

УДК 517.15

МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕХАНИЗМА РЕАКЦИЙ ГИДРОЛИЗА ЦИКЛИЧЕСКИХ ГУАНОЗИНМОНОФОСФАТОВ В ВОДЕ

Н.Н. Андрийченко, М.Г. Хренова, А.В. Немухин, Б.Л. Григоренко

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

Комбинированным методом квантовой и молекулярной механики рассчитаны равновесные геометрические конфигурации и энергии реагентов и продуктов реакций гидролиза молекул циклических гуанозинмонофосфата (ц-ГМФ) и дигуанозинмонофосфата (ц-ди-ГМФ) в воде.

Ключевые слова: *циклические гуанозинмонофосфаты, реакции гидролиза в воде, метод КМ/ММ.*

Химические реакции гидролиза, приводящие к переходу циклических форм гуанозинмонофосфата (ц-ГМФ) и дигуанозинмонофосфата (ц-ди-ГМФ) в соответствующие нециклические формы ГМФ и ди-ГМФ, представляют важнейшие природные биохимические процессы. В живых системах за дециклизацию ответственны ферменты семейства фосфодиэстераз, регулирующие концентрацию вторичных посредников ц-ГМФ и ц-ди-ГМФ при передачах сигналов в клетках. Изучение механизмов реакций гидролиза ц-ГМФ и ц-ди-ГМФ в воде необходимо для получения реперных данных, относительно которых принято оценивать каталитический эффект ферментов. Подобная стратегия была, в частности, применена при моделировании реакций гидролиза нуклеозидтрифосфатов в воде [1] и в ферментах [2–4].

Результаты предшествующих расчетов энергетических профилей реакций гидролиза ц-ГМФ в воде [5] и в белковой матрице [6] весьма противоречивы и

не дают убедительных ответов на вопросы ни о возможном механизме химических превращений, ни об энергетическом эффекте реакций. На рис. 1 представлена реакция гидролиза ц-ГМФ – в результате взаимодействия молекулы гуанозинфосфата с молекулой воды происходит разрыв связи P-O3' с присоединением гидроксил-аниона к атому фосфора и протонированием атома кислорода O3'. Формально происходит расщепление единственной реакционной молекулы воды, однако в конденсированной среде необходимо принимать во внимание наличие ориентированных водородными связями цепочек молекул воды, по которым может эффективно осуществляться перенос протонов, облегчая процесс разрыва и образования химических связей [1].

Таким образом, необходимо использовать методику молекулярного моделирования с явным учетом молекул растворителя (воды). Реакционная система, включающая молекулу гуанозинфосфата, а также цепочку

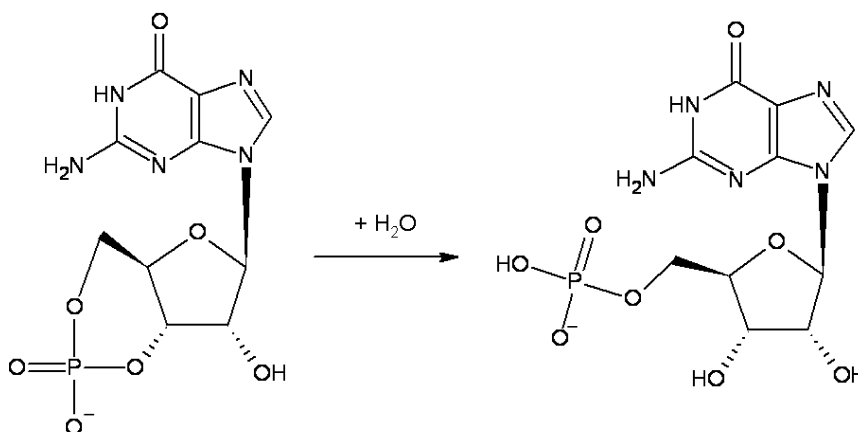


Рис. 1. Реакция гидролиза циклического гуанозинмонофосфата

молекул воды – проводника протонов, окружается объемной сольватной оболочкой из нескольких сотен молекул воды. Расчеты энергетических профилей вдоль реакционного пути проводятся комбинированным методом квантовой и молекулярной механики (КМ/ММ) [7, 8]. Согласно этому подходу, та часть модельной системы, в которой происходят перераспределения химических связей, включается в квантовую подсистему, значения энергии и силы в ней рассчитываются методами квантовой химии. Большинство атомов, окружающих выделенную центральную часть, относятся к молекулярно-механической подсистеме, значения энергии и силы в которой оцениваются с помощью параметров силовых полей. Анализ стационарных точек на поверхности потенциальной энергии, через которые происходит движение ядер от реагентов до продуктов, составляет предмет исследования механизма реакции.

В данной работе модельные системы, содержащие молекулы ц-ГМФ и ц-ди-ГМФ в окружении водных оболочек в кубе со стороной 30 Å (для ц-ГМФ) или 45 Å (для ц-ди-ГМФ), предварительно анализировали методом классической молекулярной динамики с использованием программы NAMD [9] с силовым полем CHARMM [10]. Рассчитывали траектории продолжительностью до 5 пс с шагом интегрирования 1 фс для канонического ансамбля (NVT) при температуре 300 К. Затем периферийные молекулы воды

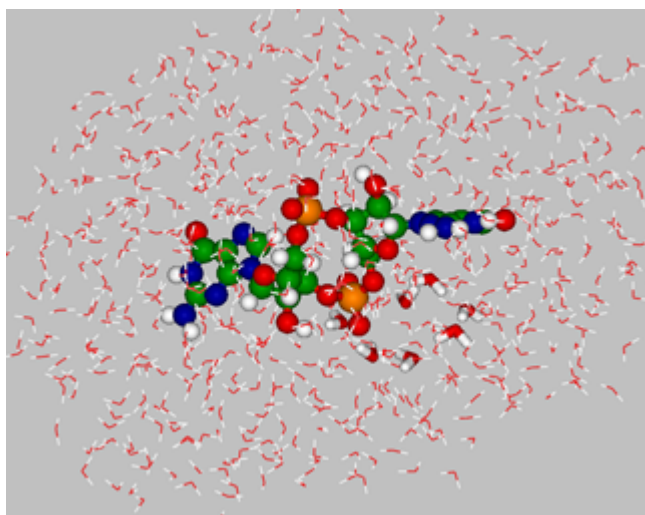


Рис. 2. Модельная система для описания реакции гидролиза ц-ди-ГМФ в водном растворе. В цветном изображении этого и следующих рисунков атомы углерода выделены зеленым цветом, кислорода – красным, азота – синим, фосфора – оранжевым

были удалены и оставлены кластеры, состоящие из 301 или 617 молекул воды, полностью окружающих частицы ц-ГМФ или ц-ди-ГМФ соответственно. По результатам анализа молекулярно-динамических траекторий были выбраны те молекулы воды, которые могут участвовать в процессе передачи протонов вдоль водородных связей, осуществляя переход от реагентов к продуктам реакций. На рис. 2 показан общий вид модельной системы для описания реакции гидролиза ц-ди-ГМФ – атомы молекулы дигуанозинмонофосфата изображены шарами, цепочка семи молекул воды, участвующих в реакции, выделена стрелками, а молекулы сольватной оболочки изображены линиями.

В данном случае разделение модельных систем на квантовую и молекулярно-механическую части достаточно очевидно: молекула гуанозинмонофосфата и цепочка ближайших молекул воды (пять для ц-ГМФ и семь для ц-ди-ГМФ), ответственных за перенос протонов, составляют КМ-подсистему, а все остальные молекулы воды – ММ-подсистему. Вычисления значений энергии и силы в КМ-части проводили в приближении теории функционала электронной плотности в варианте B3LYP/cc-pVDZ. Для описания ММ-части использовали силовое поле CHARMM [10]. Для расчетов методом КМ/ММ в варианте внедренного кластера [8] использовали программный пакет NWChem [11], установленный на суперкомпьютере СКИФ-МГУ “Чебышев”. Была проведена полная оптимизация параметров равновесных геометрических конфигураций реагентов и продуктов в модельных системах, описывающих гидролиз ц-ГМФ и ц-ди-ГМФ.

На рис. 3, 4 представлен механизм реакции гидролиза циклических гуанозинмонофосфатов в водном растворе. В обоих случаях в равновесных конфигурациях реагентов (левые стороны рис. 3, 4) четко выделяются цепочки молекул воды, ориентированных водородными связями около фосфатных групп: Wat1-Wat5 для ц-ГМФ и Wat1-Wat7 для ц-ди-ГМФ. Жирными стрелками на рис. 3, 4 изображены направления нуклеофильной атаки ближайших к атому фосфора молекул Wat5 для ц-ГМФ (на расстоянии 3,08 Å) или Wat7 для ц-ди-ГМФ (на расстоянии 3,20 Å). Результатом взаимодействия является присоединение гидроксил-аниона от Wat5 для ц-ГМФ или от Wat7 для ц-ди-ГМФ к атому фосфора, а протон последовательно передается по цепочке молекул воды до молекулы Wat1. В ре-

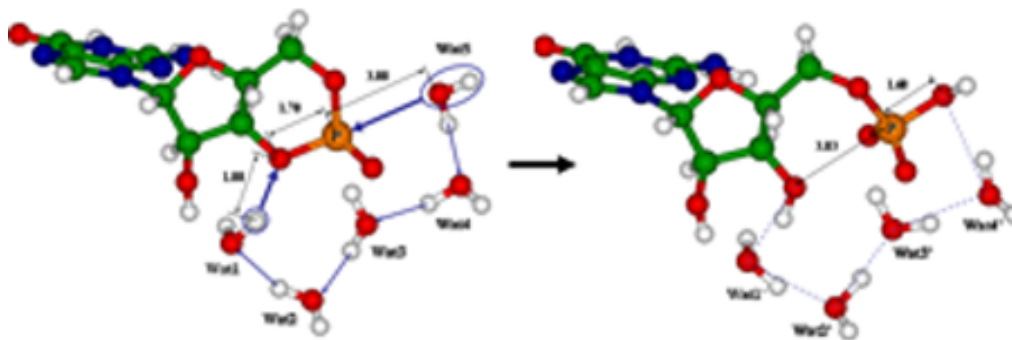


Рис. 3. Механизм реакции гидролиза ц-ГМФ в водном растворе. Не показаны молекулы водной оболочки, составляющие ММ-подсистему. Расстояния приведены в Å

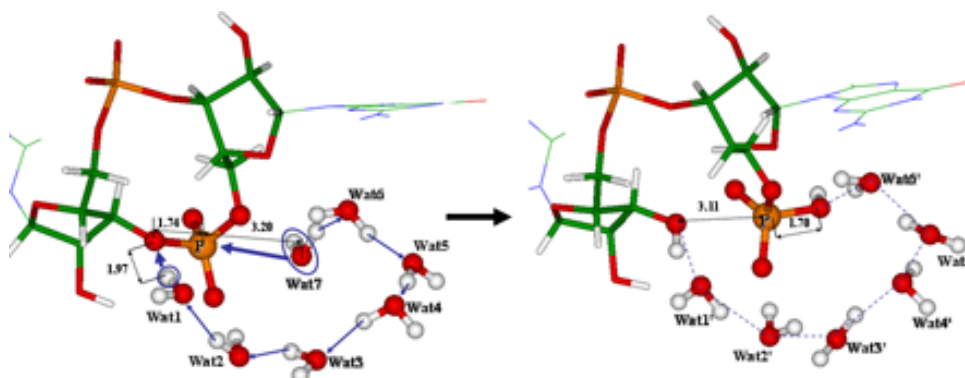


Рис. 4. Механизм реакции гидролиза ц-ди-ГМФ в водном растворе. Фрагменты молекулы ц-ди-ГМФ изображены стержнями и линиями. Не показаны молекулы водной оболочки, составляющие ММ-подсистему. Расстояния приведены в Å

зультате этого переноса по водному проводнику (показано стрелками на левых сторонах рис. 3, 4) протон, исходно принадлежащий молекуле Wat1 присоединяется к атому кислорода O3' (показано жирными стрелками на левых сторонах рис. 3, 4), завершая дециклизацию гуанозинмонофосфатов. На правых сторонах рис. 3, 4 показаны равновесные геометрические конфигурации продуктов реакций. В обоих случаях атомы фосфора и кислорода O3' расходятся до расстояний более 3 Å; в обоих случаях цепочки молекул воды Wat1'–Wat4' (рис. 3) или Wat1'–Wat6' (рис. 4), образовавшиеся после переноса протонов, входят в систему водородных связей продуктов реакции в водной среде. По результатам расчетов методом КМ/ММ энергия продуктов реак-

ции гидролиза ц-ГМФ (правая часть рис. 3) ниже энергии реагентов (левая часть рис. 3) на 1,1 ккал/моль. Для димерного гуанозинмонофосфата энергия продуктов (правая часть рис. 4) на 5,6 ккал/моль ниже энергии реагентов (левая часть рис. 4). Таким образом, реакции гидролиза ц-ГМФ и ц-ди-ГМФ в водном растворе должны быть термодинамически выгодны. Предварительные оценки активационных барьеров на потенциальных поверхностях этих реакций дают величины порядка 20 ккал/моль, что указывает на возможность подобных химических превращений; однако результаты метода КМ/ММ в варианте внедренного кластера [8] могут быть скорректированы в сторону меньших активационных барьеров при более точных расчетах [12].

При написании данной статьи использованы работы, поддержанные грантом РФФИ (проект № 10-03-00139-а). Авторы выражают благодарность программе СКИФ-ГРИД и Научно-исследовательскому вычислительному центру МГУ имени М.В. Ломоносова за предоставленную возможность использовать суперкомпьютер СКИФ-МГУ “Чебышев”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Grigorenko B.L., Rogov A.V., Nemukhin A.V. // J. Phys. Chem. B. 2006. **110**. P. 4407.
2. Grigorenko B., Nemukhin A., Topol I.A. et al. // Proteins. 2005. **60**. P. 495.
3. Grigorenko B., Nemukhin A., Shadrina M. et al. // Proteins. 2007. **66**. P. 456.
4. Grigorenko B.L., Rogov A.V., Topol I.A. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007. **104**. P. 7057.
5. Chen X., Zhan C.-G. // J. Phys. Chem. A. 2004. **108**. P. 3789.
6. Salter E.A., Wierzbicki A. // J. Phys. Chem. B. 2007. **111**. P. 4547.
7. Warshel A., Levitt M. // J. Mol. Biol. 1976. **103**. P. 227.
8. Bakowies D., Thiel W. // J. Phys. Chem. 1996. **100**. P. 10580.
9. Phillips J.C., Braun R., Wang W. et al. // J. Comp. Chem. 2005. **26**. P. 1781.
10. Brooks B.R., Brooks C.L., Mackerell A.D. et al. // J. Comp. Chem. 2009. **30**. P. 1545.
11. Kendall R.A., Apra E., Bernholdt D.E. et al. // Computer Phys. Comm. 2000. **128**. P. 260.
12. Немухин А.В., Григоренко Б.Л., Поляков И.В. и др. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2010. **51**. С. 427.

Поступила в редакцию 20.01.11

MODELING MECHANISM OF HYDROLYSIS REACTIONS OF THE CYCLIC GUANOSINE MONOPHOSPHATES IN AQUEOUS SOLUTION

N.N. Andriichenko, M.G. Khrenova, A.V. Nemukhin, B.L. Grigorenko

(Division of Physical Chemistry)

The combined quantum mechanical – molecular mechanical (QM/MM) method is used to characterize the equilibrium geometry configurations and the corresponding energies of the reagents and products of the hydrolysis reactions of the cyclic guanosine monophosphate (c-GMP) and dimeric guanosine monophosphate (c-di-GMP) in aqueous solutions.

Key words: *cyclic guanosine monophosphates, hydrolysis reactions in aqueous solution, QM/MM method.*

Сведения об авторах: Андрийченко Наталья Николаевна – аспирант химического факультета МГУ (hrompik.omega@gmail.com), Хренова Мария Григорьевна – аспирант химического факультета МГУ (wasabiko13@gmail.com), Немухин Александр Владимирович – профессор кафедры физической химии химического факультета МГУ, лаборатория химической кибернетики; докт. хим. наук (anemukhin@yahoo.com); Григоренко Белла Людвиговна – ст. науч. сотр. лаб. химической кибернетики кафедры физической химии химического факультета МГУ; докт. физ.-матем. наук (bell_grig@yahoo.com).