چکیده

پروتئین آنزیمی اوروتیدین ’5-فسفات دکربوکسیلاز (ODCase EC 4,1,1,23) یا آنزیم ODCase یا OMPDC و یا ODC یکی از بهترین آنزیمهای موجود در طبیعت است. این آنزیم دکربوکسیلاسیون Orotidine 5’-Monophosphate (OMP) به Uridine 5’-Monophosphate (UMP) را کاتالیز می کند. در واقع آخرین مرحله از بیوسنتز نوکلئوتیدهای پیریمیدینی به وسیله ODCase کاتالیز می شود. دکربوکسیلاسیون بوسیله ODCase حدود ۱۸ میلی ثانیه زمان می برد در حالیکه همین تغییر شیمیایی تبدیل OMP به UMP به طور خود به خودی تحت شرایط یکسان دما و محلول در آب خنثی با یک نیمه عمر ۷۸ میلیون سالی تخمین زده شد. علت این افزایش سرعت فوق العاده هنوز به روشنی مشخص نشده است و راز این آنزیم کارا مد محسوب می شود. از طرفی با توجه به مکانیسمی که این آنزیم کاتالیز می کند، مهارکننده های ODCase داروهایی برای بیماریهایی از قبیل مالاریا، عفونت ویروسی، عفونت انگلی و سرطان (لوکمی، تومور) محسوب می شوند. بدین ترتیب به طور جدی تکثیر بدون کنترل سلول ها را مختل می نمایند. مهار آنزیم های دخیل در بیوسنتز *de novo* نوکلئوتیدها برای درمان بیماری های نئوپلاستیک ، اتوایمیون و در مهار ایمونولوژیکی جهت جلوگیری از پس زده شدن ارگان پیوند شده بکار می روند. برخی مشتقات اوریدینی با استخلاف C6 برای مهار ODCase بکار می روند این مهار کننده ها بسیار قطبی هستند و از نظر فارماکوکینتیکی مشکلات کمی دارند. در میان مهارکننده های توانمند آن BMP (1-5-phospho-D-ribofuranosyl-barbituric acid) یک مهارکننده قوی ODCase به شمار می رود.

کلمات کلیدی

شبیه سازی دینامیک مولکولی، برهم کنش آنزیم-لیگاند، اوروتیدین’5-منو فسفات دکربوکسیلاز، ناپایدارسازی حالت پایه، پایدارسازی حالت گذار، MM-PBSA/MM-GBSA، Docking، میل ترکیبی،

انرژی آزاد اتصال

فهرست مطالب

فهرست مطالب آ

۱ مقدمه ۱

۱.۱ کلیات ۱

۱.۱.۱ پروتئین آنزیمیODCase ۱

۲.۱.۱ شبیه سازی دینامیک مولکولی ۲

۱.۲.۱.۱ میدان نیرو ۳

۲.۲.۱.۱ روش MM-PBSA/MM-GBSA ۴

۳.۲.۱.۱ روش الحاق مولکولی(Molecular Docking) ۴

۱.۳.۲.۱.۱ انواع الگوریتم های جستجو ۴

۱.۱.۳.۲.۱.۱ جستجوی مونت کارلو ۴

۲.۱.۳.۲.۱.۱ الگوریتم های ژنتیک ۴

۲.۳.۲.۱.۱ بیان انرژی و نمره دهی جمعی ۴

۳.۳.۲.۱.۱ تنظیمات الحاق نمودن ۴

۴.۳.۲.۱.۱ گلد داک (GOLD Dock) ۴

۲.۱ بیان مسئله ۵

۳.۱ اهداف، فرضیات، سؤالات پژوهشی و متغیر ها ۶

۱.۳.۱ اهداف ۶

۲.۳.۱ فرضیات ۶
۳.۳.۱ سؤالات پژوهشی ۶
۴.۳.۱ متغیرها ۶
۴.۱ بازنگری منابع و اطلاعات موجود ۶

۲ روش بررسی **۷**

۳ یافته ها **۸**

فصل ۱

مقدمه

۱.۱ کلیات

امروزه ترکیب ریاضیات، ملکه علوم، با کاربرد عمومی کامپیوتر

۱.۱.۱ پروتئین آنزیمیODCase

یوکاریوتها ODCaseرا به عنوان یک پروتئین دو عملکردی بیان می کنند. □□□□ واکنش اوروتات فسفوریبوزیل ترانسفراز را قبل از واکنش دکربوکسیلاسیون کاتالیز می کند. به عبارت دیگر OMPD یوکاریوتی یک کمپلکس با اوروتات فسفوریبوزیل ترانسفراز شکل میدهد که تشکیل یک کمپلکس هتروتترامتری می دهد. پروتئین آنزیمی UMP سنتاز (UMPS) دو مرحله نهایی بیوسنتز نوکلئوتید های پیریمیدینی از مسیر de novo یعنی بیوسنتز بوسیله مولکول های جدید را کاتالیز می کند [؟]. UMP سنتاز انسان یک پروتئین دوکاره[۱] است که شامل دو دمین[۲] کاتالیزوری است که عبارتند از اوروتات فسفو ریبوزیل ترانسفراز (10,2,4,2 EC OMPT) و اوروتیدین 5'-فسفات دکربوکسیلاز (23,1,1,4 EC ODCase) [؟].

سکانس ساختاری پروتئین آنزیمی ODCase در چند گونه مختلف نشان داده شده و مقایسه شده است. رزیدو های حفظ شده که در کاتالیز موثر می باشند، با رنگ سیاه، پر رنگ شده اند و رزیدو هایی که در اتصال لیگاند (Asp20, Ser127, Gln186, Thr79B) تاثیرگذارند، با رنگ توسی مشخص شده اند. لوپ متصل شونده به فسفات در کادر مستطیلی نشان داده شده است و پیکان های سیاه رشته های بتا و بار

[۱] *Bifunctional*
[۲] *domain*

های توسی هلیکس های آلفا را نشان می دهند.

همچنین در ادامه تفاوت های سکانس های آمینو اسیدی پروتئین آنزیمی ODCase در چند گونه مختلف آمده است:

Lysin residue:

Lys64 / Lys97 of the ODCase Human (Lys281 / Lys314 of the UMPS Human)

Lys59 / Lys93 of the yeast

Lys33 / Lys62 of the B. subtilis enzyme

Lys42 / Lys72 of the M. thermoautotrophicum

Lys44 / Lys73 of the E. coli

Aspartate residue:

Asp95 / Asp100 of the ODCase Human (Asp312 / Asp317 of the UMPS Human)

Asp91 / Asp96b of the yeast

Asp60 / Asp65b of the B. subtilis enzyme

Asp70 / Asp75b of the M. thermoautotrophicum

Asp71 / Asp76b of the E. coli

Tetrad:Lys59,Asp91,Lys93,Asp96b

Hydrophobic residues:Ile97b,Pro202,Leu153,Ile183

۲.۱.۱ شبیه سازی دینامیک مولکولی

شبیه سازی های کامپیوتری به طور گسترده ای در مطالعه مولکول های مورد علاقه بیولوژیکی بکار می روند [؟]. دو ناحیه مورد توجه عبارتند از:

شکل ۱.۱: سهم های پتانسیل در میدان های نیروی مکانیک مولکولی

شکل ۲.۱: سهم های پتانسیل در میدان های نیروی مکانیک مولکولی

۱.۲.۱.۱ میدان نیرو

میدان نیرو اساس شبیه سازی کامپیوتری است و بسیاری از میدان های نیرو توسعه یافته اند و در شبیه سازی ها با موفقیت بکار می روند. در بیشتر میدان های نیرویی که امروزه در مدل سازی های مولکولی به کار می روند، یک تصویر ساده چهارجزئی از نیرو های بین مولکولی و درون مولکولی سیستم ارائه شده است .

تغییرات انرژی برای انحراف پیوند ها و زوایا از مقادیر "مرجع" یا "تعادلی" خود در نظر گرفته می شود، تابعی وجو د دارد که چگونگی تغییر انرژی با چرخش پیوند ها را توضیح می دهد و در نهایت جملاتی از میدان نیرو نیز برهم کنش های میان بخش های بدون پیوند سیستم را توصیف می کنند

$$V_{total} = \overbrace{V_{bond} + V_{angle} + V_{dihedrals}}^{V_{cov}} + \overbrace{V_{elec} + V_{LJ}}^{V_{non-cov}}$$

در میدان های نیروی پیشرفته تر جملات بیشتری هم وجود دارد، ولی این چهار جزء در همه میدان های نیرو مشترک است . یک جنبه جذاب این نمایش آن است که جملات مختلف آن را می توان به تغییرات مختصات داخلی مختلف وابسته دانست که این مختصات عبارتند از طول پیوند ها، زوایای پیوندی، چرخش پیوند ها یا حرکت اتم ها نسبت به یکدیگر.

این ویژگی درک چگونگی تأثیر پارامتر های میدان نیرو بر کارایی آن را ساده تر و به پارامتری کردن میدان نیرو نیز کمک می کند. نمایش شماتیک چهار سهم عمده در میدان های نیروی مکانیک مولکولی: کشش پیوندی، خمش زاویه ای، پیچشی و برهم کنش های غیرپیوندی در شکل ۱.۱ و ۲.۱ آمده است. محاسبه پتانسیل با میدان نیروی AMBER شامل ترم های زیر می باشد:

$$\begin{aligned} V(r^N) &= \sum_{bonds} k_b(l-l_\circ)^۲ + \sum_{angles} k_a(\theta-\theta_\circ)^۲ + \sum_{torsions} \frac{۱}{۲}V_n[۱+cos(n\omega-\gamma)] \\ &+ \sum_{j=۱}^{N-۱}\sum_{i=j+۱}^{N}\{\epsilon_{i,j}\left[(\frac{r_{\circ ij}}{r_{ij}})^{۱۲} - ۲(\frac{r_{\circ ij}}{r_{ij}})^۶\right] + \frac{q_i q_j}{۴\pi\epsilon_\circ r_{ij}} \end{aligned}$$

۲.۲.۱.۱ روش MM-PBSA/MM-GBSA

پیشرفت های محاسباتی اخیر در محاسبه موازی، میدان های نیرو و عملکرد دقیق تر بر هم کنش های الکترواستاتیک شبیه سازی های MD چند نانو ثانیه ای مولکول های بسیار باردار مثل اسید های نوکلئیک را مقدور ساخته است [؟]. تحلیل دینامیک به تن هایی به هر حال تشخیص مولکولی و تشکیل کمپلکس را به قدر کفایت توصیف نمی کند. لذا نیاز به محاسبات متعارف انرژی آزاد است. اخیراً محبوبیت روش هیبرید (تلفیقی) که ترکیبی از محاسبات مکانیک مولکولی و حلال پیوسته است در تحلیل و آنالیز انرژی های آزاد اتصال و انرژی های آزاد نسبی شکل های فضایی مختلف، افزایش یافته است [؟، ؟، ؟، ؟، ؟، ؟].

۳.۲.۱.۱ روش الحاق مولکولی(Molecular Docking)

این روش ها اطلاعاتی را در مورد پروتئین هدف نیاز دارند و قادرند موقعیت و جهت گیری مختلف لیگاند

۱.۳.۲.۱.۱ انواع الگوریتم های جستجو

۱.۱.۳.۲.۱.۱ جستجوی مونت کارلو در این الگوریتم موقعیت لیگاند بصورت تصادفی انتخاب می-شود.

۲.۱.۳.۲.۱.۱ الگوریتم های ژنتیک این الگوریتم ها استراتژی متفاوتی دارند.

۲.۳.۲.۱.۱ بیان انرژی و نمره دهی جمعی[۳] روش نمره دهی،

۳.۳.۲.۱.۱ تنظیمات الحاق نمودن پروسه تنظیمات و انجام یک محاسبه الحاق نمودن، بصورت زیر است

۴.۳.۲.۱.۱ گلد داک (GOLD Dock) این روش در سال های ۱۹۹۵

[۳] *consensus*

۲.۱ بیان مسئله

آنزیم ODCase در سال ۱۹۴۵ کشف شد،

۳.۱ اهداف، فرضیات، سؤالات پژوهشی و متغیر ها

۱.۳.۱ اهداف

با توجه به آنچه که تا به حال گفته شد

۲.۳.۱ فرضیات

کارامدی و تخصص

۳.۳.۱ سؤالات پژوهشی

برخلاف کوشش های ترکیبی گروه های متعددی از بیوشیمیست ها و بیولوژیست های ساختاری

۴.۳.۱ متغیرها

جدول ؟؟ متغیرها ی بکار رفته در این پژوهش را نشان می دهد.

۴.۱ بازنگری منابع و اطلاعات موجود

Houk و همکارانش

فصل ۲

روش بررسی

فصل ۳

یافته ها

در این پژوهش برهم کنش پروتئین آنزیمی ODCase و لیگاندهای آن مورد ارزیابی با دینامیک مولکولی قرار گرفت.