

Tính năng lượng tự do gắn kết giữa LUSH và etanol bằng phương pháp động lực phân tử

Nguyễn Hòa Mi*, Đặng Ứng Vận

Trung tâm Ứng dụng tin trong hoá học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

Ngày nhận bài 25/12/2015, ngày chuyển phản biện 31/12/2015, ngày nhận phản biện 21/1/2016, ngày chấp nhận đăng 25/3/2016

Bài báo công bố các tính toán năng lượng tự do liên kết giữa etanol và protein LUSH trong dung dịch nước bằng phương pháp động lực phân tử với phần mềm GROMACS4.0 theo quy trình tính của nhóm Dill. Các tính toán năng lượng tự do gắn kết giữa etanol và LUSH sử dụng mô hình tương tác của Lennard-Jones, trường lực OPLS-AA và mô hình của nước là TIP3P. Các giá trị năng lượng tự do hydrat hóa etanol được so sánh với thực nghiệm.

Từ khóa: etanol, phương pháp động lực phân tử, protein LUSH.

Chỉ số phân loại 1.4

Binding free - energy calculation of ethanol on protein LUSH in water by molecular dynamics

Summary

The paper deals with molecular dynamics for calculation of binding free - energy of ethanol on protein LUSH in water by GROMACS software and following the Dillgroup calculation procedure. The authors calculated the free energy for turning off the Lennard-Jones interactions of ethanol represented with the OPLS-AA force field in TIP3P water model. They achieved a high degree of statistical precision in molecular dynamic simulations, and by thermodynamic intergration method, the deviation of calculated free energy of ethanol hydration was about 0.02-0.60 kcal/mol from the experimental hydration free energy measurements. The calculated binding free energy of ethanol on protein LUSH in water is in a reasonable correspondence with experimental data.

Keywords: etanol, molecular dynamics, protein LUSH.

Classification number 1.4

Mở đầu

Tính toán năng lượng tự do là một trong những việc khó nhất và tốn kém thời gian nhất của động lực phân tử. Tuy vậy, về nguyên tắc, phương pháp này cho kết quả khá phù hợp với thực nghiệm và có thể dự báo chính xác năng lượng tự do của các quá trình hoá lý không kèm theo việc cắt đứt và hình thành các liên kết cộng hoá trị, ví dụ như quá trình solvate hoá, quá trình tạo phức Michaelis giữa phối tử và protein... Mặt khác, những thông tin chính xác về năng lượng tự do gắn kết cho phép chúng ta đi sâu tìm hiểu về cơ chế phản ứng enzyme, một khâu quan trọng trong các quá trình hoá sinh trong cơ thể sống.

Trong bài báo [1], chúng tôi đã trình bày những kết quả tính toán năng lượng tự do hydrat hoá của một số chất tương tự axit amin mạch biên bằng phần mềm GROMACS và theo quy trình tính của nhóm Dill [2, 3]. Bài báo này trình bày những ứng dụng của phương pháp nghiên cứu sự gắn kết giữa etanol và LUSH. Cho đến nay, người ta đã thừa nhận rộng rãi rằng, nhiều hiệu ứng sinh lý của việc nghiện rượu là kết quả trực tiếp của sự liên kết với các vị trí đặc trưng trong các protein neuron, chẳng hạn như các kênh ion hoặc các cấu tử khác của các tầng tín hiệu neuron. Nói chung, việc gắn kết với các đối tượng này xảy ra trong các túi đầy nước và dẫn tới những biến đổi trong cấu trúc và động lực học của protein. Trong khi đó, tương tác chính xác cần thiết như tính nhạy cảm với ancol của một số protein riêng vẫn còn bất định. LUSH là một protein gắn hương thơm (odorant binding protein) lấy từ *Drosophila melanogaster*; được sử dụng

*Tác giả liên hệ: Email: minguyenhhoa@gmail.com

như một mô hình gắn kết etanol - protein [4-6]. LUSH là protein phi enzym cần thiết để đáp ứng cả về cách tương tác và về điện sinh lý học của các neuron khứu giác đối với các rượu mạch thẳng và ngắn [7]. Những nghiên cứu gần đây của Thode và cộng sự [8] đã khảo sát hiệu ứng của việc thay thế axit amin đặc trưng đến việc gắn kết protein. Những hiệu ứng này được xem xét dựa trên sự phối hợp các phương pháp động lực phân tử, nhiễu xạ tinh thể tia X phổ huỳnh quang và trải nhiệt (thermal unfolding). Tuy vậy, những tính toán động lực phân tử mới chỉ dừng ở việc nghiên cứu cấu trúc cân bằng. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày những kết quả nghiên cứu động lực phân tử một số tính chất năng lượng của hệ etanol - LUSH. Cơ sở lý thuyết của phương pháp tính năng lượng tự do gắn kết etanol - protein bằng động lực phân tử được trình bày trong phần cơ sở lý thuyết và phương pháp tính dựa trên phiên bản 4.0 của GROMACS. Phần cuối của bài báo dành cho kết quả tính và thảo luận đối với quá trình gắn kết etanol và LUSH.

Cơ sở lý thuyết

Việc tính toán năng lượng tự do được thực hiện dựa trên những nguyên lý của cơ học thống kê [4]. Đại lượng quan trọng nhất mà bài báo này quan tâm là năng lượng tự do A. Biến thiên năng lượng tự do ΔA từ trạng thái Z_0 đến trạng thái Z_1 gắn với năng lượng cấu hình E_0 và E_1 được tính theo phương pháp khử ghép đôi (double decoupling method) với thuật toán tích phân nhiệt động (thermodynamic integration - TI) xác định bởi hệ thức:

$$\Delta A = \int_0^1 \frac{\partial A(\lambda)}{\partial \lambda} d\lambda \tag{1}$$

trong đó:

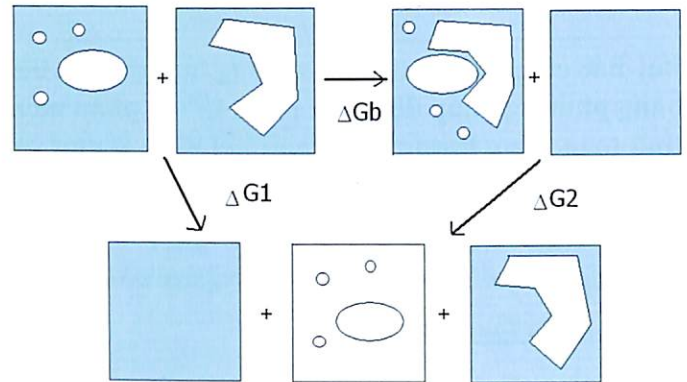
$$\frac{\partial A(\lambda)}{\partial \lambda} = \left\langle \frac{\partial E(\mathbf{X}, \lambda)}{\partial \lambda} \right\rangle_\lambda \tag{2}$$

Ở đây, dấu ngoặc nhọn ký hiệu giá trị trung bình tập hợp theo hàm xác suất. Trong thực tế tính toán, tích phân được thay bằng tổng theo tất cả các khoảng xác định của λ . Việc mô phỏng động lực phân tử được tính với các giá trị khác nhau của λ từ 0 đến 1 với trung bình tập hợp được xác định ở mỗi giá trị λ .

Năng lượng tự do gắn kết phối tử - protein được tính theo chu trình nhiệt động học (hình 1) và biểu thức:

$$\Delta G_b = \Delta G_1 - \Delta G_2 \tag{3}$$

trong đó ΔG_1 và ΔG_2 là các biến thiên năng lượng tự do liên quan với việc khử ghép đôi phối tử (cùng với các ion trái dấu - counter - ion) khỏi dung môi (không có protein) và với việc khử ghép đôi phối tử (cùng với các ion trái dấu) khỏi dung môi và protein.



Hình 1: sơ đồ nguyên tắc tính toán năng lượng tự do gắn kết phối tử lên protein bằng phương pháp động lực phân tử

Phương pháp tính

Tính toán biến thiên năng lượng tự do bằng động lực phân tử được thực hiện trên phần mềm GROMACS. Quy trình tính bao gồm các bước sau đây xuất phát từ trạng thái 0 với $\lambda=0$:

1. Tối ưu cấu hình hệ mô phỏng thoát tiên bằng 5.000 bước thuật toán L-BFGS [9] sau đó bằng 5.000 bước thuật toán đường dốc nhất (steepest decent).
 2. Đưa hệ về cân bằng nhiệt và cực tiểu hoá được thực hiện tiếp tục bằng cách tính 5.000 bước động lực Langevin (ngẫu nhiên) ở thể tích không đổi. Khoảng rộng của bước mô phỏng là 2 fs. Khoảng thời gian để căn chỉnh nhiệt độ (tau_t) là 0,1 ps, thuật toán LINCS [10] được sử dụng để củng cố các liên kết hydrogen theo các tham số mặc định.
 3. Tính 50.000 bước động lực phân tử ở áp suất không đổi để tiếp tục đưa hệ về cân bằng nhiệt. Điều chỉnh Berendsen được sử dụng với tau_p=0,5.
 4. Tính động lực phân tử 2.500.000 bước (tương ứng với 5 ns) ở thể tích không đổi theo cách tương tự với bước 2 để thu được các giá trị trung bình (bước sản sinh số liệu - production).
 5. Tăng λ và quay lại bước 1 nếu chưa đạt tới trạng thái 1.
- Trong số các tham số GROMACS được dùng trong quá trình tính toán cần lưu ý: thừa số cắt khoảng tác

dụng xa của tương tác L-J (sc_alpha) là 0,5, tương tác L-J được cắt ở 9A, tương tác Coulomb gần được cắt ở 9A và sử dụng mẫu PME cho phần khoảng tác dụng xa, danh mục lân cận cũng được tính với cùng khoảng cách như lực Coulomb gần (rlist=rcoulomb=1,0 nm). Tính toán được thực hiện với 16 giá trị của λ trong khoảng 0÷1, cụ thể là $\lambda=(0,0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,65; 0,7; 0,75; 0,8; 0,85; 0,9; 0,95$ và 1,00).

Tất cả các câu lệnh cần thiết cho cả 16 giá trị của λ được ghi trong tệp RUN.sh. Dữ liệu tính toán được xử lý theo cả hai phương pháp tích phân nhiệt động (thermodynamic integration - TI) và nhiễu loạn (perturbation method - PM) trên phần mềm MATLAB. Về cơ bản, sự khác biệt năng lượng tự do giữa hai trạng thái 0 và 1 là tích phân của kỳ vọng của $dV/d\lambda$. Vì thế trước hết cần có giá trị trung bình của $dV/d\lambda$ ở mỗi giá trị của λ và tích phân bằng số các giá trị này trong khoảng λ từ 0 đến 1 bằng phương pháp hình thang. Theo phương pháp PM cần sử dụng các kỳ vọng của thế năng, sau đó tính tổng biến thiên năng lượng tự do theo [11].

Trạng thái 0 của các hệ được chọn là trạng thái có năng lượng cực tiểu sau các bước tính 1, 2 và được đưa về cân bằng nhiệt ở bước tính 3. Trạng thái 1 tương ứng với sự biến mất của solvate hoá được đạt tới bằng cách giảm dần hàm thế tương tác giữa phân tử và dung môi nước tới 0. GROMACS đã tham số hoá các tương tác tĩnh điện và Van der Waals giữa phân tử và môi trường thông qua λ sao cho khi $\lambda=0$ hệ ở trong trạng thái hydrat hoá đầy đủ và khi $\lambda=1$ các tương tác này biến mất ứng với trạng thái phân tử ảo. Thế năng tương tác phi liên kết phụ thuộc λ có dạng:

$$U_{s-w}(\lambda_c, \lambda_{LJ}) = \sum_{ij} \lambda_c \frac{q_i q_j}{r_{ij}} + \lambda_{LJ} \epsilon_{ij} \times \left(\frac{1}{[\alpha_{LJ}(1-\lambda_{LJ}) + (r_{ij}/\sigma_{ij})^\alpha]^\alpha} - \frac{1}{\alpha_{LJ}(1-\lambda_{LJ}) + (r_{ij}/\sigma_{ij})^\alpha} \right) \quad (4)$$

trong đó tổng i lấy theo tất cả các nguyên tử của chất tan (S) và tổng j lấy theo tất cả các nguyên tử của dung môi (W). Phương trình (4) bao gồm số hạng Coulomb với sự phụ thuộc tuyến tính vào λ_c và số hạng Lennard-Jones có chứa hai tham số α_{LJ} và λ_{LJ} ; $\alpha=0,5$. Trạng thái 0 (solvate hoá đầy đủ) ứng với λ_c và $\lambda_{LJ}=1$. Trạng thái 1 (khử hoàn toàn solvate hoá) ứng với λ_c và $\lambda_{LJ}=0$.

Kết quả và thảo luận

Tính toán được thực hiện trước tiên với năng lượng tự do hydrat hoá của etanol. Xuất phát từ bản chất nhiễu loạn của phương pháp tính, để tăng độ chính

xác của kết quả, việc khử ghép đôi etanol - nước được chia thành 2 bước. Bước 1 khử tương tác tĩnh điện giữa etanol và nước (điều này được thể hiện trong tệp topology của GROMACS, điện tích của tất cả các nguyên tử của trạng thái $\lambda=1$ được đặt bằng 0. Sau đó, tại bước hai - khử tương tác Lennard-Jones, tất cả các nguyên tử của trạng thái $\lambda=0$ và $\lambda=1$ được đặt bằng 0 và tất cả các nguyên tử của etanol ở trạng thái $\lambda=1$ được đặt bằng DUM - nguyên tử ảo). Năng lượng tự do hydrat hoá là tổng của các biến thiên năng lượng tự do của hai bước này.

Hộp mô phỏng chứa 1 phân tử etanol và 344 phân tử nước. Sau 16 lần tính mô phỏng mỗi lần 2.500.000 bước với các giá trị λ khác nhau, GROMACS cho ra một khối lượng dữ liệu OUTPUT khổng lồ (2,2 GB). Thời gian tính toán cho một bộ số liệu này là 70 giờ trên PC với 2 GB RAM và DualCore. Bảng 1 trình bày năng lượng tương tác trung bình thu được ở trạng thái 0 của hệ etanol - nước. Hai dữ liệu quan trọng nhất đối với việc tính năng lượng tự do là thế năng và biến thiên thế năng theo λ ($dV/d\lambda$). Sự thăng giáng trong tiến trình mô phỏng của hai đại lượng này ở một vài giá trị của λ được trình bày trong hình 2. Dễ thấy rằng, sự thăng giáng là khá đều đặn trong suốt 5.000 ps. Độ trôi (drift) của các giá trị năng lượng đủ nhỏ, đảm bảo độ tin cậy thống kê của kết quả mô phỏng động lực phân tử. Tương tác L-J gần mang dấu dương đã xác nhận sự tồn tại những cặp nguyên tử giữa nước và etanol có khoảng cách nhỏ hơn σ (điểm 0 của hàm thế L-J).

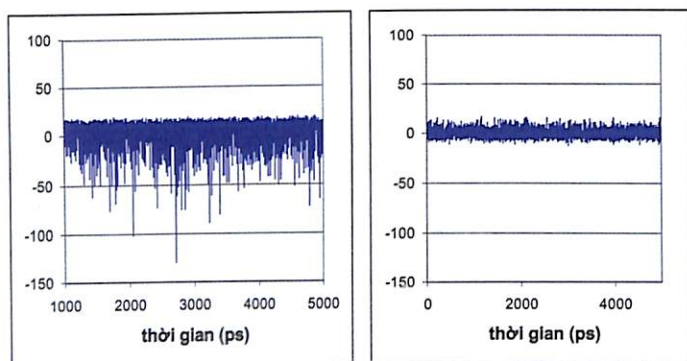
Bảng 1: năng lượng tương tác (KJ/mol) ở trạng thái $\lambda=0$ của etanol trong nước

Năng lượng	Trung bình	RMSD	Thăng giáng	Độ trôi (Drift)
LJ (lực gần)	3146,42	138,075	138,075	0,0000718269
Coulomb (lực gần)	-17309,5	208,456	208,456	0,000307968
Coulomb (lực xa)	-1787,88	9,75253	9,75249	0,0000194731
Thế năng	-16051,9	121,392	121,391	0,000318668
$dV_{pot}/\lambda d\lambda$	-3,79705	31,5991	31,5967	0,000268089

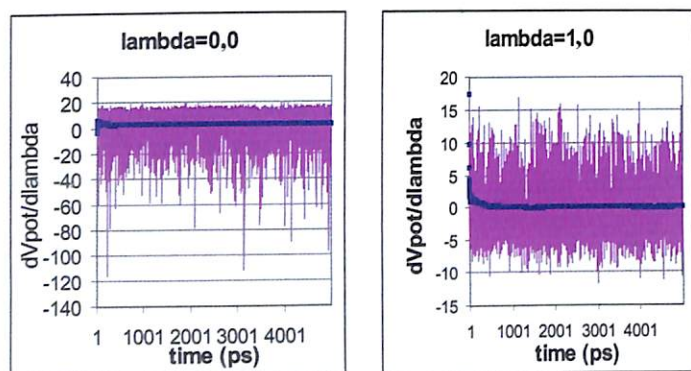
Bảng 2: $dV_{pot}/d\lambda$ (KJ/mol) và thế năng của hệ etanol - nước ở các giá trị λ khác nhau (bước khử tương tác tĩnh điện)

λ	0,0	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6
$dV_{pot}/d\lambda$	-3,7970	-2,9554	-5,3278	-6,8743	-8,6754	-5,6012	0,1156	6,6526
Thế năng	-16051,	-15976	-16020	-15998	-16024	-15992	-16016,7	-16002
λ	0,65	0,7	0,75	0,8	0,85	0,9	0,95	1,0
$dV_{pot}/d\lambda$	8,6721	10,226	11,7527	9,52544	10,625	9,71036	7,90429	6,8132
Thế năng	-15989	-16020	-16032,2	-15,974	-16010	-16011,1	-15982,3	-15978,7

Tích phân $\langle dV_{pot}/d\lambda \rangle$ theo λ cho biến thiên năng lượng tự do tại bước khử tương tác tĩnh điện là 1,3488 KJ/mol và tại bước khử Lennard-Jones là 19,8125 KJ/mol so với giá trị năng lượng tự do hydrat hoá thực nghiệm của etanol là 4,88 Kcal/mol (20,43 KJ/mol) 9,1 là khá phù hợp.



Hình 2: Sự thăng giáng của $dV_{pot}/d\lambda$ (KJ/mol) trong quá trình mô phỏng ở $\lambda=0$ (A) và 1 (B) của hệ etanol - nước



Hình 3: $dV_{pot}/d\lambda$ (màu ghi) trong tiến trình mô phỏng động lực phân tử. Giá trị trung bình dự báo (màu đen) nhận được từ kỹ thuật lọc Kalman

Sự phức tạp trong tương tác phối tử - protein ảnh hưởng rõ rệt đến sự hội tụ của $\langle dV_{pot}/d\lambda \rangle$. Ngay cả ở 5.000 ps thì trong một số trường hợp cụ thể giá trị trung bình này vẫn tăng đều đặn, không thể hiện rõ xu thế đạt tới giá trị cân bằng. Điều này chứng tỏ rằng, thời gian mô phỏng 5 ns là không đủ để có được giá trị tin cậy của $\langle dV_{pot}/d\lambda \rangle$. Việc kéo dài thời gian mô phỏng sẽ dẫn đến sự tốn kém về chi phí. Hầu hết các số liệu $\langle dV_{pot}/d\lambda \rangle$ dự báo đều hội tụ ở 5 ns. Hình 3 so sánh một số trường hợp cụ thể giữa giá trị trung bình và giá trị dự báo. Kết quả tính được trình bày trong bảng 2. Tích phân $\langle dV_{pot}/d\lambda \rangle$ theo λ cho giá trị năng lượng tự do của quá trình khử ghép đôi etanol khỏi protein LUSH và nước là 12,2 Kcal/mol. Thay thế giá trị của năng lượng tự do của quá trình khử ghép đôi etanol khỏi protein LUSH và nước và năng lượng tự do hydrat hoá của etanol vào phương trình (3) cho năng lượng tự do gắn kết etanol - protein LUSH là -8,7

Kcal/mol. So sánh với giá trị thực nghiệm 8,0 Kcal/mol [8, 11, 12] cho thấy sự phù hợp là có thể chấp nhận được. Kết quả $dV_{pot}/d\lambda$ (KJ/mol) và thế năng của hệ etanol-LUSH - nước được chỉ ra trong bảng 3.

Bảng 3: $dV_{pot}/d\lambda$ (KJ/mol) và thế năng của hệ etanol - LUSH-nước (bước khử tương tác tĩnh điện)

λ	0,0	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6
$dV_{pot}/d\lambda$	4,05575	3,86363	3,83803	1,43031	-0,17674	-3,88264	-10,359	-18,8767
Thế năng	-9623,5	-9618,5	-9559,89	-9620,3	-9603,54	-9627,94	-9653,0	-9621,48
λ	0,65	0,7	0,75	0,8	0,85	0,9	0,95	1,0
$dV_{pot}/d\lambda$	-25,810	-31,647	-30,7597	-24,664	-16,9848	-10,6630	-5,0654	0,040086
Thế năng	-9608,2	-9649,4	-9669,23	-9634,2	-9613,73	-9606,28	-9673,4	-9586,43

Lời cảm ơn

Tập thể tác giả trân trọng cảm ơn sự hỗ trợ của Quỹ Phát triển KH&CN quốc gia (NAFOSTED) thông qua đề tài mã số 104.06-2013.68.

Tài liệu tham khảo

- [1] Dang Ung Van, Nguyen Hoa Mi (2009), *Journal of Chemistry*, **47**(6), pp.709-715.
- [2] http://www.dillgroup.ucsf.edu/group/wiki/index.php/Free_Energy:_Tutorial
- [3] M.R. Shirts and V.S. Pande J. (2005), *Chem. Phys*, **122**, pp.134508(1)-134508(13).
- [4] C.D. Christ, A.E. Mark, W.F. van Gunsteren (2010), *J. Comput. Chem*, **31**, pp.1569-1582.
- [5] A. Pohorille, C. Jarzynski, C. Chipot (2010), *J. Phys. Chem. B*, **114**, pp.10235-10253.
- [6] A. Villa and A.E. Mark (2002), *J. Comput. Chem*, **23**, pp.548-553.
- [7] P. Xu, R. Atkinson, D.N.M. Jones, D.P. Smith (2005), *Neuron*, **45**, pp.193-200.
- [8] A.B. Thode, S.W. Kruse, J.C. Nix, D.N.M. Jones (2008), *J.Mol. Biol*, **376**, pp.1360-1376.
- [9] <http://search.cpan.org/~laye/Algorithm-LBFGS-0.16/lib/Algorithm/LBFGS.pm>.
- [10] B. Hess, H. Beker, H.J.C. Berendsen, J.G.E.M. Fraaije (1997), *J. Comp. Chem.*, **18**, pp.1463-1472.
- [11] <http://www.sci.unisannio.it/docenti/graziano/PDF/GG45.pdf>.
- [12] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2853947/table/T2/M.Athans>, "Dynamic Stochastic Estimation, Prediction and Smoothing." Series of Lectures, Spring 1999.