



Simulations numériques de bio-molécules

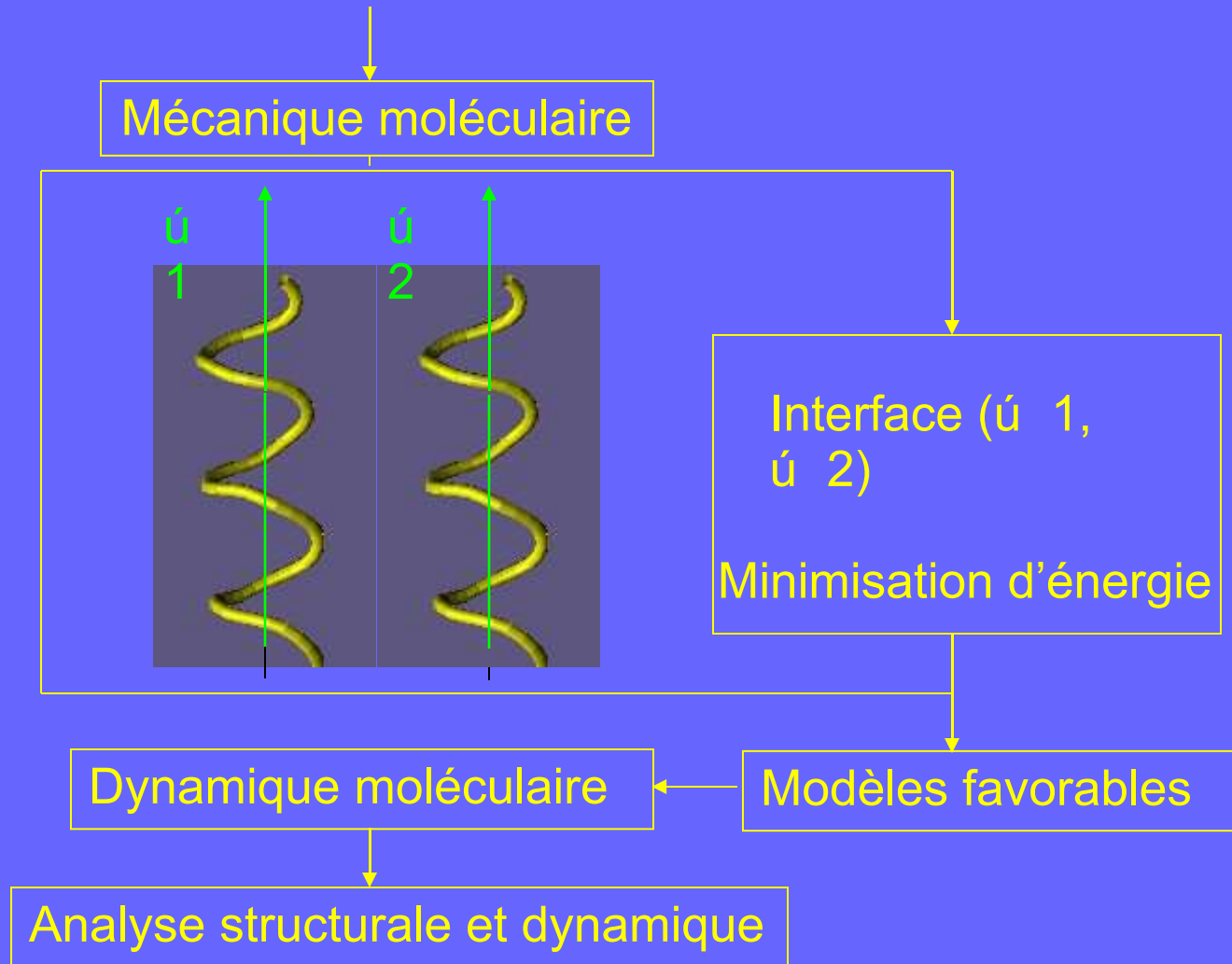
Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque
Université d'Orléans

Centre de Biophysique Moléculaire – CNRS

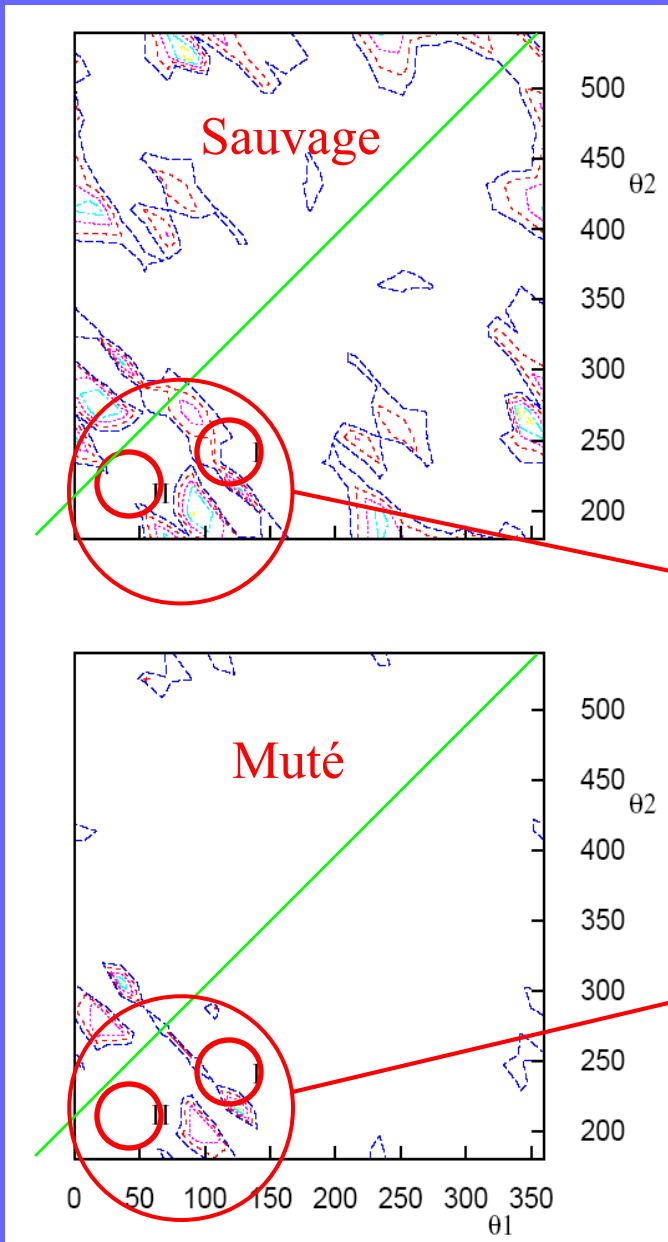
Norbert Garnier

Auto-association du domaine transmembranaire du récepteur ErbB2/Neu sauvage et muté

Détermination de modèles structuraux pour l'auto-association

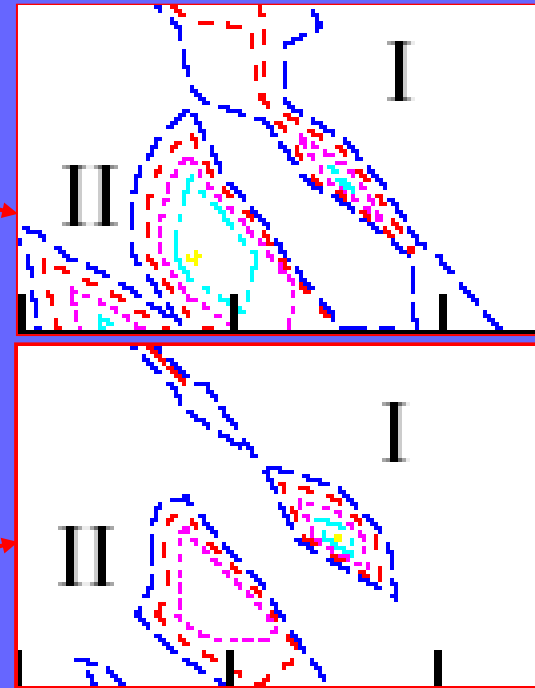


Mécanique moléculaire



Sauvage et muté:

→ 2 états de plus basse énergie



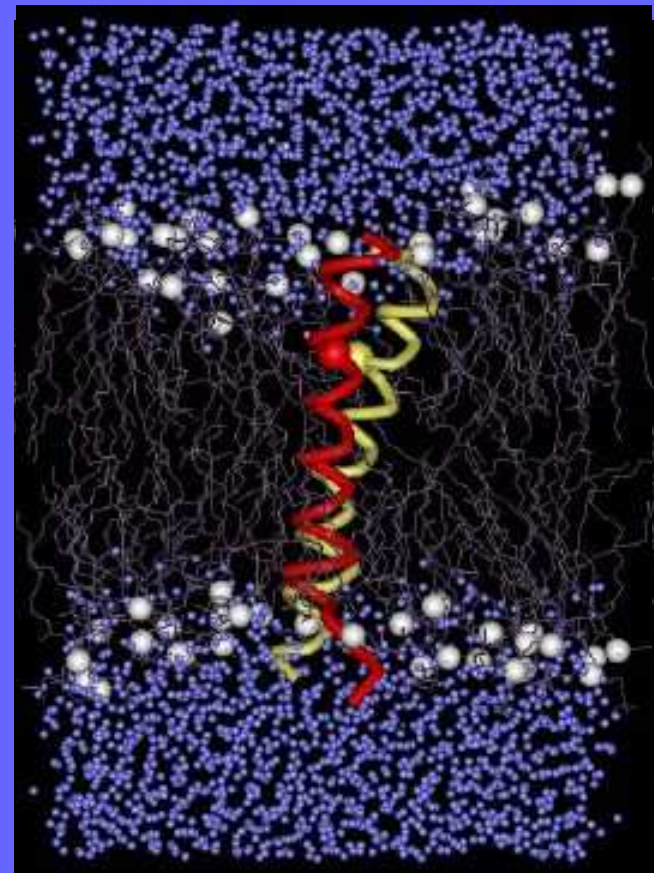
→ Val/Glu à l'interface dimérique

Dynamique moléculaire dans le vide

- Mode d'association identique pour les formes sauvage et mutée
- Association gauche des hélices
- Interface semblable pour les formes sauvage et mutée
- Présence de liaisons hydrogène intermonomère Glu-Glu

Dynamique moléculaire en présence d'un modèle d'environnement membranaire

- Gain de *réalisme biologique*
- Puissance informatique croissante
- Taille des systèmes (20000 atomes)
échelle de temps explorée (10 ns)
temps de simulation (1000 hCPU)
- Association gauche des hélices
- Déformations ú



Structure finale

Proximité domaine transmembranaire - environnement



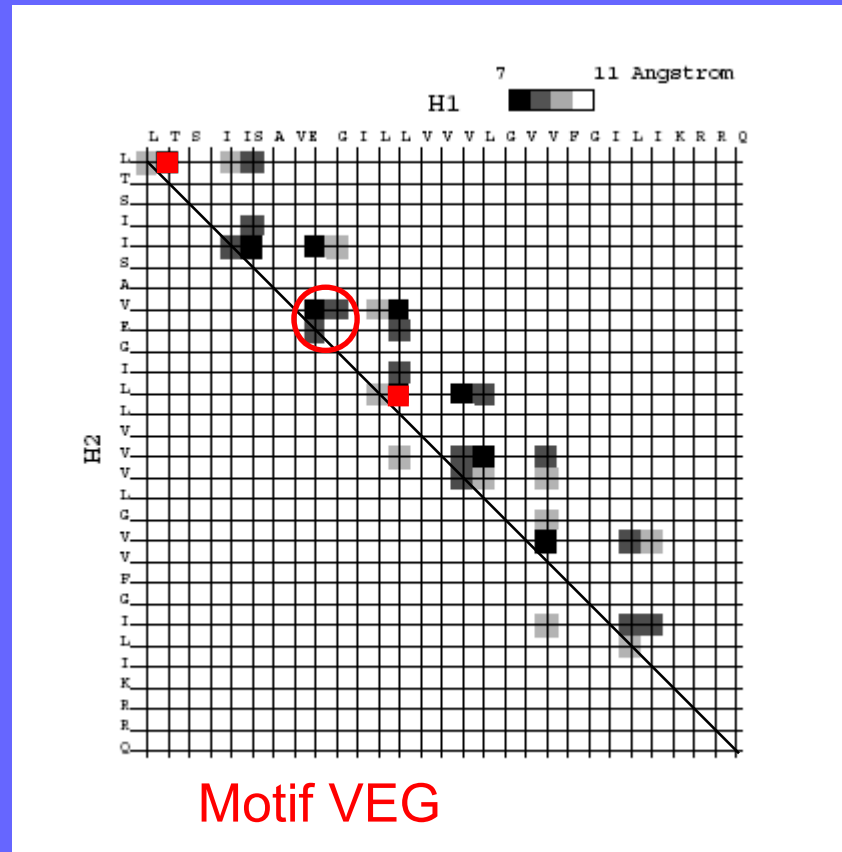
Proximité domaine transmembranaire - environnement

Glu



Interface dimérique

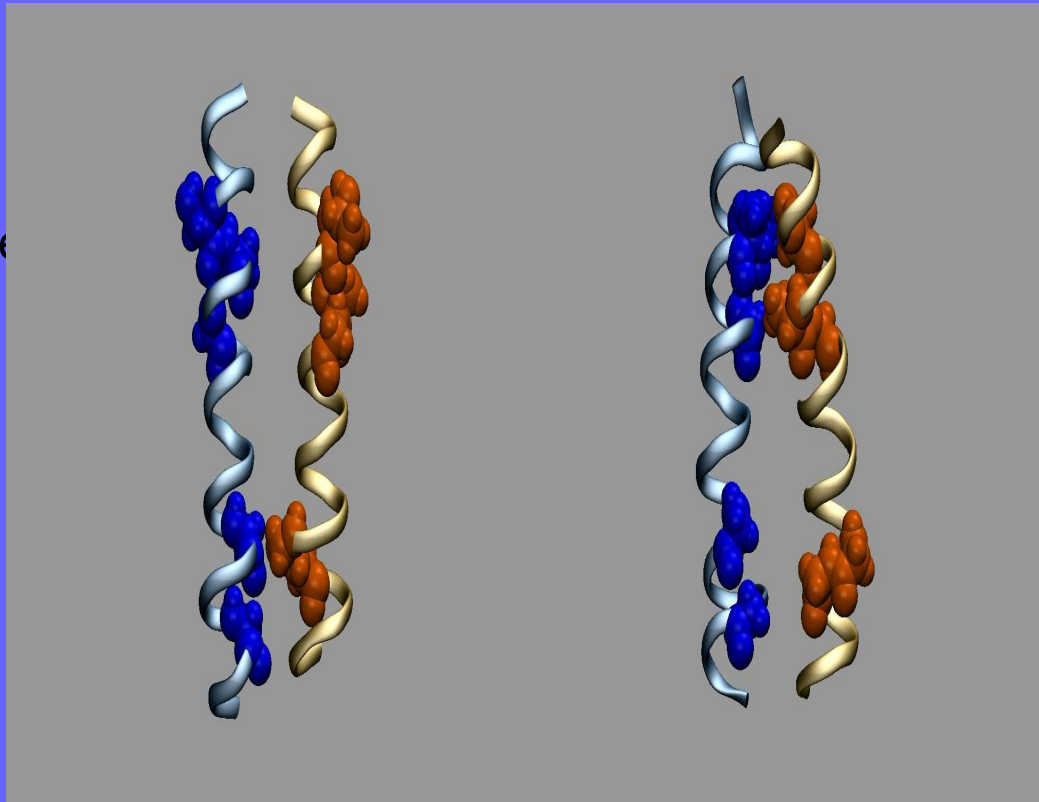
Matrice de distance: $C^{\diamond i}(H1) - C^{\diamond j}(H2)$



Récepteurs tyrosine kinase Famille HER

Prédiction des modes d'association des domaines transmembranaires des hétérodimères ErbB1-4. Rôle des motifs de dimérisation de type GxxxG

Clique



e

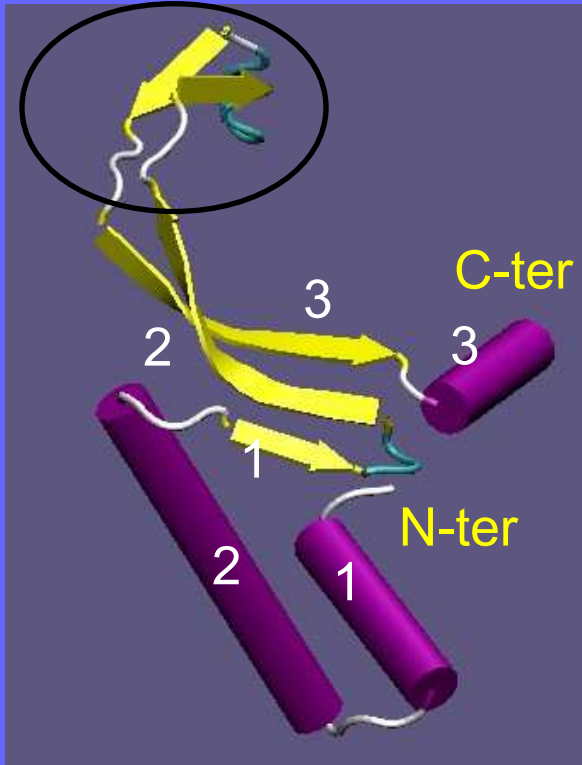
Thermal unfolding of the *E. coli* HU protein: Structural insights from molecular dynamics simulations

The *Escherichia coli* HU protein

- small dimeric protein (2x90 residues)
- structure and dynamics of the bacterial DNA
- 3 dimeric forms of HU
 - homodimer HU α ₂ , HU β ₂
 - heterodimer HU $\alpha\beta$

Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque

X ray crystallography



Monomer

Arm

 strand

er le style des sous-titres du masque

◇ helices

Dimer

HU◇2 et HU2

Differential Scanning Calorimetry

$C_p(\text{J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1})$

Thermal denaturation profile



Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque

$T(\text{K})$

Circular Dichroism

I2 dimeric form with a lost of structural elements (α helix and β -sheet)

Goal of the work

- Study of the thermal denaturation of the HU protein
- What is the 3D structure of the I2 intermediate?

Why determining the 3D structure of I2?

- Formation of the heterodimer $HU\alpha\beta$ from the homodimers $HU\alpha_2$ and $HU\beta_2$



Methods

Molecular dynamics simulation in explicit solvent at different temperatures

→ Analysis of the early steps of HU thermal unfolding process

AMBER program

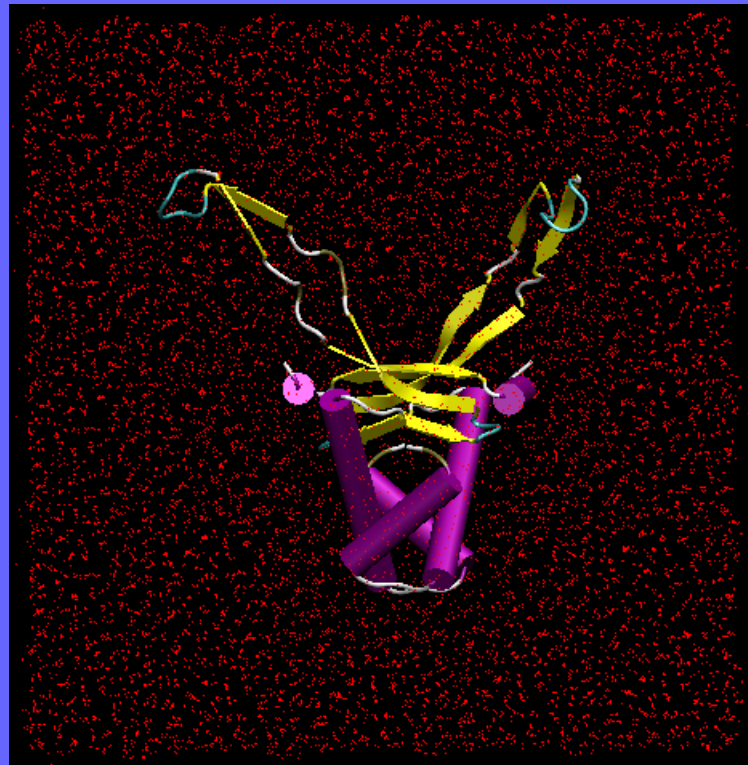
NPT Cliquez pour modifier le

Counter ions Na⁺ , Cl⁻

Particule Mesh Ewald

Initial box dimensions:

80Å x 95Å x 80Å



Results

1 MD simulation

- T=310K
- 25 ns time scale
- 58028 atoms
- <water density>=0.991 g.cm⁻³
- <pressure>=1. atm

Cαrmsd from the native structure

Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque

Results

5 MD simulations:

- T=500K
- different initial conditions
- 5 ns time scale
- 58028 atoms
- $\langle \text{water density} \rangle = 0.7087 \text{ g.cm}^{-3}$
- $\langle \text{pressure} \rangle = 1. \text{ atm}$

$C\alpha_{\text{rmsd}}$ from the native structure

Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque

Results

3 MD simulations:

- T=400K
- different initial conditions
- 10 ns time scale
- 58028 atoms
- $\langle \text{water density} \rangle = 0.8893 \text{ g.cm}^{-3}$
- $\langle \text{pressure} \rangle = 1. \text{ atm}$

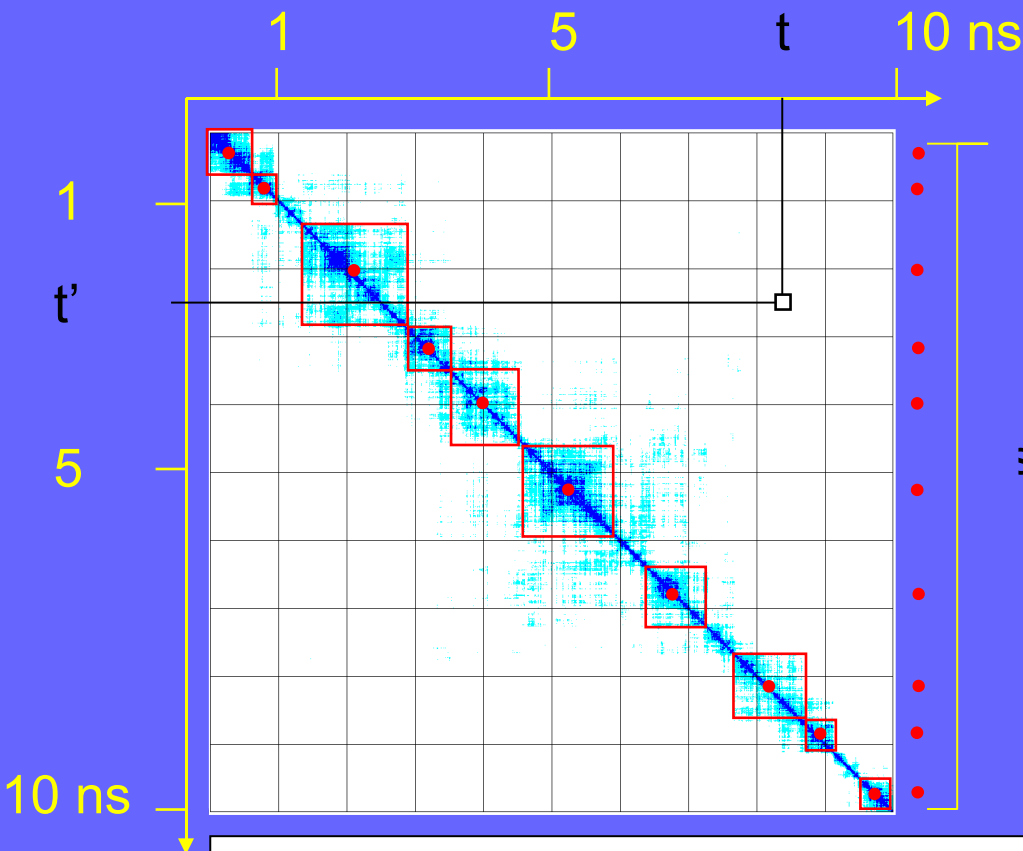
$C\alpha_{\text{rmsd}}$ from the native structure

Conf1 = or ≠ to Conf2

Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque



2D Cαrmsd



Cluster representative conformer
 sous-titres du masque
 CiMD1

■ rmsd < 1.5 Å
 ■ 1.5 ≤ rmsd ≤ 2.0 Å
 □ rmsd > 2.0 Å

Secondary structure content from
the native structure(%)

Conformer	α-Helix			β-Sheet		
	MD1	MD2	MD3	MD1	MD2	MD3
C1	86	82	93	96	84	96
C2	87	82	74	78	94	80
C3	67	89	62	74	72	74
C4	58	88	61	78	84	60
C5	82	78	57	73	80	68
C6	53	82		52	82	
C7	62	70		48	60	
C8	68	67		46	74	
C9	76			48		
C10	61			20		

Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque

C4 12 (CD experiments) model for 52

78

MD refinement of the I2 model

1 MD simulation

- T=310K
- 25 ns time scale
- 58028 atoms
- <water density>=0.991 g.cm⁻³
- <pressure>=1. atm

C α rmsd from the native structure

Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque

Solvent Accessible Surface Area of the I2 model

I2

N2

Dimer

Interface

Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque



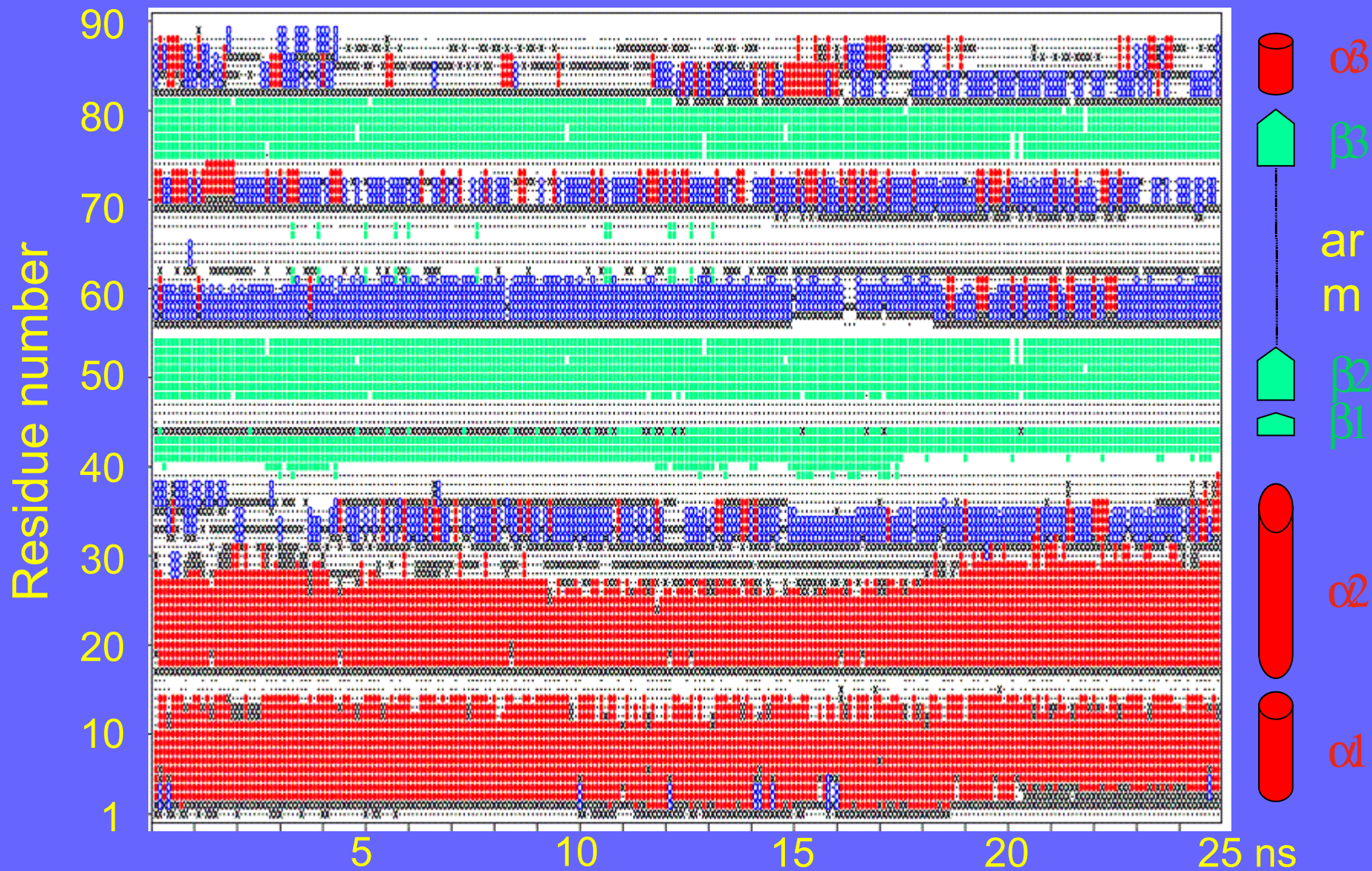
I2 is a dimer

Secondary structure analysis of the I2 model (monomer 1)



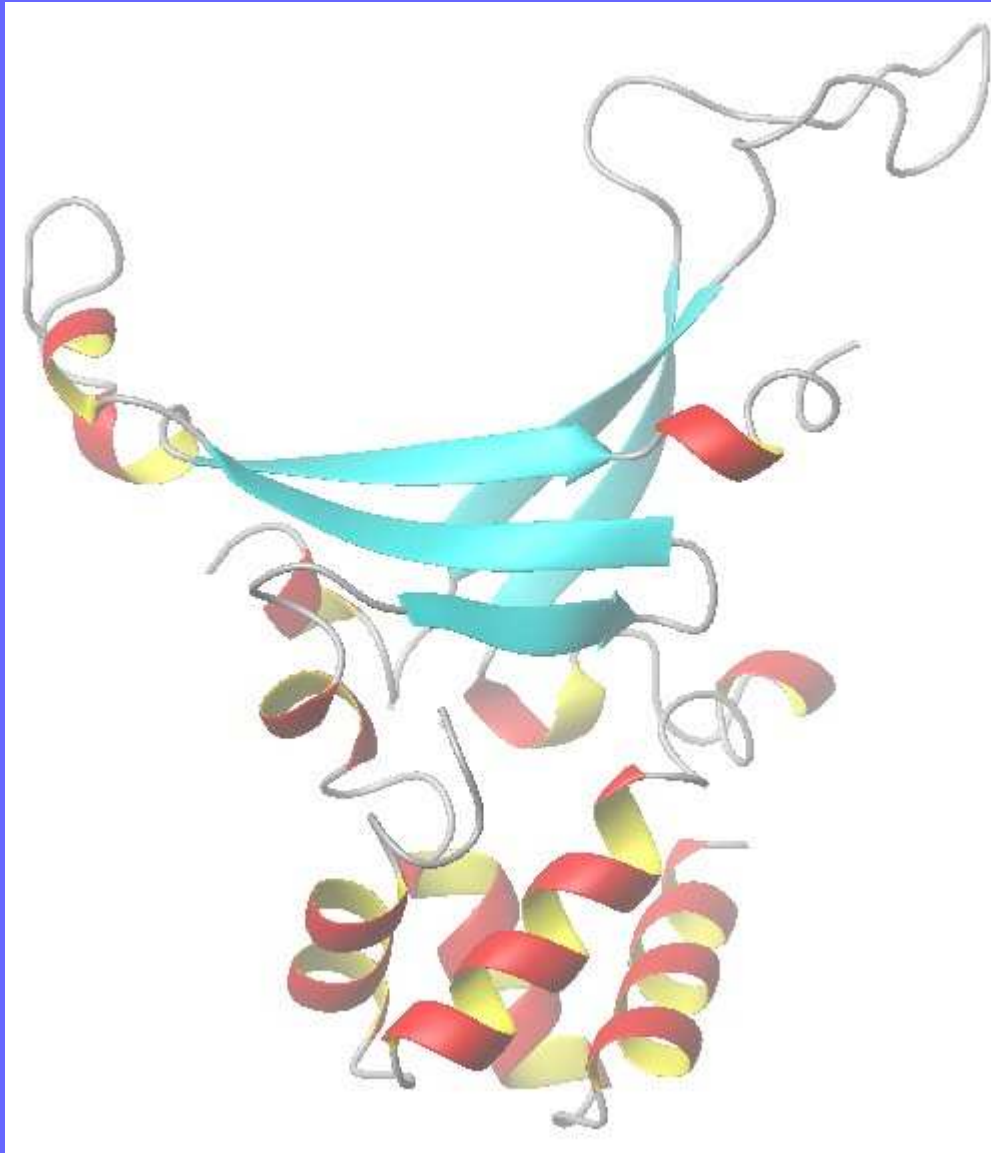
\bullet α \circ 310 or π \square bet x, . turn,

Secondary structure analysis of the I2 model (monomer 2)



• α ° 310 or π - bet x, . turn,

Average structure of I2



	α Helix	β -Sheet
I2 (MD)	55%	60%
I2 (CD)	59%	78%

titres du masque

Conclusion and perspectives

- MD simulations: 3D structure of I2 in agreement with experimental data

MD simulations

- Study of the thermal unfolding of the HU α 2 homodimer
3D structure of I2(HU α 2)
- Comparison of the structure and the dynamics of I2(HU α 2) and I2(HU β 2)

Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque

Biochemical experiments

- Validation of the theoretical model I2

FLEXIDOC

Docking sur récepteur flexible



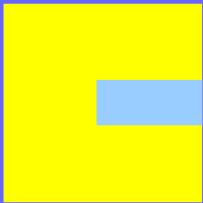
FR



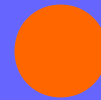
Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque



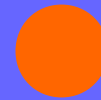
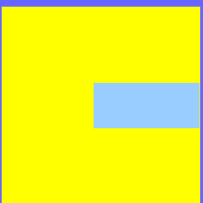
Récepteur



Ligand



Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque

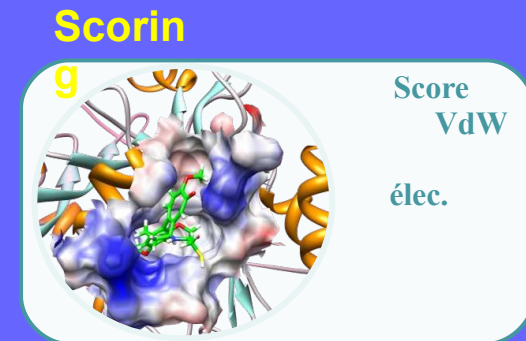
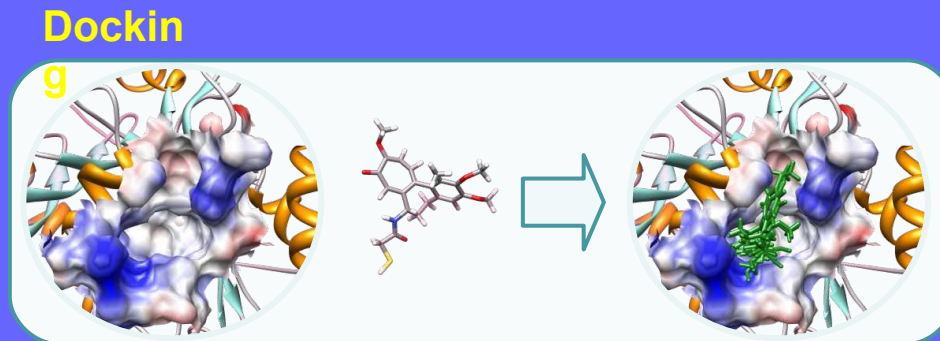


Docking flexible protéine-ligand

Fédération de Recherche *Physique et Chimie du vivant* FR2708

Financement de la Région Centre (2009-2010)

CONTEXTE



LIMITATIONS

Flexibilité du récepteur?

↘ faux négatifs

Entrée du ligand?

↘ faux positifs

OBJECTIF

Développement de méthodes permettant l'amélioration des prédictions issues du

docking

MD: solvant explicite

MD0

Champs de contraintes

MD: solvant implicite, sous contraintes

MDC

Comparaison MDC – MD0

Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque

Partitionnement des conformations du site de fixation

Sélection des conformations du site de fixation

Docking

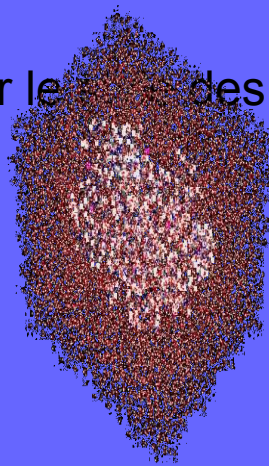
Structure 3D du récepteur: 4prg_A.pdb

Solvant: 9226 molécules d'eau, 5 Na⁺

Production: 30 ns

Amber 7

Cliquez pour modifier le contenu des sous-titres du masque



Contraintes de position Potentiel harmonique

Atomes:

$C\alpha$ à faible fluctuation atomique δ

$$\delta \leq \lambda \delta_{\min}$$

Constante de force:

Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque $k = \mu (3RT \delta_{10}^{-2})$

Contraintes de position: λ, μ

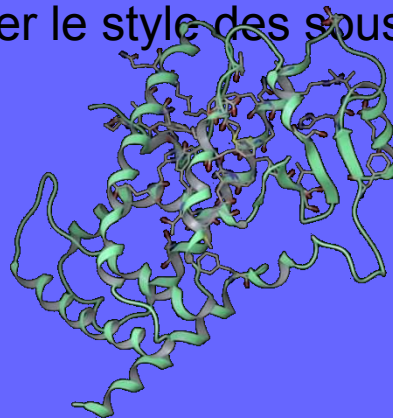
Solvant implicite: ϵ

Production: plusieurs dizaines de ns

Amber 7

MDC(λ, μ, ϵ)

Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque



Comparaison

Structures moyennes:

RMSD(<MDC>, <MD0>)

Éléments de structure secondaire:

% d'hélice α

Dynamique des atomes C α contraints:

Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque

$$\Delta = [(1/C) \sum (\delta_i C - \delta_i 0)^2]^{1/2}$$

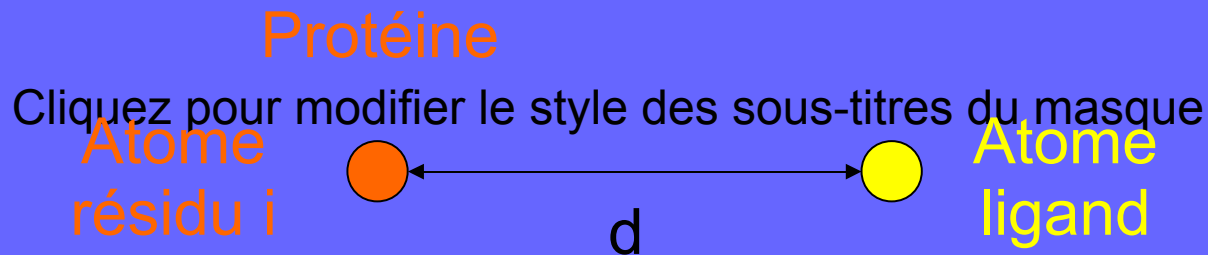
i: numéro C α contraint

C: nombre de C α contraints

Partitionnement des conformations du site de fixation

Site de fixation:

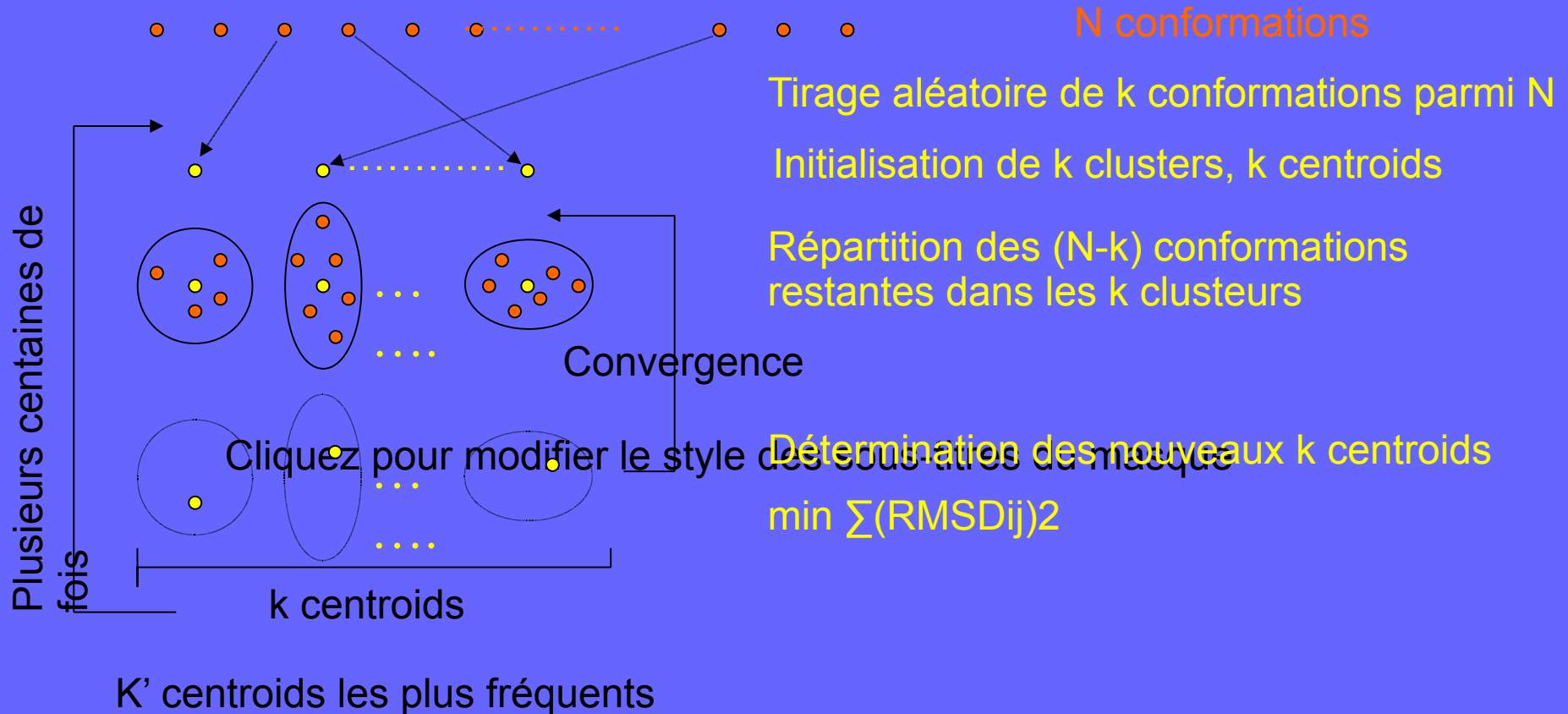
24 structures de complexes **protéine** - ligand



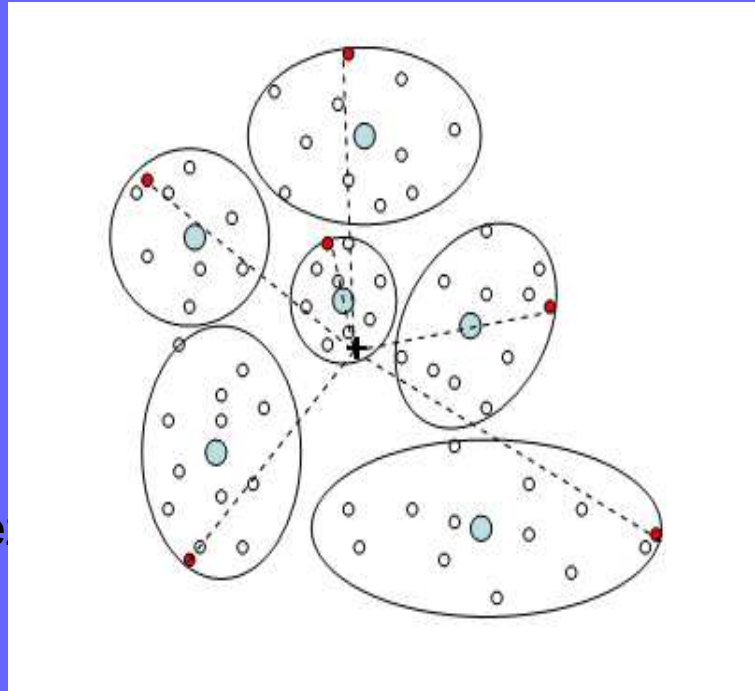
Si $d < 3.5 \text{ \AA}$, résidu i appartient au site de fixation

Partitionnement des conformations du site de fixation

Partitionnement: k means algorithm (1)



Sélection des conformations du site de fixation



Clique

es du masque

- + : conformation la plus centrale
- : k centroids
- : k conformations les plus distantes

Résultats MD solvant explicite

Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque



Résultats MD solvant implicite sous contraintes

λ	μ	ϵ			
		80	r	4r	10r
2	10			MD1(100ns)	MD2(50ns)
2	20	MD3(100ns)	MD4(40ns)	MD5(100ns)	MD6(50ns)
2	40			MD7(100ns)	MD8(50ns)
1.5	60		MD9(12ns)		MD10(12ns)
2	60			MD11(100ns)	MD12(50ns)

Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque

$\lambda=1.5(2)$: 59(136) atomes C α contraints

Résultats MD solvant implicite sous contraintes

	RMSD(Å)	% hélice α	Δ (Å)	RMSD(Å)	% hélice α	Δ (Å)	
MD1	2.68	57	0.28	+	+	+	
MD2	3.10	52	0.26	-	-	+	
MD3	3.66	39	0.30	-	-	+	
MD4	2.29	67	0.42	+	+	-	
MD5	2.92	57	0.28	+	+	+	
MD6	2.75	55	0.26	+	-	+	
MD7	3.21	57	0.28	-	+	+	
MD8	3.80	47	0.37	-	-	-	
MD9	2.36	63	0.43	+	+	-	
MD10	2.95	56	0.51	+	-	-	
MD11	3.26	60	0.38	-	+	-	
MD12	3.59	54	0.55	-	-	-	

Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque

Structures cristallographiques:

Max(RMSD)=3Å
% hélice α > 57%

$\Delta=(0.28\pm 0.02)$ Å

$\Delta > 0.3$ Å

Résultats MD solvant implicite sous contraintes

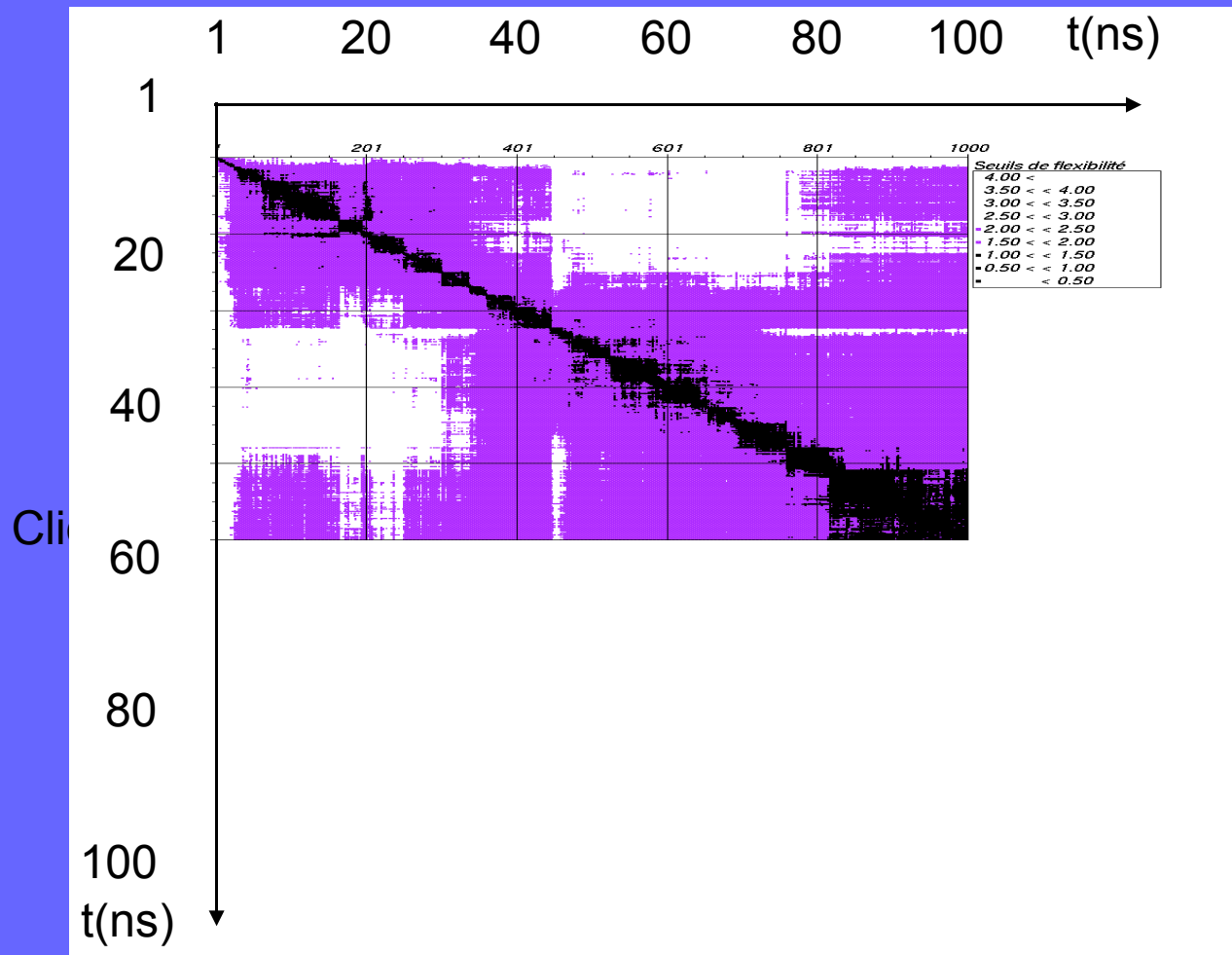
Fluctuations atomiques

28 Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque
n

MD
0
MD
5

Résultats MD solvant implicite sous contraintes

Carte RMSD 2D du site de fixation



Résultats MD solvant implicite sous contraintes

Partitionnement des conformations du site de fixation

k	Numéro de conformation des centroids les plus fréquents									
10 938	818	793	726	581	508	482	335	112	77	
10 938	818	793	726	581	508	394	335	145	77	
10 938	857	818	793	726	581	508	335	112	77	
10 938	857	818	769	726	581	508	335	221	77	
8 938	818	726	581	394	335	145	112			
6 938	818	581	335	145	77					
4 938*	818	581	145	77*						
3	818	581	77							

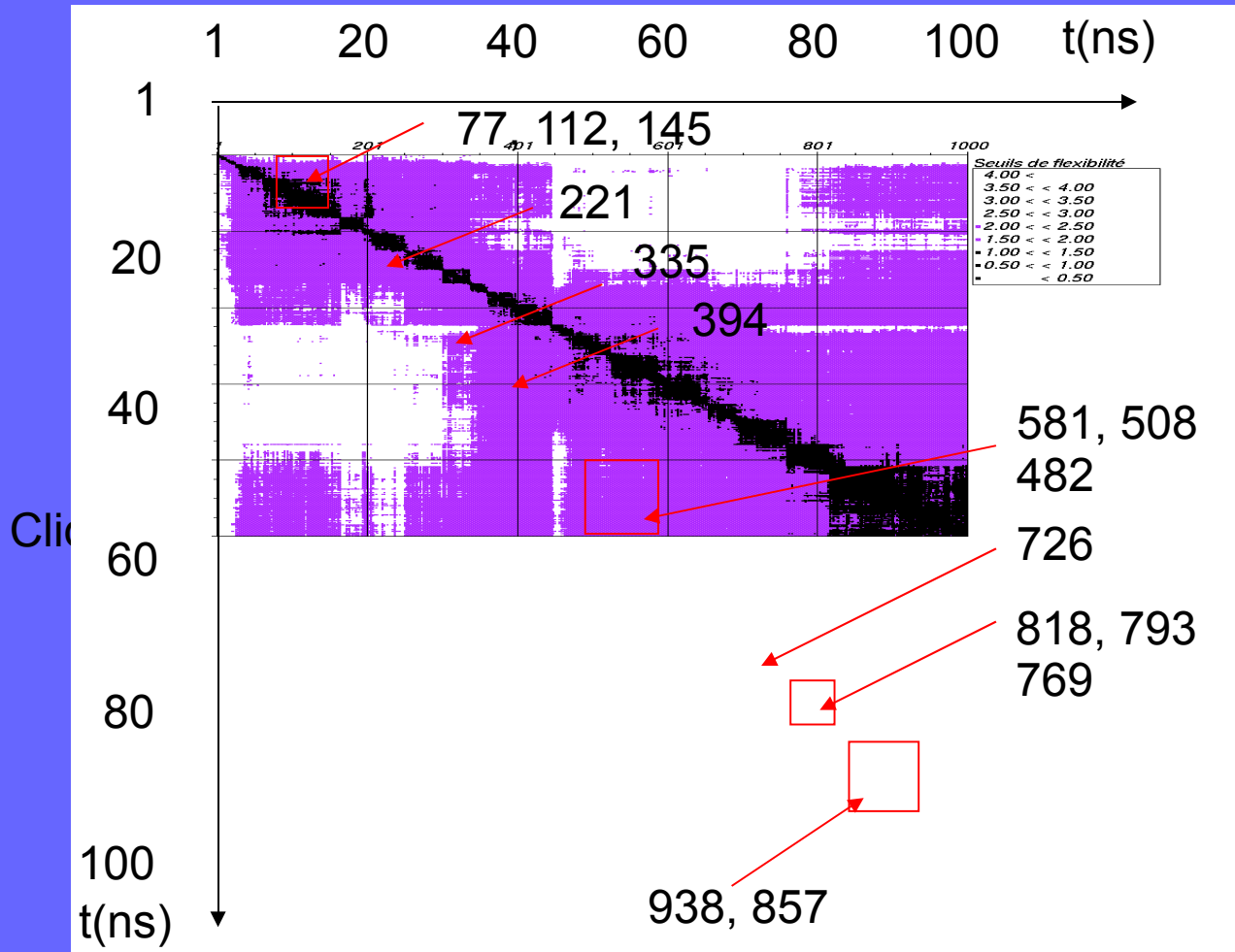
Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque

MD5: 103 conformations pour 100ns

—————> 15 conformations retenues

Résultats MD solvant implicite sous contraintes

Carte RMSD 2D du site de fixation



Résultats MD solvant implicite sous contraintes

Sélection des conformations du site de fixation

17 conformations proposées au docking

Calculs en cours

Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque

Conclusion

Prise en compte de la flexibilité du site de fixation

Développement méthodologique:

Solvant implicite: fonction sigmoïdale

Choix des atomes à contraindre

Cliquez pour modifier le style des sous-titres du masque

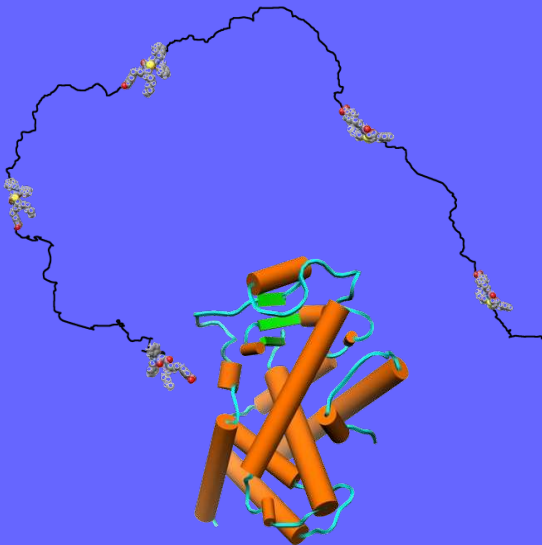
Perspectives

Champ de contraintes

Réduction du nombre de contraintes (faible fluctuation atomique, hors site de fixation, mouvement harmonique)

Entrée du ligand

Porte d'entrée du ligand
dynamique brownienne

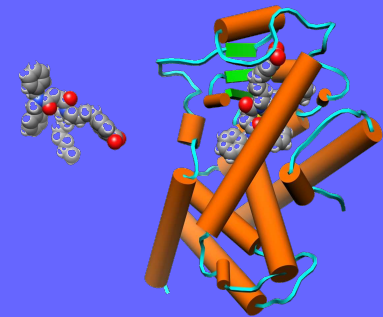


Chemin d'accès au site de fixation

Détection des cavités résiduelles à partir d'une simulation MD



Entrée du ligand
dynamique moléculaire dirigée



Imagerie Moléculaire

Cliq

