

УДК 539.199+544.165

## АЛГОРИТМЫ МЕТОДА КОНФОРМАЦИОННО-ПОДВИЖНЫХ ЭФФЕКТИВНЫХ ФРАГМЕНТОВ ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ ПРЕВРАЩЕНИЙ В АКТИВНЫХ ЦЕНТРАХ ФЕРМЕНТОВ

А.В. Немухин, Б.Л. Григоренко, И.В. Поляков, Д.И. Морозов, М.Г. Хренова

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

**Обсуждены алгоритмы и программные реализации комбинированного метода квантовой и молекулярной механики в варианте конформационно-подвижных эффективных фрагментов, активно используемого для расчетов энергетических профилей реакций ферментативного катализа.**

**Ключевые слова:** *квантовая химия, КМ/ММ, элементарные химические реакции, ферментативный катализ.*

Метод моделирования механизмов реакций ферментативного катализа на основе комбинированного подхода квантовой и молекулярной механики (КМ/ММ), предложенного в 1976 г. [1], быстро завоевал популярность. Можно сослаться на обзорную статью 2007 г. [2], в которой приведено большое число ссылок на оригинальные научные публикации, имеющие прямое отношение к расчетам биомолекулярных систем методом КМ/ММ. Согласно этому подходу, та часть белковой системы, в которой происходит перераспределение химических связей, включается в квантовую подсистему, значения энергии и силы в ней рассчитываются по приближениям квантовой химии. Большинство атомов, окружающих выделенную центральную часть, относятся к молекулярно-механической подсистеме. Таким образом, в методе КМ/ММ учитывают конформационные изменения в белковой матрице, сопровождающие химическую реакцию. В приближениях КМ/ММ энергия каждой точки на поверхности потенциальной энергии (ППЭ) складывается из энергии квантовой части в поле ММ-подсистемы и молекулярно-механической энергии. Анализ стационарных точек на ППЭ, т.е. геометрических конфигураций локальных минимумов, отвечающих реагентам, продуктам, возможным интермедиатам, а также анализ седловых точек, через которые происходят переходы между минимумами, составляет предмет исследования механизма реакции. Особое внимание уделяется расчетам энергетических барьеров на пути от реагентов к продуктам. Переход к экспериментально значимым величинам, таким, как константы скорости химических реакций, осуществляется, как правило, в рамках теории переходных состояний.

Известно несколько вариантов программной реализации метода КМ/ММ, различающихся способом учета взаимодействия КМ- и ММ-подсистем. Наиболее популярный подход – приближение внедренного кластера [3], в котором атомы КМ-подсистемы рассматриваются как кластер, структурно встроенный в матрицу ММ-подсистемы. Влиянием ММ-части на квантовый гамильтониан либо совсем пренебрегают, либо учитывают вклады в одноэлектронную часть гамильтониана от парциальных зарядов на атомах ММ-части. Надежность такого подхода до сих пор не установлена; не исключено, что явно завышенные активационные барьеры, вычисляемые таким образом для ферментативных реакций (более 20 ккал/моль), получаются из-за неадекватного учета вкладов от белкового окружения ММ-подсистемы в квантовый гамильтониан.

В нашей лаборатории разрабатывается другой вариант метода КМ/ММ [4–6], основанный на теории эффективных фрагментов (ЭФ) [7], позволяющий достаточно точно подсчитывать вклады в квантовый гамильтониан КМ-части от конформационно-подвижного набора ЭФ, на которые подразделяется ММ-подсистема, и оценивать обратное влияние квантовой подсистемы на ММ-часть. Под эффективным фрагментом [7] подразумевается группа атомов с фиксированными внутренними координатами. Он может перемещаться в пространстве как целое и взаимодействовать с другими эффективными фрагментами или с квантовой подсистемой. Особенность нашего подхода состоит в разбиении пептидных цепей на малые эффективные фрагменты и моделировании фрагмент-фрагментных взаимодействий при помощи известных силовых полей молекулярной механики. После первой программной реализации метода КМ/ММ на основе

конформационно-подвижных эффективных фрагментов [4–6] произошли изменения в алгоритмах, программах и приложениях данного подхода, поэтому одной из целей настоящего сообщения является описание современных достижений методики.

В исходной версии программа метода КМ/ММ базировалась на комбинации квантово-химической программы PC GAMESS [8], представляющей вариант программы GAMESS(US) [9], и программы молекулярного моделирования TINKER (URL <http://dasher.wustl.edu/tinker>), встроенной в PC GAMESS. Программный код, реализующий оригинальные развития в теории потенциалов эффективных фрагментов [5, 6], был также встроен в PC GAMESS. Серьезным недостатком программы PC GAMESS является необходимость компилирования программного кода в среде Windows, поэтому была проведена работа по переносу алгоритмов метода конформационно-подвижных эффективных фрагментов в GAMESS(US).

В настоящее время метод КМ/ММ на основе конформационно-подвижных эффективных фрагментов можно применять для расчетов энергетических профилей реакционного пути (сечений поверхностей потенциальной энергии) основного электронного состояния с использованием наиболее востребованных квантово-химических подходов – приближений теории функционала электронной плотности, многоконfigurационных приближений самосогласованного поля, теории возмущений Мёллера-Плессе, в КМ-подсистеме. Число атомов, относимых к КМ-части, может превышать 100; более важным параметром является число базисных функций для представления молекулярных орбиталей (не более 1500). ММ-подсистема может содержать до 3000 атомов, сгруппированных не более чем в 700 эффективных фрагментах. Для расчетов вкладов в энергию и градиенты энергии по ядерным координатам в ММ-части могут быть использованы параметры популярных силовых полей AMBER, CHARMM, OPLSAA и др. Приведенные ограничения на параметры вычислительной схемы не являются принципиальными и могут быть изменены в следующих версиях программы. На рис. 1 изображена молекулярная система, моделирующая фермент-субстратный комплекс пенициллин-ацилазы (ПА) с пенициллином G. Исходная информация о координатах тяжелых атомов была получена из базы данных белковых структур (PDB) для кристаллической структуры фермента ПА с ингибирующим субстратом SOX (пенициллин G сульфоксид) – код PDB:1GM9. Далее методами компьютерного моделирования ингибирующий субстрат был заменен на пенициллин G, добавлены

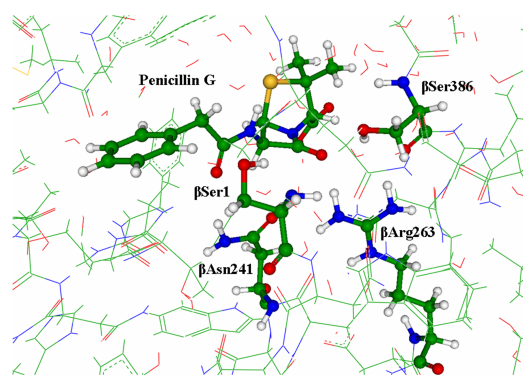


Рис. 1. Структура фермент-субстратного комплекса ПА с пенициллином G по результатам расчетов методом КМ/ММ. Шарами и стержнями показаны молекулярные группы, включенные в КМ-подсистему

атомы водорода и проведены расчеты равновесных геометрических конфигураций фермент-субстратного комплекса методом КМ/ММ с полной оптимизацией координат в субстрат-связывающей области. ММ-подсистема включала 2400 атомов, сгруппированных в 670 эффективных фрагментах. Расчеты значений энергии и силы в КМ-части проводились в приближении V3LYP/6-31G\* в ММ-части с использованием параметров силового поля AMBER. Тщательное сопоставление равновесных геометрических параметров (расстояния между тяжелыми атомами, валентные углы), рассчитанных методом КМ/ММ и измеренных в соответствующей кристаллической структуре, показывает хорошее соответствие теоретических и экспериментальных величин.

Вернемся к вопросу о сравнении результатов моделирования с различными версиями метода КМ/ММ. Как для всех сериновых гидролаз, первая стадия реакции гидролиза пенициллина ферментом ПА (стадия ацилирования) проходит через образование первого тетраэдрического интермедиата. Особенности реакционного механизма для данного фермента и данного субстрата с приведением структур интермедиатов будут описаны в отдельной работе. Здесь мы обращаем внимание на сопоставление результатов двух методик КМ/ММ: приближение внедренного кластера и приближение конформационно-подвижных эффективных фрагментов. Следует отметить, что рассчитанные в приближении V3LYP/6-31G\*/AMBER геометрические параметры и для фермент-субстратного комплекса, и для тетраэдрического интермедиата в обоих подходах достаточно близки. Однако разность значений энергии (+5 ккал/моль), вычисленная в подходе внедренного кластера (рис. 2), явно не выглядит правдоподобной. Пересчет разности энергий в варианте

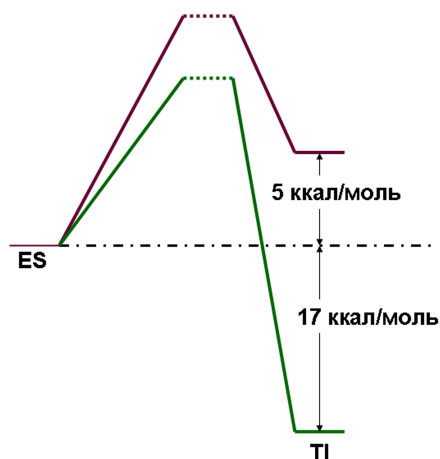


Рис. 2. Сравнение рассчитанных значений относительной энергии фермент-субстратного комплекса (ES) и тетраэдрического интермедиата (ТИ): +5 ккал/моль в приближении внедренного кластера и –17 ккал/моль в приближении конформационно-подвижных эффективных фрагментов

КМ/ММ с конформационно-подвижными фрагментами (–17 ккал/моль) позволяет получить ожидаемый выигрыш энергии на первом сегменте реакции.

Таким образом, можно заключить, что применение метода КМ/ММ в варианте конформационно-подвижных эффективных фрагментов для моделирования превращений в активных центрах ферментов позволяет получать более адекватные результаты, чем в варианте внедренного кластера. Для описания связи между КМ- и ММ-подсистемами явно недостаточно учета вкладов в квантовый гамильтониан только лишь от парциальных зарядов на атомах ММ-подсистемы в методе внедренного кластера. Потенциалы эффективных фрагментов, вносящие вклад вплоть до оккупированных составляющих от электронной плотности ЭФ в квантовую подсистему, а также учитывающие обменное отталкивание [4–7], намного лучше передают КМ-ММ-взаимодействие, что наиболее существенно сказывается на значениях относительной энергии вдоль реакционного пути.

При написании данной статьи использованы работы, поддержанные Федеральным агентством по науке и инновациям (контракт 02.527.11.0001) в рамках совместного проекта ЕС-Россия IRENE (грантовое соглашение 227279).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Warshel A., Levitt M. // J. Mol. Biol. 1976. **103**. P. 227.
2. Senn H.M., Thiel W. // Top. Curr. Chem. 2007. **268**. P. 173.
3. Bakowies D., Thiel W. // J. Phys. Chem. 1996. **100**. P. 10580.
4. Nemukhin A.V., Grigorenko B.L., Bochenkova A.V., et al. // J.Molec.Struct. (THEOCHEM). 2002. **581**. P. 167.
5. Grigorenko B.L., Nemukhin A.V., Topol I.A., Burt S.K. // J. Phys. Chem. A. 2002. **106**. P. 10663.
6. Nemukhin A.V., Grigorenko B.L., Topol I.A., Burt S.K. // J. Comp. Chem. 2003. **24**. P. 1410.
7. Gordon M.S., Freitag M.A., Bandyopadhyay P., et al. // J. Phys. Chem. A. 2001. **105**. P. 293.
8. Немухин А.В., Григоренко Б.Л., Грановский А.А. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2004. **2**. С. 75.
9. Schmidt M.W., Baldrige K.K., Boatz J.A., et al. // J. Comput. Chem. 1993. **14**. P. 1347.

Поступила в редакцию 25.01.10

## ALGORITHMS OF THE FLEXIBLE EFFECTIVE FRAGMENTS FOR MODELING TRANSFORMATIONS IN ACTIVE SITES OF ENZYMES

A.V. Nemukhin, B.L. Grigorenko, I.V. Polyakov, D.I. Morozov, M.G. Khrenova

(Division of Physical Chemistry)

We discuss the algorithms and computer implementations of the combined method of quantum mechanics – molecular mechanics in the version of flexible effective fragments actively utilized for calculations of energy profiles of enzymatic reactions.

**Key words:** quantum chemistry, QM/MM, elementary chemical reactions, enzymatic catalysis.

**Сведения об авторах:** Немухин Александр Владимирович – профессор кафедры физической химии химического факультета МГУ, докт. хим. наук (anemukhin@yahoo.com); Григоренко Белла Львовна – ст. науч. сотр. кафедры физической химии химического факультета МГУ, докт. физ.-матем. наук (bell\_grig@yahoo.com); Поляков Игорь Вадимович – аспирант химического факультета МГУ (polyakoviv@gmail.com); Морозов Дмитрий Иванович – аспирант химического факультета МГУ (aracsmd@gmail.com); Хренова Мария Григорьевна – аспирант химического факультета МГУ (wasabiko13@gmail.com).