

Estudi teòric del mecanisme de reacció de l'enzim mandelat racemasa

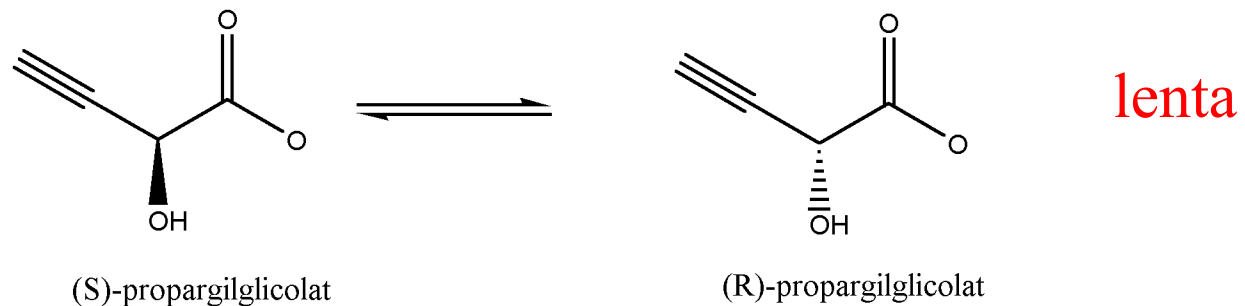
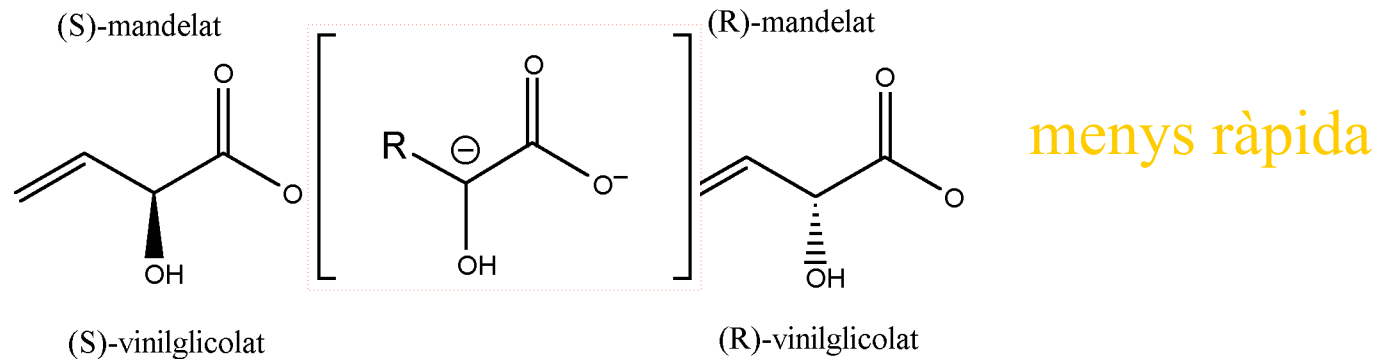
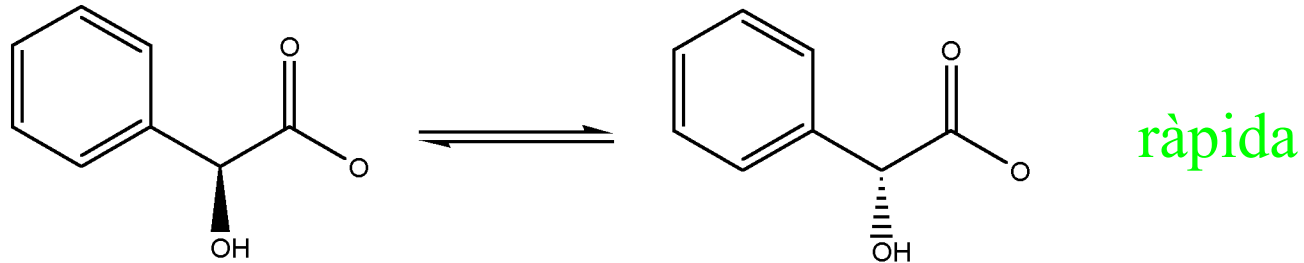
Xavier Prat Resina

17 de gener de 2002

Sumari

1. La reacció catalitzada per l'enzim mandelat racemasa
2. El mètode teòric emprat
3. El model molecular que fem servir
4. Els mecanismes
5. Conclusions
6. Annex: Què fer quan hi ha molts mínims?

1. La reacció catalitzada per l'enzim mandelat racemasa.
La interconversió entre dos enantiòmers: diferents substrates



2. El mètode teòric emprat.

Mètodes QM/MM per a tractar sistemes de mil·lers d'àtoms

- Definició de l'energia QM/MM

$$\hat{H} = \hat{H}_{\text{QM}} + \hat{H}_{\text{MM}} + \hat{H}_{\text{QM/MM}} + \hat{H}_{\text{Frontera}}$$
$$\hat{H}_{\text{QM/MM}} = -\sum_{iM} \frac{q_M}{r_{iM}} + \sum_{\alpha M} \frac{Z_{\alpha} q_M}{R_{\alpha M}} + \sum_{\alpha M} \left\{ \frac{A_{\alpha M}}{R_{\alpha M}^{12}} - \frac{B_{\alpha M}}{R_{\alpha M}^6} \right\}$$

- Trobar els mínims i estats de transició que ens portin de reactius a productes

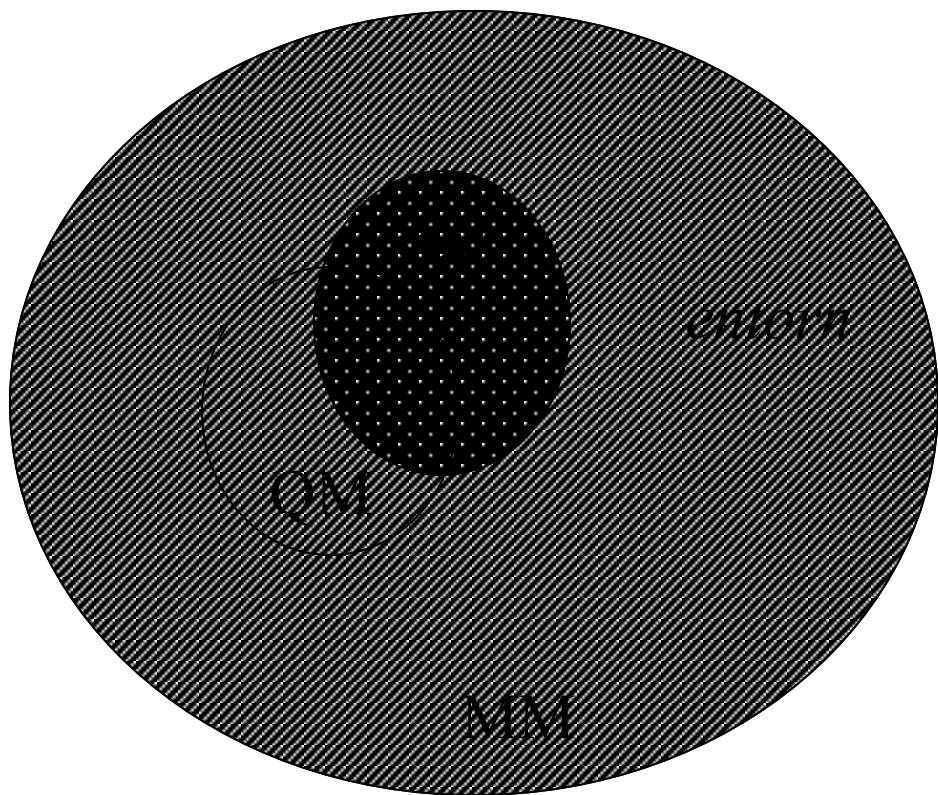
mínims: mètode L-BFGS – és un mètode qNR

$$\Delta q_k = -B_k^{-1} g_k \quad \text{on } B_k^{-1} \text{ és construïx només a partir de la informació dels últims steps}$$

estats de transició: mètode acoblat RFO/L-BFGS

2. El mètode teòric emprat.

Cerca d'estats de transició en un sistema enzimàtic: RFO/L-BFGS

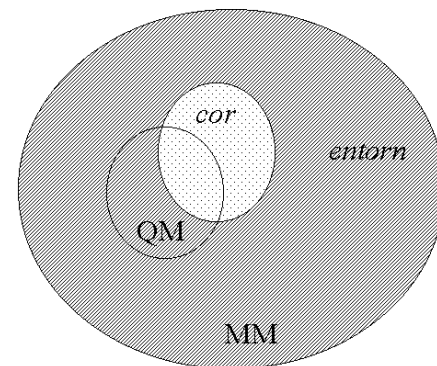
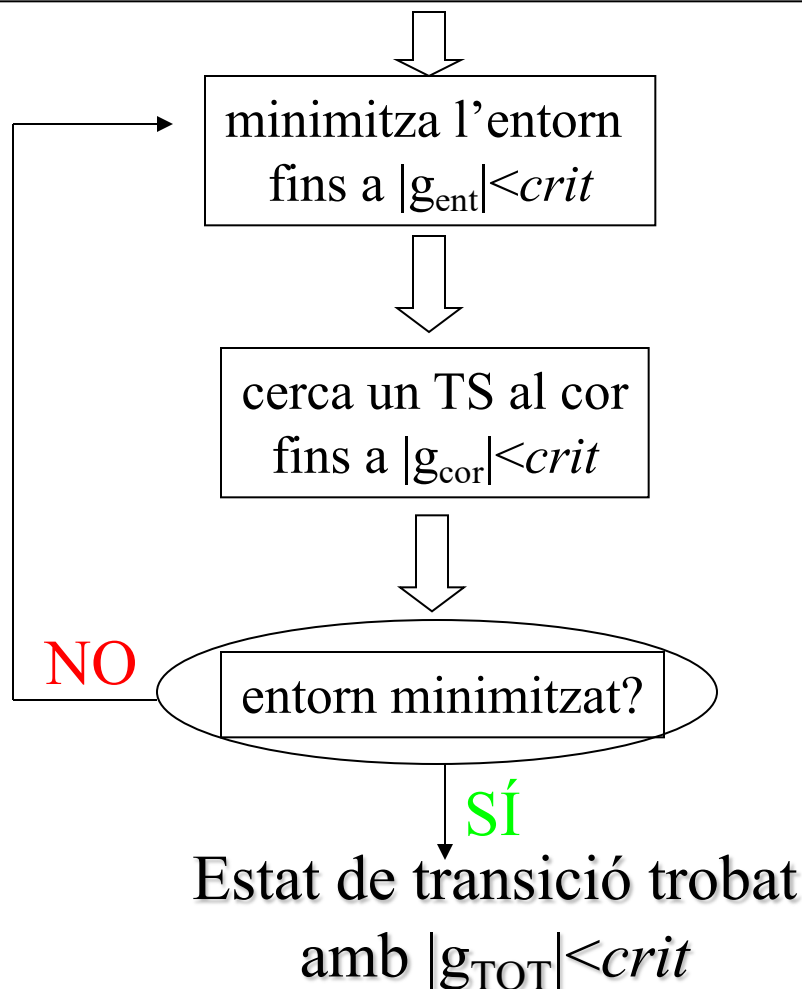


- busquem un TS al cor amb el mètode RFO
- minimitzem l'entorn amb el mètode L-BFGS

2. El mètode teòric emprat.

Cerca d'estats de transició en un sistema enzimàtic: RFO/L-BFGS

Geometria inicial diferenciant un cor i un entorn



Problemes:

si cor i entorn estan acoblats
i/o $crit$ és molt exigent

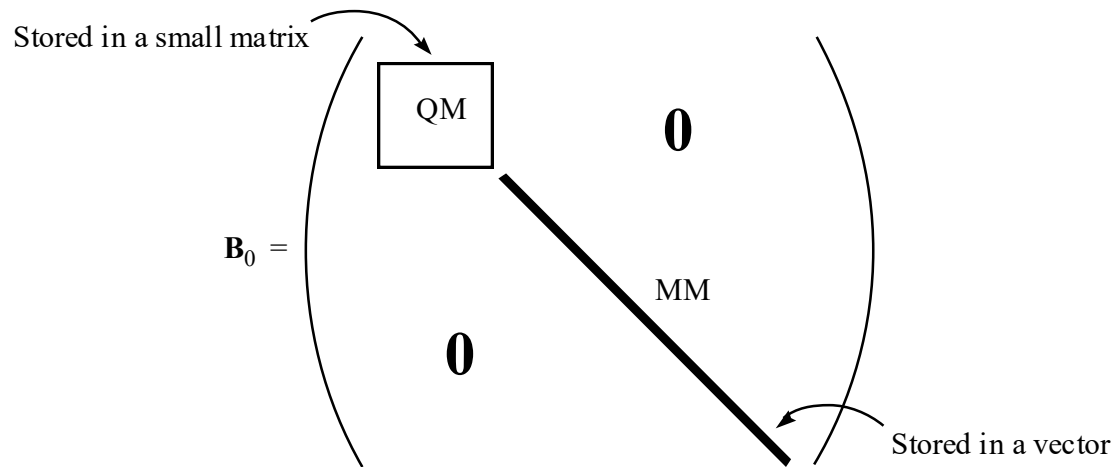
Solució:

fer el cor més gran
cercar un TS movent-ho tot

2. El mètode teòric emprat.

Cercar un TS movent-ho tot. Sense problemes de memòria i CPU

- a) partir d'una geometria inicial diferenciant una zona QM i una MM
- b) càlcul inicial d'energia i de gradient
- c) càlcul numèric d'una matriu hessiana de la forma



per estalviar-nos problemes de memòria

2. El mètode teòric emprat.

Cercar un TS movent-ho tot. Sense problemes de memòria i CPU

d) El mètode RFO prediu un “step”

Augmented Hessian:
$$\begin{pmatrix} 0 & \mathbf{g}_k^T \\ \mathbf{g}_k & \mathbf{B}_k \end{pmatrix}$$

diagonalitzem amb un mètode de tipus Lanczos

on:
$$\Delta q_k = \frac{1}{V_{1,v}^{(k)}} \mathbf{V}_v'^{(k)} \left\{ \begin{array}{l} v=1 \text{ per mínims} \\ v=2 \text{ per estats de transició} \end{array} \right\}$$

$$\mathbf{V}_v'^{(k)} = (V_{2,v}^{(k)}, \dots, V_{n+1,v}^{(k)})$$

2. El mètode teòric emprat.

Cercar un TS movent-ho tot. Sense problemes de memòria i CPU

e) evaluar el gradient per la nova geometria i mirar si ja hem assolit el criteri de convergència

f) si no hem assolit la convergència caldrà fer un “update” de la hessiana i tornar al punt (d) per tornar a moure el sistema

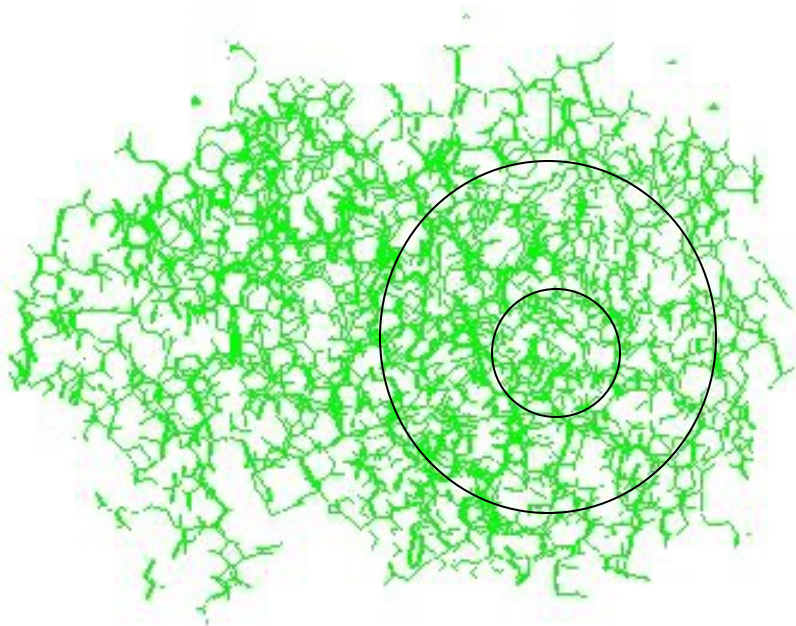
cal emprar una tècnica “limited-memory”

$$\mathbf{B}_{k+1}\mathbf{v} = \mathbf{B}_0\mathbf{v} + \sum_{i=k-L}^k \left[\mathbf{j}_i \mathbf{u}_i^T \mathbf{v} + \mathbf{u}_i \mathbf{j}_i^T \mathbf{v} - (\mathbf{j}_i^T \Delta \mathbf{q}_i) \mathbf{u}_i \mathbf{u}_i^T \mathbf{v} \right] \quad k = 0, 1, \dots$$

$$\begin{aligned} \mathbf{j}_i &= \mathbf{g}_{i+1} - \mathbf{g}_i - \mathbf{B}_i \Delta \mathbf{q}_i \\ \mathbf{u}_i &= \mathbf{M}_i \Delta \mathbf{q}_i / (\Delta \mathbf{q}_i^T \mathbf{M}_i \Delta \mathbf{q}_i) \end{aligned}$$

3. El model molecular que fem servir

mandelat racemasa

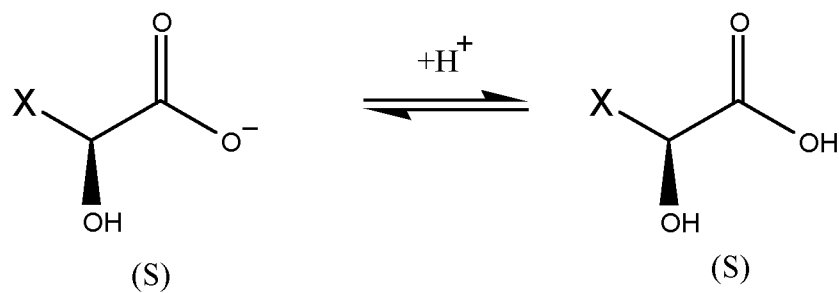


4000 àtoms tractats amb el
camp de forces AMBER

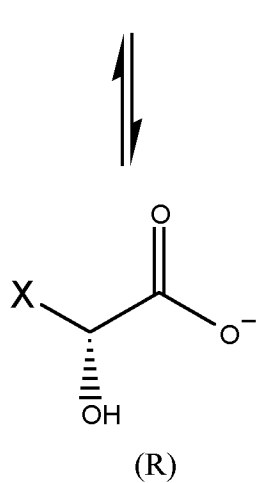
1200 àtoms mòbils

88 àtoms QM amb PM3

4. Els mecanismes:



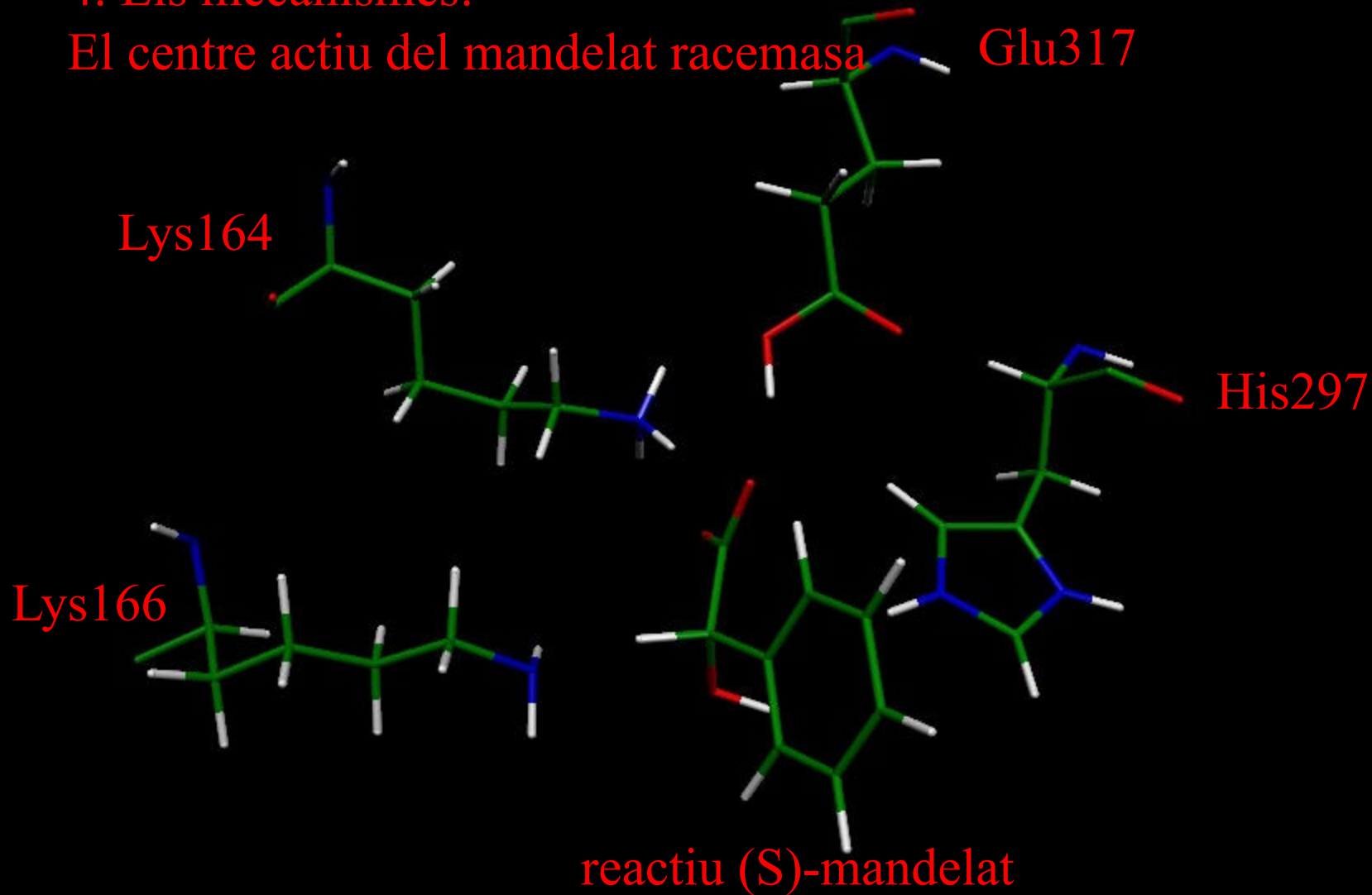
mecanisme
concertat



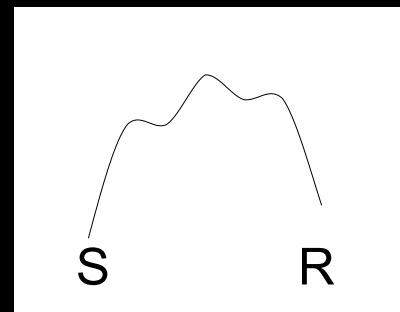
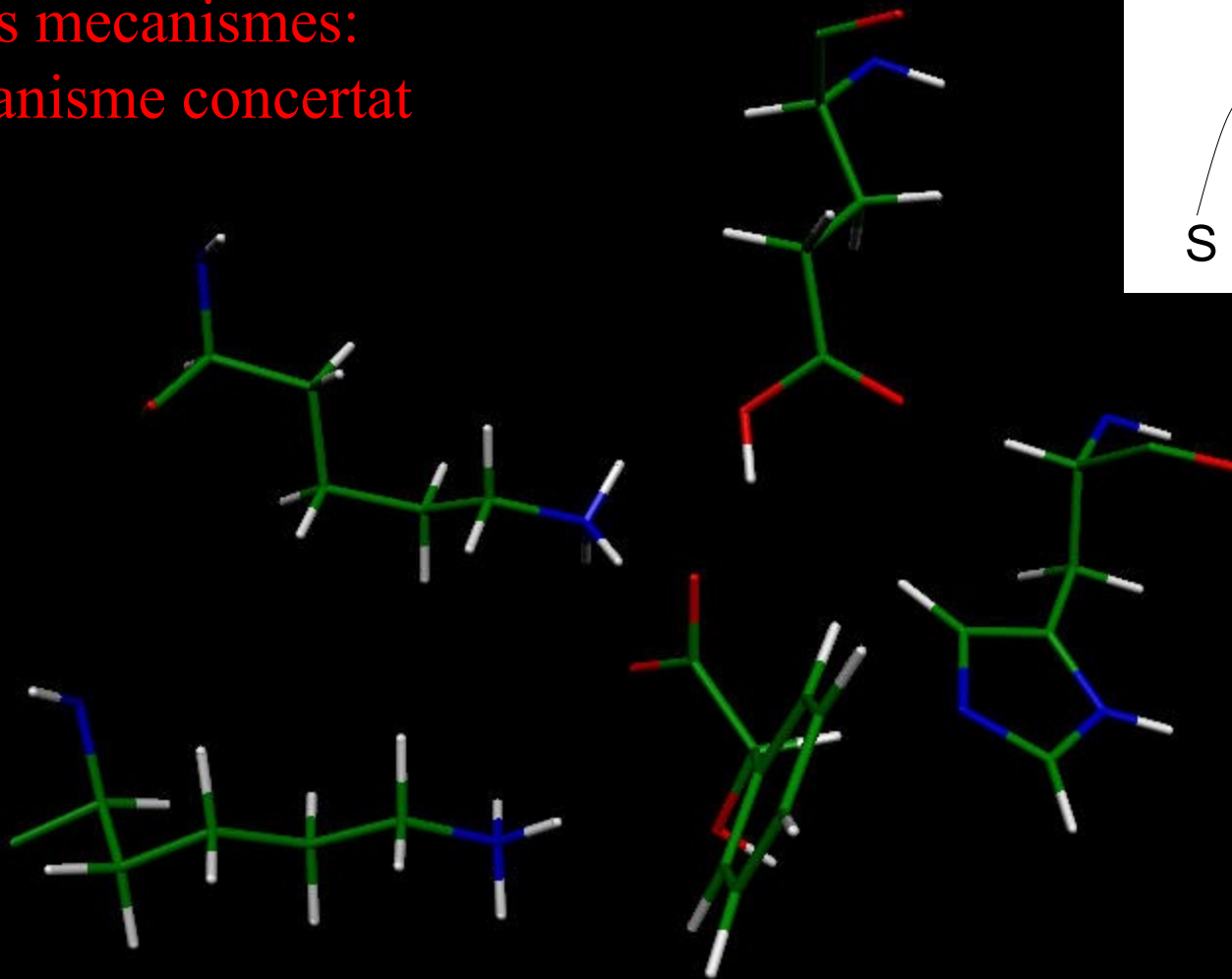
mecanisme
indirecte

4. Els mecanismes:

El centre actiu del mandelat racemasa

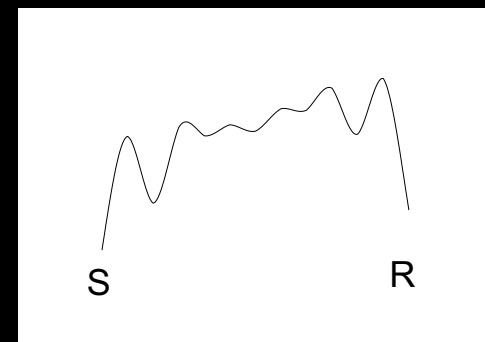
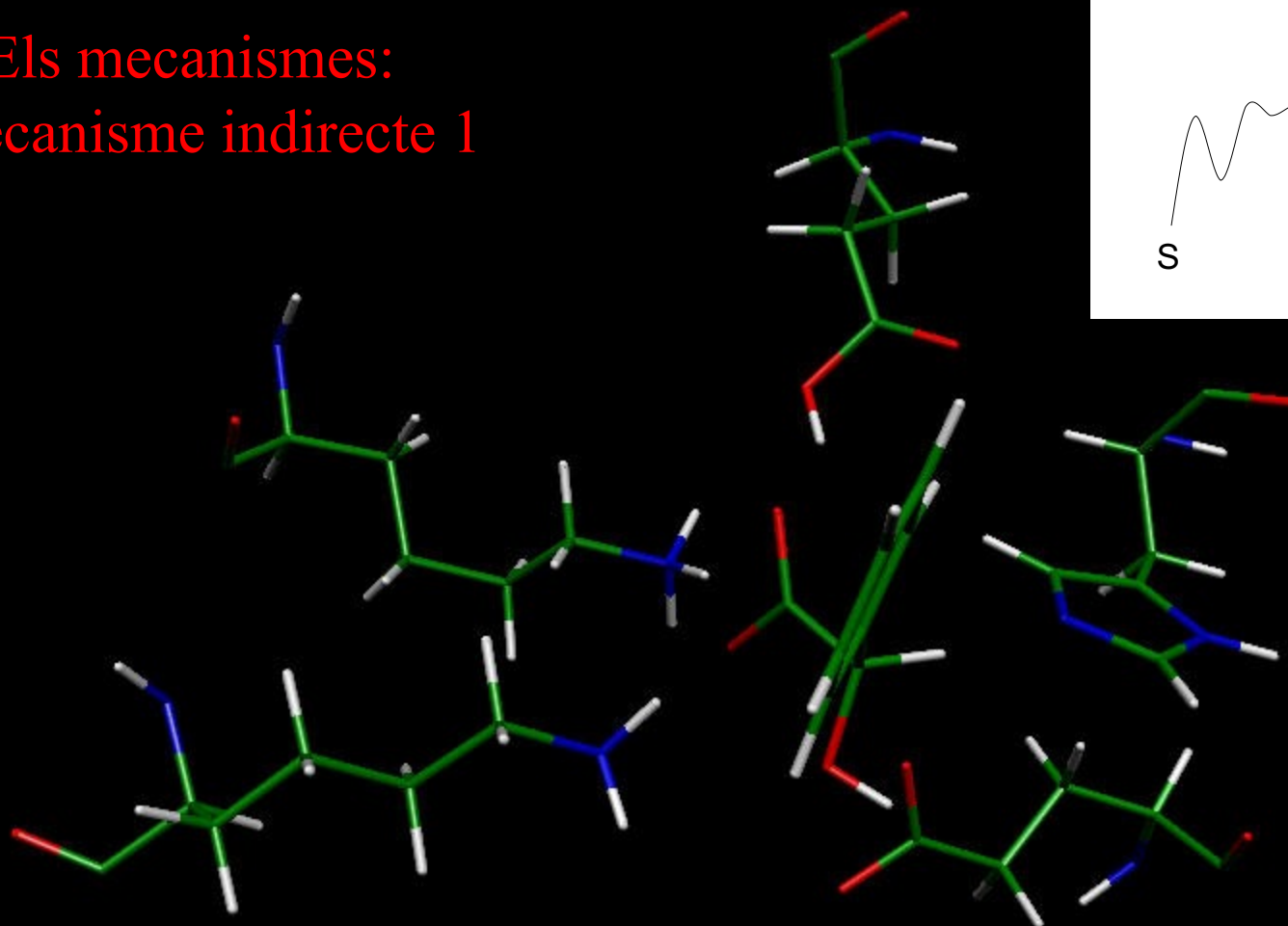


4. Els mecanismes: Mecanisme concertat



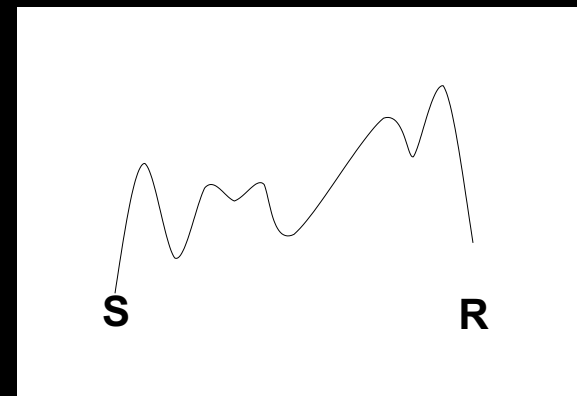
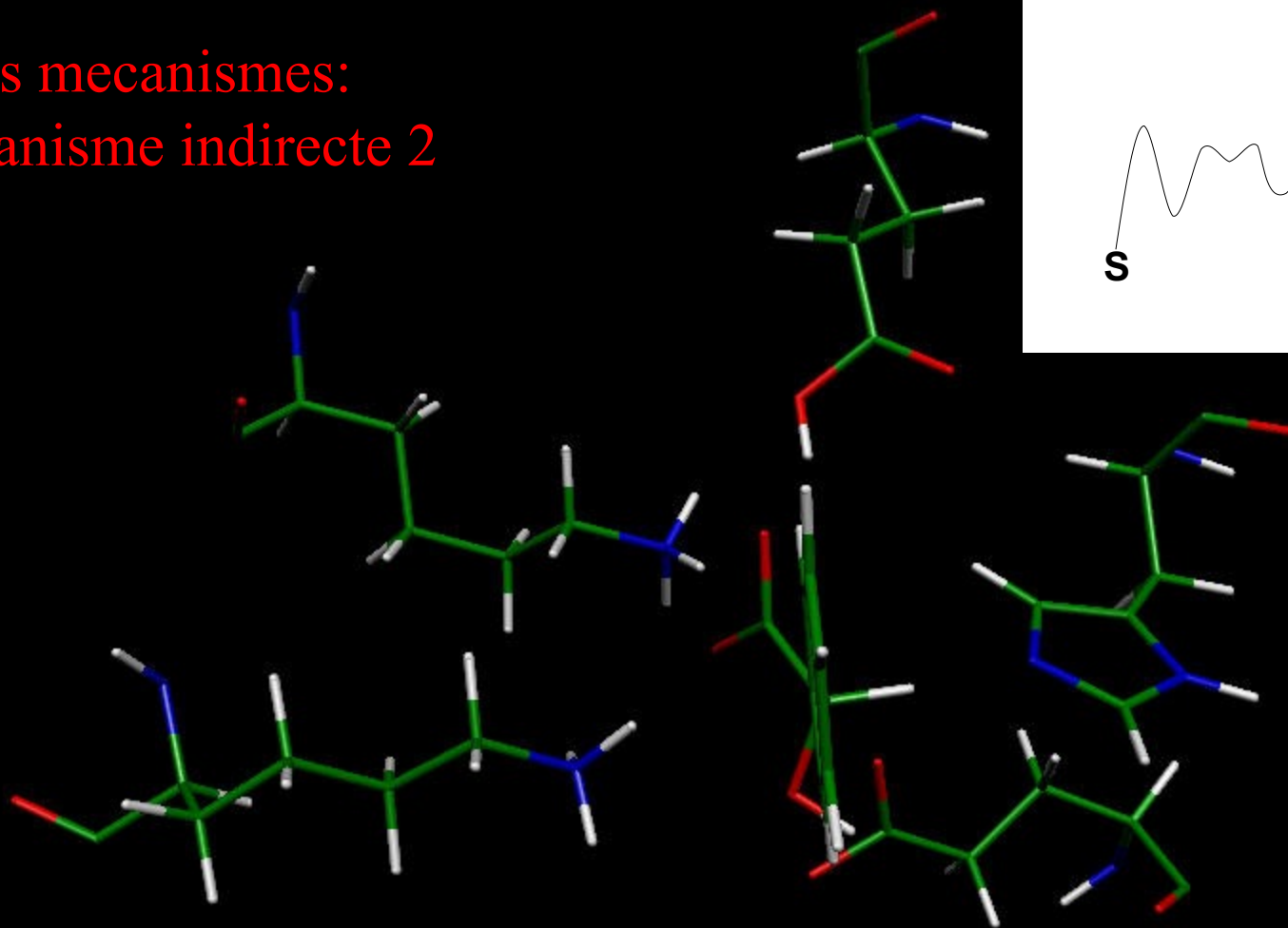
producte (S,R)-mandelat

4. Els mecanismes: Mecanisme indirecte 1



producte (S)(R)-mandelat

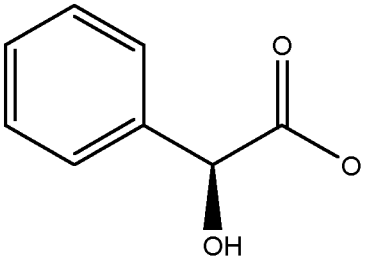
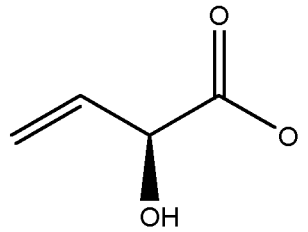
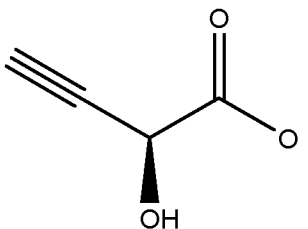
4. Els mecanismes: Mecanisme indirecte 2



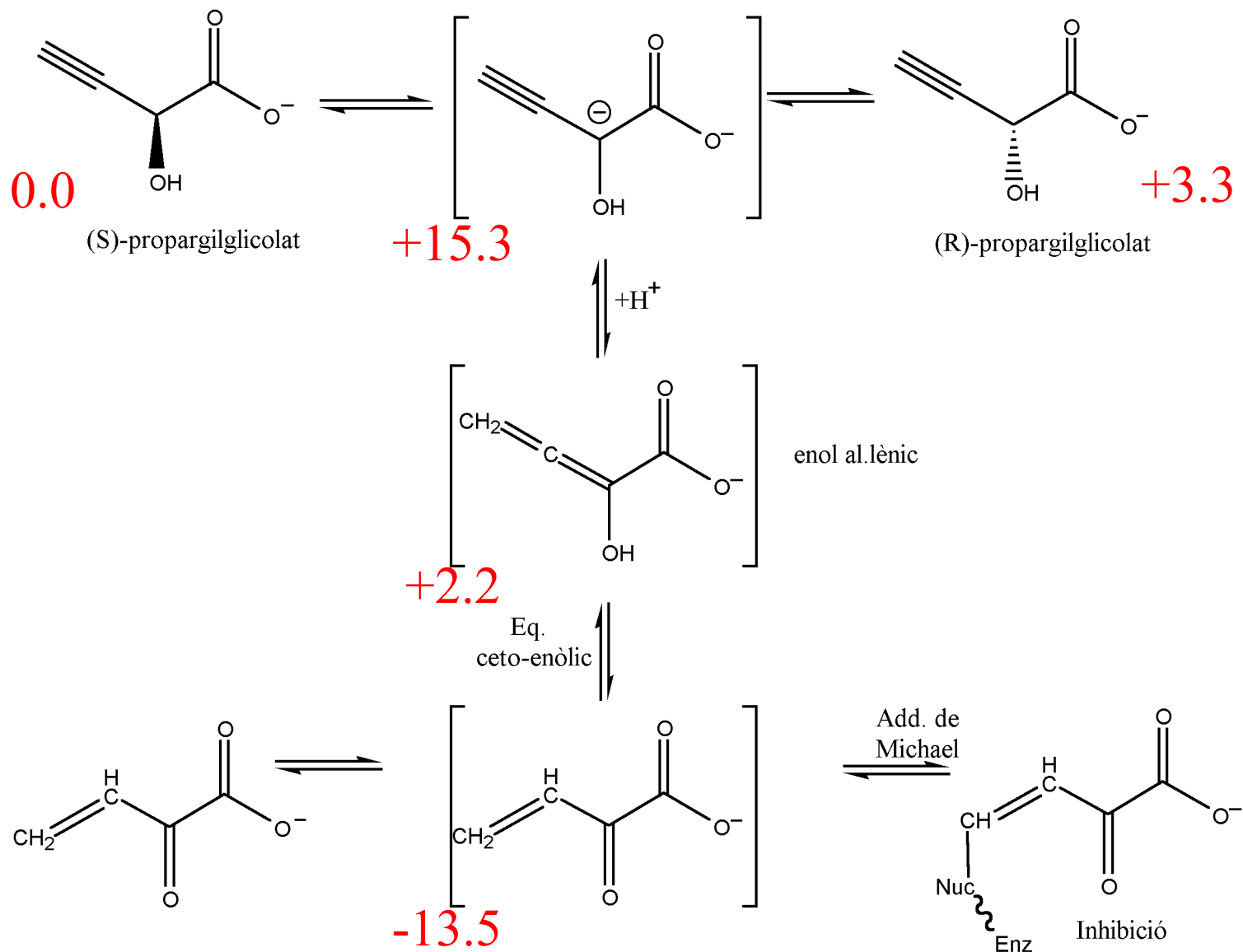
producte (S)(R)-mandel·lat

4. Els mecanismes: l'alçada de la barrera

El **mecanisme concertat** és el de barrera energètica més baixa per tots tres substractes

ΔE (kcal/mol)		
mecanisme concertat		
	mandelat	18.6 ràpida
	vinilglicolat	20.3 menys ràpida
	propargilglicolat	21.9 lenta

4. Els mecanismes: el cas del propargilglicolat



5. Conclusions

Fem servir un mètode QM/MM en el què incloem tot l'enzim per modelitzar una reacció enzimàtica

Trobat mínims i estats de transició podem deduir la reactivitat del mandelat racemasa amb tres substractes

Proposem tres possibles mecanismes, on el concertat és el cinèticament més favorable

Pels tres substractes reproduïm la tendència de velocitat:
 $\text{mandelat} \geq \text{vinilglicolat} > \text{propargilglicolat}$

6. Annex: Què fer quan hi ha molts mínims?

- N'hi ha prou amb mínims i estats de transició per conèixer la reactivitat?

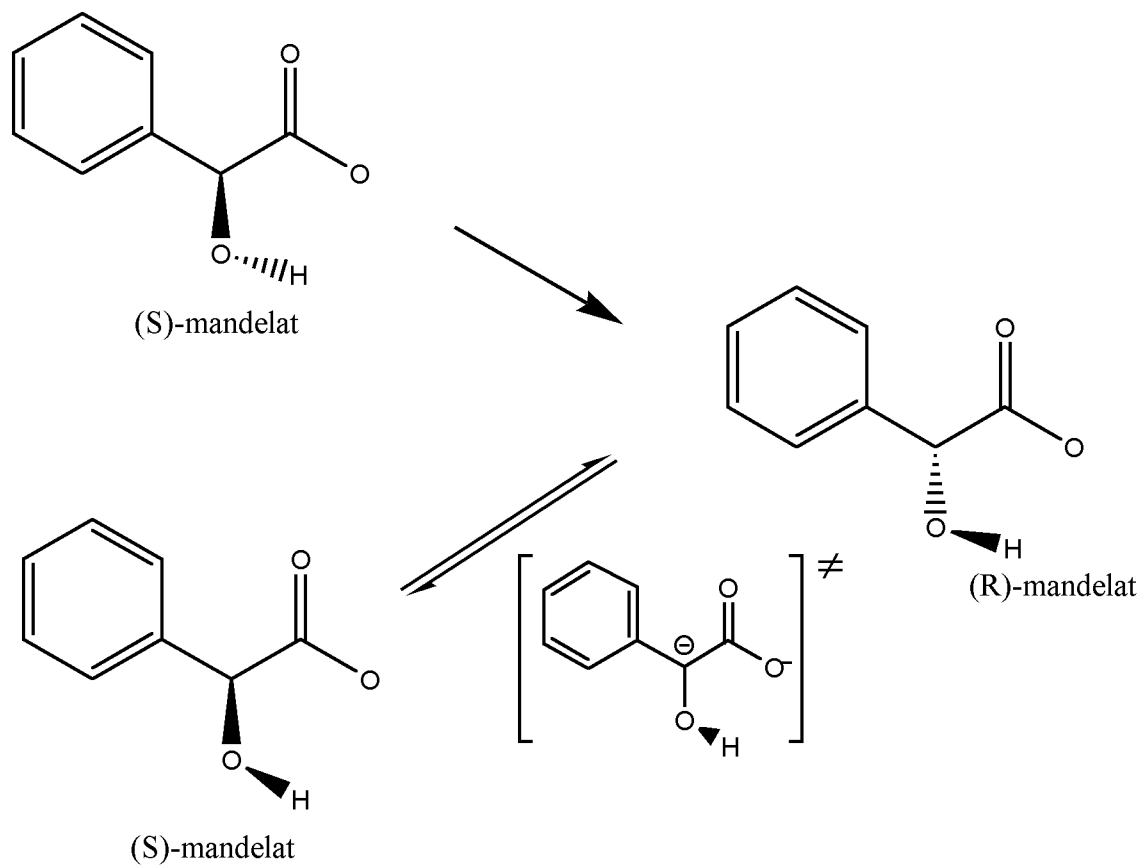
Per tenir en compte totes les diferents estructures cal correr dinàmiques i la ΔG és la magnitud més vàlida

- És necessari trobar els mínims i els estats de transició?

Cal trobar un camí que connecti reactius i productes

6. Annex: Què fer quan hi ha molts mínims?

Un exemple d'histèresi



Autors:

Josep Maria Lluch (UAB)

Àngels González Lafont (UAB)

Josep Maria Bofill (UB)

Gérald Monard (U. Nancy)

Mireia Garcia Viloca (UAB)

Xavier Prat Resina (UAB)