

CONTEXTE

La modélisation de réactions enzymatiques a suscité de nombreux travaux théoriques. Les méthodes mixtes QM/MM permettent la description quantique d'une partie du système qui se limite en général à quelques résidus dans le site actif et quelques atomes du substrat. Le reste du système est décrit par un champ de force classique. Cette approximation peut poser des difficultés fondamentales et limiter considérablement la précision des résultats. Le problème se pose, pour des raisons différentes, au niveau des trois étapes qui constituent le protocole habituel du théoricien dans ce domaine : 1) analyse structurale à partir des données cristallographiques de l'enzyme, 2) positionnement du substrat ou "docking" et 3) mécanisme de la réaction

OBJECTIFS

Ce projet vise le développement d'une suite de logiciels de modélisation quantique en chimie du vivant et notamment des mécanismes enzymatiques. La partie appliquée de ce projet porte sur l'étude du mode de fonctionnement des enzymes Méthionine sulfoxyde réductases (Msr).

1) *Développement logiciel* : vers une description quantique des enzymes et des processus enzymatiques

Caractéristiques principales du code : a) traitement au niveau quantique d'une grosse partie du système enzyme - substrat, voire de tout le système si cela s'avère nécessaire, b) utilisation d'algorithmes quantiques à croissance linéaire (basés sur les logiciels déjà écrits à Nancy et Bordeaux, QM/MM et QCPP), c) codes conçus pour une utilisation optimale (mais pas exclusive) sur architecture informatique parallèle

b) *Mécanisme catalytique des Msr*

Les Msr sont des enzymes de réparation des protéines oxydées sur leur résidu méthionine. Le mécanisme catalytique est actuellement étudié expérimentalement par l'équipe d'enzymologie moléculaire (MAEM) à Nancy. Dans ce projet, l'étude du mécanisme de réaction sera entreprise par une approche théorique et expérimentale.

PROJET

Développer un code de simulation en dynamique moléculaire et un code de docking utilisant un champ de force QM/MM à croissance linéaire. Appliquer cette approche à l'étude du mécanisme enzymatique des Méthionine sulfoxyde réductases.

RESULTATS

- Reparamétrisation des termes core-core dans la méthode PM3 [1] et simulation de l'eau liquide à ce niveau utilisant une approche à croissance linéaire [2]
- Mise au point d'un algorithme génétique de docking
- Modélisation du mécanisme de réduction d'un sulfoxyde par un thiol [3]
- Modélisation du site actif de MsrA par une approche QM/MM
- Les études expérimentales [4-6] de relations structure-fonction sur la MsrA de *N. meningitidis*, ont montré que : 1) les résidus invariants E94, Y82 et Y134 jouent un rôle clef dans la catalyse de l'étape réductase, 2) les résidus invariants F52, W53, D129, Y197 sont impliqués dans la reconnaissance du substrat. Des études cinétiques sont en cours en vue de valider la nature des résidus catalytiques et ce dans le contexte de leur environnement tridimensionnel.

CALENDRIER

2004	Septembre, démarrage du projet
2004	15 Octobre, réunion des équipes CBT et MAEM (Nancy)
2005	25 Janvier, réunion générale (Nancy)
2005	10 Juin, Communication à la 5 ^{ème} Rencontre des chimistes théoriciens du Grand Est, Reims
2005	Novembre, Conférence invitée, 14 th CCTCC, Jackson, USA.

LABORATOIRES IMPLIQUES

- *Equipe de Chimie et Biochimie Théoriques (CBT)*, UMR CNRS - Université Henri Poincaré - Nancy 1, No. 7565, Vandoeuvre-lès-Nancy
- *Maturation des ARN et Enzymologie Moléculaire (MAEM)*, UMR CNRS - Université Henri Poincaré - Nancy I, No. 7567, Vandoeuvre-lès-Nancy
- *Laboratoire Bordelais de Recherche en Informatique (LaBri)*, Unité Mixte de Recherche CNRS - Université Bordeaux 1 - ENSEIRB No. 5800, Talence

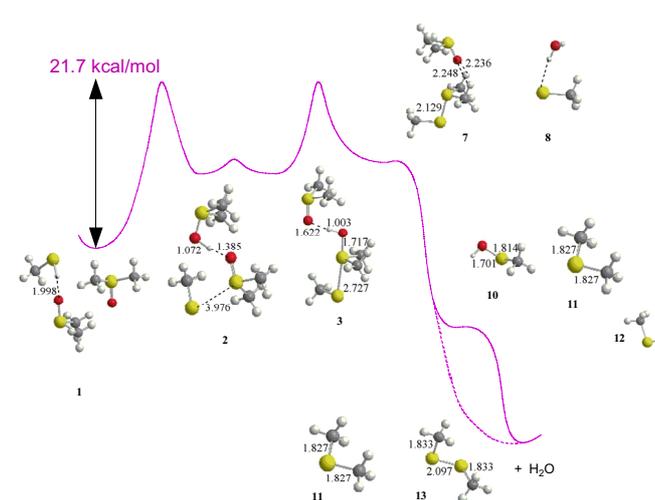
MOTS CLES

Modélisation moléculaire, méthodes mixtes QM/MM, méthodes quantiques à croissance linéaire, algorithmes génétiques, catalyse enzymatique, docking, Méthionine sulfoxyde réductases

PUBLICATIONS PRINCIPALES

- [1] W. Harb, M. I. Bernal-Uruchurtu and M.F. Ruiz-López: An improved semi-empirical method for hydrated systems, *Theoret. Chem. Acc.* 112, 204–216 2004
- [2] G. Monard, M. I. Bernal-Uruchurtu, A. van der Vaart, K. M. Merz Jr. and M. F. Ruiz-Lopez: Simulation of Liquid Water Using Semiempirical Hamiltonians and the Divide and Conquer Approach, *J. Phys. Chem. A.*, 109, 3425–3432, 2005
- [3] B. Balta, G. Monard, M.F. Ruiz-López, M. Antoine, A. Gand, S. Boschi-Muller and G. Branlant: A theoretical study of the reduction mechanism of sulfoxides by thiols, *En preparation.*
- [4] M. Antoine, S. Boschi-Muller and G. Branlant: Kinetic characterization of the chemical steps involved in the catalytic mechanism of methionine sulfoxide reductase A from *Neisseria meningitidis*: *J. Biol. Chem.* 278, 45352–45357, 2003
- [5] A. Olry, S. Boschi-Muller, G. Branlant: Kinetic Characterization of the Catalytic Mechanism of Methionine Sulfoxide Reductase B from *Neisseria meningitidis*, *Biochemistry*; 43, 11616–11622, 2004
- [6] S. Boschi-Muller, A. Olry, M. Antoine, and Guy Branlant: The enzymology and biochemistry of methionine sulfoxide reductases, *BBA - Proteins & Proteomics*, 1703: 231–238, 2005, *Revue*

Mécanisme de réaction, système modèle



La Figure illustre le mécanisme prédit pour la réduction d'un sulfoxyde par un thiol: $\text{CH}_3\text{SH} + \text{DMSO}$ dans le DMSO (distances en Å). Le rôle de l'enzyme sur ce mécanisme fait l'objet actuellement d'une étude dans l'approche mixte QM/MM. Les calculs ont été faits au niveau de théorie MP2/6-311+G**/B3LYP/6-311G**. On considère deux molécules explicites de DMSO, le reste du solvant est traité par un modèle de continuum. Etapes principales: a) Ionisation du système par transfert de proton du thiol vers le DMSO, formation, par recombinaison des ions, d'un intermédiaire de réaction de type sulfure, b) Protonation de cet intermédiaire pour former un cation sulfonium et un anion thiolate, avec perte d'une molécule d'eau. Ces ions réagissent alors de façon extrêmement rapide pour générer soit un acide sulfénique soit un disulfure. Le second est le produit le plus stable et celui qui est observé expérimentalement en solution de DMSO. Le premier, qui peut se former uniquement par l'attaque d'une molécule d'eau, est l'intermédiaire observé expérimentalement dans la réaction enzymatique.

