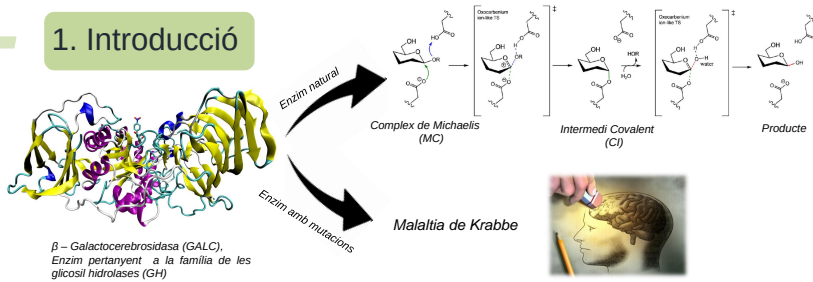


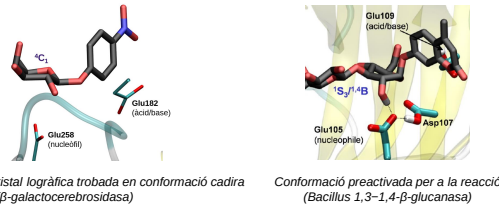
# DESXIFRANT MALALTIES CEREBRALS LLIGADES A CARBOHIDRATS: ESTUDI CATALÍTIC DE LA $\beta$ -GALACTOCEREBROSIDASA

(1) Departament de Química Inorgànica i Orgànica i Institut de Química Teòrica i Computacional de la Universitat de Barcelona (IQTCUB), Universitat de Barcelona, Martí i Franquès 1, Barcelona  
(2) Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA), Passeig Luíís Company 23, 08018, Barcelona

## 1. Introducció



Recentment, ha aparegut la primera estructura cristal·logràfica del complex de Michaelis de la GALC [1], amb resultats sorprenents pel que fa a la conformació del carbohidrat (galactòsid) complexat al seu centre actiu [2].

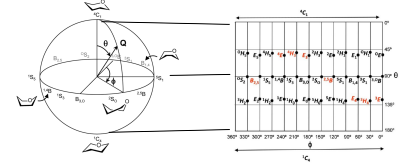


Les conformacions que adopten els sucres són molt importants per a que puguin tenir lloc les reaccions. Per això ens plantegem en el cas de la GALC les següents preguntes:

- La conformació en l'estructura cristal·logràfica trobada recentment es correspon a una conformació reactiva?
- Quines preferències té l'enzim respecte les conformacions de la galactosa?

## 2. Mètodes

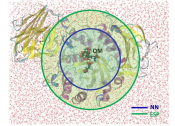
Per a caracteritzar les conformacions que poden adoptar els sucres s'utilitza l'esfera d'empaquetament de Cremer-Pople [3] representada amb les coordenades polars  $\Phi$  i  $\theta$ .



Esquerra: Esfera de Cremer i Pople. Dreta: Representació de Mercator utilitzant les coordenades polars  $\Phi$  i  $\theta$ .

### Dinàmica Molecular de Car-Parrinello (CPMD) i QM/MM [4]

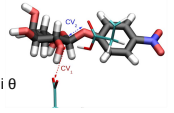
Funcional PBE  
Ones planes amb energia de tall de 70 Ry  
QM: 57 àtoms (Substrat i residus catalítics)  
MM: Resta de la proteïna i solvent (Camp de Forces Amber)



### Metadinàmica [5]

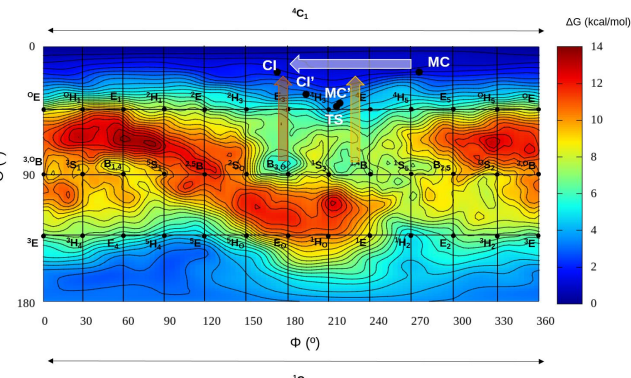
Reacció: 2 Variables Col·lectives (CV)

Mapa conformacional galactosa: 2 Variables Col·lectives,  $\Phi$  i  $\theta$

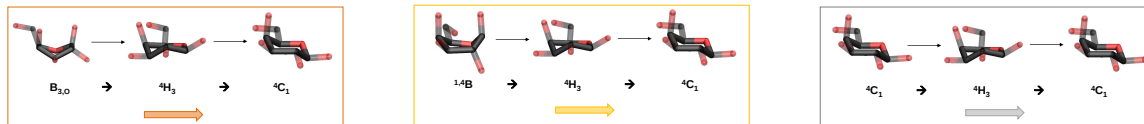


## 3. Mapa Conformacional Galactosa aïllada

Estudis anteriors en el grup demostren que hi ha una bona relació entre les regions de baixa energia de la superfície d'energia lliure del sucre aïllat i les estructures cristal·logràfiques [6].

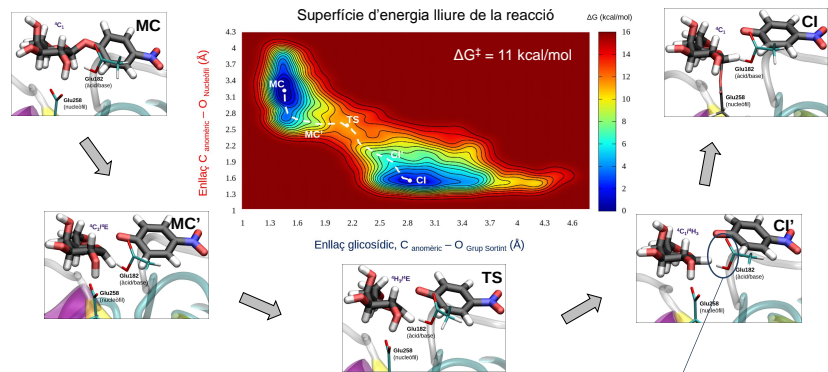


Dins de la família de les  $\beta$ -galactosidases, les poques estructures cristal·logràfiques que es tenen del complex de Michaelis es troben en forma de  ${}^4C_1$ . Tot i així, podem descriure tres itineraris catalítics que van per regions de mínima energia:



## 4. Reacció Complex de Michaelis $\rightarrow$ Intermedi Covalent

Les coordenades polars de l'anell de sucre durant la reacció es projecten sobre el mapa Mercator de la galactosa aïllada i s'observa que l'itinerari conformacional seguit és cíclic:  ${}^4C_1 \rightarrow {}^4H_3 \rightarrow {}^4C_1$  (blanc).



S'observa que per a què tingui lloc la reacció no és necessària la transferència del protó de l'àcid/base cap al grup sortint

## 5. Conclusions

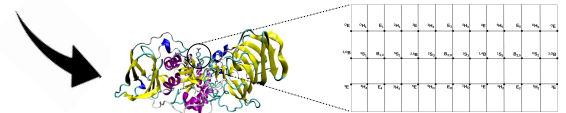
- L'estructura cristal·logràfica [1] correspon a una conformació reactiva ja que durant la reacció el sucre no es distorsiona cap a una altra conformació més usual en la família de les GH.
- La  $\beta$ -Galactocerebrosidasa, segons els resultats obtinguts, segueix un itinerari conformacional inusual del tipus  ${}^4C_1 \rightarrow {}^4H_3 \rightarrow {}^4C_1$
- El grup sortint p-nitrofenol no necessita de l'assistència del residu àcid/base (Glu182) per a què tingui lloc la reacció, degut a que per efectes resonants és un molt bon grup sortint.

## Referències

- Hill, C. H., Graham, S. C., Read, R. J., & Deane, J. E. (2013). Structural snapshots illustrate the catalytic cycle of  $\beta$ -galactocerebrosidase, the defective enzyme in Krabbe disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(51), 20479-20484.
- Ardevol, A., & Rovira, C. (2015). Reaction mechanisms in carbohydrate-active enzymes: Glycoside hydrolases and glycosyltransferases. Insights from ab initio quantum mechanics/molecular mechanics dynamic simulations. *Journal of the American Chemical Society*, 137(24), 7528-7547.
- Cremer, D. T., & Pople, J. A. (1975). General definition of ring puckering coordinates. *Journal of the American Chemical Society*, 97(6), 1354-1358.
- Laiò, A., VandeVondele, J., & Rothlisberger, U. (2002). A Hamiltonian electrostatic coupling scheme for hybrid Car-Parrinello molecular dynamics simulations. *The Journal of chemical physics*, 116(16), 6941-6947.
- Laiò, A., & Gervasio, F. L. (2008). Metadynamics: a method to simulate rare events and reconstruct the free energy in biophysics, chemistry and material science. *Reports on Progress in Physics*, 71(12), 126601.
- Iglesias-Fernández, J., Raich, L., Ardevol, A., & Rovira, C. (2015). The complete conformational free energy landscape of  $\beta$ -xylose reveals a two-fold catalytic itinerary for  $\beta$ -xyfanases. *Chemical Science*, 6(2), 1167-1177.

## 6. En Procès

Com podem confirmar que la reacció d'hidròlisi de la GALC segueix un itinerari inusualment cíclic, partint i acabant a la conformació cadira? Hi ha alguna conformació més estable que la cadira dins de l'enzim?



Mapa conformacional de la galactosa dins de l'enzim

## Agraïments