

Reactive flux molecular dynamics in Haloalkane Dehalogenase enzyme

reunió de grup

17 de març de 2004



**Dynamics of an Enzymatic Substitution Reaction in
Haloalkane Dehalogenase**

Kwangho Nam, Xavier Prat-Resina, Mireia Garcia-Viloca,
Lakshmi S. Devi-Kesavan, and Jiali Gao*

Seminari Gener 2003: CHARMM

- explicar el model QM/MM
- El mètode MD i càlcul de PMF sobre l'enzim DHase

Avui: Contribució d'efectes dinàmics a la catàlisi

- TST i les diferents contribucions
- Sistemes enzimàtics i aquós: càlcul de PMF
- Càlcul de la constant de recreuament
- Friction Kernel i Power spectra (anàlisi de les funcions d'autocorrelació de la força)

VTST

$$k = \gamma \frac{k_B T}{h} e^{-(\Delta G^\ddagger / k_B T)} = \gamma k_{TST}$$

$$\gamma(T) = \kappa(T) \Gamma(T) g(T)$$

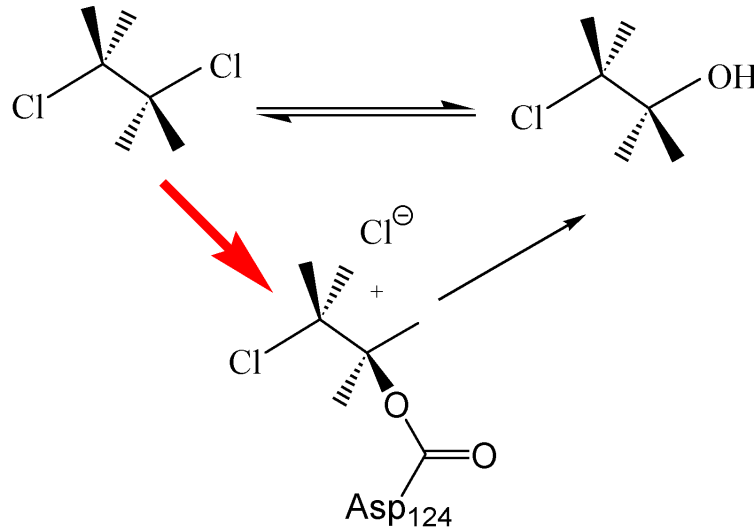
ΔG : efectes termodinàmics

$\Gamma(T)$: efectes dinàmics

La coordenada de reacció no és
única i ha de ser consistent amb ΔG i $\gamma(T)$

Es tracta de fer un càlcul de $\Gamma(t)$ per la reacció en l'enzim
i en aigua i analitzar les diferències entre els dos sistemes

Enzim Haloalcano Deshalogenasa

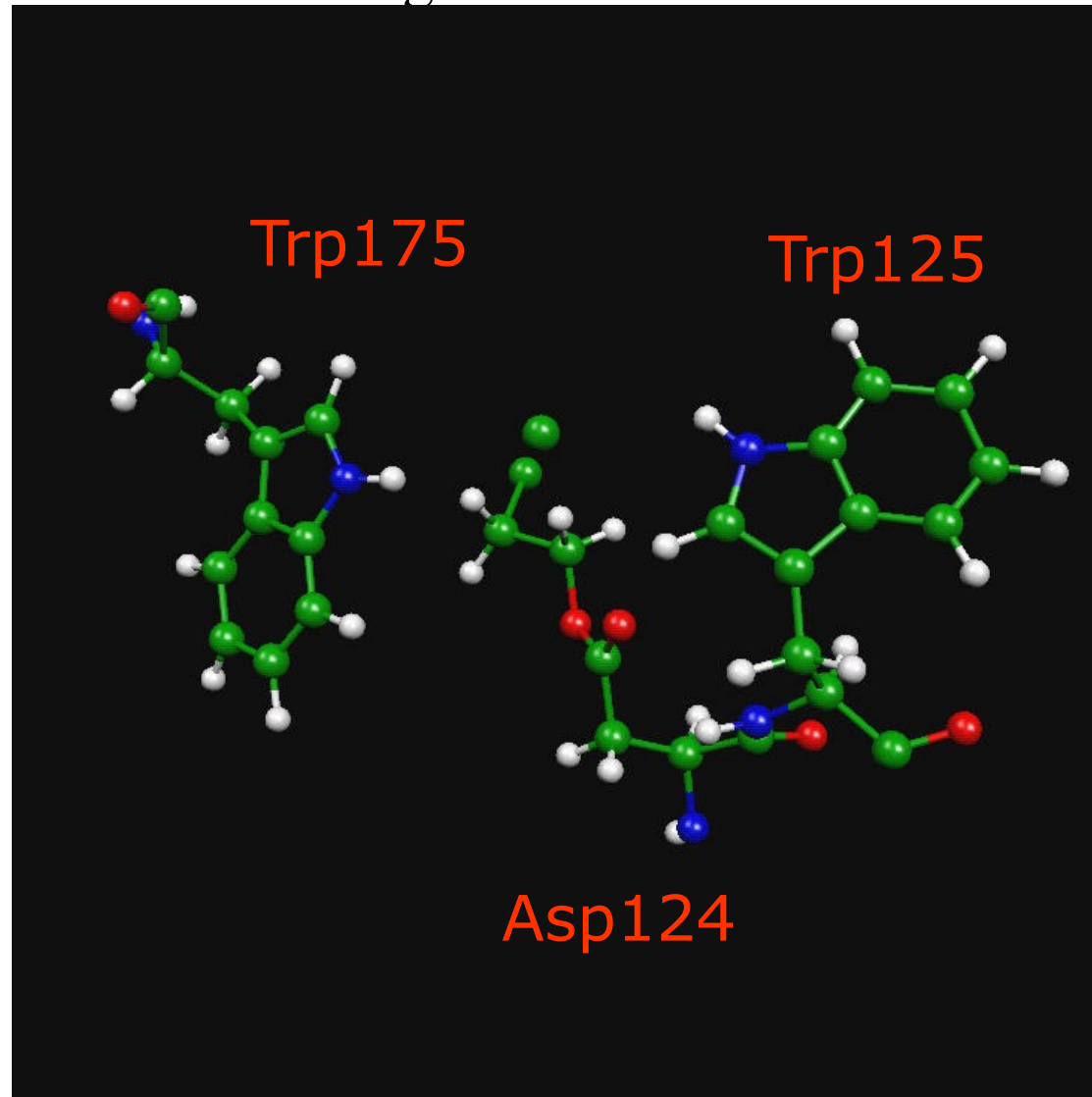


La reacció amb aigua només considera aquests dos components de la reacció. És únic el sistema aquós?

En l'enzim el model QM/MM es construeix amb 15 àtoms
QM(AM1-SRP)-GHO + 29511 àtoms MM (CHARMM) PBC (caixa de 65 Å)

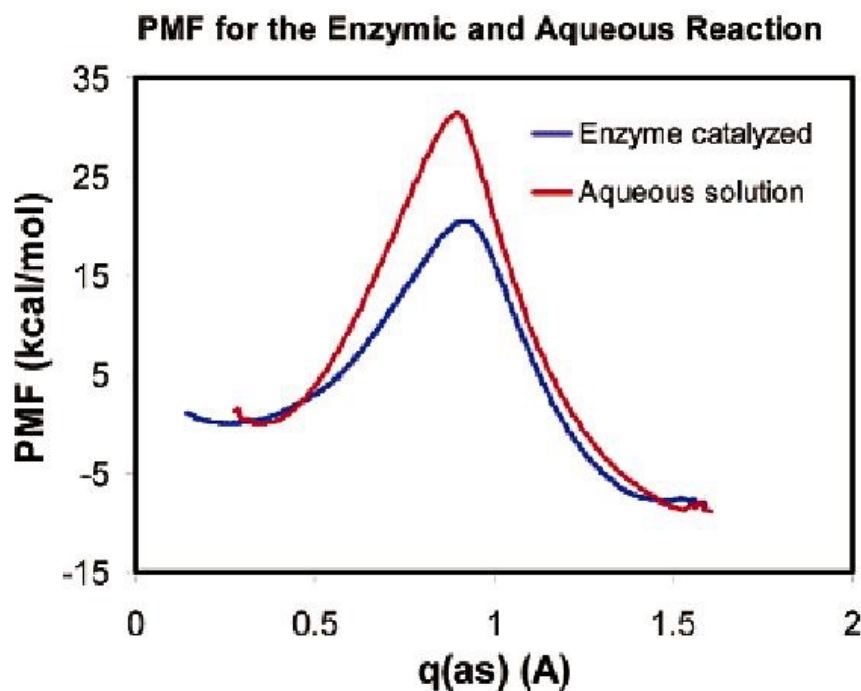
En el sistema aquós el model QM/MM es construeix amb 15 àtoms
QM(AM1-SRP) + 1679 aigües PBC (caixa de 36.8 Å)

Enzim Haloalcano Deshalogenasa



Càlcul de PMF: barrera termodinàmica

Coordenada de reacció: $q_{as} = \frac{1}{m_{Cl} + m_O} (m_{Cl} R_{CCl} - m_O R_{OC})$



Molts estudis analitzen la diferència en ΔG :

Anàlisi electrostàtic, ponts d'hidrogen, NAC-effect, solvent effect...

Càlcul de la constant de recreuament: EA-VTST (charmm-rate)

$$\gamma(T) = \langle \kappa_i(T) \Gamma_i(T) \rangle$$

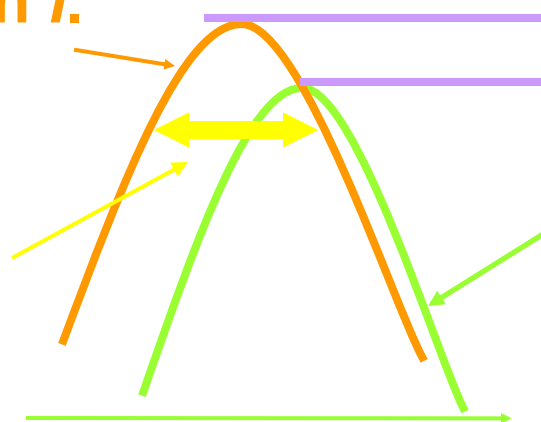
Effective PMF
for configuration i .

$$\Gamma_i(T) = \exp\{-\beta\Delta\Delta G_i\}$$

tunneling
 $\kappa_i(T)$

Potential of mean force

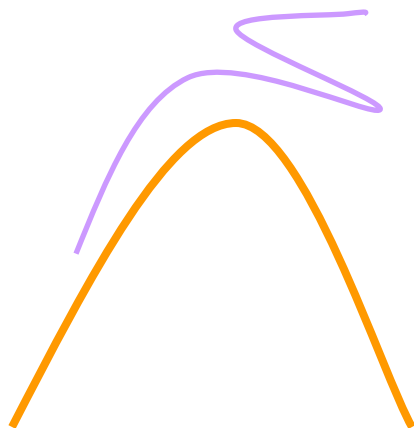
Reaction Coordinate z



Càlcul de la constant de recreuament: reactive flux MD

$$k(t) = \frac{\left\langle v_{as} H[q_{as}(t) - q_{as}^{\ddagger}] \right\rangle_{\neq}}{1/2 \left\langle |v_{as}(0)| \right\rangle_{\neq}}$$

40 ps de simulació **restringida** en el TS



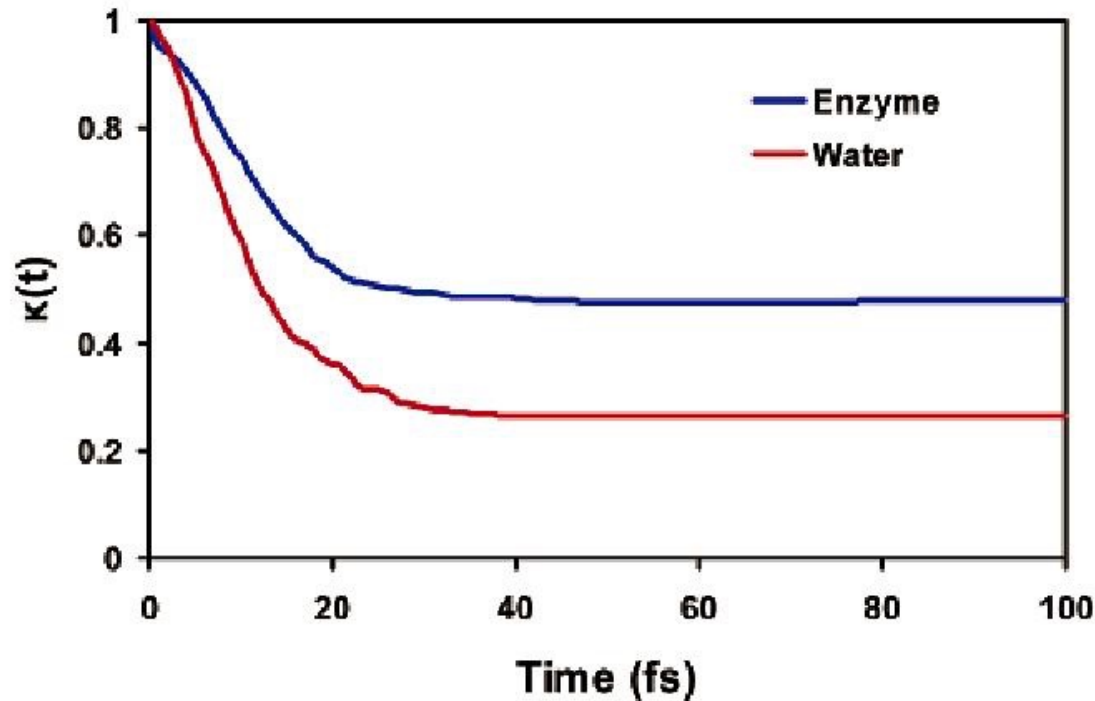
Cada 1 ps es guarden (q, v, v_{rx})

Tenim 40 estructures de les que iniciem
100 trajectòries lliures de 100 fs

on la v_{rx} segueix una distribució de Boltz.

En total 4000 trajectòries

Càlcul de la constant de recreuament: reactive flux MD



$\kappa(t)=0.53$ per l'enzim
 $\kappa(t)=0.26$ en aigua



L'enzim accelera un factor de 2
que són 0.5 kcal/mol en termes
de barrera

Friction kernel: estudi dels efectes de solvent

$$\eta(t) = \frac{1}{\mu k_B T} \langle \delta F(t) \delta F(0) \rangle$$

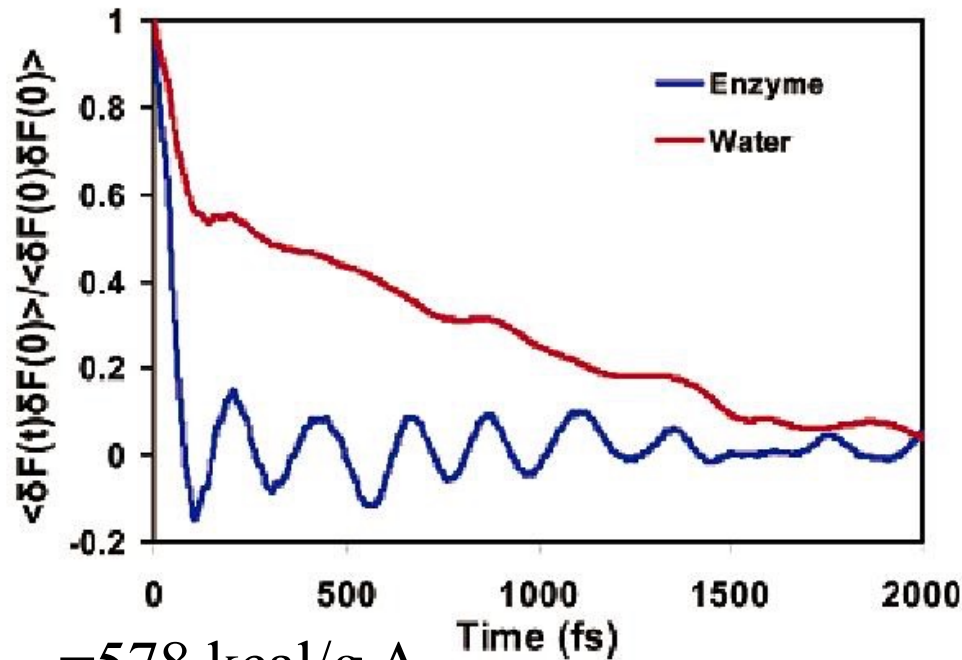
$F(t) = -dV/dq_{as}$ indica la barrera instantània

$\langle F(t) \rangle = 0$ La simulació es fa en el TS durant 200 ps
constringint la coordenada de reacció

$\delta F(t)$: fluctuació de la força (random force)

La funció d'autocorrelació dona la resposta del solvent al moviments de la coordenada de la reacció

Friction kernel: funcions d'autocorrelació de δF



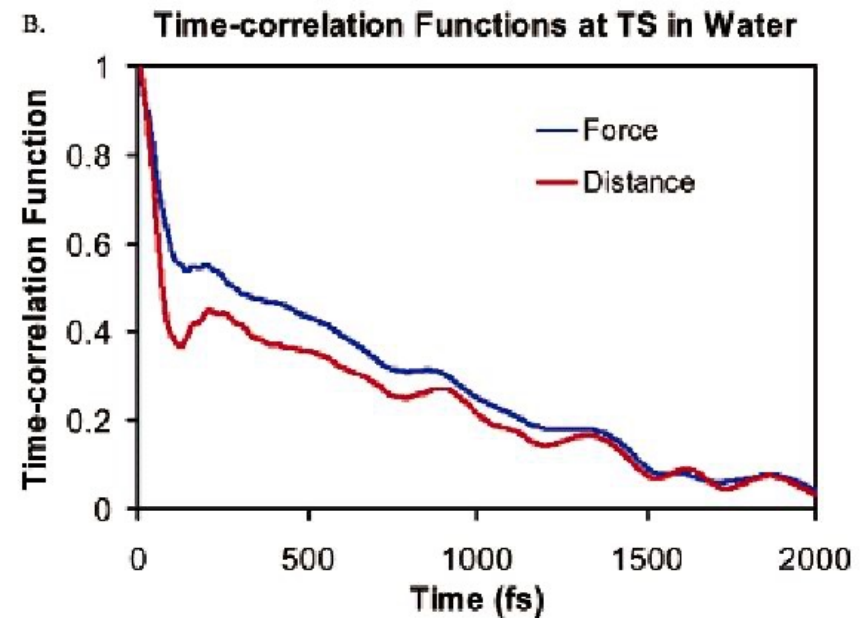
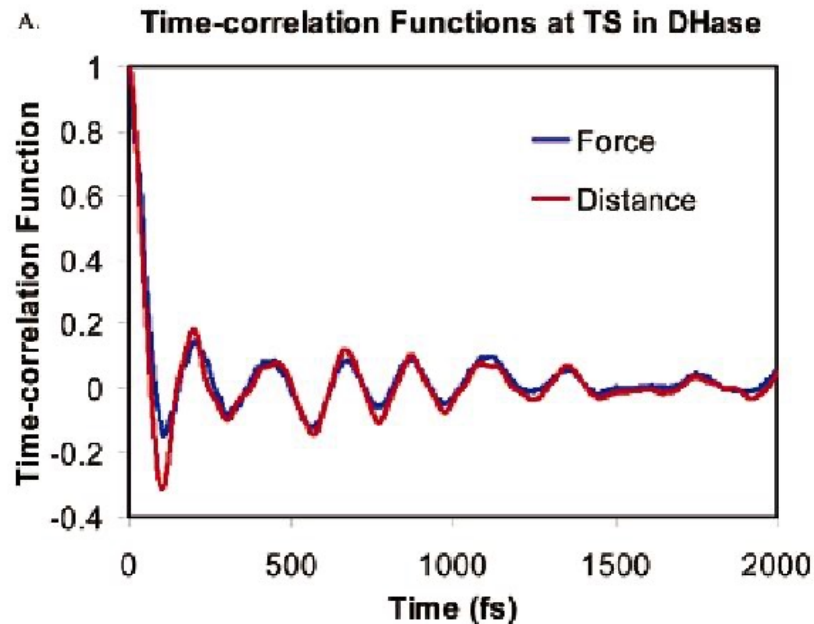
$$\eta_{\text{H}_2\text{O}} = 578 \text{ kcal/g A}$$

$$\eta_{\text{enzim}} = 184 \text{ kcal/g A}$$

Aigua: relaxació lenta degut a la reorganització del solvent

Enzim: oscil.lació ràpida pels MNV intramoleculars

Friction kernel: funcions d'autocorrelació de δF



En el cas de l'enzim la fluctuació de la força i de la distància O – C estan molt acoblades

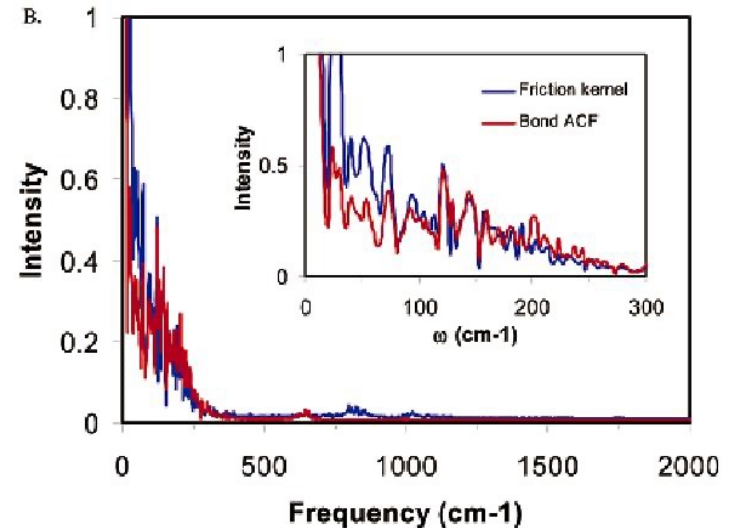
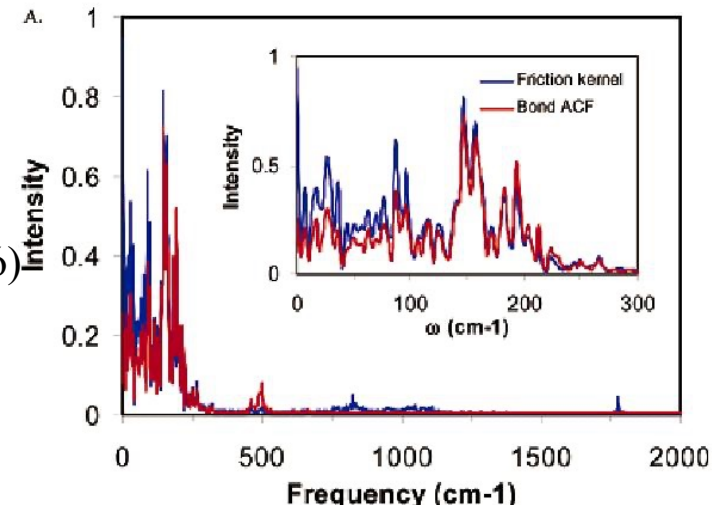
Friction kernel: Transformada de Fourier de les ACF (Power spectra)

Enzim:

les freqüències intramoleculares (altes freqüències) estan acoblades a la coordenada de reacció.

Això crea un “canal” per a la transferència (relaxació) d'energia i la creació de la barrera instantània.

Tot i que hi ha contribucions de les fluctuacions del moviment dinàmic de la proteïna

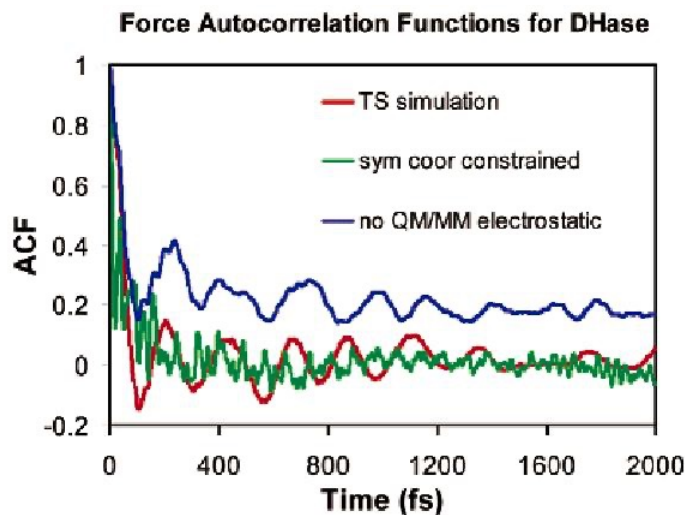


Aigua:

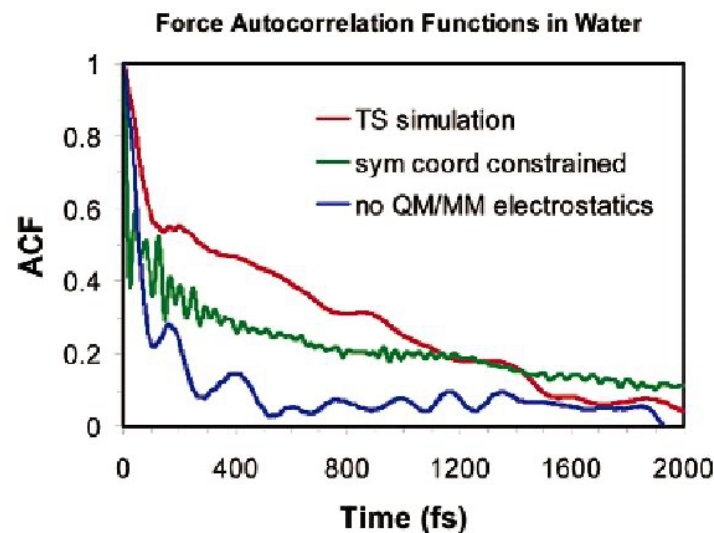
les freqüències intramoleculares no acompanyen tant a la reacció i les interaccions intermoleculares són més importants (electrostatic solvation effect)

Friction kernel: Dos experiments ficticis

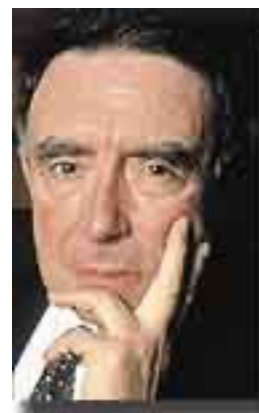
- 1) Simulació del TS construint les dues distàncies (stretching asimètric (q_{as}) i stretching simètric)
- 2) Eliminant la contribució electrostàtica de la proteïna a la part QM (no hi ha polarització de la funció d'ona)



Moviments intramoleculars



Electrostatic solvation effect



....s'acabó