

Модификация бутирилхолинэстеразы человека для расщепления фосфорорганических соединений

Научный руководитель – Головин Андрей Викторович

Злобин А.С.¹, Залевский А.О.¹

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

Бутирилхолинэстераза (БухЭ) - фермент, обладающий широкой субстратной специфичностью [1], что позволяет рассматривать его как матрицу для поиска мутантов, способных эффективно гидролизовать различные соединения. Среди этих соединений, такие социально значимые вещества как кокаин [2] и различные фосфорорганические токсины - пестициды [3,4] и нервнопаралитические яды [4].

Однако процесс модификации субстратной специфичности и каталитической активности фермента невозможен без детального понимания механизма реакции. Перспективным подходом для моделирования ферментативных реакций является гибридное КМ/ММ моделирование. Однако на текущий момент достоверное описание механизма гидролиза фосфорорганических соединений бутирилхолинэстеразой отсутствует.

Целью данной работы является определение механизма взаимодействия БухЭ с модельным фосфорорганическим соединением и создание виртуальной библиотеки мутантных вариантов с улучшенными параметрами реакции путем массированного вычислительного скрининга. Для решения этой задачи использован целый арсенал методов молекулярного моделирования, включающий докинг Autodock Vina, КМ/ММ симуляцию с использованием техник улучшения сканирования фазового пространства в пакете Gromacs+DFTB, генерацию библиотеки мутантов с помощью Rosetta и набора вспомогательных инструментов на языке Python для анализа данных.

В качестве модельного соединения Эхотиофат является менее токсичным аналогом боевых отравляющих веществ V-серии, а получающееся в ходе реакции токсина с остатком серина активного центра БухЭ ковалентное серин-диэтилфосфатное производное является структурно одинаковым для реакций с фосфорорганическими пестицидами параоксоном и паратионом.

В результате нам удалось без априорного знания восстановить механизм протекания первой стадии реакции - образование ковалентного интермедиата эхотиофата и бутирилхолинэстеразы - а также второй стадии - его гидролиз молекулой воды (реактивация). На основании полученного механизма сконструированы и протестированы на нескольких уровнях теории *in silico* мутанты, влияющие на различные стадии реакции. В частности удалось предложить механизм, объясняющий реакционную способность известного из литературы мутантного варианта G117H, способного к реактивации; также была предложена серия мутантных вариантов со схожей активностью *in silico*. Помимо этого предложены варианты, стимулирующие протекание стадии ацилирования.

Таким образом, разработанные подходы являются мощным подходом для модификации БухЭ и могут быть перенесены на другие ферментные системы для оптимизации широкого круга задач.

Данная работа была поддержана грантом РФФ №16-34-01362. Все вычисления проводились на суперкомпьютерах «Ломоносов» и «Ломоносов-2» МГУ им. М. В. Ломоносова.