**Молекулярное моделирование реакции фосфорилирования в активном центре протеинкиназы**

***Леонова М.С.1, Кривицкая А.В.2***

*Студент, 4 курс специалитета*

*1Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

*химический факультет, Москва, Россия*

*2Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия*

*E-mail:* [*mikaellaleonova@gmail.com*](mailto:mikaellaleonova@gmail.com)

Фосфорилирование белков является центральным процессом регуляции и передачи сигналов в клетках. Протеинкиназы — это ферменты, катализирующие реакцию фосфорилирования остатков серина, треонина или тирозина. Среди человеческих киназ цАМФ-зависимая протеинкиназа (PKA) была охарактеризована первой, и с тех пор она также подвергалась наиболее тщательному анализу, став основой для всего семейства киназ. Зная принцип действия пути передачи сигнала цАМФ-РКА-К+, можно выявить причины когнитивных отклонений и нейродегенеративных заболеваний для обнаружения потенциальных терапевтических мишеней.

Реакции фосфорилирования, сопровождающиеся разрывом Р-О связи, могут протекать по двум типам механизма: диссоциативному и ассоциативному. При диссоциативном механизме разрыв P-O связи предшествует образованию связи между фосфором и нуклеофилом, а при ассоциативном механизме нуклеофильная атака предшествует разрыву P-O связи.

В связи с этим целью данной работы являлось определение типа механизма фосфорилирования серина субстрата SP20 в активном центре РКА. Для этого был проведен анализ геометрических и электронно-плотностных критериев геометрии, отвечающей состоянию фермент-субстратного комплекса. Кроме того, с помощью методов молекулярного моделирования был рассчитан профиль энергии Гиббса.

В данной работе были проведены расчеты молекулярной динамики с потенциалами комбинированного метода квантовой механики / молекулярной механики (КМ/ММ): для анализа состояния фермент-субстратного комплекса – без добавления смещающего потенциала, для построения профиля энергии Гиббса – с добавлением смещающего потенциала методом зонтичной выборки. Квантовая подсистема включала в себя боковые цепи остатков Lys72, Asp166, Lys168, серина субстрата SP20 и 7 молекул воды, а также два катиона магния и их координационные сферы, представленные боковыми цепями остатков Asn171 и Asp184, фосфатными группами АТФ и 3 молекулами воды. Данная подсистема описывалась методом теории функционала плотности: функционал PBE0 с дисперсионной поправкой D3 и базис 6-31G\*\*, для описания катионов магния использовался псевдопотенциал LANL2DZ. Для описания ММ-подсистемы использовали силовое поле CHARMM. В качестве координаты реакции была выбрана разность между расстояниями разрывающейся связи (P-OATP) и нуклеофильной атаки (P-OSer).

Таким образом, для определения типа механизма были использованы геометрический критерий (среднее значение длины, разрываемой P-OATP связи) и лапласиан электронной плотности вдоль линии разрываемой связи. Данный анализ показал, что реакция фосфорилирования в активном центре РКА происходит по диссоциативному механизму. Кроме того, были обнаружены несколько различных состояний активного центра для фермент-субстратного комплекса, для всех состояний рассчитаны профили энергии Гиббса и показано, какое состояние фермент-субстратного комплекса является реакционноспособным.

*Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова при финансовой поддержке РНФ (проект № 23-13-00011).*