

УДК 517.15

МЕХАНИЗМ ФОТОРЕАКЦИИ В БАКТЕРИАЛЬНОМ РЕЦЕПТОРЕ СИНЕГО СВЕТА BLUF ПО РЕЗУЛЬТАТАМ МОДЕЛИРОВАНИЯ МЕТОДОМ МЕТАДИНАМИКИ

М.Г. Хренова, А.А. Никифоров, Н.Н. Андрийченко, В.А. Миронов, А.В. Немухин

(кафедра физической химии; e-mail: wasabiko13@gmail.com)

Механизм химических преобразований в фоторецепторных доменах синего света (BLUF) предполагает изомеризацию боковой цепи глутамина. Методом метадинамики с использованием потенциалов, вычисляемых в приближении квантовой механики – молекулярной механики (КМ/ММ), построены профили энергии Гельмгольца реакции изомеризации боковой цепи таутомерной формы глутамина в домене BLUF бактериального белка AppA.

Ключевые слова: метод метадинамики, метод КМ/ММ, BLUF-домен.

Флавиносодержащие рецепторы синего света (BLUF) выполняют регуляторную функцию во многих бактериальных процессах. Функционирование BLUF-доменов обусловлено небольшими изменениями в области хромофорного кармана. А именно, в результате фотореакции происходят реорганизация сетки водородных связей хромофора с ближайшими остатками и таутомеризация функциональной группы Gln63, в то время как сама хромофорная группа в результате фотореакции остается без изменений (рис. 1) [1–4].

Согласно литературным данным [5–6], облучение системы приводит к фотореакции, в результате которой происходит перенос протона и электрона с Tyr21 на флаavin через Gln63; при этом происходит таутомеризация Gln63. Эти процессы протекают на поверхностях возбужденных электронных состояний, однако окончательное формирование бирадикального

состояния {Tyr21• + флавин•} происходит в основном электронном состоянии. Последующие стадии могут проходить в бирадикальном состоянии с рекомбинацией только на последней стадии или в состоянии с замкнутыми электронными оболочками, если рекомбинация произошла сразу.

По результатам расчетов в молекулярном кластере, содержащем хромофор и ближайшие аминокислотные остатки, было показано, что при реализации пути с электронной структурой замкнутых оболочек лимитирующей является стадия изомеризации фрагмента –C=N–H боковой цепи глутамина с барьером 29 ккал/моль [7]. Установлено, что такой процесс происходит не при вращении функциональной группы по двугранному углу, а при изменении угла –C=N–H со структурой переходного состояния, соответствующей линейной конфигурации этих трех атомов. Однако такой процесс может затрагивать локальное белковое

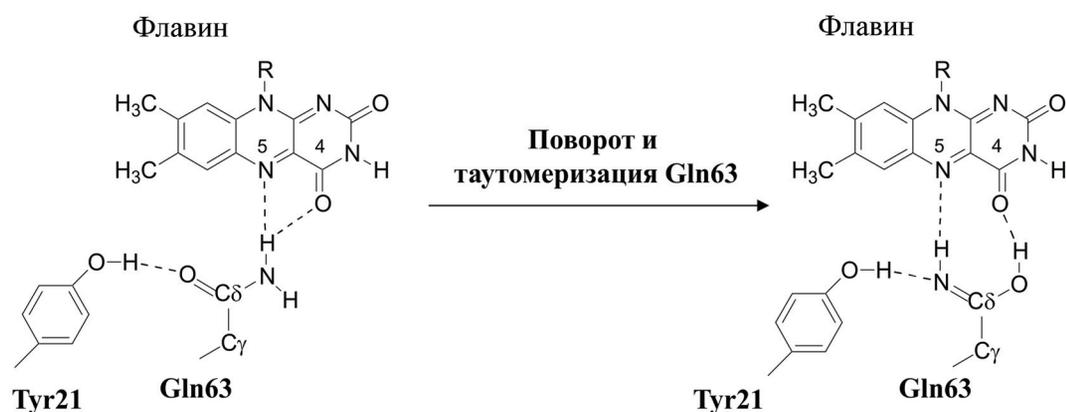


Рис. 1. Механизм фотореакции в BLUF-домене (показаны молекулярные фрагменты, составляющие квантовую подсистему в расчетах метадинамики методом КМ/ММ)

окружение, поэтому требуется явный учет белковой матрицы.

В данной работе мы проводили моделирование процесса изомеризации имидной группы глутамина Gln63 в белке AppA с использованием метода метадинамики, позволяющего эффективно сканировать часть конформационного пространства вдоль пути реакции.

Метод метадинамики [8, 9] предполагает изучение энергетического профиля реакции за счет добавления гауссовых компонент к энергии системы, что дает ей возможность переходить из минимума, соответствующего реагентам, в минимум, соответствующий продуктам, в процессе молекулярно-динамического моделирования за небольшое время.

В нашем подходе для расчетов энергии применяется комбинированный метод квантовой и молекулярной механики (КМ/ММ). Этот метод позволяет описывать интересующие нас процессы в хромофорсодержащей области (изомеризация глутамина, рис. 1), используя подходы квантовой механики, а также применять методы молекулярной механики с силовым полем CHARMM для описания белковой матрицы и молекул растворителя.

Описание квантовой подсистемы осуществляли с помощью метода функционала электронной плотности с функционалом BLYP в смешанном базисе гауссовых функций и плоских волн. Расчеты проводили

для условий канонического ансамбля NVT при температуре 300 К.

Для реализации метода метадинамики мы выбрали набор параметров, позволяющих наиболее эффективно сканировать конформационное пространство (масса эффективной частицы 100 а.е., константа жесткости 0,15 а.е./рад², высота добавляемых гауссовых холмов 0,6 ккал/моль, ширина добавляемых холмов 0,15 рад, шаг интегрирования 0,5 фс, пороговые значения углов 95 и 145°).

На подготовительном этапе использовали координаты тяжелых атомов из кристаллической структуры рецепторного состояния белка AppA (PDB ID: 1YIG) [2]. Методами молекулярного моделирования добавлены атомы водорода, сольватные оболочки молекул воды и ионы Na⁺ и Cl⁻. Для уравновешивания системы проведен расчет методом классической молекулярной динамики в каноническом ансамбле NPT. Такой расчет при постоянном давлении позволяет получить более правильную структуру и плотность молекул воды системы, что необходимо в дальнейшем при проведении расчетов в NVT-ансамбле.

Метод метадинамики предполагает явно заданную координату реакции. В нашем случае при изомеризации таутомерной формы глутамина естественным выбором является угол –C=N–H (рис. 2), однако в структуре переходного состояния он принимает

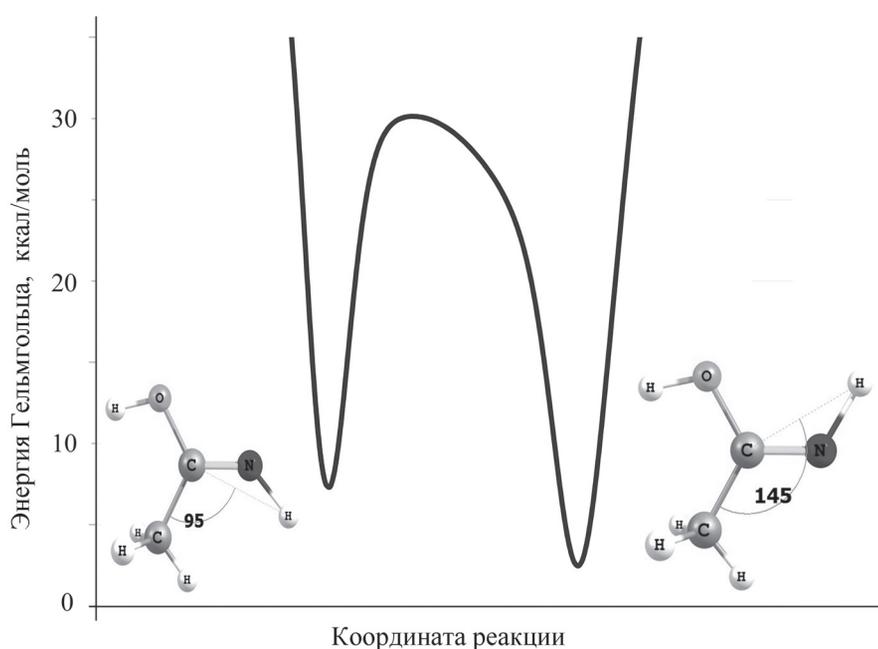


Рис. 2. Профиль энергии Гельмгольца реакции изомеризации боковой цепи таутомерной формы глутамина

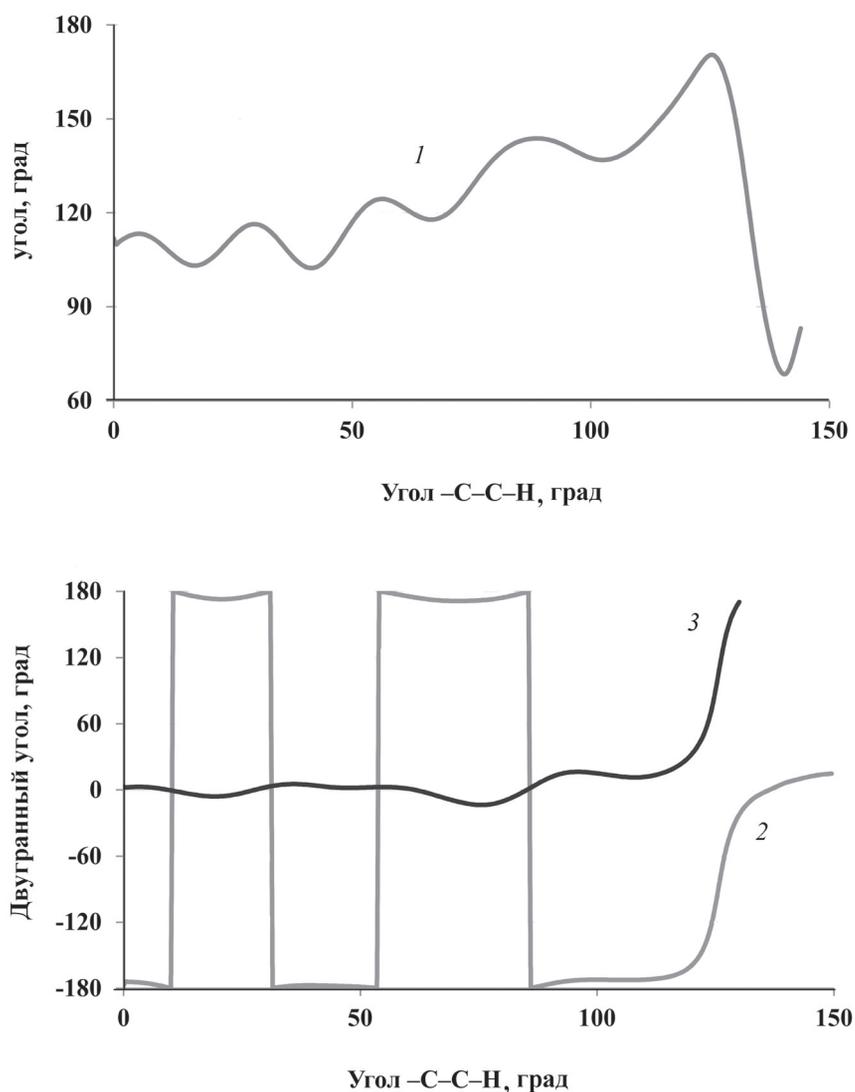


Рис 3. Зависимость ключевых геометрических параметров угла -C=N-H (1) и двугранных углов -O-C-N-H (2) и -C-C=N-H (3) от выбранной координаты реакции

значение 180° , что позволяет однозначно описывать состояние системы. Поэтому для расчетов в качестве координаты реакции выбран угол -C-C-N , монотонно увеличивающийся от 95 до 145° . Все расчеты, выполненные в работе, проведены с помощью программного пакета CP2K [10]. Вычисленный профиль энергии Гельмгольца для реакции изомеризации боковой цепи таутомерной формы глутамина приведен на рис. 2.

Барьер реакции изомеризации на поверхности энергии Гельмгольца составил 25 ккал/моль, что хорошо согласуется с величиной 29 ккал/моль на рельефе поверхности потенциальной энергии, полученной ранее в рамках модели молекулярного кластера [7].

Важным методическим вопросом является адекватность выбранной координаты реакции. Для этого проведен анализ изменения других геометрических параметров в зависимости от угла -C-C-N (рис. 3). Зависимость величины угла -C=N-H от выбранной координаты реакции указывает на то, что система проходит через переходное состояние в области, где угол -C=N-H больше 170° . Этот результат также хорошо согласуется с данными кластерных расчетов [7]. Зависимости торсионных углов указывают на характер движения атомов в процессе реакции: двугранные углы практически не изменяются в ходе реакции, что также свидетельствует в пользу угла -C=N-H как истинной координаты реакции.

По результатам работы показано, что при явном учете белковой матрицы и растворителя барьер изомеризации таутомерной формы глутамина сохраняется достаточно высоким (более 20 ккал/моль). Таким образом, остается актуальной задача изучения других

механизмов с меньшими значениями барьеров элементарных стадий.

Авторы выражают благодарность суперкомпьютерным центрам МГУ имени М.В. Ломоносова и РАН за возможность использовать вычислительные ресурсы.

При написании данной статьи использованы работы, поддержанные РФФИ (проект № 12-03-00149-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Laan W., van der Horst M. A., van Stokkum I. H. et al. // Photochem. Photobiol. 2003. **78**. P. 290.
2. Jung A., Reinstein J., Domratcheva T., et al. // J. Mol. Biol. 2006. **362**. P. 717.
3. Anderson S., Dragnea V., Masuda S., et al. // Biochem. 2005. **44**. P. 7998.
4. Khrenova M. G., Domratcheva T., Schlichting I. et al. // Photochem. Photobiol. 2011. **87**. P. 564.
5. Udvarhelyi A., Domratcheva T. // Photochem. Photobiol. 2011. **87**. P. 554.
6. Khrenova M. G., Nemukhin A. V., Grigorenko B. L., et al. // J. Chem. Theory Comput. 2010. **6**. P. 2293.
7. Khrenova M.G., Nemukhin A.V., Domratcheva T., et al. // J. Phys. Chem. B 2013. **117**. P. 2369.
8. Laio. A., Parinello M. // Lect. Notes Phys. 2006. **703**. P. 315.
9. Spiwok V., Lipopova P., Kralova, B. // J. Phys. Chem. B 2007. **111**. P. 3073.
10. VandeVondele J., Krack M., Mohamed F., et al. // Comput. Phys. Comm. 2005. **167**. P. 103.

Поступила в редакцию.12.11.13

MECHANISM OF PHOTOREACTION IN BACTERIAL BLUE LIGHT PHOTORECEPTOR BLUF BY THE RESULTS OF METADYNAMICS SIMULATIONS

M.G. Khrenova, A.A. Nikiforov, N.N. Andrijchenko, V.A. Mironov, A.V. Nemukhin

(Division of Physical Chemistry)

Mechanism of chemical transformations in photoreceptor domains of blue light (BLUF) assumes isomerization of the glutamine side chain. The metadynamics method with the quantum mechanics – molecular mechanics (QM/MM) potentials is used to calculate free energy profiles of the isomerization of the tautomeric glutamine side chain in the BLUF domain of the bacterial protein AppA.

Key words: BLUF, metadynamics, QM/MM.

Сведения об авторах: Хренова Мария Григорьевна – науч. сотр. лаборатории химической кибернетики кафедры физической химии химического факультета МГУ, канд. физ.-матем. наук (wasabiko13@gmail.com); Никифоров Александр Алексеевич – мл. науч. сотр. лаборатории химической кибернетики кафедры физической химии химического факультета МГУ (nikiforo.alexander@gmail.com); Андрийченко Наталья Николаевна – мл. науч. сотр. лаборатории химической кибернетики кафедры физической химии химического факультета МГУ (hrompik.omega@gmail.com); Миронов Владимир Андреевич – мл. науч. сотр. лаборатории химической кибернетики кафедры физической химии химического факультета МГУ, канд. физ.-матем. наук (vladimir.a.mironov@gmail.com); Немухин Александр Владимирович – профессор кафедры физической химии химического факультета МГУ, докт. хим. наук (anemukhin@yahoo.com).