

На правах рукописи

Мандриченко

Андрийченко Наталья Николаевна

**МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕЖМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ КСЕНОНА С
ОРГАНИЧЕСКИМИ МОЛЕКУЛАМИ - КОМПОНЕНТАМИ ГЛУТАМАТНЫХ
РЕЦЕПТОРОВ**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Специальность 02.00.17 – математическая и квантовая химия

Москва 2014

Работа выполнена на кафедре физической химии Химического факультета
Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Научный руководитель:

доктор химических наук, профессор
Немухин Александр Владимирович

Официальные оппоненты:

Вигасин Андрей Алексеевич
Доктор физико-математических наук,
ведущий научный сотрудник
Института физики атмосферы
им. А.М.Обухова РАН

Мазо Михаил Абрамович
Кандидат физико-математических наук,
старший научный сотрудник
Института химической физики
им. Н.Н. Семёнова РАН

Ведущая организация:

Институт проблем химической физики РАН

Защита диссертации состоится 6 марта 2014 года в 15 час. 00 мин на заседании диссертационного совета Д501.001.50 по химическим и физико-математическим наукам при Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, Химический факультет МГУ, аудитория 446.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке МГУ имени М.В. Ломоносова по адресу: Москва, Ломоносовский проспект, д. 27.

Автореферат размещён на сайте ВАК: <http://vak.ed.gov.ru> и на сайте Химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова: <http://www.chem.msu.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2014 года.

Ученый секретарь,
диссертационного совета Д 501.001.50
кандидат химических наук



Матушкина Н.Н.

ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

В 1950-х гг. было открыто анестетическое действие ксенона. Данный тип анестезии используется в современной медицинской хирургической практике, прежде всего, из-за отсутствия токсического воздействия на организм. Одна из основных гипотез, лежащих в основе молекулярных механизмов ксеноновой анестезии, связывает явления ксеноновой анестезии с ингибирующим эффектом ксенона на рецепторы центральной нервной системы, прежде всего на глутаматные (NMDA) белковые рецепторы.

Способность атомов ксенона связываться с белками широко используется в современных биохимических и рентгеноструктурных исследованиях. Сродство ксенона к гидрофобным полостям в макромолекулярном окружении позволяет применять этот инертный газ для идентификации активных сайтов белков, а также каналов, по которым субстраты достигают активных сайтов.

Значительный вклад в понимание взаимодействия ксенона с компонентами белковых макромолекул наряду с экспериментальными исследованиями может внести молекулярное моделирование. Однако, несмотря на достижения современного компьютерного моделирования при изучении строения и свойств белков, непосредственное применение разработанных методик молекулярной механики (ММ), молекулярной динамики (МД), квантовой химии и многоуровневых подходов квантовой механики – молекулярной механики (КМ/ММ) для описания взаимодействия атомов инертного газа с органическими молекулами – компонентами белковых полостей, затруднено. Параметры силовых полей, которые ответственны за результаты расчетов ММ и МД, недостаточно хорошо калиброваны в части потенциалов взаимодействия ксенона с молекулярными группами аминокислотных остатков. С другой стороны, методы квантовой химии и КМ/ММ, претендующие на описание этого взаимодействия, должны адекватно рассчитывать дисперсионные вклады, что значительно усложняет расчетную процедуру. Таким образом, подбор методики вычислений, пригодной для компьютерного моделирования комплексов ксенона с аминокислотными остатками, представляет актуальную задачу.

В диссертационной работе предлагается подобрать и оптимизировать способы моделирования межмолекулярных комплексов ксенона с небольшими органическими молекулами, опираясь и на теоретические подходы, и на экспериментальные данные, относящиеся к другой области молекулярных исследований. Комплексы инертных газов, в частности, ксенона, активно изучаются методами низкотемпературной матричной

изоляции. Результаты подобных экспериментов могут быть использованы для тщательной калибровки параметров силовых полей молекулярной механики и параметров квантовохимических моделей для расчетов комплексов ксенона с интересующими фрагментами белковых молекул.

Цель работы

Методами квантовой химии и молекулярной механики исследовать взаимодействие атомарного ксенона с малыми органическими молекулами, моделирующими аминокислотные остатки; подобрать оптимальные параметры расчетных схем, опираясь на эксперименты в низкотемпературных матрицах; исследовать поведение ксенона в полостях глутаматных рецепторов методами молекулярной динамики и КМ/ММ.

В соответствии с поставленной целью решались следующие **задачи**:

1. Методами квантовой химии исследовать возможные конформеры в реперных системах, состоящих из атомов ксенона и небольших органических молекул; проанализировать равновесные геометрические конфигурации, энергии связывания и колебательные спектры.
2. Подобрать параметры расчетной схемы теории функционала электронной плотности (DFT-D), а также параметры модельных потенциалов метода ММ, пригодные для моделирования макромолекул с участием ксенона и приемлемо воспроизводящие геометрические и энергетические характеристики реперных молекулярных систем.
3. Методами молекулярной динамики выявить устойчивые положения и структурные мотивы, характерные для окружения ксенона в лиганд-связывающем домене NR1 субъединицы NMDA-рецептора, и подтвердить устойчивость сайтов связывания ксенона методом КМ/ММ.

Научная новизна результатов:

1. Показано, что неэмпирический метод квантовой химии MP2/(aug)-cc-pVTZ, позволяющий получить хорошее соответствие расчетных и экспериментальных сдвигов характеристических частот в ИК-спектрах, предоставляет надежные реперные данные для комплексов ксенона с органическими молекулами.
2. Установлено, что технику Гримме DFT-D2 с функционалом BHHLYP и базисом 6-31 G* можно использовать для моделирования межмолекулярных комплексов ксенона с ароматическими органическими молекулами; данный подход перспективен для моделирования взаимодействия ксенона с компонентами белковых макромолекул.

3. На основании расчетов методами МД и КМ/ММ показано, что ксенон может образовывать устойчивые комплексы с закрытой конформацией NR1-субъединицы NMDA-рецептора. Структурный мотив «Xe...ароматическая аминокислота» является характерным для комплексов ксенона с NR1 субъединицей NMDA-рецептора, и может вносить вклад в ингибирующее действие ксенона.

Практическая значимость заключается в том, что подобранный метод расчета применим для моделирования взаимодействий атомов ксенона с компонентами белковых макромолекул и изучения специфических сайтов связывания. Результаты этой работы рекомендовано использовать в научных организациях, занимающихся изучением межмолекулярных взаимодействий: МГУ имени М.В. Ломоносова, Институтах РАН: Институте химической физики, Институте биохимической физики, Институте проблем химической физики, Институте физики атмосферы, Центре фотохимии, Институте общей и неорганической химии, Институте биохимии, Институте биоорганической химии, Институте физической химии и электрохимии, Институте органической химии, Институте кинетики и горения СО, Институте катализа СО.

Личный вклад диссертанта заключается в сборе и анализе литературных данных, постановке задач, разработке поставленных задач, проведении вычислений методами квантовой химии, молекулярной динамики, комбинированными методами квантовой и молекулярной механики, интерпретации результатов, подготовке публикаций и докладов по теме диссертационной работы.

Апробация работы и публикации. Материалы диссертации были представлены на международной конференции «Ломоносов» (Москва, 2011), XI, XIII Международной молодежной конференции «Биохимическая физика», ИБХФ РАН-ВУЗы (Москва, 2011, 2013), V молодежной конференции ИОХ РАН (Москва, 2012), 27-ой зимней школе по теоретической химии (Финляндия, 2011), 13-ой Фоковской конференции по квантовой и вычислительной химии (Казахстан, 2012).

Результаты опубликованы в 8 печатных изданиях, в том числе в 2 статьях в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень журналов ВАК РФ, и в 6 тезисах докладов на конференциях.

Структура диссертации

Диссертация состоит из введения, 3 глав, выводов, приложения и списка цитируемой литературы (143 наименования). Работа изложена на 104 страницах, и включает 40 рисунков, 25 формул и 17 таблиц.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1 содержит описание современных подходов к изучению межмолекулярных комплексов инертных газов; основное внимание уделено исследованию комплексов ксенона.

Глава 2 посвящена моделированию комплексов ксенона с малыми органическими молекулами.

В *разделе 2.1* приводятся результаты квантовохимических расчетов систем «фенол...Xe_n» (n=1-4), на основании которых выбран адекватный метод расчета структуры, энергии и колебательных спектров этих комплексов, моделирующих взаимодействие ксенона с ароматическими молекулами.

На предварительном этапе было показано, что метод теории возмущений Меллера-Плессе второго порядка с использованием базиса (aug)-cc-pVTZ и штутгартского псевдопотенциала для ксенона адекватно описывает характеристики димера ксенона (Xe₂). Далее этим методом были рассчитаны энергии связывания и геометрические параметры различных конформеров системы «фенол...Xe_n», где n=1-4. Для полученных структур проведен анализ частот колебаний в гармоническом приближении, а также оценены сдвиги частот при образовании комплексов фенола с ксеноном. Рассчитанные величины соотнесены с экспериментальными данными, полученными в группе спектроскопии и фотохимии Химического факультета университета Хельсинки (Финляндия).

Показано, что в системе «фенол...Xe₁» есть две устойчивые конформации: «π-комплекс» (атом ксенона локализован над ароматическим кольцом с небольшим смещением в сторону атома кислорода гидроксильной группы) и «H-bonded» комплекс (атом ксенона располагается в плоскости кольца, на линии, проходящей через связь -ОН) (Рис.1, А₁ и Б₁, соответственно).

Первый комплекс лежит ниже по энергии и является предпочтительным при образовании в газовой фазе (Табл. 1). Однако сдвиг частоты валентного колебания ОН-группы фенола, наблюдавшийся при отношении концентраций Xe/фенол как ~10 к 1 (-10.6 см⁻¹) отличается от рассчитанной величины для обоих комплексов «фенол...Xe₁». Для «H-bonded» комплекса предсказанный сдвиг частоты (-23.4 см⁻¹) в два раза превышает экспериментальную величину.



Рис. 1. Структуры комплексов «фенол...Xe₁»: A₁ (а) и B₁ (б). Атомы углерода выделены серым цветом, кислорода – красным, водорода – голубым, ксенона – розовым.

Смешанная интенсивная частота деформационного колебания « $\delta(\text{OH})+\delta(\text{CH})$ » «Н-bonded» комплекса (рассчитанный сдвиг $+6.6 \text{ см}^{-1}$) не обнаружена в экспериментальных спектрах. Эти данные говорят в пользу того, что «Н-bonded» комплекс «фенол...Xe₁» не образуется в экспериментальных условиях. Для 1:1 комплекса типа « π -комплекс» спектр является схожим со спектром свободной молекулы фенола (типичные сдвиги меньше 1 см^{-1}); рассчитанный сдвиг ОН-валентного колебания составил -0.5 см^{-1} , что является слишком малым для экспериментального обнаружения.

Рассмотрение комплексов с большим количеством атомов ксенона позволяет объяснить другие экспериментально наблюдаемые сдвиги частот колебаний. Согласно расчетам за красные сдвиги частот порядка 10 см^{-1} , которые наблюдаются при средних концентрациях ксенона, вероятно, отвечает присутствие комплекса A₂ с двумя атомами ксенона (Рис. 2). Кроме того, этот комплекс имеет синий сдвиг по частоте смешанного колебания « $\delta(\text{OH})+\nu(\text{CC})+\delta(\text{CH})$ » ($+6.9 \text{ см}^{-1}$), однако интенсивность этого колебания слишком мала, чтобы регистрировать данное колебание экспериментально.

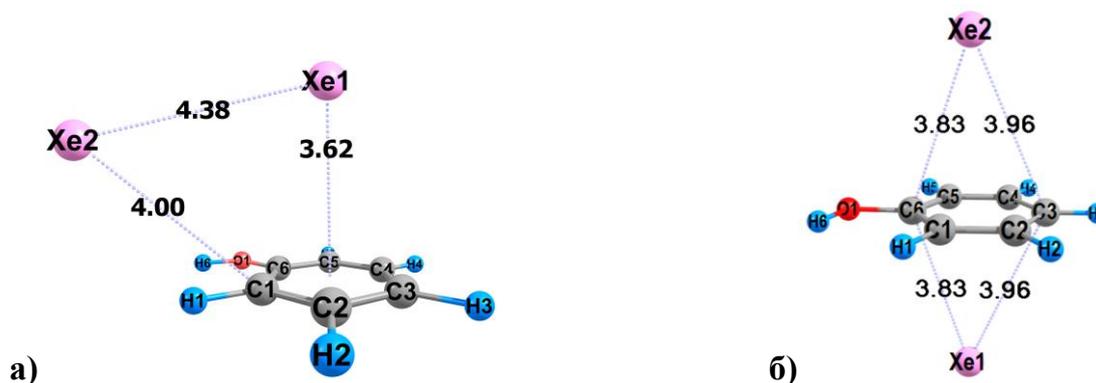


Рис. 2. Структуры комплексов «фенол...Xe₂»: A₂ (а) и B₂ (б)

При более высоких концентрациях ксенона (отношение Xe/фенол от 20/1 до 70/1) наблюдаются красные сдвиги частоты валентного колебания ОН-группы порядка $22\text{-}28 \text{ см}^{-1}$. Согласно расчетам, они объясняются присутствием в системе комплексов «фенол...Xe₃»

(Рис. 3, B₃) и «фенол...Xe₄» (Рис. 4, B₄). Появление красных сдвигов 12-15 см⁻¹, по всей видимости, обусловлено образованием комплексов типа A₃ (Рис. 3) и A₄ (Рис. 4).

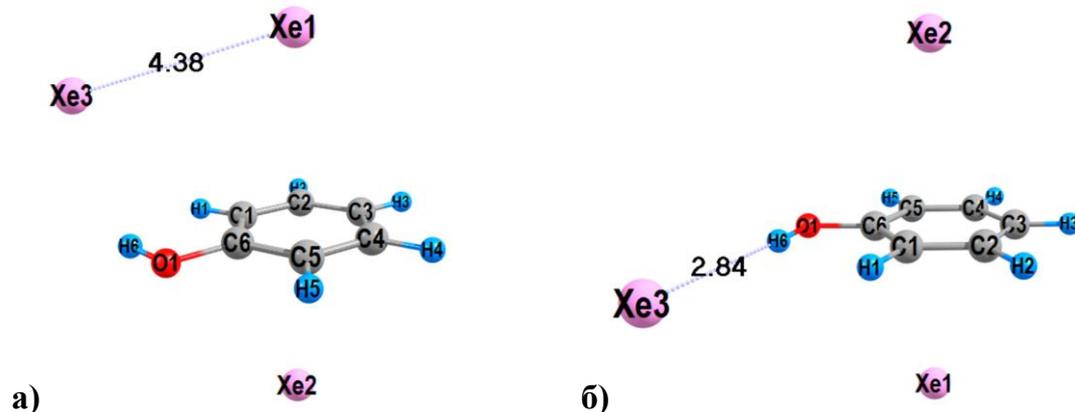


Рис. 3. Структуры «фенол...Xe₃»: A₃ (а) и B₃ (б).

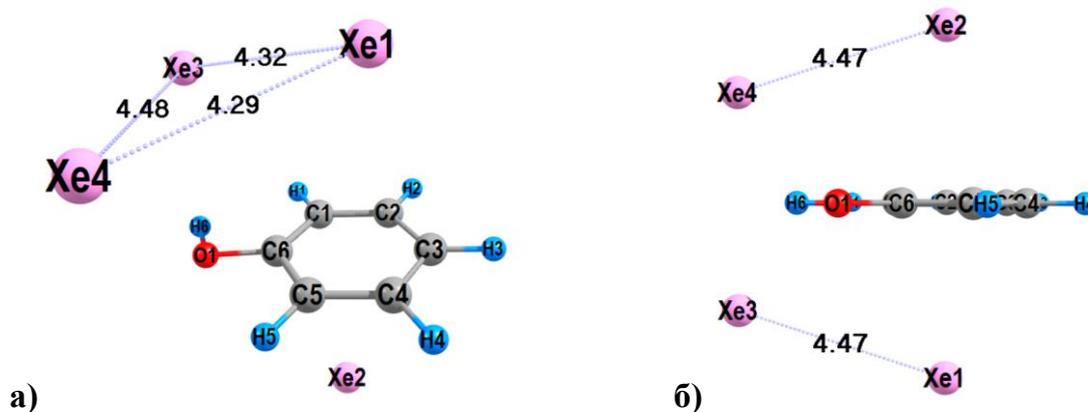


Рис. 4. Структуры комплексов «фенол...Xe₄»: A₄ (а) и B₄ (б).

В Табл. 1 приведена сводная информация по соотношению экспериментально наблюдаемых и рассчитанных сдвигов частот колебаний.

Таблица 1. Характеристические частоты колебания OH-группы, сдвиги (ω и $\Delta\omega$, в см⁻¹); энергии связывания для комплексов ($E_{\text{компл}}$ (без ZPE коррекции), $E_{\text{компл+ZPE-коррекция}}$ (с ZPE-коррекцией) в ккал/моль) для систем «фенол...Xe_n» ($n = 1-4$).

n	Отнесение	Эксперимент		Расчет	Энергия связывания	
		ω	$\Delta\omega$	$\Delta\omega$	$E_{\text{компл}}$	$E_{\text{компл+ZPE-коррекция}}$
0	фенол	3655.4	-	-	-	-
1	A ₁	*	-	-0.5	-3.0	-2.8
1	B ₁	*	-	-23.4	-1.7	-1.5
2	A ₂	3644.8	-10.6	-10.9	-5.3	-5.0
3	A ₃	3643.4	-12.0	-12.3	-8.4	-7.9
3	B ₃	3632.8	-22.6	-28.2	-8.0	-7.5
4	A ₄	3639.3	-15.9	-12.6	-11.1	-10.5
4	B ₄	3627.2	-28.2	-22.5	-11.3	-10.7

* Пики, соответствующие данным частотам, не наблюдались в эксперименте.

Таким образом, методика MP2/(aug)-cc-pVTZ позволяет интерпретировать экспериментальные колебательные спектры систем «фенол+Xe_n», что оправдывает применимость ее в качестве реперного метода для расчетов других систем типа «Xe...ароматическая молекула». Результаты расчетов референсным методом могут быть использованы для калибровки параметров более экономичных вычислительных схем, обсуждаемых далее.

В *разделе 2.2* приводятся результаты исследования комплексов «Xe...ароматическая молекула» различными вариантами метода DFT-D. Как обсуждено в Главе 1, традиционные подходы DFT плохо моделируют слабые дисперсионные взаимодействия. Одним из перспективных вариантов представляется т.н. техника С. Гримме - DFT-D. В основе этого метода лежит аддитивная схема расчета энергии: добавление дисперсионного корректирующего члена к энергии, полученной в приближении DFT (E_{DFT-D}):

$$E_{DFT-D} = E_{DFT} + E_{дисп}, \quad (1)$$

В варианте метода DFT-D2 дисперсионный член имеет следующий вид:

$$E_{дисп} = -s_6 \sum_{i=1}^{N_{атом}-1} \sum_{j=i+1}^{N_{атом}} \frac{C_6^{ij}}{R_{ij}^6} f_{дмп}(R_{ij}), \quad (2)$$

где $N_{атом}$ - число атомов в системе, C_6^{ij} - дисперсионный коэффициент для пары атомов i и j , s_6 - масштабирующий фактор и R_{ij} - межатомное расстояние, $f_{дмп}$ - демпфирующая функция.

В методе DFT-D3 к слагаемому (2) дополнительно добавлены вклады от более высоких степеней расстояния (R^{-8} , R^{-10}).

Поскольку нашей целью был подбор экономичной вычислительной схемы для описания комплексов ксенона с органическими молекулами, то рассматривались достаточно скромные варианты: для ксенона был использован псевдопотенциал SBKJZ с базисом SBK (с дополнительной поляризационной d-функцией с экспоненциальным параметром 0.297); для углерода и кислорода были взяты базисы 6-31G*. Качество расчетной схемы оценивалось при сравнении результатов вычислений DFT-D для систем «бензол...Xe₁» и «фенол...Xe₁» с результатами эталонной схемы MP2/(aug)-cc-pVTZ.

Нами рассматривались два возможных изомера комплекса «фенол...Xe₁». В Табл.2 приведены энергии связывания и характерные межъядерные расстояния (максимальное и минимальное расстояние до атома углерода) для «π-комплекса», рассчитанные методами DFT и DFT-D в сравнении с эталонным расчетом.

Таблица 2. Энергии связывания, максимальное и минимальное расстояние до атома углерода, сравнение расчетов π -комплекса «фенол...Xe₁» методами DFT и DFT-D.

	Энергия связывания, ккал/моль	$d(\text{Xe}-\text{C}_1)$, Å	$d(\text{Xe}-\text{C}_4)$, Å
DFT			
B3LYP	0.0	5.02	5.04
PBEOP	0.4	4.72	4.63
BHNLYP	0.1	4.61	4.49
DFT-D2			
B3LYP	2.2	3.89	3.98
PBEOP	2.3	4.00	4.12
BHNLYP	2.7	3.85	3.93
DFT-D3			
B3LYP	0.8	4.45	4.40
PBEOP	0.4	4.57	4.49
BHNLYP	0.8	4.73	4.28
MP2/aug-cc-pVTZ	3.1	3.80	3.94

Из приведенных величин видно, что применение техники Гримме оказывается крайне важным. Энергии диссоциации комплексов в исходном методе DFT (без поправки Гримме) оказываются практически нулевыми, а атом ксенона значительно удален от кольца. Вариант DFT-D3 занижает энергию связи и завышает расстояние «Xe-кольцо». С этим несоответствием мы также сталкивались при расчете димера ксенона. Оценки по методу DFT-D2 представляются более разумными. Для всех приведенных функционалов полученные величины достаточно хорошо согласуются с эталонным расчетом, т.е. с результатами MP2/(aug)-cc-pVTZ. Наилучшее согласие имеет место для варианта BHNLYP-D2, хотя погрешности вариантов с другими функционалами не слишком велики, и они так же пригодны для моделирования.

Характерные расстояние $d(\text{Xe}-\text{H}(\text{OH}))$ и энергии для H-bonded комплекса, полученные с применением различных функционалов методом DFT-D2, приведены в Табл.3. Следует отметить, что расхождения по ключевому расстоянию $d(\text{Xe}-\text{H}(\text{OH}))$ существенны и составляют величины ~ 0.2 Å для всех выбранных функционалов. По величине энергии связывания лучше всего подходит функционал PBEOP. С другой стороны, разница энергий изомеров согласно эталонному расчету методом MP2 составляет 1.4 ккал/моль, и эта величина значительно лучше воспроизводится функционалом BHNLYP. Упомянутая разница в методе PBEOP всего 0.6 ккал/моль, и функционал BHNLYP оказывается предпочтительнее.

Таблица 3. Энергии связывания и характерное расстояние $d(\text{Xe}-\text{H}(\text{OH}))$ для *H*-bonded комплекса «фенол...Xe₁», рассчитанные с разными функционалами DFT-D2.

	Энергия связывания, ккал/моль	$d(\text{Xe}-\text{H}(\text{OH})), \text{Å}$
B3LYP	1.42	3.04
PBEOP	1.70	3.07
B97-D	1.47	3.12
BHNLYP	1.56	3.03
MP2/(aug)-cc-pVTZ	1.72	2.85

Известна достаточно грубая экспериментальная оценка энергии диссоциации комплекса «бензол...Xe» (1.8 ккал/моль), которая основывается на анализе вращательных спектров. В наших расчетах энергия связывания для BHNLYP-D2 составляет 2.6 ккал/моль, а MP2/(aug)-cc-pVTZ - 2.8 ккал/моль.

В *разделе 2.3* приводятся результаты квантово-химических расчетов комплексов ксенона с другими органическими молекулами – компонентами белковых систем.

Молекулы фенилаланина, тирозина и триптофана входят в состав полости лиганд-связывающего домена NR1 субъединицы NMDA-рецептора. Для комплексов этих молекул с ксеноном были получены равновесные геометрические конфигурации с характерной координацией атома ксенона над плоскостью ароматической системы. В Табл. 4 приведены результаты расчетов методами MP2 и DFT-D2.

Таблица 4. Геометрические и энергетические характеристики комплексов типа «Xe...ароматическая аминокислота».

	Энергия связывания, ккал/моль	Характерные расстояния, Å	
Фенилаланин			
		$d(\text{Xe}-\text{C}_9)$	$d(\text{Xe}-\text{C}_4)$
BHNLYP	2.8	3.93	3.84
MP2/cc-pVTZ	2.4	4.03	3.84
Тирозин			
		$d(\text{Xe}-\text{C}_9)$	$d(\text{Xe}-\text{C}_4)$
BHNLYP	2.9	3.90	3.85
MP2/cc-pVTZ	2.5	3.98	3.85
Триптофан			
		$d(\text{Xe}-\text{C}_{10})$	$d(\text{Xe}-\text{C}_7)$
BHNLYP	4.3	3.99	3.69
MP2/cc-pVTZ	3.3	3.98	3.73

Анализируя эти результаты, мы полагаем, что энергии связывания в варианте MP2 несколько занижены, что обусловлено отсутствием диффузных функций в базисе. Использование других функционалов (B3LYP, PBEOP, B97-D) в методе DFT-D2 незначительно меняет результаты по сравнению с функционалом BHNLYP.

Важно отметить, что характерные расстояния от ксенона до ароматического кольца хорошо соотносятся с рентгеноструктурными данными для белков с включенными в гидрофобные полости атомами ксенона.

В качестве примера алифатической молекулы – партнера ксенона в межмолекулярных комплексах, рассматривалась молекула муравьиной кислоты, для которой характерны различные конформации, изученные и экспериментально, и теоретически. Результаты расчетов показывают, что метод DFT(BHNLYP)-D2 позволяет хорошо воспроизвести структуры двух из трех конформеров, полученных методом MP2/aug-cc-pVTZ.

По результатам Главы 2 можно сделать вывод, что межмолекулярные комплексы ксенона с органическими молекулами хорошо описываются методом MP2 и с приемлемой точностью методом DFT-D2. Метод DFT-D2 целесообразно применять в рамках теории КМ/ММ. По реперным данным метода MP2 оказалось возможным подобрать параметры модельных потенциалов взаимодействия ксенона с ароматическими аминокислотными остатками для применения в молекулярно-динамических расчетах.

Глава 3 посвящена моделированию белковых комплексов ксенона.

В *разделе 3.1* приведен краткий обзор современных вычислительных подходов моделированию структуры и свойств белковых систем.

В *разделе 3.2* описываются результаты МД моделирования белковых комплексов ксенона. Результатам, полученным в данной работе, предшествует краткий анализ литературных данных по взаимодействию ксенона с белками (*раздел 3.2.1*).

В банке данных белковых структур (PDB) представлены структуры ряда комплексов ксенона с белками. Во многих из них обнаруживается схожий мотив: ксенон образует « π -комплексы» с ароматическими аминокислотами. Это наблюдение согласуется с нашими расчетами комплексов ксенона с простыми ароматическими молекулами: именно « π -комплексы» являются наиболее энергетически выгодными для систем «Xe...ароматическая молекула».

В *разделе 3.2.2* показано, что методом молекулярной динамики с параметрами потенциалов взаимодействия «Xe-ароматическая молекула», скорректированными по результатам квантово-химических расчетов (Глава 2), можно воспроизвести экспериментальную структуру белка с внедренным в полость макромолекулы ксеноном.

Был рассмотрен белок аннексин V, координаты тяжелых атомов которого содержатся в базе данных PDB (код 2IE6). По ряду структурных и функциональных характеристик этот

белок может рассматриваться как прототип NMDA-рецептора. В данном комплексе присутствует один атом ксенона, который находится в амфифильной полости радиуса $\sim 5 \text{ \AA}$, образованной аминокислотными остатками THR187, PHE192, ILE223, GLU226, THR227, LEU235.

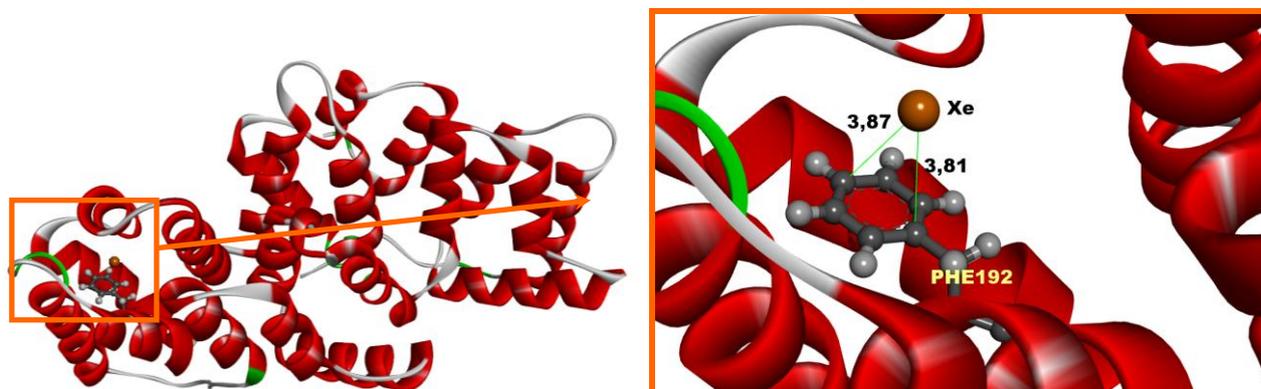


Рис. 5. Фрагмент структуры комплекса «аннексин V...Xe»

После добавления средствами молекулярного моделирования атомов водорода и заполнения полости молекулами воды, были рассчитаны МД траектории атомов в полости. По результатам моделирования показано, что на протяжении 15 нс атом ксенона не покидает сайта связывания над ароматическим кольцом PHE192 (Рис.5), несмотря на то, что полость открыта по отношению растворителю.

Раздел 3.2.3 посвящен расчетам методами МД лиганд-связывающего домена NR1 субъединицы NMDA-рецептора. Строение этой субъединицы схематично представлено на Рис. 6.

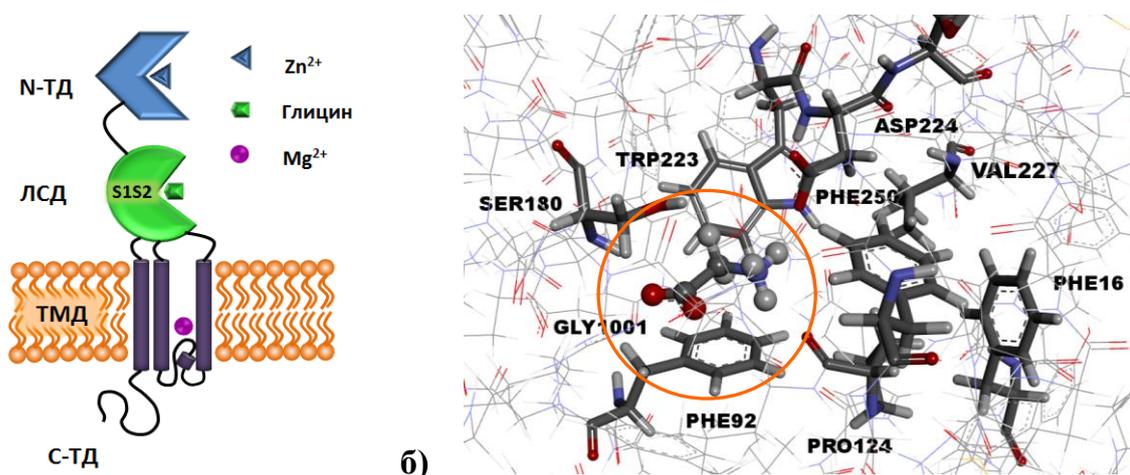


Рис 6. а) Строение субъединицы NR1: ТМД - трансмембранный домен, N-ТД - N-терминальный внеклеточный домен, ЛСД - лигандсвязывающий внеклеточный домен, С-ТД - С-терминальный внутриклеточный домен, б) Активный сайт GLY (по мотивам PDB структуры 2A5T)

Были исследованы две конформации лиганд-связывающего (ЛСД) домена (имеющего форму «клешни») белка: «открытая» и «закрытая». Природным лигандом является глицин, и цель данной работы – оценить, возможна ли замена глицина атомом (атомами) ксенона в

полости рецептора, что может объяснять анестетическое действие ксенона. Для оценки стартовых координат были выбраны структуры PDBid: 1PBQ (открытая конформация) и 2A5T (закрытая конформация). Протокол молекулярно-динамического моделирования был следующим: на первом этапе к структурам PDB, содержащим координаты тяжелых атомов, добавлялись атомы водорода; далее белок помещался в куб из молекул воды, описываемых потенциалами TIP3P; на последнем этапе добавлялись ионы натрия и хлора до конечной концентрации 0.15 М. Подготовительный этап проводился с помощью программного пакета VMD 1.9. Минимизация системы проводилась в течение 2000 шагов. Длина каждой МД траектории составляла от 40 до 50 нс, в зависимости от конкретной задачи, шаг интегрирования - 1 фс. Использовался ансамбль NPT, температура - 300К, давление - 1 атмосфера, накладывались периодические граничные условия. Расчеты проводились с помощью программного пакета NAMD 2.8b1 с силовым полем CHARMM22, причем потенциалы взаимодействия ксенона с ароматическими молекулами были скорректированы по результатам наших расчетов моделей малых комплексов ксенона (Глава 2).

На Рис.6а показан активный сайт рецептора в «закрытой» конформации с молекулой глицина. Видно, что данная полость имеет амфифильный характер и содержит ряд ароматических аминокислот. Молекула глицина (GLY) располагается над ароматическим кольцом PHE92.

Далее анализируются результаты МД моделирования возможного сайта связывания ксенона в закрытой конформации рецептора. В течение 50 нс МД траектории атом ксенона ($\text{Xe}^{\text{закр}}$) перемещается внутри полости, но не мигрирует в растворитель. Можно заметить, что $\text{Xe}^{\text{закр}}$ сменяет три области в непосредственной близости от центра связывания GLY (Рис.7,8).

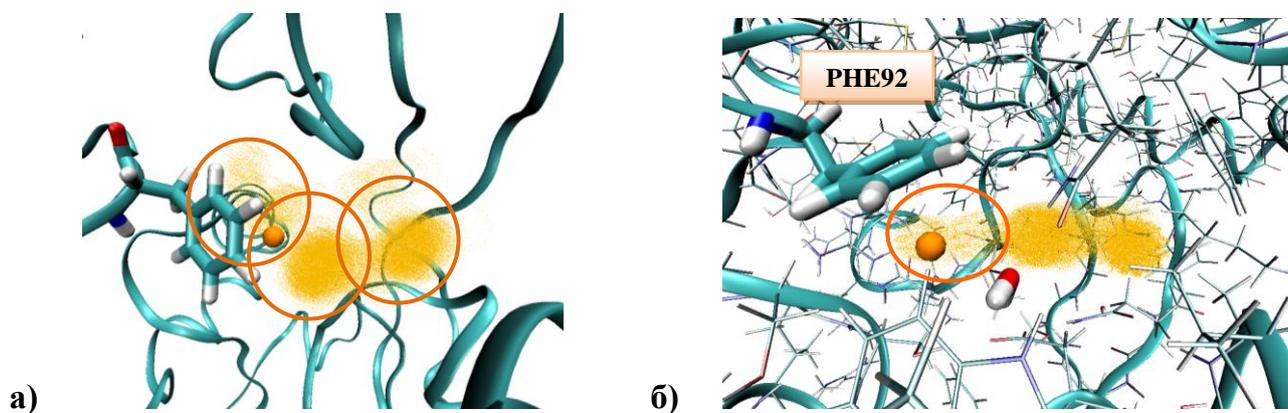


Рис. 8. а) Центры связывания ксенона (выделены окружностями), вид сверху. Атом ксенона изображен сферой оранжевого цвета. Области пребывания ксенона в течение МД траектории обозначены желтым цветом, **б)** Центр связывания $\text{Xe}^{\text{закр}}$ в лиганд-связывающем домене NR1

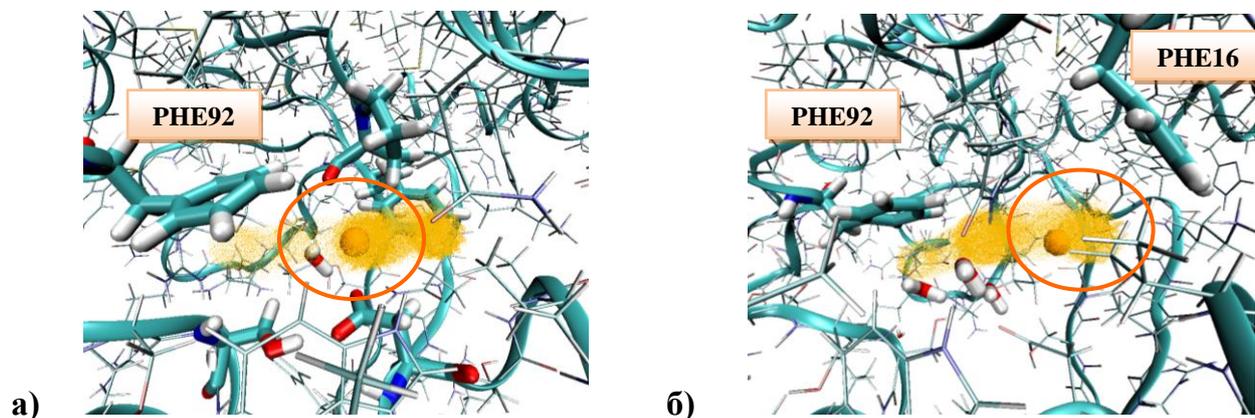


Рис. 9. Два центра связывания $\text{Xe}^{\text{закр}}$ в лиганд-связывающем домене NR1 (а,б)

В центре, показанном на Рис. 8б, ксенон располагается вблизи PHE92 (по типу « π -комплекса»). Второй центр $\text{Xe}^{\text{закр}}$ (Рис. 9а) имеет амфифильный характер, и образован следующими аминокислотными остатками: GLN13, PHE92, PRO124, SER180, TRP223, ASP224, VAL227 и PHE250. В полости есть одна молекула кристаллической воды, которая при моделировании меняется местами с атомом ксенона, смещая его из первого положения (сравн. Рис. 8б и Рис. 9а)

Третий центр образован следующими аминокислотными остатками: GLN13, PHE16, PHE92, PRO124, GLN144, ASP224, ALA226, VAL227, PHE250, а также тремя молекулами воды (Рис. 9 б). Часть времени пребывания в данной области ксенон имеет « π -комплекс»-подобную ориентацию с PHE16.

Анализ полученных траекторий показывает, что ксенон имеет предпочтительный структурный мотив « Xe^+ ароматическая аминокислота». Важно отметить, что на протяжении 50 нс в «закрытой» конформации ксенон не покидает белка, и остается локализованным в области раствора клешни лиганд-связывающего домена.

В *разделе 3.3* приведены расчеты трех комплексов ксенона с исследуемым белком в «закрытой» конформации методом КМ/ММ.

МД расчеты показали, что атом ксенона в «закрытой» конформации на протяжении траектории сменяет три области. Для каждой области была выбрана структура комплекса, соответствующая некоторому кадру из МД траектории для последующей оптимизации. В выбранном кадре атом ксенона располагался примерно в центре региона его флуктуаций. Энергии и силы в КМ подсистеме рассчитывались методом DFT-D2/BNHLYP, выбранным по результатам предварительных расчетов системы «фенол...Xe» (Глава 2). Расчет КМ/ММ проводился с помощью программного пакета NWChem 6.1.1.

Система 1. В КМ подсистему вошли следующие аминокислоты: PHE92, LEU125, THR126, SER180, TRP223, PHE250, атом ксенона и кристаллическая молекула воды

WAT303 всего 76 атомов) (Рис. 10а); ММ подсистема состояла из 10793 атомов. На Рис.10б видно, что ксенон имеет несколько искаженную «π-комплекс»-подобную координацию с PHE92.

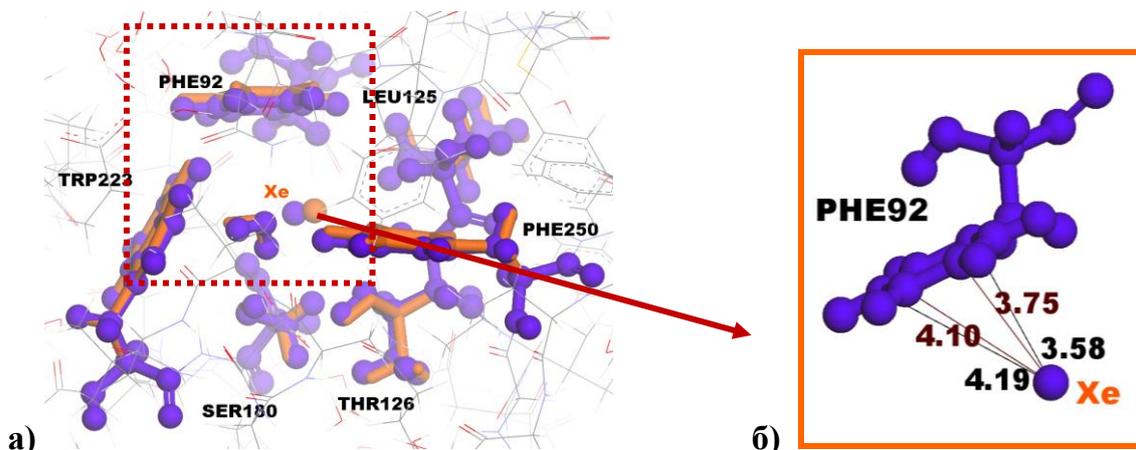


Рис. 10 а) Квантовая подсистема для первого сайта связывания $Xe^{закр}$ в ЛСД NR1. Оранжевым отмечена структура, полученная МД моделированием, фиолетовым – структурой по расчетам КМ/ММ. б) «π-комплекс»-подобная координация $Xe^{закр}$ с PHE92 согласно расчетам КМ/ММ.

Система 2. КМ подсистему (91 атом) составляют: GLN13, PHE92, PRO124, SER180, TRP223, ASP224, VAL227, PHE250, атом ксенона и одна молекула воды (та же, что и в системе 1); в ММ подсистему вошло 10541 атом.

Система 3 (Рис. 11). В КМ подсистему (103 атома) входят GLN13, PHE16, PHE92, PRO124, GLN144, ASP224, ALA226, VAL227, PHE250, атом ксенона и три молекулы воды; ММ подсистема содержала 10544 атома. На Рис.11б видно, что ксенон имеет несколько искаженную «π-комплекс»-подобную координацию с PHE16.

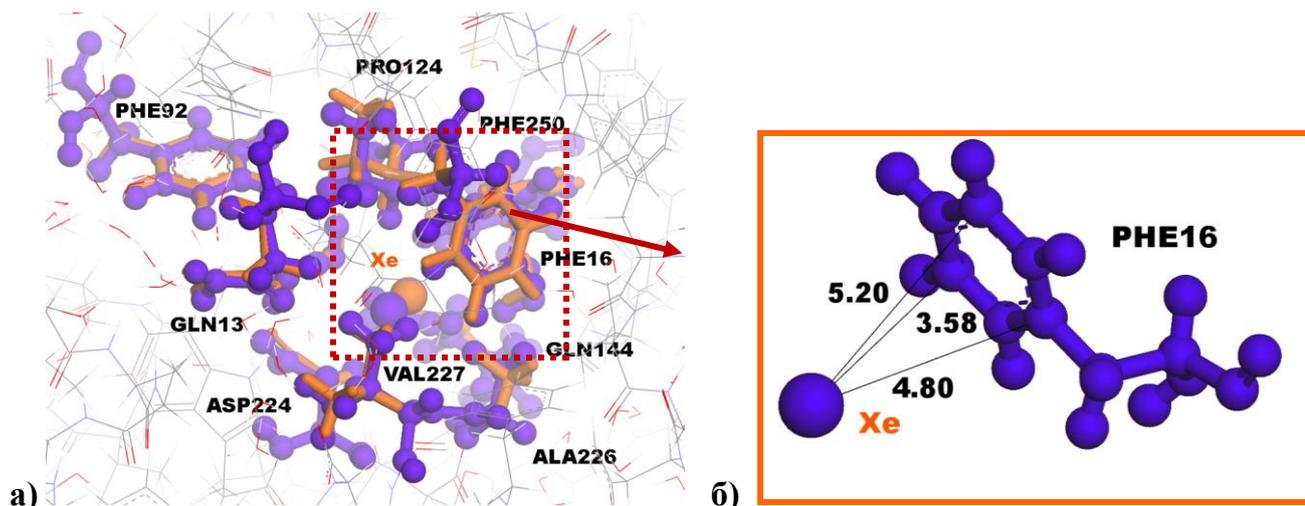


Рис. 11 а) Квантовая подсистема для третьего сайта связывания $Xe^{закр}$ в ЛСД NR1. Оранжевым отмечена структура, полученная МД моделированием, фиолетовым – структурой по расчетам КМ/ММ. б) «π-комплекс»-подобная координация $Xe^{закр}$ с PHE16 согласно расчетам КМ/ММ.

Проведенные расчеты методом КМ/ММ подтверждают, что наблюдаемый мотив «Xe...ароматическая аминокислота» является устойчивым, причем сохраняется координация типа « π -комплекса».

Выводы

1. Показано, что неэмпирический метод квантовой химии MP2/(aug)-cc-pVTZ, позволяющий получить хорошее соответствие расчетных и экспериментальных сдвигов характеристических частот в ИК-спектрах при комплексообразовании, предоставляет надежные реперные данные для комплексов ксенона с органическими молекулами.
2. Установлено, что технику Гримме DFT-D2 с функционалом B3LYP и базисом 6-31 G* можно использовать для моделирования межмолекулярных комплексов ксенона с ароматическими органическими молекулами; данный подход перспективен для моделирования взаимодействия ксенона с компонентами белковых макромолекул.
3. На основании расчетов методами МД и КМ/ММ показано, что ксенон может образовывать устойчивые комплексы с закрытой конформацией NR1-субъединицы NMDA-рецептора. Структурный мотив «Xe+ароматическая аминокислота» является характерным для комплексов ксенона с NR1 субъединицей NMDA-рецептора и может вносить вклад в ингибирующее действие ксенона.

Список публикаций по теме диссертации

1. **Андрійченко Н.Н., Ермилов А.Ю. Применение методов DFT-D для описания дисперсионных взаимодействий в слабосвязанных системах Хе-ароматическая молекула. // Журн. физ. химии. 2013. Т.87. №8. С. 1348-1355.**
2. **Qian Cao, Andriychenko N., Ahola A-E., Domanskaya A., Räsänen M., Ermilov A., Nemukhin A., Khriachtchev L. Interaction of phenol with xenon and nitrogen: Spectroscopic and computational characterization. // J. Chem. Phys. 2012. V. 137. P. 134305.**
3. **Андрійченко Н.Н., Ермилов А.Ю. К проблеме интерпретации ИК-спектров системы «фенол+ксенон» в низкотемпературных инертных матрицах». // Международная конференция молодых ученых по фундаментальным наукам «Ломоносов - 2011». Секция «Химия». Подсекция «Физическая химия I». Москва, 11-15.04.2011. Материалы конференции. Электронный ресурс ISBN 978-5-317-03634-8.**
4. **Андрійченко Н.Н., Ермилов А.Ю. Применение теории функционала электронной**

плотности для описания дисперсионных взаимодействий в слабосвязанных системах «Xe...ароматические молекулы». // XI Международная молодежная конференция «Биохимическая физика», ИБХФ РАН-ВУЗы. Москва, 9-11.11.2011. Материалы конференции. С. 37-41.

5. Андрійченко Н.Н., Ермилов А.Ю., Немухин А.В. Применение теории функционала электронной плотности для описания дисперсионных взаимодействий в слабосвязанных системах «Xe...ароматические молекулы». // V молодежная конференция ИОХ РАН. Москва, 28-29.03.12. Материалы конференции. С. 65-66.

6. Andrijchenko N.N., Ermilov A.U., Nemukhin A.V. Application of density functional theory to the description of dispersion interactions in weak-bonded systems “xenon+aromatic molecule”. // 27th Winter School in Theoretical Chemistry. Finland, Helsinki, 17-20.12 2011. The book of abstracts. P.5.

7. Andrijchenko N.N., Ermilov A.U., Nemukhin A.V. Application of density functional theory to the description of dispersion interactions in weak-bonded systems “xenon+aromatic molecule”. // 13th V.A. Fock Meeting on Quantum and Computational Chemistry. Kazakhstan, Astana, 23-27.04 2012. Book of abstracts. P.6.

8. Андрійченко Н.Н., Немухин А.В. Моделирование межмолекулярных комплексов ксенона с лигандсвязывающим доменом NR1-субъединицы NMDA-рецептора. // XIII Международная молодежная конференция «Биохимическая физика», ИБХФ РАН-ВУЗы. Москва, 28-30.10.2013. Материалы конференции. С. 14-17.