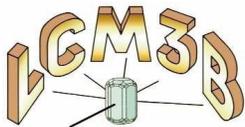


# Application des méthodes d'analyse de densité de charge aux macromolécules biologiques

Benoît Guillot

LCM<sup>3</sup>B



## Modèles adaptés aux données expérimentales

$d > 2 \text{ \AA}$  →

- Agitation thermique isotrope
- Modèle sphérique de densité électronique atomique: modèle **IAM**

$d \cong 1 \text{ \AA}$  →

- Agitation thermique **anisotrope**
- Modèle IAM

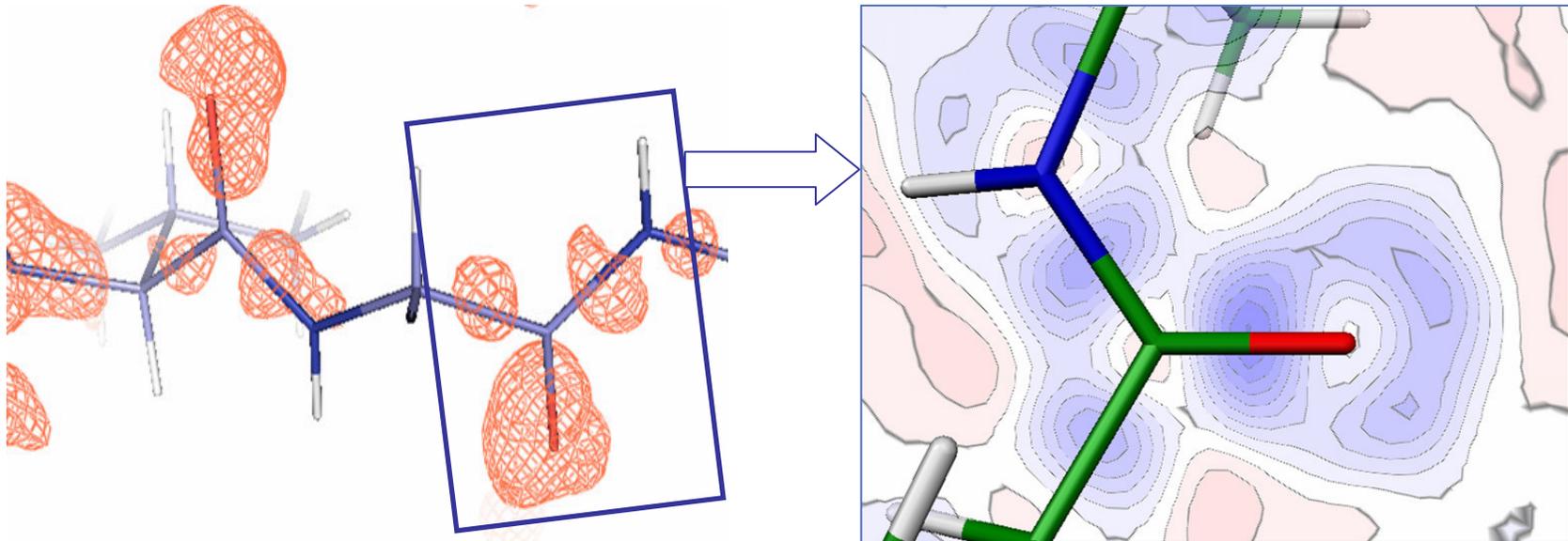
$d < 1 \text{ \AA}$  →

- Agitation thermique **anisotrope**
- Localisation des protons
- Affinement non restreint
- Subatomique : Observation de la densité électronique de déformation :  
**Modèle sphérique insuffisant !**

# Qu'observe-t-on en fin d'affinement IAM contre des données de résolution subatomique?

Forts pics de densité électronique résiduelle

*Densité électronique de déformation*



0.62Å RD1 antifreeze protein (Ko et. Al. 2003). Val5-Val6  $3\sigma$  cutoff

**Déformation du nuage électronique**

Liaisons chimiques, interactions ...

# La densité électronique de déformation

## Quand peut-on l'observer ?

- Résolution subatomique (meilleure que  $0.8 - 0.7 \text{ \AA}$ )
- Faible agitation thermique (pas plus que  $7-8 \text{ \AA}^2$ )

## Pourquoi en tenir compte ?

- Pour modéliser toute l'information expérimentale significative
- Pour réduire le biais sur les paramètres structuraux (essentiellement sur l'agitation thermique)
- Pour en extraire des informations supplémentaires :
  - **propriétés dérivées de la densité électronique**

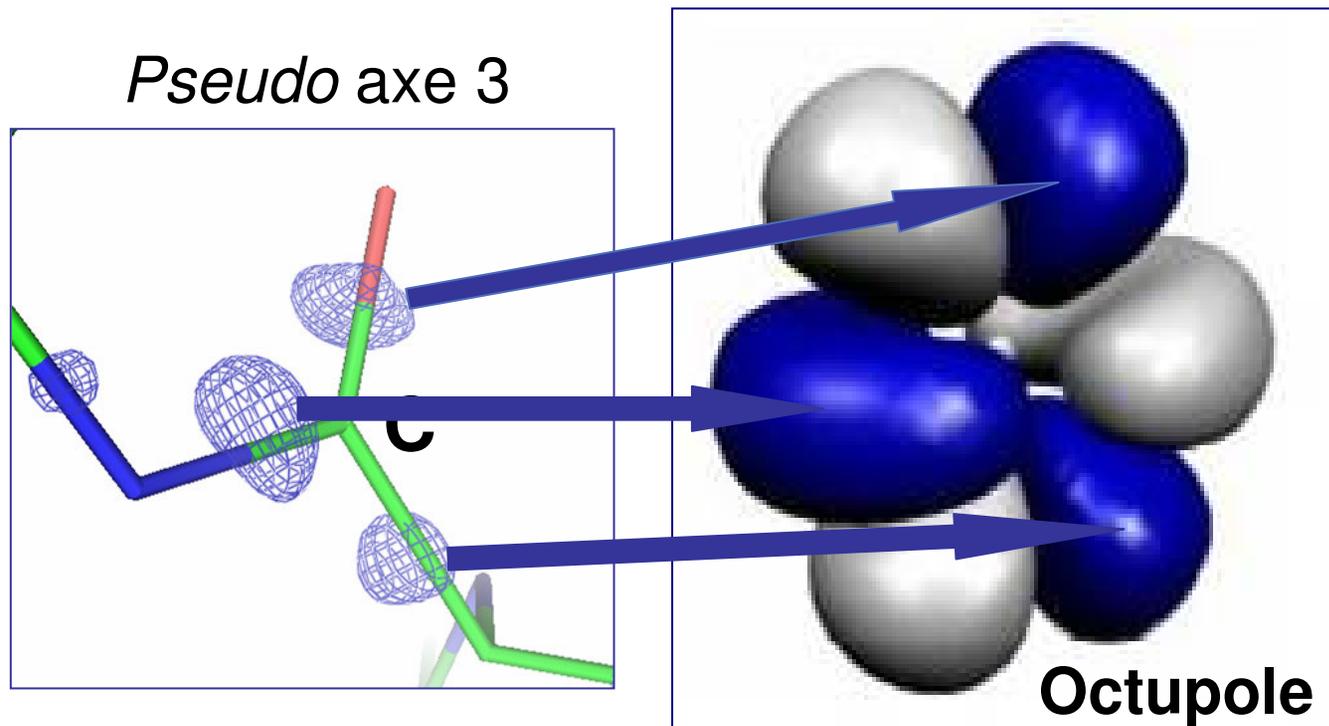
# Le modèle multipolaire de densité électronique atomique :

Modèle de Hansen&Coppens (*Acta Cryst A*34, 1978)

$$\rho(r) = \rho^s_c(r) + \kappa^3 P_v \rho^s_v(\kappa \cdot r) +$$

$$\sum_{l=0, l_{\max}} \kappa'^3 R_l(\kappa' \cdot r) \sum_{m=\pm l} P_{lm} Y_{lm}(\theta, \phi)$$

Exemple :  
atome C sp<sup>2</sup>



## Propriétés dérivées de la densité électronique

- **Charges atomiques :**

Par affinement du paramètre de population de valence  $\mathbf{P}_v$

- **Moments d'ordres supérieurs :**

Dipôles ou quadripôles atomiques, ou de fragments moléculaires

- **Potentiel électrostatique :**

$$V(r) = V_{\text{core}}(r) + V_{\text{val}}(r) + \Delta V(r)$$

- **Partitionnement de la densité électronique :**

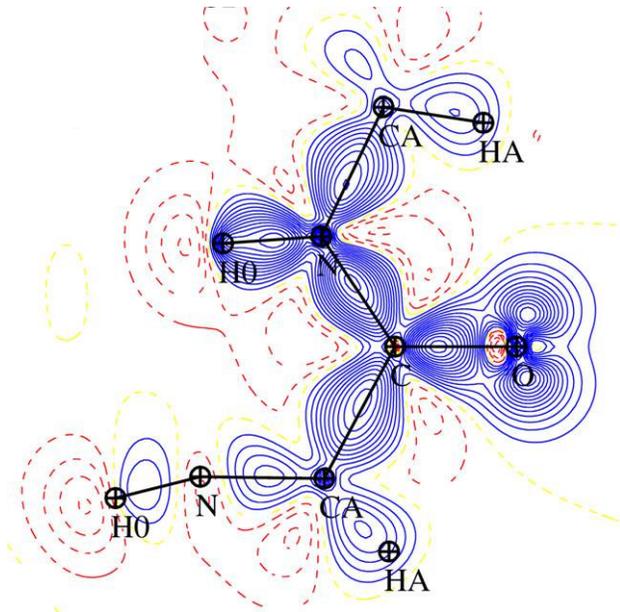
Points critiques, topologie de la densité électronique

# Librairie ELMAM “*Experimental Library of multipolar atom model*”

Zarychta *et al.* (2007) Acta Cryst **A63**

Décrit la densité électronique de déformation moyenne des fonctions chimiques des protéines.

Densité de charge  
d'acides aminés  
isolés et de peptides



Définition de types d'atomes :

Basé sur l'espèce chimique, le voisinage atomique, l'hybridation de l'atome..

Moyenne des paramètres multipolaires de  
chaque type d'atome

Reconstruction des fonctions chimiques des  
protéines sur la base des types d'atomes

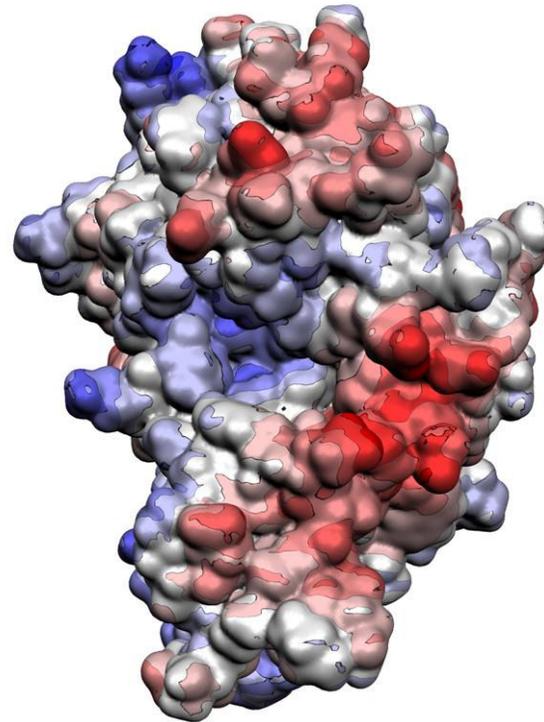
**Librairie ELMAM**

## Librairie ELMAM

Paramètres moyens décrivant la densité électronique de déformation des fonctions chimiques des protéines.

**Transférable vers une structure de protéine.**

- Paramètres initiaux pour l'affinement multipolaire
- Permet le calcul direct des propriétés électrostatiques



Avec une description de la densité de charge plus précise que le modèle de charges ponctuelles

# La suite de logiciels MoPro & VMoPro

B. Guillot, *et al. J. Appl. Cryst.* (2001), **34**, 214.

C. Jelsch, *et al. J. Appl. Cryst.* (2005), **38**, 38.

<http://www.lcm3b.uhp-nancy.fr/emqc/>

## Affinement structural et multipolaire (modèles IAM et Hansen & Coppens) Des petites molécules aux macromolécules biologiques

MoPro & VMoPro implémentent :

### Méthodes du domaine de la bio-cristallographie :

- gradients conjugués
- approximation de la matrice creuse
- restrictions d'agitation thermique et de stereo-chimie

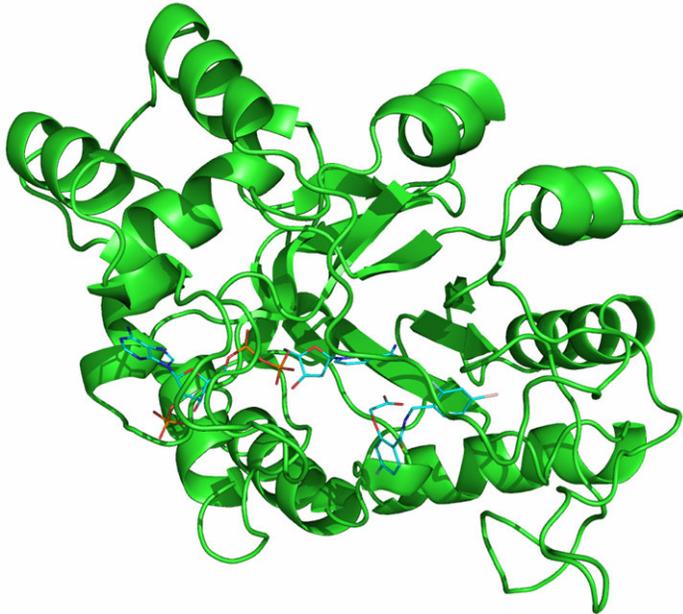
### - Méthodes d'analyse de densité de charge :

- contraintes et restrictions sur la densité électronique
- gestion de stratégies d'affinement (interface graphique)
- calculs de propriétés & analyse topologique (VMoPro)

## Stratégie :

- Amélioration de la densité électronique de déformation résiduelle  
→ Affinement grand angles
- Transfert des paramètres multipolaires (bibliothèque ELMAM)
- Affinement structural
- Affinement contraint des paramètres de densité électronique

# Application à l'Aldose Reductase Humaine (hAR)

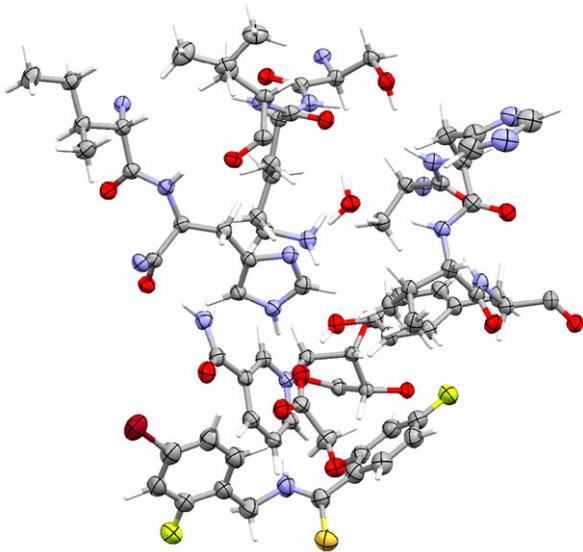


**Résolution : 0.66 Å**

Impliqué dans les complications du diabète;  
des inhibiteurs en phase d'essais cliniques

Complexe de 6700 atomes (1/3 désordonnés):

- Enzyme
- 500 molécules d'eau
- cofacteur NADP<sup>+</sup>
- inhibiteur



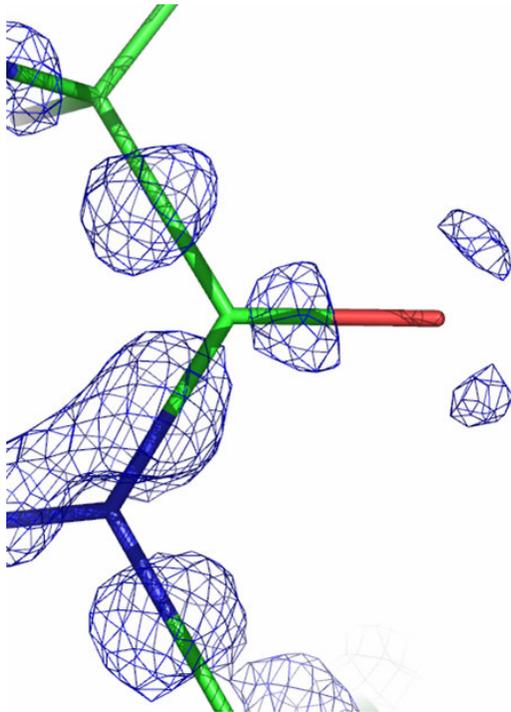
**Facteurs B moyens :**

Chaîne principale = 5.4 Å<sup>2</sup>

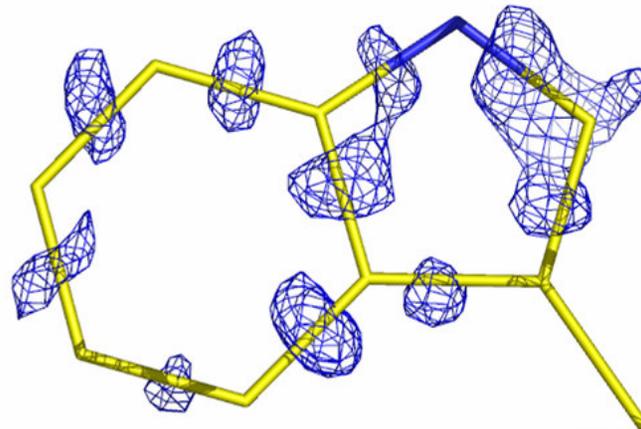
Chaînes latérales = 6.9 Å<sup>2</sup>

## Densité électronique de déformation résiduelle (fin d'affinement IAM)

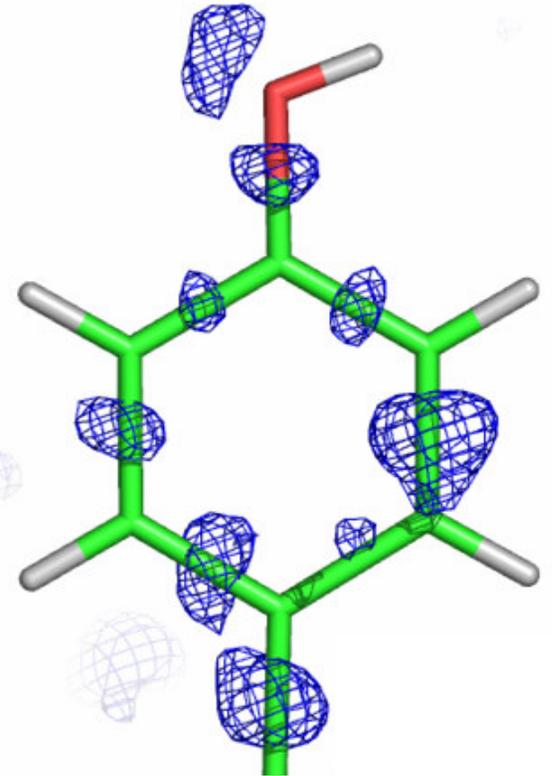
Largement visible sur les régions **les plus ordonnées**



Peptide 260-261  
 $0.23 \text{ e}/\text{\AA}^3$



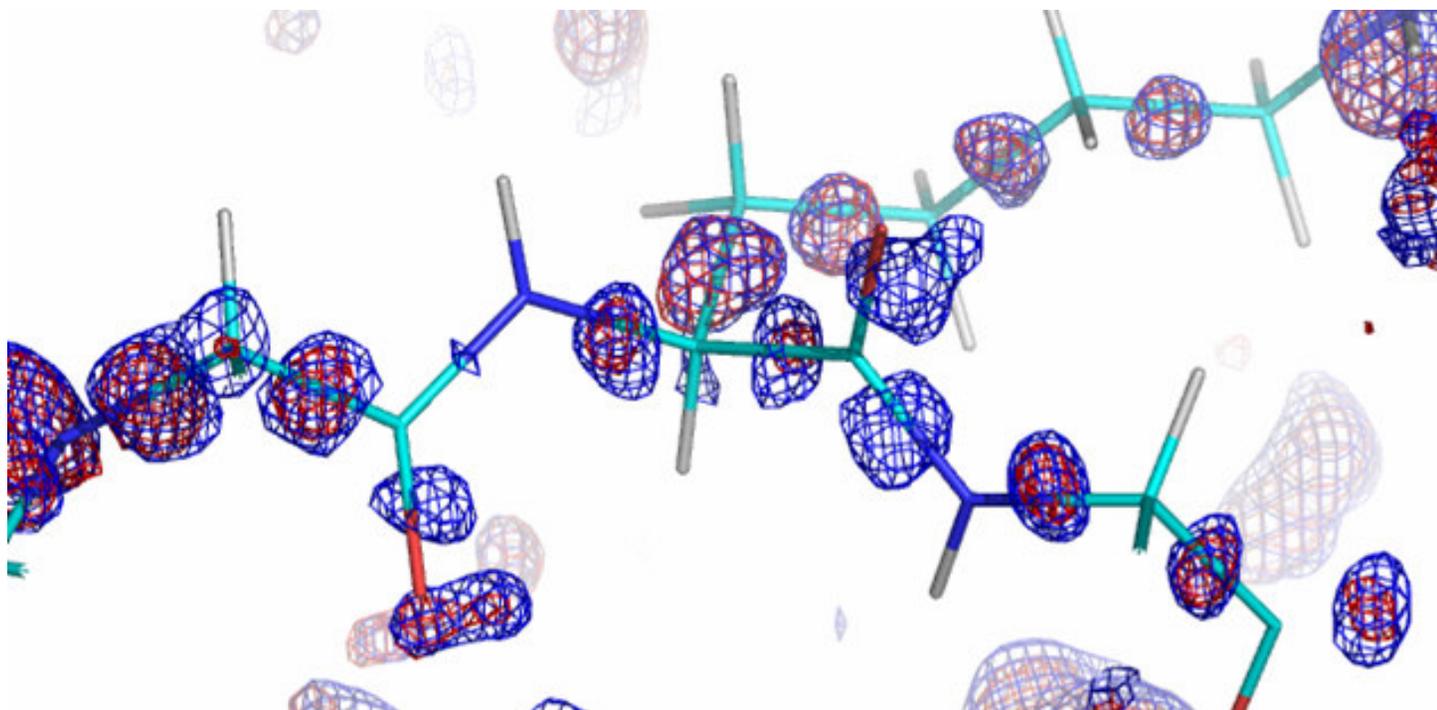
Trp79  
 $0.25 \text{ e}/\text{\AA}^3$



Tyr48  
 $0.3 \text{ e}/\text{\AA}^3$

→ Sélection d'une région de la structure

Affinement grands angles → Nette amélioration de la densité électronique résiduelle



Region Lys262 – Pro263

cutoff 0.15 e/Å<sup>3</sup>

## Transfert des paramètres multipolaires de la librairie ELMAM vers hAR

Sur les régions ordonnées de la structure  
uniquement les populations de valence sur les parties désordonnées

**Après transfert :** affinement des paramètres structuraux

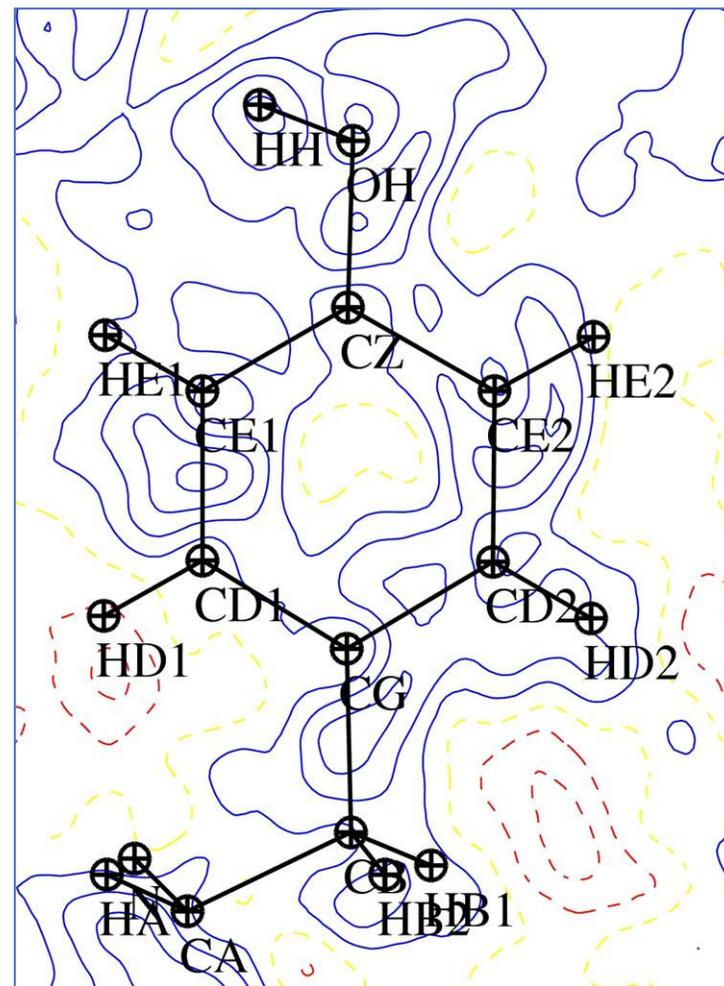
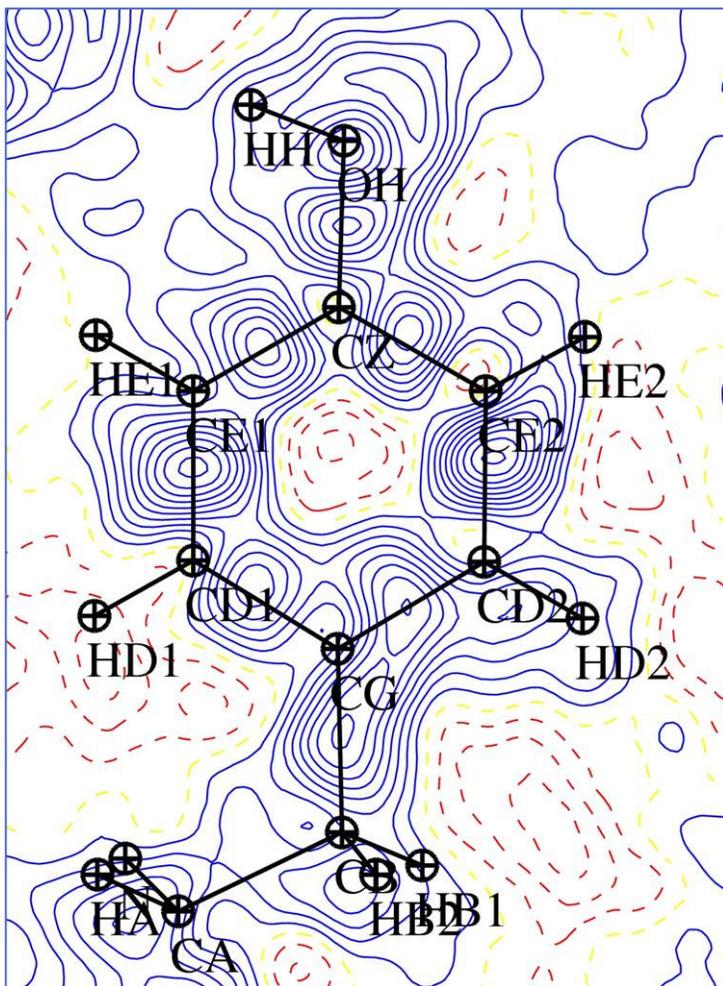
### Facteurs d'accord :

	Initial	Transfert	$x,y,z U_{ij}$	Multipôles
R(F) (%)	9.26	9.05	8.80	8.74
R <sub>free</sub> (F)	9.59	9.40	9.29	9.21

### Affinement contraint de la densité de charge :

- Contraintes de symétries → paramètres ELMAM
- Contraintes d'équivalence → répétition de motifs chimiques équivalents

# Densité électronique résiduelle



## Effet sur les paramètres d'agitation thermique

Diminution des facteurs  $B_{eq}$

$\langle B_{eq} \rangle$ ( $\text{\AA}^2$ ) $\langle \text{Rigid bonds} \rangle$	IAM	Multipolaire
Idd594	4.18 0.0014	4.01 0.0015
Tyr48	2.92 0.0009	2.88 0.0011
His110	2.73 0.0008	2.68 0.0012
Asp43	2.72 0.0010	2.67 0.0010

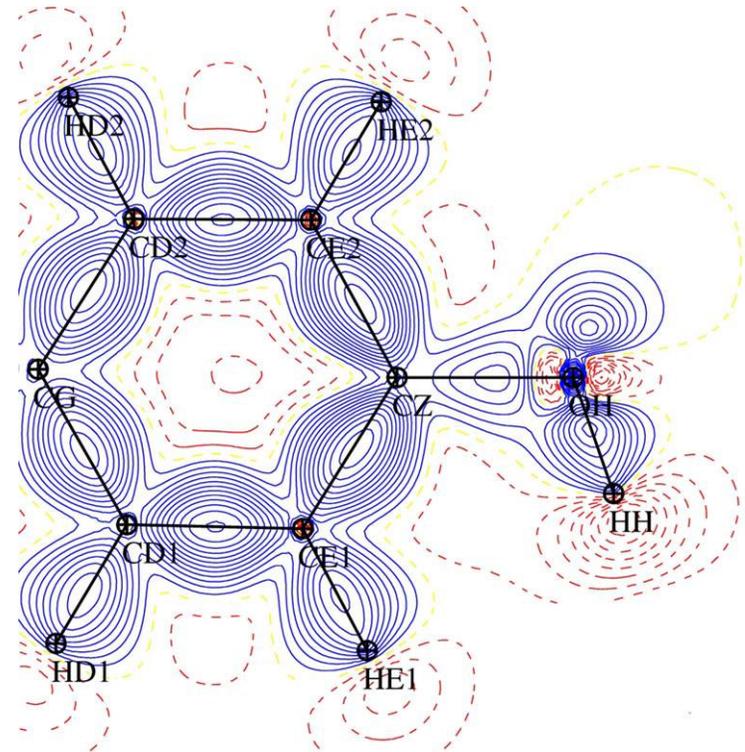
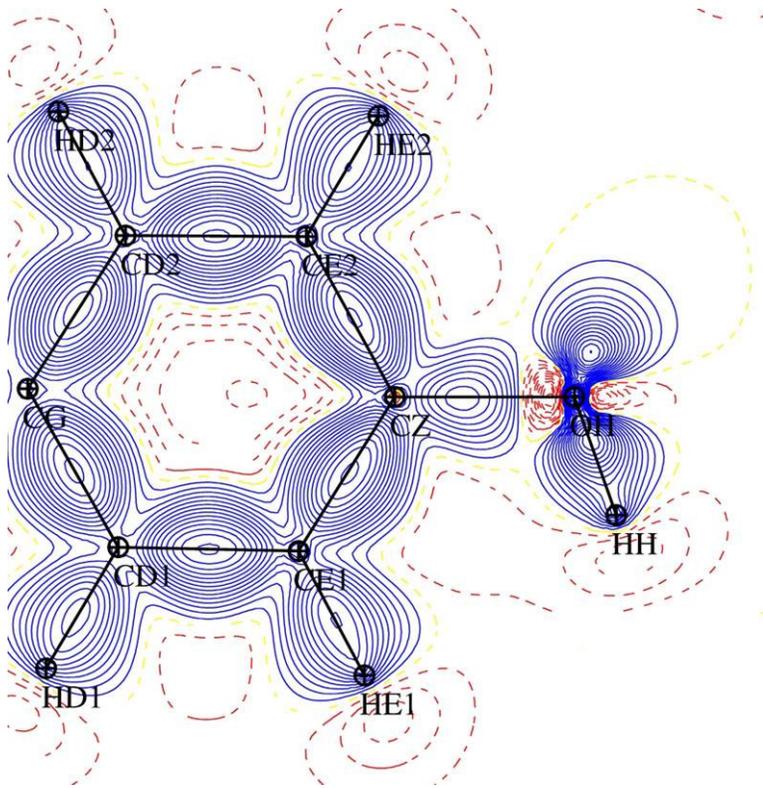
### Test de *rigid bonds*

IAM restraint	$\langle dZ \rangle = 0.0023 \text{\AA}^2$
Après multipolaire	$\langle dZ \rangle = 0.0030 \text{\AA}^2$

## Résultat de l'affinement contraint

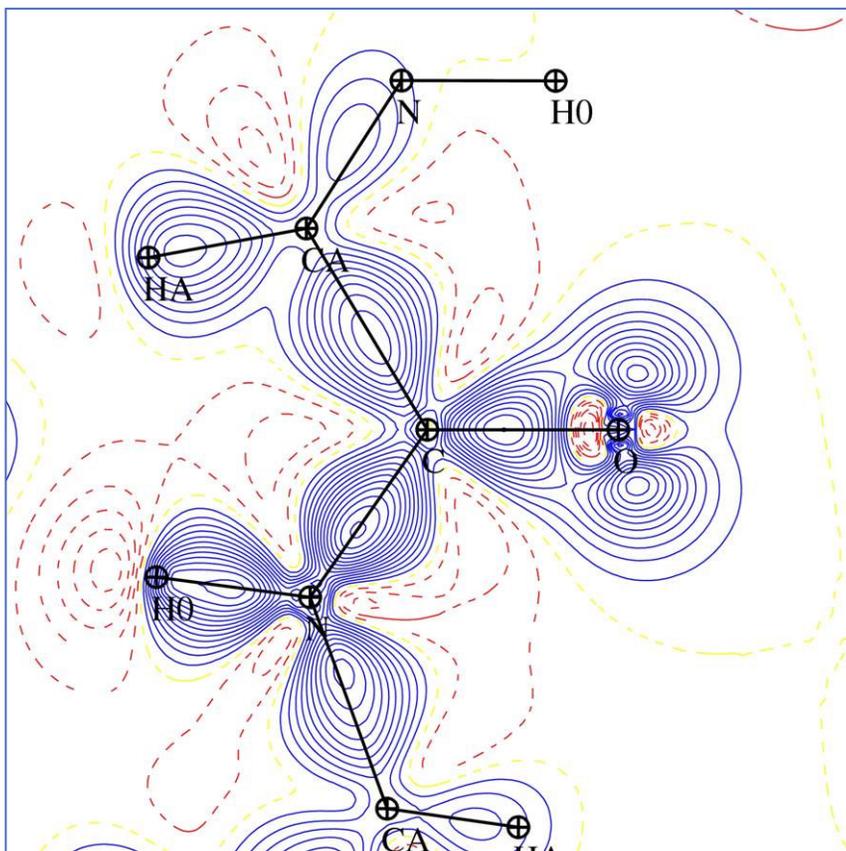
Contraintes basées sur les définitions atomiques de la librairie ELMAM  
→ Affinement de chaque type d'atome

## Atténuation de la densité de déformation statique



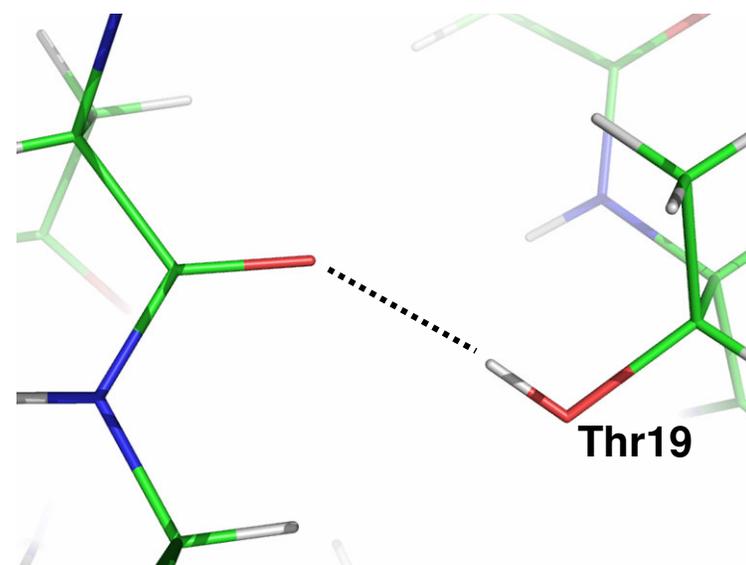
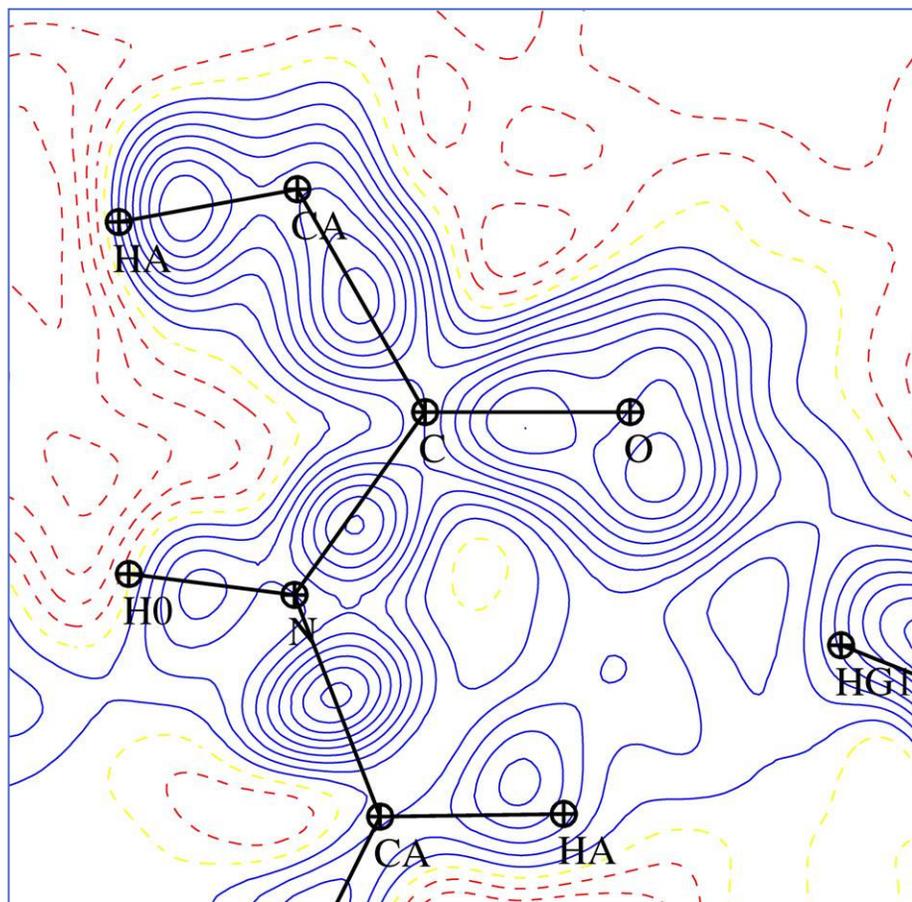
## Résultat de l'affinement contraint

### Populations de valence



	ELMAM	Affinement après transfer	Pval moyens
C $\alpha$	4.12	4.09(2)	4.18 (4)
C	3.89	3.94(2)	4.00 (5)
O	6.31	6.28(2)	6.28 (2)
N	5.32	5.23(2)	5.17 (2)
H $\alpha$	0.81	0.89(3)	0.85 (2)
H0	0.69	0.71(3)	0.70 (2)

## Densité électronique de déformation dynamique

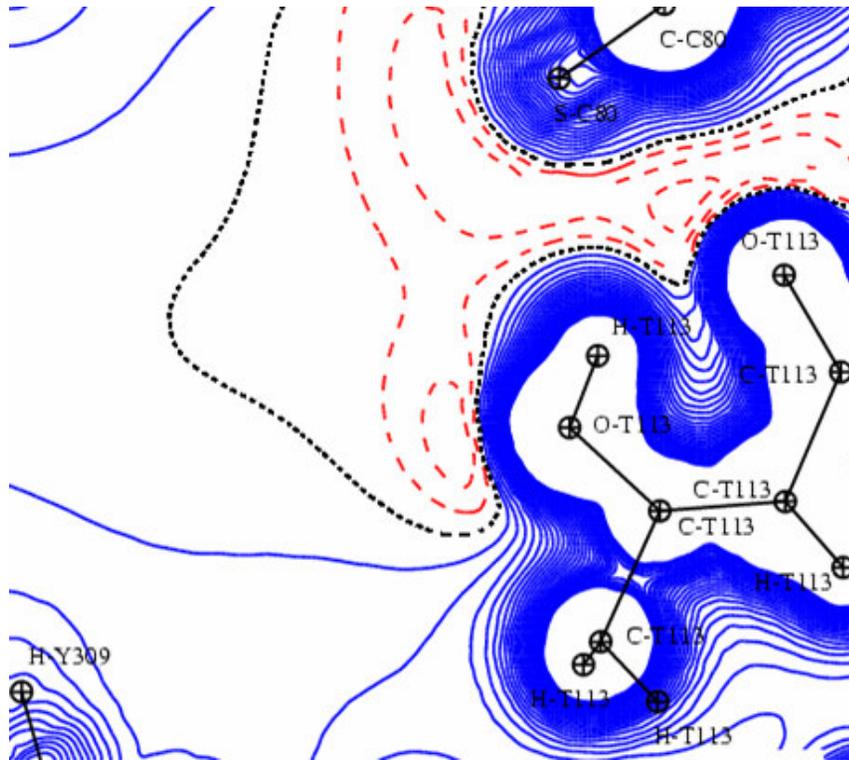


Liaison hydrogène unique C=O ... HG1

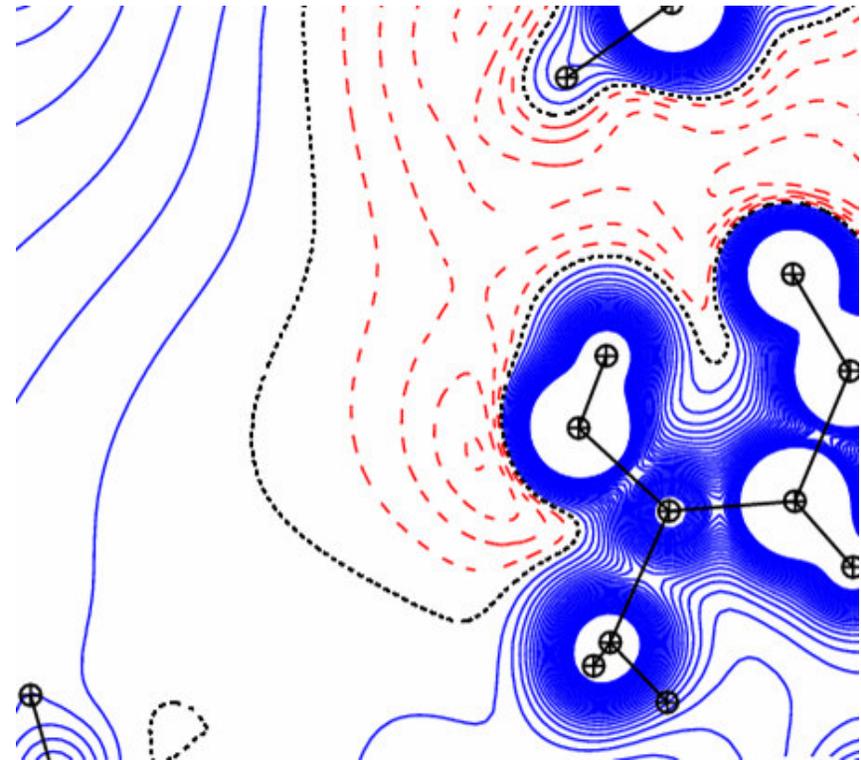
Interaction peptide Asp43\_Cys44 – Thr19

## Calcul du potentiel électrostatique dans le site actif

Groupement hydroxyl de Thr113 fixant l'inhibiteur



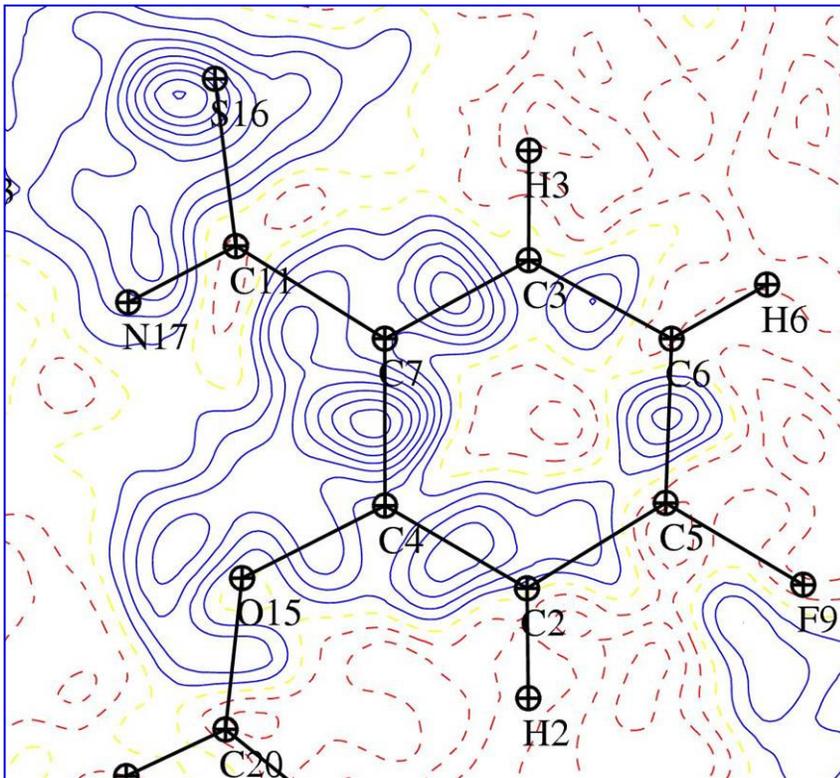
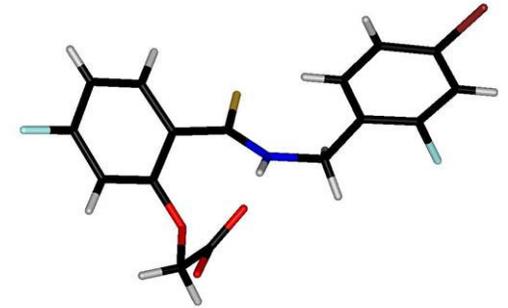
**Experimental**



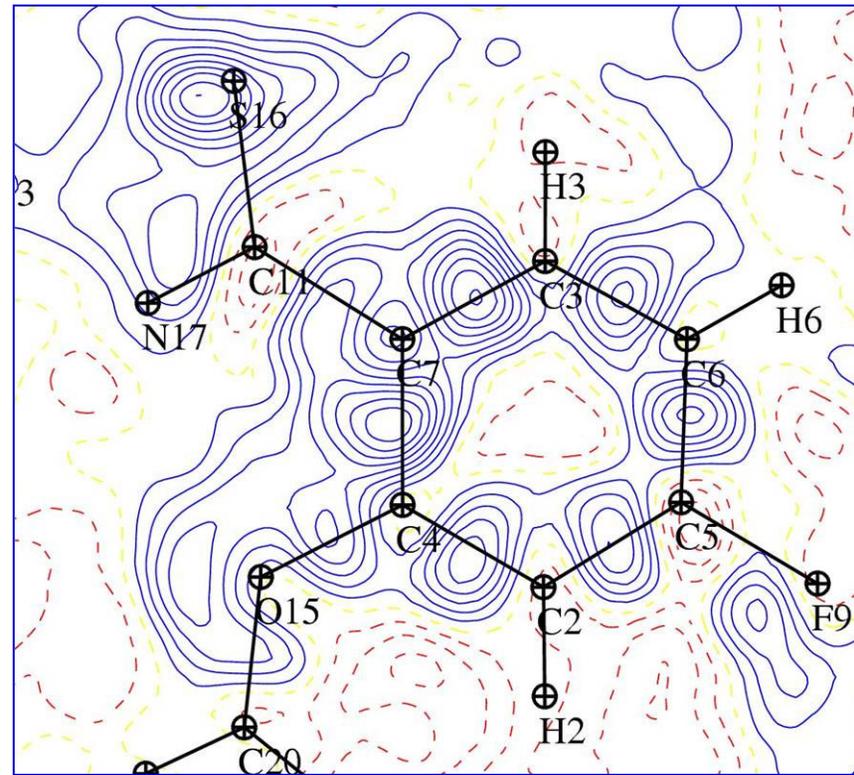
**DFT**

## Amélioration globale de la densité résiduelle

En fin d'affinement multipolaire contraint  
Inhibiteur non inclus dans le transfert



Densité résiduelle  
initiale



Après affinement  
contraint de la protéine

## Conclusions & perspectives

Méthode globale, basée sur les outils MoPro/VMoPRo et la librairie ELMAM

Transfert des paramètres ELMAM, + affinement structural  
→ Meilleure estimation de l'agitation thermique

Possibilité de l'affinement contraint des paramètres de la librairie

Affinement local pour les régions les plus ordonnées

Utilisation des paramètres multipolaires affinés ou transférés pour l'estimation d'énergies d'interaction protéine - ligand

**Christian Jelsch**

**Angelique Lagoutte**

**Virginie Pichon Pesme**

**Bartosz Zarychta**

**Claude Lecomte**

**Alberto Podjarny**

**Xavier Pardonnet**