



Doctoral Thesis

Anisotropic dynamics in molecular systems studied by NMR relaxation

Author(s):

Lienin, Stephan Frank

Publication Date:

1998

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-001990510> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No 12871

Anisotropic Dynamics in Molecular Systems
Studied by NMR Relaxation

Dissertation

for the degree of
Doctor of Natural Sciences

submitted to the
Eidgenössische Technische Hochschule
Zürich

presented by
Stephan Frank Lienin

Dipl. Chem. ETH
born March 23, 1970
citizen of Germany

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Richard R. Ernst, examiner
Prof. Dr. Rafael Brüschweiler, co-examiner

Zürich, 1998

Abstract

In this thesis, experimental NMR relaxation methods and theoretical techniques are combined to extract information about anisotropic dynamics of molecular systems in the liquid state.

In the first part, the anisotropy of rapid fluctuations of the peptide planes in ubiquitin is explored by combined ^{15}N and ^{13}C nuclear spin relaxation measurements and molecular dynamics computer simulation. T_1 , T_2 , and NOE data are collected at B_0 -field strengths corresponding to 400 and 600 MHz proton resonance. A 1.5 ns simulation of ubiquitin in an explicit water environment is performed using CHARMM 24. The simulation suggests that, for 76% of the peptide planes, the relaxation-active motion of the backbone ^{15}N and ^{13}C spins is dominated by anisotropic Gaussian axial fluctuations of the peptide planes about three orthogonal axes. The dominant fluctuation axes are nearly parallel to the $\text{C}_{i-1}^\alpha - \text{C}_i^\alpha$ axes. The remaining peptide planes belong to more flexible regions of the backbone and cannot be described by this type of motion alone. Based on the results of the computer simulation, an analytical 3D GAF motional model is applied to the experimental relaxation data. The fluctuation amplitudes of the peptide planes show a significant anisotropy of the internal motion. This analysis demonstrates that a combined interpretation of ^{15}N and ^{13}C relaxation data by a model derived from a computer simulation may provide detailed insight into the fast time-scale backbone dynamics that goes beyond the results of a standard model-free analysis.

In the second part, density functional theory calculations of chemical shielding anisotropies (CSA) and molecular dynamics simulations are combined to a CSA trajectory which contains the fluctuations of the CSA tensor induced by intramolecular motion. For the ^{15}N and ^{13}C CSA tensors, located in three different peptide planes in the α helix, a β strand, and a loop region in ubiquitin, it is found that the fluctuations characterized as standard deviations of the chemical shielding anisotropy distributions do not exceed 10%. The anisotropies of the calculated average CSA tensors differ only slightly between the different secondary structure elements. An analysis of the CSA trajectories indicates that the fluctuations of the CSA

tensors do not have to be explicitly taken into account for a description of CSA relaxation and thus the use of a locally averaged CSA tensor is sufficient for the back-calculation of relaxation rate constants. The effect of motional averaging of the CSA tensors, which should be considered when CSA tensors obtained by solid state NMR experiments at room temperature are used for the interpretation of CSA relaxation in the liquid state, is estimated for different values of the motional parameters. This analysis is a first step towards an improved understanding of CSA interaction strengths of backbone spins in proteins which is important to reduce uncertainties of extracted motional parameters in NMR relaxation studies.

In the third part, it is investigated whether the viscosity-dependent retarding effect of a polymeric solvent on the rotation of solute molecules can be used to shift the NMR observation window for the timescale of intramolecular motion. It is found that the ^{13}C NMR relaxation measurements of the model system 1,3-dibromoadamantane in highly viscous polymeric chlorotrifluoroethene can be explained neither by isotropic nor by realistic anisotropic tumbling in a single environment. The experimental data are rationalized in terms of fast exchange between at least two environments with correlation times differing by up to two orders of magnitude. This demonstrates that a uniform retardation of molecular tumbling by a polymeric solvent is not always feasible.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit werden NMR-Relaxationsexperimente und theoretische Methoden miteinander kombiniert, um die anisotrope Dynamik in molekularen Systemen in flüssiger Phase zu charakterisieren.

Im ersten Teil wird die Anisotropie schneller Fluktuationen der Peptidebenen im Protein Ubiquitin untersucht, indem man ^{15}N - und $^{13}\text{C}'$ -Kernspinrelaxationsmessungen und Moleküldynamik-Computersimulationen miteinander verknüpft. Hierbei werden T_1 , T_2 und NOE -Relaxationsdaten bei B_0 -Feldstärken entsprechend 400 und 600 MHz für die Protonenresonanz gemessen. Desweiteren wird eine 1.5 ns lange Simulation von Ubiquitin einschließlich expliziter Wasserumgebung mittels CHARMM 24 durchgeführt. Die Simulation zeigt, daß bei 76% aller Peptidebenen die relaxationsaktive Bewegung der ^{15}N - und $^{13}\text{C}'$ -Kernspins im *Backbone* durch anisotrope Fluktuationen der Peptidebenen um drei orthogonale Achsen beschrieben werden kann, wobei die Verteilung der Fluktuationwinkel um jede der Achsen einer Gauß-Verteilungsfunktion genügt (3D GAF-Modell). Dabei liegen die Achsen, um welche die größten Fluktuationen stattfinden, nahezu parallel zu den $\text{C}_{i-1}^\alpha - \text{C}_i^\alpha$ -Achsen. Die restlichen Peptidebenen gehören zu flexibleren Regionen des *Backbone* und können nicht mittels dieser Art von Bewegung beschrieben werden. Aufgrund der Resultate der Computersimulation wird eine analytische Form des 3D GAF-Modells verwendet, um die experimentellen Relaxationsdaten zu interpretieren. Die extrahierten Fluktuationsamplituden der Peptidebenen spiegeln eine signifikante Anisotropie der internen Bewegung wider. Die Analyse zeigt, daß die kombinierte Interpretation von ^{15}N - und $^{13}\text{C}'$ -Relaxationsdaten mittels eines Modells, welches anhand einer Computersimulation entwickelt wurde, detaillierte Einsicht in die schnelle *Backbone*dynamik ermöglicht und so über die Resultate einer modellfreien Analyse hinausgeht.

Im zweiten Teil werden Moleküldynamik-Simulationen und Berechnungen der chemischen Verschiebungsanisotropie (CSA) mittels Dichtefunktional-Theorie zu einer CSA-Trajektorie kombiniert, welche die durch die intramolekulare Bewegung induzierten Fluktuationen des CSA-

Tensors enthält. Im Falle der ^{15}N - und ^{13}C '-CSA-Tensoren von drei Peptidebenen in der α -Helix, in einem β -Faltblattstrukturelement und in einer Schleifenregion von Ubiquitin überschreiten die Fluktuationen, welche durch die Standardabweichungen der Verteilungen der chemischen Verschiebungsanisotropie gekennzeichnet sind, nicht die 10%-Marke. Die Anisotropien der berechneten, durchschnittlichen CSA-Tensoren unterscheiden sich kaum in den unterschiedlichen Sekundärstrukturelementen. Eine Analyse der CSA-Trajektorien zeigt, daß die Fluktuationen der CSA-Tensoren nicht explizit für die Beschreibung der CSA-Relaxation berücksichtigt werden müssen. Stattdessen genügt es, lokal gemittelte CSA-Tensoren für die Berechnung der Relaxationsratenkonstanten zu verwenden. Weitergehend wird die Bewegungsmittelung von CSA-Tensoren für verschiedene Werte der Bewegungsparameter abgeschätzt. Dieser Effekt sollte berücksichtigt werden, wenn die bei Raumtemperatur mittels Festkörper-NMR ermittelten CSA-Tensoren für die Interpretation von CSA-Relaxation in flüssiger Phase verwendet werden. Die vorgelegte Analyse stellt einen ersten Schritt in Richtung eines verbesserten Verständnisses der CSA-Interaktionsstärke für Kernspins im *Backbone* von Proteinen dar. Dies ist wichtig, um die Unbestimmtheit der extrahierten Bewegungsparameter in NMR-Relaxationstudien zu verringern.

Im dritten Teil wird untersucht, ob der viskositätsabhängige Verlangsamungseffekt eines polymeren Lösungsmittels auf die Rotation eines gelösten Moleküls dazu verwendet werden kann, das NMR-Beobachtungsfenster für die Zeitskala intramolekularer Bewegung zu verschieben. Es zeigt sich, daß die ^{13}C -NMR-Relaxationsmeßdaten des Modellsystems 1,3-Dibromadamantan in hochviskosem Polychlortrifluorethylen weder mit isotroper noch realistisch anisotroper rotatorischer Diffusion in einer Umgebung erklärt werden können. Die experimentellen Daten werden durch einen schnellen Austausch zwischen mindestens zwei Umgebungen rationalisiert, wobei die Korrelationszeiten sich um bis zu zwei Größenordnungen unterscheiden. Dies zeigt, daß die einheitliche Verlangsamung der rotatorischen Diffusion durch polymere Lösungsmittel nicht immer möglich ist.