dNTPases - Project #429
Исследование возможных механизмов гидролиза ГТФазы MnmE

29.05.2021 11:18 - Evgenia Elizarova

Status:	New	**Start date:**	29.05.2021
Priority:	Normal	**Due date:**	01.07.2021
Assignee:	Evgenia Elizarova	**% Done:**	0%
Category:			
Target version:			

Description

Есть 2 варианта как может протекать механизм гидролиза в mnme.

1) заключается в том, что в результате цепочки переноса протонов, где акцептором выступает глуматамат, формируется нуклеофил, атакующий гамма фосфат

2) есть предположение, что реализуется solvent-assistent механизм. При котором перенос протона наблюдается между молекулами воды. Предположительно в механизме участвует аспартат walker A мотива, координирующий молекулу воды. Через нее также имеется связь с ионом магния.
Вопрос №1 - тут механизм в том, что сначала формируется цепочка из молекул воды, и за счет изменения в координационной сфере магния происходит перенос протона? Непонятно а как нуклеофил там стабилизуется или что с ним происходит? Ведь мы видим переходное состояние в кристалле...

Эта гипотеза была выдвинута исходя из двух положений. Первое - глутамат, выступающий в качестве основания формирует ионную связь с аргинином, и чтобы быть акцептором необходимо разорвать данную связь. Второе - данный глутамат не является консервативным в классе TRAFAC, в то время как аспартат мотива таковым является.

Вопрос - как можно проверить какой механизм реализуется? Попробовать посчитать и тот и другой и оценить барьеры реакции, соотнести с данными исследований.

Первый механизм мы увидели.
Надо будет таки посчитать до сходимости малую систему и потом большую.

Для второго механизма. Важно увидеть - при формировании активированного комплекса наблюдается ли формирование цепочки из молекул воды? (вопрос №2)
Для этого смотрим, что происходит с системой не активированной без калия. Увидели - петля уплыла.
Вот дальше я потеряла связь((
Нам надо получить стартовое состояние - активированного фермента.

Для этого мы хотим:
1) вернуть петлю - расчет метадинамики по пути с переменной - путь из набора расстояний? (вопрос №3)
2) далее добавить калий в систему, полученную в результате расчета 1) (вопрос №4)

А как мы сам механизм хотим попробовать увидеть? Запустить эксплорейшн из состояния, которое получится в результате 1+2 ? (вопрос №5-6)
Ведь вроде для механизма нам как минимум нужна цепь из молекул воды, которая предположительно формируется до закрытия петли. И как бы механизм начинается до стабилизации петли, что как-то нереально. Или мы предполагаем, что при закрытии все же формируется цепь, а то что мы видим в кристалле - артефакт?

В итоге я не до конца понимаю, какой расчет нам что тут скажет, а точнее какой расчет нам может потенциально показать второй механизм.

как вариант:

метадинамика на разрыв и образование связи из конформации с возвращенной на место петлей + калий
есть еще мысль - у нас есть система без калия с уплывшей петлей. Из нее мы хотели посчитать барьер по 1му механизму. А что есть посмотреть какой потенциально механизм может быть реализован из такого состояния? метадинамика на разрыв и образование связи. имеет ли такой расчет смысл. Может есть смысл в такое состояние (уплывшая петля) добавить калий и из него запустить метадинамику на разрыв, образование связи.