A et B, dont leur distance (rmsd) avec la structure RX est inférieure à 1,5 Angström. En abscisse, c'est la différence entre A et RX et en ordonnée c'est la différence entre B et RX. Il s'agit d'une «energy landscape », en gros les puits d'énergie correspondant aux conformations les plus stables. (voir figure supplémentaire, avec bleu au lieu du vert pour l'énergie) On voit que les deux puits sont plus connectés et représentent une plus grande portion de l'espace dans le cas de rMD (haut) par rapport à MD. (bas) On peut en conclure que la rMD présente une meilleure vue de la dynamique que la MD.

De plus, des données expérimentales supplémentaires montrent que le conformères mineur est représenté à 5%. L'analyse (non-représentée) de ce graphe montre que la méthode rMD arrive à une valeur de 6%, contre 22% pour la MD. La rMD mime donc mieux les données expérimentales.

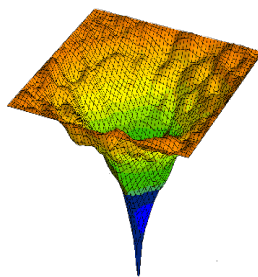


Figure 1 figure supplémentaire

Conclusion

- 1) rMD présente une description correcte des phénomènes dynamiques dans les protéines, par meilleure mimique des données expérimentales. Le déplacement chimique améliore donc la description des fluctuations conformationnelles de la MD.
- 2) Les données RMN sont mieux reproduites par une moyenne d'un ensemble de structures couvrant une grande partie de l'espace conformationnel (N fois 4 simulations en parallèle sur toutes les structures pour rMD) que par une structure minimisée. (N fois 1 simulation RX sur une structure pour MD)