

# La relaxation en résonance magnétique nucléaire

Gabrielle Nodet, Martin Blackledge

## 1 Approche phénoménologique

### 1.1 Définitions

La relaxation est le nom donné au processus de retour à l'équilibre d'un ensemble de spins nucléaires après une perturbation du système. La relaxation des spins nucléaires est causée par des interactions magnétiques fluctuantes. Dans les cas qui nous intéresseront par la suite, deux interactions magnétiques seront impliquées : le couplage dipolaire entre spins nucléaires et l'anisotropie de déplacement chimique. Les mouvements aléatoires des molécules entraînent une variation de ces interactions à l'origine de transitions des spins nucléaires qui tendent à ramener le système à l'équilibre. Il existe donc une corrélation entre les mouvements des molécules, rotation globale et mouvements internes, et la relaxation en RMN.

La relaxation est l'objet d'études<sup>1,2</sup> en RMN depuis les années 1945. On distingue habituellement deux temps caractéristiques de relaxation :  $T_1$  pour la relaxation longitudinale et  $T_2$  pour la relaxation transversale. La relaxation longitudinale est le processus qui ramène l'aimantation à l'équilibre selon la direction du champ magnétique  $\mathbf{B}_0$  :  $T_1$  est le temps caractéristique pour l'établissement de l'aimantation lorsque l'échantillon est placé dans le champ magnétique ou celui qui caractérise le retour à l'équilibre après une inversion. On définit aussi la vitesse de relaxation longitudinale  $R_1 = 1/T_1$  exprimée en  $s^{-1}$ . La relaxation transversale est le processus de retour à l'équilibre, c'est-à-dire à zéro, d'une aimantation amenée dans le plan perpendiculaire au champ magnétique  $\mathbf{B}_0$ . Cette aimantation décroît avec un temps caractéristique  $T_2$  à partir duquel on peut définir une vitesse de relaxation  $R_2 = 1/T_2$  exprimée elle aussi en  $s^{-1}$ .

Il existe un autre type de processus de relaxation appelé l'effet Overhauser nucléaire. Cet effet se traduit par un transfert de l'aimantation d'un spin I vers un spin S sous l'effet de leur couplage dipolaire. Si on observe une modification de l'aimantation du spin S lorsque l'aimantation longitudinale du spin I est

hors d'équilibre, on parle d'effet Overhauser nucléaire (*nuclear Overhauser effect*) entre les spins I et S. Pour que cet effet soit détectable, il est essentiel que la distance entre les atomes soit petite (en général inférieure à 7 Å) et l'effet Overhauser nucléaire est donc très utilisé pour la détermination de structures en RMN. Le rapport d'intensité entre les pics avec et sans effet Overhauser nucléaire sera par la suite noté  $\eta_{NH}$ .

Il est possible de définir et d'observer d'autres types de relaxation que ceux qui sont décrits ici et qui sont les plus couramment utilisés lorsqu'il s'agit d'étudier la dynamique rapide des protéines.

## 1.2 Mouvements et échelles de temps

Quels sont les mouvements des molécules susceptibles de causer la relaxation des spins nucléaires ?

Dans un premier temps, considérons une molécule rigide en solution. Elle peut avoir deux types de mouvements : des mouvements de translation et des mouvements de rotation. La translation de la molécule n'a pas d'effet sur les interactions magnétiques, du moins en présence d'un champ magnétique  $B_0$  homogène. La diffusion globale n'a donc d'effet sur la relaxation qu'en présence d'inhomogénéités de champ. Par contre, les rotations de la molécule font fluctuer à la fois les couplages dipolaires intramoléculaires et le déplacement chimique des spins ayant une anisotropie de déplacement chimique non négligeable. Par conséquent, la rotation globale des molécules induit des fluctuations locales du champ magnétique qui participent à la relaxation des spins nucléaires. En solution, la rotation est caractérisée par un temps caractéristique  $\tau_C$ .

Dans un second temps, considérons une molécule qui n'est pas rigide. En effet, une molécule n'est pas un ensemble d'atomes fixes les uns par rapport aux autres, elle est le théâtre de mouvements internes qui s'ajoutent au mouvement global de diffusion rotationnelle et translationnelle. Ces mouvements peuvent être des vibrations et des rotations rapides autour d'une ou plusieurs liaisons. Pour les protéines, il existe aussi des mouvements lents et/ou concertés qui impliquent un grand nombre d'atomes et qui sont directement liés à leur mécanisme d'action et à leur fonction : on peut citer ici les mouvements liés à l'allostérie, au repliement, à la catalyse et aux interactions avec des ligands.

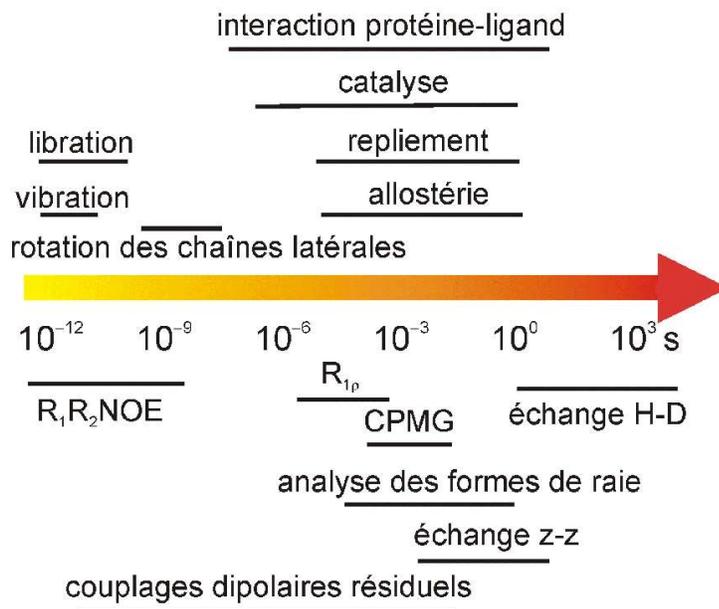


FIG. 1 – Échelles de temps des mouvements et observables RMN

## 2 Équations de la relaxation

### 2.1 L'équation pilote de Redfield-Abragam

Je ne détaillerai pas ici la démonstration de cette équation que l'on peut retrouver dans un grand nombre de revues<sup>3,4</sup> ou d'ouvrages<sup>5,6</sup> traitant de la théorie de la relaxation.

La théorie de la relaxation selon Redfield<sup>7,8</sup> et Abragam<sup>5</sup> est une approche semi-classique. Dans ce modèle, le traitement des spins est quantique tandis que le réseau suit les règles de la thermodynamique statistique dans le cadre de la mécanique classique avec continuité des niveaux d'énergie.

L'évolution de la matrice densité  $\sigma$  est régie par l'équation 1. Cette matrice densité décrit l'état des spins nucléaires en termes de populations et de cohérences. Son évolution est déterminée par un hamiltonien que l'on peut séparer en deux termes : un hamiltonien indépendant du temps  $\mathbb{H}_0$  et un hamiltonien stochastique dépendant du temps  $\mathbb{H}_1(t)$  tel que  $\overline{\mathbb{H}_1(t)} = 0$ .

$$\frac{d\sigma}{dt} = -i [\mathbb{H}_0 + \mathbb{H}_1(t), \sigma] \quad (1)$$

L'hamiltonien  $\mathbb{H}_0$  décrit l'effet Zeeman et les interactions spins-spins statiques,

hamiltonien dépendant du temps  $\mathbb{H}_1(t)$  inclut les interactions fluctuantes spins-spins et spins-réseau. Pour imposer l'évolution des spins vers l'équilibre, il faut introduire le terme  $\sigma_{\text{eq}}$ , matrice densité à l'équilibre.

$$\sigma_{\text{eq}} = \frac{\exp^{-\mathbb{H}_0/k_B T}}{\text{Tr}(\exp^{-\mathbb{H}_0/k_B T})} \quad (2)$$

Le passage dans la représentation des interactions pour un opérateur quelconque  $Q$  est donné par  $\tilde{Q} = \exp^{i\mathbb{H}_0 t} Q \exp^{-i\mathbb{H}_0 t}$ . Ce changement de référence est équivalent au passage dans le référentiel tournant où la dépendance au temps due à l'effet du champ  $\mathbf{B}_0$  est supprimée. Une autre opération consiste à décomposer l'hamiltonien en produits de fonctions spatiales dépendantes du temps  $F_q(t)$  par des opérateurs de spins  $V_q$ , et ce pour chaque interaction impliquée dans la relaxation :

$$\mathbb{H}_1(t) = \sum_n \mathbb{H}_n(t) \quad \text{et} \quad \mathbb{H}_n(t) = \sum_q V_q^{(n)} F_q^{(n)}(t) \quad (3)$$

Les opérateurs de spins sont développés sur la base des opérateurs  $V_q^{(p)}$  :

$$\tilde{V}_q = \sum_{p,q} e^{i\omega_q^{(p)} t} V_q^{(p)} \quad \text{avec} \quad \omega_{-q}^{(p)} = -\omega_q^{(p)} \quad (4)$$

La fonction de densité spectrale non normalisée est définie par :

$$j_{m,n}(\omega_q^{(p)}) = 2 \int_0^\infty \overline{F_{-q}^{(m)}(t) F_q^{(n)}(t + \tau)} \exp^{i\omega_q^{(p)} \tau} d\tau \quad (5)$$

où  $m$  et  $n$  peuvent être deux interactions différentes participant à la relaxation. On parle d'autocorrélation pour  $m = n$  et de corrélation croisée pour  $m \neq n$ . Le terme de corrélation croisée désigne les phénomènes d'interférences entre deux interactions fluctuantes : des termes apparaissent dans l'opérateur d'évolution qui n'existeraient pas pour ces deux interactions considérées séparément.

L'équation pilote de la relaxation pour la matrice densité est :

$$\frac{d\tilde{\sigma}}{dt} = -\frac{1}{2\hbar^2} \sum_{p,q,m,n} [V_{-q}^{(m,n)}, [V_q^{(m,n)}, (\tilde{\sigma}(0) - \tilde{\sigma}_{\text{eq}})]] j_{m,n}(\omega_q^{(p)}) \quad (6)$$

Pour un opérateur  $Q$  observable expérimentalement, on utilise les propriétés de  $\langle Q \rangle$  et de la trace des matrices.

$$\frac{d\langle \tilde{Q} \rangle}{dt} = \frac{d}{dt} [\text{Tr}(Q \tilde{\sigma}(t))] = \text{Tr} \left( Q \frac{d\tilde{\sigma}}{dt} \right) \quad (7)$$

On parlera d'autorelaxation lorsque l'opérateur  $Q$  est conservé par la relaxation et de relaxation croisée lorsque la relaxation transforme l'opérateur  $Q$  en un autre opérateur  $P$ .

Les deux équations 6 et 7 permettent de calculer les vitesses de relaxation de différentes cohérences ou populations sous l'effet d'interactions magnétiques fluctuantes en utilisant l'expression des hamiltoniens de ces dernières.

## 2.2 Fonctions de corrélation et de densité spectrale

### 2.2.1 Définitions

La fonction de densité spectrale normalisée  $J(\omega)$  est la transformée de Fourier réelle de la fonction d'autocorrélation normalisée  $C^{\mathbf{uu}}(t)$  :

$$J(\omega) = \int_0^{+\infty} C^{\mathbf{uu}}(t) \cos(\omega t) dt \quad (8)$$

Pour des interactions de rang 2, la fonction d'autocorrélation du vecteur  $\mathbf{u}$  est donnée par

$$C^{\mathbf{uu}}(t) = \frac{4\pi}{5} \sum_{m=-2}^{+2} \overline{Y_{2m}(\vartheta(t), \varphi(t)) Y_{2m}(\vartheta(0), \varphi(0))} \quad (9)$$

où  $\vartheta$  et  $\varphi$  sont les coordonnées polaires du vecteur portant l'interaction dans le repère du laboratoire.

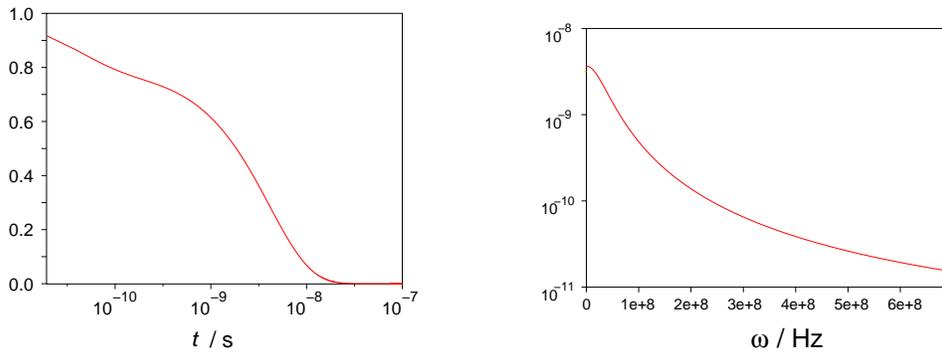


FIG. 2 – À gauche, exemple de fonction de corrélation normalisée  $C^{\mathbf{uu}}(t)$ ; à droite, fonction de densité spectrale normalisée  $J(\omega)$  correspondante.

Par rapport à la fonction de densité spectrale  $j_{m,m}(\omega_q^{(p)})$  qui intervient dans l'équation 6, la fonction de densité spectrale normalisée  $J(\omega)$  revient à ne garder

que la partie réelle et à diviser par un facteur de normalisation  $\overline{|F_{-q}^{(m)}(0)F_q^{(m)}(0)|}$  qu'il faut réintroduire lors du calcul des vitesses de relaxation. Un exemple de fonction de corrélation et de fonction de densité spectrale est donné dans la figure 2.

### 2.2.2 Diffusion rotationnelle isotrope

Dans cette partie, nous formulons deux hypothèses. La première hypothèse est l'indépendance statistique du mouvement global et des mouvements internes. Cette indépendance est bien vérifiée lorsque les échelles de temps des deux types de mouvements diffèrent notablement. La deuxième hypothèse consiste à supposer que le mouvement de diffusion rotationnelle global est isotrope. Cette hypothèse est relativement bien vérifiée pour un certain nombre de protéines globulaires dont la forme est compacte et raisonnablement proche d'une sphère.

Dans le cadre de ces deux hypothèses, la fonction d'autocorrélation  $C^{\mathbf{u}\mathbf{u}}$  d'un vecteur unitaire  $\mathbf{u}$  s'écrit comme le produit de deux fonctions de corrélation selon l'équation

$$C^{\mathbf{u}\mathbf{u}}(t) = C_0^{\mathbf{u}\mathbf{u}}(t)C_{\text{int}}^{\mathbf{u}\mathbf{u}}(t) \quad (10)$$

La partie globale  $C_0^{\mathbf{u}\mathbf{u}}(t)$  de la fonction de corrélation correspond à la diffusion rotationnelle isotrope. Elle est décrite par une fonction mono-exponentielle décroissante avec un temps caractéristique  $\tau_c$

$$C_0^{\mathbf{u}\mathbf{u}}(t) = \exp\left(-\frac{t}{\tau_c}\right) \quad (11)$$

La partie interne  $C_{\text{int}}^{\mathbf{u}\mathbf{u}}(t)$  de la fonction de corrélation est décrite par la moyenne d'ensemble de la fonction d'autocorrélation du vecteur  $\mathbf{u}$  au sein du repère moléculaire.

$$C_{\text{i}}^{\mathbf{u}\mathbf{u}}(t) = \left\langle P_2(\mathbf{u}(t) \cdot \mathbf{u}(0)) \right\rangle \quad (12)$$

où  $P_2$  est le second polynôme de Legendre  $P_2(x) = (3x^2 - 1)/2$ . On définit alors le paramètre d'ordre  $S^2$  par la limite aux temps longs de cette fonction de corrélation interne :

$$S^2 = \lim_{t \rightarrow +\infty} C_{\text{int}}^{\mathbf{u}\mathbf{u}}(t) \quad (13)$$

On peut définir un repère local pour chaque vecteur tel que  $\langle \mathbf{u} \rangle$  soit colinéaire à l'axe  $z$ . Dans l'hypothèse de mouvements de faible amplitude autour d'une position d'équilibre du vecteur  $\mathbf{u}$ , la fonction de corrélation interne  $C_{\text{int}}^{\mathbf{u}\mathbf{u}}(t)$  est :

$$C_{\text{int}}^{\mathbf{u}\mathbf{u}}(t) = 1 - 3 \langle u_x^2 + u_y^2 \rangle^{eq} + 3 \langle u_x(t)u_x(0) + u_y(t)u_y(0) \rangle \quad (14)$$

et le paramètre d'ordre est :

$$S^2 = 1 - 3 \langle u_x^2 + u_y^2 \rangle^{eq} \quad (15)$$

### 2.2.3 Diffusion rotationnelle anisotrope à symétrie axiale

Nous nous plaçons à présent dans le cas plus général de molécules ayant une diffusion rotationnelle anisotrope à symétrie axiale. En conservant l'hypothèse de l'indépendance statistique des mouvements globaux et locaux, et en supposant des mouvements locaux de faible amplitude autour de la position d'équilibre dans le repère local, une autre expression est obtenue pour la fonction de corrélation du vecteur  $\mathbf{u}$  :

$$C^{\mathbf{u}\mathbf{u}}(t) = \sum_{r=0}^{r=+2} e^{-D_r t} \left[ \xi_{r,1} (1 - 3 \langle u_x^2 + u_y^2 \rangle^{eq}) + \xi_{r,2} \langle u_x^2 - u_y^2 \rangle^{eq} \right. \\ \left. + 3\xi_{r,3} \langle u_x(t)u_x(0) + u_y(t)u_y(0) \rangle + \xi_{r,4} \langle u_x(t)u_x(0) - u_y(t)u_y(0) \rangle \right] \quad (16)$$

Dans cette expression, les coefficients<sup>9</sup>  $\xi_{r,s}$  sont liés à la géométrie du système par l'orientation repérée par l'angle  $\varphi$  du vecteur par rapport au tenseur de diffusion (voir table 1). Les coefficients de diffusion  $D_r$  sont liés au tenseur de diffusion par  $D_r = 6D_{\perp} + (D_{\parallel} - D_{\perp})r^2$ .

$s \setminus r$	0	1	2
1	$\frac{1}{4}(3 \cos^2 \varphi - 1)^2$	$3 \cos^2 \varphi \sin^2 \varphi$	$\frac{3}{4} \sin^4 \varphi$
2	$\frac{3}{4}(3 \cos^2 \varphi - 1) \sin^2 \varphi$	$-3 \cos^2 \varphi \sin^2 \varphi$	$\frac{3}{4}(1 + \cos^2 \varphi) \sin^2 \varphi$
3	$\frac{3}{2} \cos^2 \varphi \sin^2 \varphi$	$\frac{1}{4}(2 + \cos 2\varphi + \cos 4\varphi)$	$\frac{1}{4}(3 + \cos 2\varphi) \sin^2 \varphi$
4	$\frac{9}{2} \cos^2 \varphi \sin^2 \varphi$	$-\frac{3}{2}(1 + 2 \cos 2\varphi) \sin^2 \varphi$	$-\frac{3}{2} \sin^4 \varphi$

TAB. 1 – Coefficients  $\xi_{r,s}$  intervenant dans la fonction d'autocorrélation dans le cas d'une diffusion rotationnelle anisotrope, en fonction de l'angle  $\varphi$  entre la position moyenne du vecteur et l'axe de symétrie du tenseur de diffusion.

L'analyse de l'expression 16 montre qu'il n'est plus possible de définir le paramètre d'ordre comme la limite aux temps longs d'une fonction de corrélation interne unique. D'autre part, l'anisotropie du mouvement local acquiert une influence qu'elle n'avait pas dans le cas d'une diffusion rotationnelle globale isotrope à travers les termes  $\langle u_x^2 - u_y^2 \rangle^{eq}$  et  $\langle u_x(t)u_x(0) - u_y(t)u_y(0) \rangle$ . En absence d'anisotropie du mouvement local, on peut néanmoins définir un paramètre d'ordre qui a la même expression que précédemment (voir équation 15).

### 2.3 Expression des vitesses de relaxation de l'azote $^{15}\text{N}$ du plan peptidique des protéines

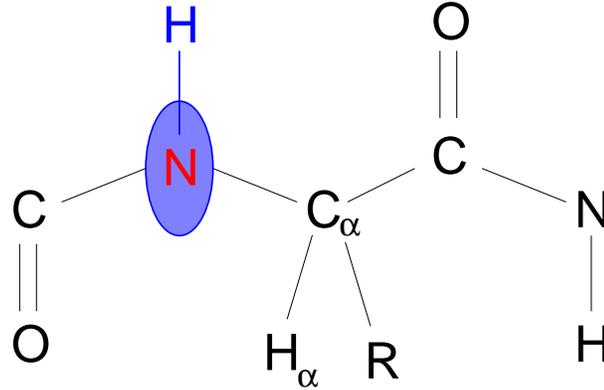


FIG. 3 – Élément du squelette d'une protéine. En rouge, l'azote  $^{15}\text{N}$ , en bleu, les deux interactions magnétiques qui gouvernent sa relaxation. L'ellipse bleue représente l'anisotropie de déplacement chimique de  $^{15}\text{N}$ , et le couplage dipolaire avec le spin de  $^1\text{H}$  en bleu est représenté par la liaison bleue.

La relaxation de l'azote  $^{15}\text{N}$  du plan peptidique des protéines (voir figure 3) est gouvernée par deux interactions. L'interaction la plus forte est le couplage dipolaire avec le  $^1\text{H}$  voisin qui donne lieu au terme  $d_{\text{NH}}^2$ . Cette interaction est portée par le vecteur interatomique  $\mathbf{u}_{\text{NH}}$ . La deuxième interaction magnétique est l'anisotropie de déplacement chimique de  $^{15}\text{N}$  qui donne le terme  $a_{\text{N}}^2$ . Deux approximations majeures sont ici que l'axe principal de ce tenseur est colinéaire à la liaison  $^{15}\text{N}$ - $^1\text{H}$  et que ce tenseur a une symétrie axiale. Nous considérons en première approximation que ces deux interactions sont portées par le même vecteur et que la même fonction de densité spectrale peut décrire leurs effets sur la relaxation de  $^{15}\text{N}$ .

$$d_{\text{NH}}^2 = \frac{(\mu_0^{\text{red}} \hbar \gamma_{\text{H}} \gamma_{\text{N}})^2}{10r_{\text{NH}}^6} \quad \text{et} \quad a_{\text{N}}^2 = \frac{(\gamma_{\text{N}} B_0 \Delta\sigma_{\text{N}})^2}{15} \quad (17)$$

L'expression des vitesses de relaxation de l'azote  $^{15}\text{N}$  sous l'effet de ces deux interactions magnétiques fluctuantes peut être déterminée à partir des équations 6 et 7 et des hamiltoniens de ces interactions. Le calcul de l'évolution des opérateurs adéquats permet d'obtenir les expressions suivantes pour la relaxation longitudi-

nale  $R_1$ , la relaxation transversale  $R_2$  et l'effet Overhauser nucléaire  $\eta_{\text{NH}}$  :

$$R_1 = d_{\text{NH}}^2 \left( 3J(\omega_{\text{N}}) + J(\omega_{\text{H}} - \omega_{\text{N}}) + 6J(\omega_{\text{H}} + \omega_{\text{N}}) \right) + a_{\text{N}}^2 2J(\omega_{\text{N}}) \quad (18)$$

$$R_2 = d_{\text{NH}}^2 \left( 2J(0) + \frac{3}{2}J(\omega_{\text{N}}) + \frac{1}{2}J(\omega_{\text{H}} - \omega_{\text{N}}) + 3J(\omega_{\text{H}}) + 3J(\omega_{\text{H}} + \omega_{\text{N}}) \right) + a_{\text{N}}^2 \left( \frac{4}{3}J(0) + J(\omega_{\text{N}}) \right) \quad (19)$$

$$\eta_{\text{NH}} = 1 + \frac{\gamma_{\text{H}} d_{\text{NH}}^2 (6J(\omega_{\text{H}} + \omega_{\text{N}}) - J(\omega_{\text{H}} - \omega_{\text{N}}))}{\gamma_{\text{N}} R_1} \quad (20)$$

L'existence de deux interactions conduisant à la relaxation est à l'origine d'effets d'interférences entre les processus de relaxation appelés corrélations croisées (*cross correlation*) qui ne seront pas abordés ici.

### 3 Analyse des vitesses de relaxation en terme de dynamique interne

Les vitesses de relaxation contiennent des informations de diffusion rotationnelle globale et de dynamique interne. La paramétrisation de la diffusion rotationnelle est plus aisée que celle des mouvements internes. Il existe deux types d'approches pour cette dernière. La première est de postuler un type de mouvement particulier et d'en déduire les fonctions de corrélation et de densité spectrale correspondante, puis les vitesses de relaxation. La deuxième approche consiste à définir une forme de fonction de corrélation ou de densité spectrale et à extraire les paramètres correspondants. Dans les deux cas, il s'agit d'ajuster des modèles aux données expérimentales. L'approche de cartographie de densité spectrale réduite diffère dans la mesure où elle ne nécessite pas d'hypothèses sur la nature des mouvements ou la forme des fonctions de densité spectrale. Elle consiste à résoudre un système d'équations.

#### 3.1 Formalisme dit *model-free* de Lipari-Szabo

Le formalisme dit *model-free* a été proposé par Lipari et Szabo<sup>10,11</sup> en 1982. En 1990, Clore et ses collaborateurs<sup>12</sup> ont proposé une extension à cette méthode qui est désignée par *extended model-free*. Le principe est d'ajuster aux données expérimentales, par la méthode des moindres carrés, une fonction de densité spectrale, et ce sans faire d'hypothèses sur la nature des mouvements intramoléculaires.

L'approche initiale suppose que les mouvements internes et globaux sont indépendants et que la fonction de corrélation peut donc être écrite comme le produit

de deux fonctions de corrélations (voir équation 10). Lipari et Szabo proposent une fonction monoexponentielle décroissante pour la fonction de corrélation interne. Dans un premier temps, nous restreindrons ce modèle à une rotation globale isotrope.

$$C_0^{\text{uu}}(t) = \exp \frac{-t}{\tau_c} \quad \text{et} \quad C_{\text{int}}^{\text{uu}}(t) = S^2 + (1 - S^2) \exp \frac{-t}{\tau_E} \quad (21)$$

La fonction de corrélation interne fait appel à deux paramètres. Le premier,  $S^2$ , compris entre 0 et 1, est appelé paramètre d'ordre généralisé et correspond à une mesure de la restriction spatiale des mouvements. Le second paramètre,  $\tau_E$ , est appelé temps de corrélation interne effectif. La transformation de Fourier réelle de la fonction de corrélation donne l'expression suivante pour la fonction de densité spectrale :

$$J(\omega) = \frac{S^2 \tau_c}{1 + (\omega \tau_c)^2} + \frac{(1 - S^2) \tau_E'}{1 + (\omega \tau_E')^2} \quad \text{avec} \quad \frac{1}{\tau_E'} = \frac{1}{\tau_c} + \frac{1}{\tau_E} \quad (22)$$

Pour que cette forme de densité spectrale permette une bonne reproduction des données expérimentales, il faut que les mouvements internes soient nettement plus rapides que le mouvement de diffusion rotationnelle global :  $\tau_E \ll \tau_c$  et que les mouvements internes remplissent la condition  $\omega \tau_E \ll 1$ .

La généralisation à la rotation globale anisotrope s'écrit :

$$J(\omega) = \sum_{r=-2}^{+2} A_r \left[ \frac{S^2 \tau_r}{1 + (\omega \tau_r)^2} + \frac{(1 - S^2) \tau_{E,r}}{1 + (\omega \tau_{E,r})^2} \right] \quad \text{avec} \quad \frac{1}{\tau_{E,r}} = \frac{1}{\tau_r} + \frac{1}{\tau_E} \quad (23)$$

où les expressions de  $A_r$  et  $\tau_r$  font appel au tenseur de diffusion rotationnelle et à l'orientation du vecteur considéré dans le repère où ce tenseur est diagonal.

Dans le cas où  $\tau_E$  est très petit, le second terme de l'équation 22 peut être négligé et on obtient une expression simplifiée :

$$J(\omega) = \frac{S^2 \tau_c}{1 + (\omega \tau_c)^2} \quad (24)$$

Il est bien entendu possible de faire la même simplification dans le cas d'une rotation globale anisotrope :

$$J(\omega) = \sum_{r=-2}^{+2} A_r \frac{S^2 \tau_r}{1 + (\omega \tau_r)^2} \quad (25)$$

L'analyse étendue est utile lorsque l'inégalité  $\omega \tau_E \ll 1$  n'est pas vérifiée. L'extension consiste à ajouter une deuxième exponentielle décroissante dans l'expression de la fonction de corrélation interne :

$$C_{\text{int}}^{\text{uu}}(t) = S_F^2 S_S^2 + S_F^2 (1 - S_S^2) \exp \frac{-t}{\tau_S} + (1 - S_F^2) \exp \frac{-t}{\tau_F} \quad \text{avec} \quad S^2 = S_F^2 S_S^2$$

(26)

La transformée de Fourier réelle du produit  $C_0^{\text{uu}}C_{\text{int}}^{\text{uu}}$  donne la fonction de densité spectrale suivante :

$$J(\omega) = \frac{S_F^2 S_S^2 \tau_C}{1 + (\omega \tau_C)^2} + \frac{S_F^2 (1 - S_S^2) \tau'_S}{1 + (\omega \tau'_S)^2} + \frac{(1 - S_F^2) \tau'_F}{1 + (\omega \tau'_F)^2} \quad (27)$$

$$\text{avec} \quad \frac{1}{\tau'_S} = \frac{1}{\tau_C} + \frac{1}{\tau_S} \quad \text{et} \quad \frac{1}{\tau'_F} = \frac{1}{\tau_C} + \frac{1}{\tau_F} \quad (28)$$

Cette analyse faisant apparaître quatre paramètres ajustables  $S_S^2$ ,  $S_F^2$ ,  $\tau_S$  et  $\tau_F$ , il est nécessaire de faire une hypothèse supplémentaire lorsqu'on utilise seulement trois mesures expérimentales, par exemple  $R_1$ ,  $R_2$  et  $\eta_{\text{NH}}$  : on suppose que  $\tau_F$  est petit et que le troisième terme de la fonction de densité spectrale peut être négligé.

$$J(\omega) = \frac{S_F^2 S_S^2 \tau_C}{1 + (\omega \tau_C)^2} + \frac{S_F^2 (1 - S_S^2) \tau'_S}{1 + (\omega \tau'_S)^2} \quad (29)$$

La généralisation à une rotation globale anisotrope est toujours possible :

$$J(\omega) = \sum_{r=-2}^{+2} A_r \left[ \frac{S_F^2 S_S^2 \tau_r}{1 + (\omega \tau_r)^2} + \frac{S_F^2 (1 - S_S^2) \tau_{s,r}}{1 + (\omega \tau_{s,r})^2} \right] \quad (30)$$

Le traitement de la contribution d'échange à la relaxation transversale se fait par ajout d'un terme  $R_{\text{ex}}$  à la valeur prédite à partir de la fonction de densité spectrale. Un tel terme est introduit pour des rapports  $(R_2/R_1)^{\text{exp}}$  nettement supérieurs à ceux des autres positions dans la séquence des résidus de la protéine. Une autre possibilité consiste à comparer des séries de mesures à plusieurs champs magnétiques. En tout état de cause, l'échange chimique est mieux évalué par des mesures spécifiques telles que la relaxation longitudinale dans un référentiel tournant  $R_{1\rho}$  ou la mesure de la relaxation transversale  $R_2^{\text{app}}$  pendant une séquence d'échos de Carr, Purcell, Meiboom et Gill (CPMG) en fonction de l'intervalle  $\tau_{\text{CPMG}}$  qui sépare les impulsions.

### 3.2 Cartographie de densité spectrale

L'expression des vitesses de relaxation de l'azote  $^{15}\text{N}$  amide du squelette des protéines fait intervenir cinq points de la fonction de densité spectrale :  $J(0)$ ,  $J(\omega_N)$ ,  $J(\omega_H - \omega_N)$ ,  $J(\omega_H)$  et  $J(\omega_H + \omega_N)$ . La détermination complète de ces cinq points nécessite donc au moins cinq mesures de relaxation.<sup>13</sup> Cependant, moyennant une hypothèse simplificatrice, il est possible de déterminer les valeurs de la fonction de densité spectrale en trois points à partir des trois mesures  $R_1^{\text{exp}}$ ,  $R_2^{\text{exp}}$

et  $\eta_{\text{NH}}^{\text{exp}}$  utilisées dans le formalisme de Lipari-Szabo : c'est ce qu'on appelle la cartographie de densité spectrale réduite (*reduced spectral density mapping*).<sup>13-15</sup>

L'approximation utilisée permet la réduction du nombre d'inconnues. Elle se base sur les résultats de cartographie de densité spectrale complète<sup>16</sup> pour supposer que, autour de la fréquence  $\omega_{\text{H}}$ , la fonction de densité spectrale varie peu et peut donc être approchée par une seule valeur  $J^{\text{SDM}}(\omega_{\text{h}})$ . La variation de la fonction de densité spectrale est moins grande autour de  $\omega_{\text{H}}$  que autour de  $\omega_{\text{N}}$  et de la fréquence zéro.

$$J^{\text{SDM}}(\omega_{\text{h}}) = \{J(\omega_{\text{H}} - \omega_{\text{N}}) \approx J(\omega_{\text{H}}) \approx J(\omega_{\text{H}} + \omega_{\text{N}})\} \quad (31)$$

À partir de ces deux approximations, le système composé des trois équations 18, 19 et 20 peut être résolu. On obtient des expressions de  $J^{\text{SDM}}(0)$ ,  $J^{\text{SDM}}(\omega_{\text{N}})$  et  $J^{\text{SDM}}(\omega_{\text{h}})$  en fonction des trois observables RMN  $R_1^{\text{exp}}$ ,  $R_2^{\text{exp}}$  et  $\eta_{\text{NH}}^{\text{exp}}$ .

$$J^{\text{SDM}}(\omega_{\text{h}}) = \frac{R_1^{\text{exp}} \gamma_{\text{N}}}{5d_{\text{NH}}^2 \gamma_{\text{H}}} (\eta_{\text{NH}}^{\text{exp}} - 1) \quad (32)$$

$$J^{\text{SDM}}(\omega_{\text{N}}) = \frac{R_1^{\text{exp}}}{3d_{\text{NH}}^2 + 2a_{\text{N}}^2} \left( 1 - \frac{7\gamma_{\text{N}}}{5\gamma_{\text{H}}} (\eta_{\text{NH}}^{\text{exp}} - 1) \right) \quad (33)$$

$$J^{\text{SDM}}(0) = \frac{1}{4(3d_{\text{NH}}^2 + 2a_{\text{N}}^2)} \left[ 6R_2^{\text{exp}} - R_1^{\text{exp}} \left( 3 + \frac{18\gamma_{\text{N}}}{5\gamma_{\text{H}}} (\eta_{\text{NH}}^{\text{exp}} - 1) \right) \right] \quad (34)$$

Les expressions des paramètres  $a_{\text{N}}^2$  et  $d_{\text{NH}}^2$  sont données dans l'équation 17. Les trois valeurs  $J^{\text{SDM}}(0)$ ,  $J^{\text{SDM}}(\omega_{\text{N}})$  et  $J^{\text{SDM}}(\omega_{\text{h}})$  sont des estimations de  $J(0)$ ,  $J(\omega_{\text{N}})$  et  $J(\omega_{\text{H}})$ .

Lors de cette approche de cartographie de densité spectrale réduite, il faut se rappeler que la contribution de l'échange à la vitesse de relaxation transversale  $R_{\text{ex}}$  n'est pas prise en compte (sauf si l'on remplace  $R_2^{\text{exp}}$  par  $R_2^{\text{exp}} - R_{\text{ex}}$  dans l'équation 34). Les effets de l'échange conformationnel lent se traduisent par une contribution apparente à  $J(0)$  qui est donc surestimée.

Il existe différentes variantes de cette analyse qui font intervenir soit des mesures<sup>17</sup> à plusieurs champs magnétiques, soit la mesure d'un plus grand nombre de vitesses de relaxation.<sup>13</sup>

### 3.3 Modèles de dynamique

De façon générale, il y a deux possibilités pour comparer un modèle de dynamique aux mesures expérimentales de relaxation. La première est de calculer les fonctions de densités spectrales à partir du modèle et d'en déduire des vitesses de relaxation que l'on compare aux vitesses mesurées expérimentalement. La deuxième possibilité est d'analyser les données expérimentales selon le formalisme de Lipari et Szabo et de comparer les paramètres obtenus à ceux qui sont

prédits par le modèle. Bien que moins exigeante du point de vue des calculs, cette approche a l'inconvénient d'imposer une forme aux fonctions de densités spectrales qui n'est pas nécessairement adaptée à tous les modèles de dynamiques. Parmi les nombreux modèles utilisables (voir une revue relativement complète<sup>18</sup>), on peut citer notamment la diffusion dans un cône,<sup>10</sup> les sauts entre deux sites,<sup>12,19</sup> et la combinaison des deux précédents,<sup>12,19</sup> qui ont été proposés en association avec des formes de fonction de corrélation interne. Le modèle 3D-GAF (*3D gaussian amplitude fluctuations*)<sup>20-22</sup> propose d'analyser les mouvements internes en terme de rotations des plans peptidiques autour de trois axes. Il existe en outre des modèles de contact<sup>23,24</sup> qui font intervenir la structure statique de la protéine par le biais des densités atomiques.

## Références

- [1] F. Bloch, «Nuclear Induction», *Phys. Rev.* **1946**, 70 (7-8) : 460-474.
- [2] N. Bloembergen, E. M. Purcell et R. V. Pound, «Relaxation Effects in Nuclear Magnetic Resonance Absorption», *Phys. Rev.* **1948**, 73 (7) : 679-712.
- [3] M. W. F. Fischer, A. Majumdar et E. R. P. Zuiderweg, «Protein NMR relaxation : theory, applications and outlook», *Prog. NMR Spectrosc.* **1998**, 33 : 207-272.
- [4] D. M. Korzhnev, M. Billeter, A. S. Arseniev et V. Y. Orekhov, «NMR studies of brownian tumbling and internal motions in proteins», *Prog. NMR Spectrosc.* **2001**, 38 : 197-266.
- [5] A. Abragam, *Principles of nuclear magnetism*, Clarendon Press, Oxford, **1961**.
- [6] R. R. Ernst, G. Bodenhausen et A. Wokaun, *Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions*, Clarendon Press, Oxford, **1987** pages 49-57.
- [7] A. G. Redfield, *Theory of nuclear relaxation processes*, tome 1 de *Adv. Magn. Reson.*, Academic Press, New York, **1965**.
- [8] A. G. Redfield, «On the Theory of Relaxation Processes», *IBM J. Res. Dev.* **1957**, 1 : 19-31.
- [9] V. A. Daragan et K. H. Mayo, «Using the Model Free Approach to Analyze NMR relaxation data in case of anisotropic molecular diffusion», *J. Phys. Chem. B* **1999**, 103 (32) : 6829-6834.
- [10] G. Lipari et A. Szabo, «Model-free approach to the interpretation of nuclear magnetic resonance relaxation in macromolecules 1. theory and range of validity», *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104 : 4546-4559.

- [11] G. Lipari et A. Szabo, «Model-free approach to the interpretation of nuclear magnetic resonance relaxation in macromolecules 2. analysis of experimental results», *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104* : 4559–4570.
- [12] G. M. Clore, A. Szabo, A. Bax, L. E. Kay, P. C. Driscoll et A. M. Gronenborn, «Deviations from the simple two-parameter model-free approach to the interpretation of nitrogen-15 nuclear magnetic relaxation of proteins», *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112* (12) : 4989–4991.
- [13] J.-F. Lefevre, K. T. Dayie, J. W. Peng et G. Wagner, «Internal Mobility in the Partially Folded DNA Binding and Dimerization Domains of GAL4 : NMR Analysis of the N-H Spectral Density Functions», *Biochemistry* **1996**, *35* (8) : 2674–2686.
- [14] N. A. Farrow, O. Zhang, J. D. Forman-Kay et L. E. Kay, «Comparison of the Backbone Dynamics of a Folded and an Unfolded SH3 Domain Existing in Equilibrium in Aqueous Buffer», *Biochemistry* **1995**, *34* (3) : 868–878.
- [15] A. Farrow, O. Zhang, A. Szabo, D. A. Torchia et L. E. Kay, «Spectral density function mapping using  $^{15}\text{N}$  relaxation data exclusively», *J. Biomol. NMR* **1995**, *6* (2) : 153–162.
- [16] J. W. Peng et G. Wagner, «Mapping of the spectral densities of nitrogen-hydrogen bond motions in Eglin c using heteronuclear relaxation experiments», *Biochemistry* **1992**, *31* (36) : 8571–8586.
- [17] V. Ropars, S. Bouguet-Bonnet, D. Auguin, P. Barthe, D. Canet et C. Roumes-tand, «Unraveling protein dynamics through fast spectral density mapping», *J. Biomol. NMR* **2007**, *37* (3) : 159–177.
- [18] V. A. Daragan et K. H. Mayo, «Motional model analyses of protein and peptide dynamics using  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  NMR relaxation», *Prog. NMR Spectrosc.* **1997**, *31* (1) : 63–105.
- [19] G. M. Clore, P. C. Driscoll, P. T. Wingfield et A. M. Gronenborn, «Analysis of the backbone dynamics of interleukin-1 beta using two-dimensional inverse detected heteronuclear nitrogen-15-proton NMR spectroscopy», *Biochemistry* **1990**, *29* (32) : 7398–7401.
- [20] R. Brüeschweiler et P. E. Wright, «NMR Order Parameters of Biomolecules : A New Analytical Representation and Application to the Gaussian Axial Fluctuation Model», *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116* (18) : 8426–8427.
- [21] T. Bremi et R. Brüschweiler, «Locally Anisotropic Internal Polypeptide Backbone Dynamics by NMR Relaxation», *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119* (28) : 6672–6673.
- [22] S. F. Lienin, T. Bremi, B. Brutscher, R. Brüschweiler et R. R. Ernst, «Anisotropic Intramolecular Backbone Dynamics of Ubiquitin Characterized by

- NMR Relaxation and MD Computer Simulation», *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120* (38) : 9870–9879.
- [23] F. Zhang et R. Bruschweiler, «Contact Model for the Prediction of NMR N-H Order Parameters in Globular Proteins», *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124* (43) : 12 654–12 655.
- [24] D. Ming et R. Bruschweiler, «Reorientational Contact-Weighted Elastic Network Model for the Prediction of Protein Dynamics : Comparison with NMR Relaxation», *Biophys. J.* **2006**, *90* : 3382–3388.