

## **Алгоритм выделения жестких фрагментов белков и его параллельная реализация для программного комплекса MOLKERN**

*Алемасов Николай Александрович, Чирцов Артём Сергеевич  
студенты  
Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия  
E-mail: niemand3@yandex.ru*

Исследование конформационных движений больших белковых комплексов в настоящее время возможно только с использованием так называемых крупнозернистых методов, в которых для расчёта изменения структуры используются не только отдельные атомы, но и их более крупные жесткие фрагменты. Для выделения фрагментов обычно используется графовое представление молекулы. В этом случае молекулы представляются в виде направленного графа, в вершинах, которого находятся атомы, а рёбрами служат химические связи (водородные, ковалентные и др.). Исходя из анализа топологии связей, выделяются участки молекул, соответствующих жёстким или гибким фрагментам.

Нами предложен новый вариант анализа трёхмерного графового представления макромолекулы, основанный на алгоритме, используемом для двумерного графов – “The Pebble Game Algorithm”, и использующий теорему Ламана [1]. Поскольку для трёхмерного случая эта теорема неверна, то требуются дополнительные проверки. К счастью число ситуаций, в которых возникают ошибки не велико, и может быть проанализировано на основе несовпадения какого-либо из свойств трёхмерного графа с двумерным случаем.

Предложенные алгоритмы и их применение для анализа конформационной гибкости белковых комплексов апробируются на базе программного комплекса MOLKERN [2]. MOLKERN разрабатывается в Институте Цитологии и Генетики СО РАН и представляет собой библиотеку высокоэффективных программных компонент для создания программ молекулярного моделирования на основе приближения полноатомного силового поля. С целью поддержки кластерных систем в MOLKERN используются технологии параллельного программирования - при помощи MPI осуществляется обмен между процессорами, а OpenMP позволяет распределять вычисления по процессорным ядрам.

При развитии комплекса MOLKERN, с помощью технологии OpenMP, выполнено распараллеливание алгоритмов, использующихся в задачах оптимизации пространственной структуры комплексов с помощью технологии OpenMP. Для тестовых расчетов применён

компьютер с двухъядерным процессором AMD Athlon X2 5000+ EE, 1 Gb оперативной памяти, операционная система MS Windows XP, компилятор MS Visual Studio 2005. Достигнуты следующие результаты:

- Минимальное ускорение составило 18% на комплексе 1AIE из 522 атома, 7 потоков.
- Максимальное ускорение: 48.4%, комплекс 1GC1 из 14104 атомов, 2 потока.
- Среднее ускорение по тестовому набору из 5 комплексов (522 - 14104 атомов): 40.4%.

### Литература

1. Jacobs D., Hendrickson B. (1997) An Algorithm for Two-Dimensional Rigidity Percolation: The Pebble Game, J. Comp. Phys., 137: 346–365.
2. Fomin E.S., Alemasov N.A., Chirtsov A.S., Fomin A.E. MOLKERN as new effective engine for drug discovery software // 4th International Symposium Computational Methods in Toxicology and Pharmacology Integrating Internet Resources (СМТPI-2007), p.97.

### Оценка активности взаимодействия никотинового ацетилхолинового рецептора с рядом мутантов нейротоксина PnIA

Антонов Михаил Юрьевич  
*аспирант*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет*

*e-mail: [mikhail@moldyn.org](mailto:mikhail@moldyn.org)*

Пептидный нейротоксин PnIA относится к классу альфа-конотоксинов, выделенных из яда морской улитки. Нейротоксин обратимо связывается с никотиновым ацетилхолиновым рецептором, препятствует дальнейшей активации натриевого канала рецептора, что блокирует распространение импульса по нервному волокну. Токсин встраивается между 2-мя субъединицами рецептора, вызывая конформационные изменения в надмембранной части рецептора, которые влияют на состояние ионного канала. Связывание токсина с рецептором является обратимым. С помощью точечных аминокислотных замен в токсине можно изменять стабильность комплекса и, таким образом, активность нейротоксина. Специфическое блокирование нервной проводимости

позволяет использовать нейротоксины в качестве избирательно действующих агентов при электрофизиологических и клинических исследованиях механизмов передачи возбуждения в нервной системе, а также в качестве основы для производства обезболивающих препаратов. Дальнейшее изучение альфа-конотоксинов представляет интерес для разработки и производства лекарственных препаратов предназначенных для лечения болезней связанных с дисфункцией никотинового ацетилхолинового рецептора.

В данной работе исследован ряд мутантов нейротоксина PnIA с помощью метода управляемой молекулярной динамики. По оригинальной методике, включающей расчет динамики развала комплекса лиганд-рецептор под действием внешней силы, оценивалась устойчивость комплексов нейротоксинов с сайтом связывания двух субъединиц nAChR. Были изучены 9 мутантных форм токсина, с аминокислотными заменами в 5, 7, 9, 10, 11, 12 и 14-м положениях и структуры комплексов рецептора с лигандами. С помощью метода управляемой молекулярной динамики, в силовом поле Amber-99, в полноатомном приближении была произведена сравнительная оценка стабильности комплексов рецептора с токсином и его мутантами. На основании проведенного эксперимента, была проведена оценка ряда активности для данных мутантов.

Работа поддержана РФФИ (07-04-01169, 06-04-08136), Роснаукой, Рособразованием.

Автор выражает признательность научному руководителю работы – профессору, д.ф.-м.н.

К.В. Шайтану.

## **Моделирование процесса образования полиэлектролитного комплекса между инсулином и декстрансульфатом**

*Горященко Александр Сергеевич  
студент*

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*E-mail: [ASGoryash@yandex.ru](mailto:ASGoryash@yandex.ru)*

Гормон инсулин применяется для лечения сахарного диабета. В настоящее время инсулин вводится путем инъекций. Очевидно, что этот путь не очень удобен и обладает рядом побочных действий (например, аллергические реакции). Наиболее естественным способом доставки инсулина является пероральный путь.

Одним из способов пероральной доставки инсулина является его включение в микро- и наночастицы, состоящие из биodeградируемых полиэлектролитов. Целью данной работы является компьютерное моделирование процесса образования полиэлектролитного комплекса между инсулином и декстрансульфатом.

С помощью молекулярного редактора была построена молекула декстрансульфата [1], состоящая из 32 глюкозных звеньев, а также достроены недостающие фрагменты структуры цинксодержащего гексамера инсулина, взятой из банка данных белковых структур PDB (код 1EVR). Обе структуры были подвергнуты процедуре минимизации потенциальной энергии с целью определения равновесной конфигурации.

Молекула декстрансульфата представляет собой полианион, наиболее вероятным будет его взаимодействие с положительно заряженными областями гексамера инсулина, находящимися на поверхности молекулы. Их размещение имеет определенную симметрию. На этом основании было предложено несколько вариантов взаимного расположения декстрансульфата и гексамера инсулина. Для каждой из начальных конфигураций было проведено моделирование межмолекулярных взаимодействий методом молекулярной динамики [2,3].

Анализ полученных молекулярно-динамических траекторий позволил определить энергию несвязного взаимодействия молекул. На основании этих данных была определена наиболее выгодная по потенциальной энергии структура комплекса, при которой молекула декстрансульфата полностью «обвивала» молекулу инсулина, оптимизируя электростатическое взаимодействие между заряженными группами. Проведён

статистический анализ межмолекулярных атомарных контактов. Он позволил определить специфические сайты связывания, состоящие из заряженных и прилегающих к ним аминокислотных остатков гексамера инсулина. Предложенный метод может успешно применяться для установления строения комплексов и определения сайтов связывания белков с полиэлектролитами, что позволит понять, как следует менять строение реагентов и условия реакции для получения частиц с необходимыми свойствами.

### Литература

1. Dextran Sulfate 10 sodium salt, Amersham Biosciences, 1801151-77 AA, 11-2001, 1-3, [http://www.apczech.cz/pdf/DF\\_Dextran\\_Sulfaphate.pdf](http://www.apczech.cz/pdf/DF_Dextran_Sulfaphate.pdf)
2. Adcock S.A., McCammon J.A. (2006) / Molecular Dynamics: Survey of Methods for Simulating the Activity of Proteins // Chem. Rev., **106**, 1589-1615.
3. Dauber-Osguthorpe P., Roberts V. A., Osguthorpe D. J., Wolff J., Genest M., Hagler A. T. (1988) / Structure and energetics of ligand binding to proteins: *E. coli* dihydrofolate reductase-trimethoprim, a drug-receptor system // Proteins: Structure, Function and Genetics, **4**, 31-47.

### Молекулярная модель фрагмента бислоистой липидной мембраны

*Зленко Дмитрий Владимирович.*  
*аспирант*

*Красильников Павел Михайлович*  
*доцент, к.ф.-м.н.*

*МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра биофизики, группа ERG.*  
[zoidberg@erg.biophys.msu.ru](mailto:zoidberg@erg.biophys.msu.ru)

Плазматические мембраны млекопитающих (ПММ) характеризуются выраженной неоднородностью, во внешнем монослое выражена латеральная гетерогенность. В ПММ одновременно сосуществует как минимум две различные фазы: жидкокристаллическая (ЖК) и жидкоупорядоченная (ЖУ), последняя образует островки (рафты) в непрерывной ЖК фазе. Сегрегация этих фаз наблюдается в модельных мембранах и является свойством липидных смесей. В связи с существенными различиями в упаковке липидов в ЖК и ЖУ фазах, различные мембранные белки имеют большее сродство к одной из фаз. На этом принципе основаны механизмы внутриклеточной сортировки макромолекул, а так же функциональное разграничение белков плазмалеммы. Несмотря на большое количество экспериментальных данных, конкретные физические механизмы латерального разделения фаз и фазового перехода в липидных мембранах не выяснены.

Настоящая работа посвящена исследованию поведения молекул ДСФХ, с целью выяснения тонких особенностей строения липидных мембран. Моделирование свойств липидных мембран невозможно без использования максимально расширенных молекулярных моделей (ММ). В рамках пакета программ GROMACS мы разработали и оптимизировали полноатомную ММ липидной мембраны, состоящей из 48 молекул дистеароилфосфатидилхолина (ДСФХ) и 1750 молекул воды (tip4p). В процессе разработки модели были полностью рассчитаны и оптимизированы силовые константы, описывающие молекулу липида. При построении модели квантовохимические расчеты были проведены с использованием пакета PC GAMESS, а так же программы собственной разработки. В качестве исходных были использованы данные силового поля *opls*.

Полученная ММ устойчива, стабильна: толщина бислоя, его плотность и конформации липидов, сходные с реальными. Вода соответствует по своим параметрам реальной жидкости: коэффициент диффузии  $\sim$ , плотность и другие характеристики стабильны. У поверхности бислоя образуется слой малоподвижной воды (слой Штерна), толщиной в несколько Å и с коэффициентом диффузии на 2 порядка ниже чем в объемной фазе. Коэффициент латеральной диффузии (300 – 400 К) составил . Времена вращательной корреляции составили  $\sim$ , оседлой жизни  $\sim 2$  нс. Полученные параметры хорошо согласуются с экспериментальными данными. Распределение плотности в модельной системе в направлении перпендикулярном плоскости бислоя соответствует результатам прямого эксперимента. Изменение параметра упорядоченности для метильных групп остатков жирных кислот при продвижении вглубь бислоя также хорошо совпадает с экспериментальными данными (0.33 – 0.07).

Дальнейшие исследования подвижности липидов на малых временах ( $\sim 0.1 - 10$  пс), а так же распределения углеводородных хвостов молекул по различным конформациям позволит вплотную подойти к описанию фазового перехода и процесса латеральной сегрегации фаз. Так, изменения в подвижности в сочетании с изменением характерных конформаций, является необходимым условием фазового перехода. Нами уже получены данные свидетельствующие о неклассическом диффузионном движении молекул ДСФХ в ЖК фазе. Численный эксперимент показал, что на малых временах средний квадрат смещения липидов больше, чем следует из классических уравнений диффузии. Кроме того, в настоящий момент с использованием созданной модели ведутся исследования проницаемости липидных мембран для малых неполярных (кислород) и полярных (вода) молекул.

## Молекулярная динамика взаимодействия антибиотика зервамицина II с липидными бислоями

Левцова Ольга Владимировна  
аспирант

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова  
Биологический факультет, Москва, Россия  
e-mail: [sunely@yandex.ru](mailto:sunely@yandex.ru)

Зервамицин II – антимикробный пептид, относящийся к классу пентайболов, продуцируемых микопаразитическими грибами родов *Emericellopsis*, *Trichoderma*. Он состоит из 16 остатков и содержит нестандартные аминокислотные остатки: альфа-аминоизомасляная кислота, изовалин и 4-транс-гидроксипролин. Зервамицин II взаимодействуют с клеточной мембраной, нарушая ее ионную проницаемость. Точный механизм действия на данный момент неизвестен, однако, предположительно он обладает каналобразующей активностью.

С помощью метода молекулярной динамики было проведено сравнительное изучение динамики взаимодействия молекулы зервамицина II с двумя моделями мембран различного липидного состава, имитирующими клеточную мембрану эукариот (состоящая из ПОФХ липидов) и прокариот (состоящая из ПОФЭ и ПОФГ липидов в соотношении 4:1). Было показано, что зервамицин взаимодействует с мембраной преимущественно вогнутой стороной и взаимодействие с мембраной бактериальной клетки энергетически более выгодно, чем с мембраной эукариотической. При взаимодействии с мембраной эукариотической клетки пептид ориентируется параллельно поверхности мембраны и данная конформация стабилизируется водородными связями между остатками Gln и липидными головками. При взаимодействии с бактериальной мембраной пептид встраивается N-концом в полярные головки липидов.

Также была исследована динамика встраивания пептида в липидный бислой методом управляемой молекулярной динамики. Для этого внешнее ускорения прикладывалось отдельно к N- и C-концам, а также ко всем Ca-атомам. В результате данных экспериментов было показано, что встраивание происходит преимущественно N-концом. При этом первые 9 аминокислотных остатков встраиваются в гидрофобный слой относительно легко, а далее пептиду необходимо преодолеть энергетической барьер.

Была создана модель канала из 5 молекул зервамицина II и изучена его динамика в

липидном бислое и прохождение различных ионов.

Данные исследования важны не только с точки зрения исследования функциональной активности зернамицин подобных антибиотиков, но также и для создания антимикробных препаратов нового поколения.

Научный руководитель работы – профессор, д.ф.-м.н. К.В. Шайтан. Работа выполнена на кафедре биоинженерии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Работа поддержана РФФИ (07-04-01169, 06-04-08136), Роснаукой, Рособразованием и US CRDF (2803).

### **Моделирование конформационного перехода в фотосинтетическом реакционном центре бактерии *Rb. Sphaeroides***

*Мамонов Петр Александрович*  
аспирант

*Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Биологический ф-т.*

[piton@erg.biophys.msu.ru](mailto:piton@erg.biophys.msu.ru)

*Красильников Павел Михайлович*  
доцент, к.ф.-м.н.

*Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Биологический ф-т.*

[krapam@mail.ru](mailto:krapam@mail.ru)

Данная работа посвящена идентификации структурных изменений сопровождающих конформационный переход в фотосинтетическом реакционном центре (РЦ) бактерии *Rhodobacter sphaeroides* в процессе разделения зарядов. Наличие конформационного перехода в этой системе было показано давно [1], однако связь с конкретными изменениями в структуре РЦ до сих пор не выявлена. Анализ данных рентгеноструктурного анализа РЦ [2] позволяет предложить на роль конформационного перехода небольшой поворот плоскости кольца первичного хинона вокруг С-С связи связывающей его с боковой изопреноидной цепью. Такой поворот приводит к разрыву водородной связи образуемой 4-С=О группой убихинона с гидроксильной группой треонина M222 и образованию новой водородной связи с гистидином M219. Указанное «переключение» первичного хинона между водородными связями также может приводить к небольшому сдвигу характеристического рентгеновского спектра иона негемового железа, присутствующего в РЦ [3], а также находится в согласии с результатами измерения ИК спектров РЦ [4]. Также недавно появились данные (доклад д.ф.м.н. И.И. Проскурякова, ИФПБ РАН)



непосредственно свидетельствующие о том что восстановление первичного хинона сопровождается небольшим (на 10-15°) поворотом плоскости кольца хинона. Исходя из представления о наличии двух устойчивых конформаций первичного хинона, различающихся эффективностью передачи электрона на окисленный димер бактериохлорофилла, была предложена кинетическая модель, описывающая экспериментальную температурную зависимость скорости реакции рекомбинации в РЦ [5]. Также, на основе данных рентгеноструктурного анализа, была создана молекулярная модель, включающая первичный хинон с окружением и ион негемового железа с лигандами. Модель была использована для проведения серии расчетов параметров конформационного перехода методами квантовой химии. В работе проведен анализ оптимизированных параметров кинетической модели, а также результатов квантово-химического моделирования.

1. J.D. McElroy, D.C. Mauserall, G.Feher BBA 1974, 333, 261-277
2. M.H.B.Stowell, T.M.McPhillips, S.M.Soltis, D.C.Rees, E.Abresch,G.Feher Science 1997, 276, 812
3. S. Hermes et al. Biochemistry 2006, 45, 353-359
4. J. Breton, E. Nabedryk BBA 1996, 1275, 84-90
5. B.H. McMahon, J.D. Muller, C.A. Wraight, G.U. Nienhaus Bioph. J. 1998, 74, 2567-2587

### **Моделирование механизма поддержания пула стволовых клеток в корневой меристеме растений**

*Миронова Виктория Владимировна<sup>2</sup>, Омелянчук Надежда Анатольевна, Лихошвай  
Виталий Александрович*

<sup>2</sup>Аспирант

Институт Цитологии и Генетики, Новосибирск, Россия

E-mail: [kviki@bionet.nsc.ru](mailto:kviki@bionet.nsc.ru)

В корневой меристеме (КМ) растений, находящейся на кончике корня, стволовые клетки сохраняются вокруг группы клеток с низкой митотической активностью. Эта зона была названа покоящимся центром (ПЦ), у *Arabidopsis thaliana* ПЦ состоит из 4 клеток [1]. Вдоль центральной оси, стволовые клетки выше ПЦ дают начало сосудистой ткани (инициалы сосудистой ткани), а клетки ниже (инициалы корневого чехлика), пополняют пул клеток корневого чехлика, которые слущиваются с кончика корня. Не смотря на то, что

стволовые клетки корня позиционируют относительно ПЦ, механизм регуляции постоянства положения ПЦ не известен. Так, клетки ПЦ иногда, но делятся, а после обрезания кончика корня, ПЦ восстанавливается из сосудистой ткани [1]. Известно, что гормон ауксин, распространяясь в ткани корня диффузией и при помощи белков-транспортеров, формирует максимум концентрации ауксина (МКА) в КМ. Паттерн распределения ауксина характеризуется концентрационным градиентом с МКА в клетке инициалов корневого чехлика и понижением концентрации к последней клетке корня [1]. Предполагается, что механизм поддержания положения МКА в развитии, является ключевым для сохранения ПЦ и ствольных клеток в корне.

На основе имеющихся экспериментальных данных, мы предложили концептуальную модель сохранения положения МКА в кончике корня, через регуляцию ауксином своего транспорта. Показано, что ауксин активирует транскрипцию белков-транспортеров PIN1 при низких концентрациях, а при высоких активирует их деградацию.

Нами была создана одномерная математическая модель распределения ауксина в слое клеток, располагающихся вдоль центральной оси корня. В модели учитываются процессы (1) поступления ауксина из побега в последнюю клетку модели; (2) диффузия ауксина, одинаковая в обоих направлениях; (3) деградация ауксина и (4) PIN1 регулируемый односторонний транспорт ауксина. На кончике корня (в первой клетке) определено граничное условие: ауксин выходит из клетки только диффузией и только в одном направлении. Решение модели с заданными параметрами показало качественное соответствие экспериментальным данным с МКА в клетке, соответствующей клетке инициала концевых чехликов [2]. Для проверки сохранения положения МКА в модели нами была также создана модель с клеточными делениями. Модель стартовала с 3 клеток и эволюционировала при медленно увеличивающемся потоке ауксина из побега. Моделирование клеточных делений осуществлялось в соответствии с экспериментальными данными о структуре КМ и зависело от ауксина. При этом наблюдалось динамическое формирование зон КМ вдоль центральной оси корня и поддержание их размеров в развитии с сохранением положения МКА. Модель воспроизводит результаты ряда экспериментов: восстановление МКА после обрезания кончика корня; эффект ингибирования транспорта ауксина; обработка экзогенным ауксином; а также предлагает механизм инициации латеральных корней.

Тезисы доклада основаны на материалах исследования, проведенных в рамках гранта Национального научного фонда США (FIBR EF-0330786)

### Литература

1. Jiang K. and Feldman J.L. (2005) Regulation of Root Apical Meristem Development // Annu. Rev. Cell Dev. Biol. №.21. p. 485–509
2. Лихошвай В.А., Омелянчук Н.А. и др. (2007) Математическая модель паттерна распределения ауксина в корне растений // Онтогенез. № 38 (6). С. 456-445

### **Изучение механизма взаимодействия антимикробного пептида магаинина 2 с модельной мембраной грамотрицательных бактерий методом молекулярной динамики**

*Науменкова Татьяна Витальевна*  
*аспирант*

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

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

Антимикробные пептиды (АМП) широко распространены в природе, от бактерий до млекопитающих. Это небольшие молекулы, включающие до 50 аминокислотных остатков. Согласно имеющимся представлениям, эти катионные пептиды избирательно взаимодействуют с анионными мембранами бактерий, что, в конечном счёте, приводит к нарушению избирательной проницаемости мембран и лизису клеток. Механизм взаимодействия АМП с мембранами до конца не изучен, но известно, что он определяется особенностями строения пептида, составом мембраны и условиями среды протекания реакции.

Принято считать, что существует оптимальное сочетание гидрофобных и заряженных фрагментов АМП, которое обеспечивает наиболее эффективное связывание молекулы с мембраной. Выявление структурных особенностей АМП, ответственных за эффективность связывания с бактериальными мембранами, открывает возможности их использования для избирательного поражения определенных групп микроорганизмов.

В работе методом молекулярной динамики исследуется процесс связывания антимикробного пептида магаинина 2 с модельной мембраной грамотрицательной бактерии. Используется пакет МД GROMACS, силовое поле OPLS-AA.

Магаинин 2 – один из первых открытых у позвоночных антимикробных пептидов. Он принадлежит к семейству магаининовых пептидов и является самым активным из них по проявляемым противомикробным свойствам. В состав пептида входят 23 аминокислотных остатка, карбоксильная группа С-концевой аминокислоты амидирована. При физиологических условиях магаинин 2 обладает положительным зарядом +4.

В качестве модели бактериальной мембраны используется бислоя из 64 молекул липидов. В состав липидных «голов» входят фосфатидилэтаноламин и фосфатидолглицерол в соотношении 3:1, что имитирует поверхность, свойственную отрицательно заряженным мембранам бактерий.

Общий заряд системы -12 скомпенсирован ионами натрия.

В результате проведенного вычислительного эксперимента выявлены специфические участки взаимодействия магаинина 2 с липидами мембраны. Показано, что ключевую роль в процессе связывания играют кулоновские взаимодействия. Связывание с мембраной и дальнейшее встраивание идет с N-конца пептида, в то время как С-конец с отрицательно заряженной глутаминовой кислотой в положении 19 не погружается в область липидных «голов» мембраны.

Работа выполнена на кафедре биоинженерии биологического ф-та МГУ, научный руководитель работы профессор К.В. Шайтан. Работа поддержана Роснаукой, РФФИ (грант № 04-04-49645), Правительством Москвы и US CRDF.

## Изучение транспорта формиата через субстратный канал формиатдегидрогеназы с помощью метода молекулярной динамики

*Нилов Дмитрий Константинович, Шабалин Иван Григорьевич*

*аспирант*

*аспирант*

*Факультет биоинженерии и биоинформатики Московского государственного  
университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*Институт биохимии имени А.Н. Баха РАН, Москва, Россия*

*e-mail: [nilovdm@list.ru](mailto:nilovdm@list.ru)*

НАД<sup>+</sup>-зависимая формиатдегидрогеназа (ФДГ) является перспективным ферментом для регенерации кофактора НАДН в промышленных масштабах. Кроме того, реакция окисления формиата, катализируемая ФДГ, служит простейшей моделью для изучения процесса переноса гидрид-иона дегидрогеназами.

Интересной особенностью ФДГ является наличие двух каналов, связывающих глубоко погруженный в белковую глобулу активный центр с поверхностью: широкий коферментный канал, являющийся площадкой для связывания НАД<sup>+</sup>, и более узкий субстратный канал. В отсутствие кофермента оба канала могут служить для транспорта формиата. После связывания НАД<sup>+</sup> формиат может проникнуть в активный центр через субстратный канал. Благодаря наличию субстратного канала, связывание субстрата и кофермента у прокариотических ФДГ происходит неупорядоченным образом.

Данная работа выполнена с целью качественно охарактеризовать путь формиата через субстратный канал в ФДГ из бактерии *Pseudomonas*. Дополнительный интерес в этом ферменте представляет С-концевая петля Asn385-Ala393. Кристаллографические данные свидетельствуют о способности петли прикрывать внешнее горлышко субстратного канала после образования тройного комплекса ФДГ-НАД<sup>+</sup>-формиат.

Основой для исследования послужила кристаллографическая структура апо-формы фермента (PDB код 2nac). Использовался метод молекулярной динамики в явно заданном растворителе, а также метод управляемой динамики. Прежде всего была рассчитана траектория свободного фермента длиной 15 нс. Показана устойчивость конформации остатков активного центра. Продемонстрировано открывание внутреннего горлышка субстратного канала. Уточнены геометрические параметры субстратного канала. Показано, что в апоферменте С-концевая петля характеризуется высокой подвижностью и не препятствует транспорту формиата через субстратный канал. Затем был проведен докинг

формиата в активный центр фермента, после чего рассчитана дополнительная траектория длиной 6 нс. Полученная структура использовалась для моделирования транспорта формиата через субстратный канал к поверхности белка. Для этого к субстрату прикладывалась внешняя сила, направленная вдоль просвета канала. В результате были описаны взаимодействия формиата с остатками канала, возникающие по ходу диссоциации. Показано, что остаток активного центра Arg284 играет особую роль в связывании и диссоциации субстрата.

Полученные результаты и разработанная методика должны позволить в дальнейшем получить профиль свободной энергии для транспорта формиата и уточнить роль субстратного канала в функционировании фермента.

### **Моделирование процесса ингибирования перекисного окисления липидов**

Новикова Полина Юрьева,  
студент

Красильников Павел Михайлович  
доцент, к.ф.-м.н.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический  
факультет, кафедра биофизики, Москва, Россия.

[polina\\_novik@mail.ru](mailto:polina_novik@mail.ru)

Процесс перекисного окисления увеличивает вероятность возникновения различных заболеваний, таких как болезни Альцгеймера и Паркинсона, атеросклероз, а так же старение организма. Под влиянием данного процесса изменяются физиологические функции клеточных мембран. Предотвращение и ингибирование данного процесса осуществляется антиоксидантными системами организма. Исследование механизмов этих процессов представляет актуальную проблему.

Детальный молекулярный механизм взаимодействия окисленных липидов с мембранными антиоксидантами, например с  $\alpha$ -токоферолом (или витамином E) неизвестен. Одним из предполагаемых процессов, для осуществления переноса атома водорода с активной головки токоферола на перекисный радикал в составе липида, является сокращение расстояние между активными частями молекул путем поднятия окисленного жирнокислотного остатка к более гидрофильной поверхности мембраны.

Моделирование данного процесса проводится с помощью методов молекулярной динамики (программный пакет Gromacs).

Полная исследуемая система состоит из липидного бислоя (48 молекул ДСФХ), окисленного липида (линолеил-11-перокси-октадекаденил-7,9-фосфатидилхолин) и 1759 молекул воды  $\text{tip4p}$ . Проблемные участки молекулярных моделей оптимизированы методами квантовой химии с помощью программного пакета Gamess, получены необходимые параметры для топологий.

В связи с ограниченностью вычислительных ресурсов для осуществления поднятия жирнокислотного остатка при малых временах расчета прикладывается внешняя сила к середине углеводородной цепи в направлении к поверхности мембраны. Проводится сравнение энергетических характеристик в различных конформационных состояниях между ДСФХ и окисленного липида. Анализ общей энергии системы показал наличие локального минимума в конформации с поднятым жирнокислотным остатком для обоих липидов, что может свидетельствовать о возможности предположенного механизма взаимодействия окисленного липида и  $\alpha$ -токоферола.

## **Молекулярная динамика элементов белка спидроина II паука *Nephila madagascariensis***

Оршанский Игорь Александрович  
Аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический  
факультет, Москва, Россия  
Ingar@moldyn.org

Нить паутины – один из самых прочных природных материалов. Сочетание высокой прочности и эластичности паутинового волокна делает его одним из самых перспективных материалов для изготовления различных волокон и других изделий. Биodeградируемость белков паутины позволяет использовать их для создания имплантатов в организме человека. Однако на данный момент не существует эффективных методов дизайна структуры данных волокон.

С помощью методов молекулярного моделирования была исследована структура отдельных компонентов волокна, проведена оценка их жесткости и эластичности,

определена длина и свойства жестких компонентов, богатых остатками аланина, и эластичных компонентов, содержащих много остатков глицина.

Проводилась оценка динамического поведения как отдельных молекул, так и комплексов пептидов в конформации  $\beta$ -слоя. Жесткость и эластичность волокон проводилась с помощью метода управляемой молекулярной динамики.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант 04-04-49645) и Роснауки. Научный руководитель работы профессор К.В. Шайтан.

### **QSAR/QSPR анализ влияния свойств фенольных соединений на степень их биоконверсии и реакционную способность**

*Осейчук Ольга Владимировна*

*к. б. н., младший научный сотрудник*

*Муратов Евгений Наильевич,*

*к. х. н., младший научный сотрудник*

*Артеменко Анатолий Григорьевич,*

*к. х. н., старший научный сотрудник*

*Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины,*

*Одесса, Украина, 65080, Люстдорфская дорога, 86,*

*E-mail: [osey4uk@gmail.com](mailto:osey4uk@gmail.com)*

Продолжает оставаться актуальной разработка методов элиминации фенолов из растворов и сточных вод.

Среди известных методов удаления фенольных токсикантов эффективным является ферментативный способ с использованием пероксидазы хрена (ПОХ).

Описаны результаты QSAR и QSPR анализа, позволяющие для набора ароматических субстратов ПОХ (41 соединение: фенол, *o*-, *m*-, *p*-гидроксифенолы, *o*-, *m*-, *p*-хлорфенолы, 2,4,6-трихлорфенол, пентахлорфенол, *o*-, *m*-, *p*-крезолы,  $\alpha$ -нафтол) прогнозировать степень их биоконверсии и реакционную способность ( $V_{\max}$ ,  $K_m^{-1}$ ) в процессе ферментативного окисления.

При исследовании степени биоконверсии фенолов в качестве структурных параметров использовались расчетные значения энергий высшей занятой – НОМО и низшей вакантной молекулярных орбиталей – LUMO фенолов. Квантово-химические расчеты проведены полуэмпирическим методом PM3 при помощи программы HyperChem 6.0. В результате



методом множественной линейной регрессии построена модель, из которой следует, что чем ниже энергии граничных орбиталей фенолов, тем меньше степень их биоконверсии:

$$\log(Y5) = 26,4 + 1,7 E(\text{LUMO}) + 2,8 E(\text{HOMO})$$

Полученная зависимость удовлетворительно описывает соотношение структура – степень биоконверсии фенолов (коэффициент корреляции  $R = 0,93$ ; стандартная ошибка прогноза  $S = 0,33$ ).

Методом QSPR осуществлен анализ количественной связи между структурой исследуемых фенолов и значениями  $V_{\max}$  и  $K_m^{-1}$  реакции их пероксидазного окисления. Для этого использовался расширенный набор параметров, описывающий форму молекулы фенольного соединения, электронную структуру:  $E_{\text{HOMO}}$ ,  $E_{\text{LUMO}}$ , парциальный заряд фенольного атома кислорода, суммарная электроотрицательность, дипольный момент и липофильность.

Методом частичных наименьших квадратов были получены адекватные статистические модели и вычислены вклады дескрипторов в изменение исследуемого свойства для модели по  $K_m^{-1}$ : характеристики электронной структуры – 66%, параметры формы – 34%, а для  $V_{\max}$  вклад в изменение параметров электронной структуры возрастает до 83 %. Результаты прогноза были проверены и в последствии подтверждены данными дополнительных экспериментов.

Таким образом, найдены структурные характеристики фенольных субстратов, которые определяют их степень биоконверсии и реакционную способность ( $V_{\max}$  и  $K_m^{-1}$ ) в реакциях пероксидазного окисления. Полученные QSAR/QSPR модели, позволяют с достаточной надежностью прогнозировать степень биоконверсии и величины  $V_{\max}$  и  $K_m^{-1}$  для новых фенольных субстратов.

### **Роль $\pi$ -стэкинга во взаимодействии малых ароматических лигандов с антителами**

*Свистунова Дарья Михайловна, Русинов Иван Сергеевич,*

*Колясников Олег Владимирович*

*школьник, школьник, ассистент*

*Специализированный Учебно-Научный Центр МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва*

*olkol@aesc.msu.ru*

Антитела - класс белковых молекул, отвечающих за распознавание антигенов в организме позвоночных. Антигеном может являться практически любая молекула, начиная

от небольших органических соединений, заканчивая огромными мультипротеиновыми комплексами.

В данной работе нашим объектом являются небольшие молекулы, включающие в себя ароматическое ядро. Простота устройства этих молекул позволяет легко проанализировать их связывание с антителами.

В рамках работы было рассмотрено 59 пространственных структур комплексов антител с ароматическими лигандами из базы данных PDB ([www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)). Для визуализации использована программа Swiss PDB Viewer 3.7.

В результате исследования пространственных структур было выявлено, что антитела, связывающие небольшие ароматические антигены, как правило, содержат полость с большим количеством ароматических остатков, расположенную на стыке гипервариабельных петель H3 и L3. Именно в этой полости происходит связывание антигена.

В 45 случаях из 59 ароматическое ядро антигена находится параллельно тем или иным ароматическим остаткам сайта связывания на расстоянии 3,5 – 4 Ангстрем от них. Такое расположение остатков позволяет предположить  $\pi$ -стекинг взаимодействие между данными ароматическими системами. Это объясняет хорошую взаимную конформационную подгонку между антигеном и антителом, а также высокие константы аффинности, характерные для данного комплекса.

Нами были также выявлены несколько исключений из данного ряда. Во-первых, они связаны со структурами абзимов – искусственных антител, имеющих ту или иную ферментативную активность. Их отбор происходит по принципу наличия каталитической активности, потому взаимодействие с ароматическим ядром имеет вторичное значение и может отсутствовать. Во-вторых, исключением являются комплексы с каркасными антигенами, иммуногенность алифатического ядра которых приводит к снижению роли обсуждаемого взаимодействия.

На основании проведенной работы мы можем заключить, что во всех случаях связывания малых ароматических лигандов, кроме вышперечисленных исключений, мы должны ожидать наличия  $\pi$ -стекинг взаимодействия.

Результаты нашего исследования могут найти применение в моделировании структуры комплексов антител с низкомолекулярными лигандами.

## Литература

1. MacCallum R.M., Martin A.C.R., Thornton J.M. (1996) Antibody-antigen Interactions: Contact Analysis and Binding Site Topography // Journal of Molecular Biology, №262, p.732-745.
2. Livesay D., Linthicum S., Subramaniam S. (1999) pH dependence of antibody: hapten association. // Molecular Immunology, №36(6), p.397-410.

## Моделирование конформационной подвижности филамента белка ResA

*Швецов Алексей Валерьевич*

*Студент*

*Санкт-Петербургский Государственный Политехнический Университет, Физико-Механический, Санкт-Петербург, Россия*

*[alexxyum@gmail.com](mailto:alexxyum@gmail.com)*

Одной из интересных проблем физики белка является связь между динамическими характеристиками (подвижностью) белка и его ферментативной активностью. По крайней мере, для некоторых ферментов была показана зависимость между средним отклонением атомов основной цепи белка, полученным методом молекулярной динамики, и его активностью. Кроме того, было показано, что для многих семейств разнородных белков имеется оптимальный уровень конформационной подвижности, который обычно достигается при нормальной температуре обитания их организма-хозяина.

Одним из типичных методов исследования механизмов действия белков является введение в их структуру одной или нескольких мутаций и исследования активности полученного таким образом мутантного белка. Показано, что мутации вблизи активного центра исследуемых белков обычно сильно влияют на его активность. В некоторых случаях, однако, было показано, что мутации, расположенные в удаленных от активного центра участках структуры белка и не способные влиять на каталитические механизмы или связывание субстрата, могут, однако, вызывать значительные изменения активности белка, как в сторону понижения, так и в сторону повышения. Таким примером являются несколько точечных мутаций в белке ResA, являющимся центральным элементом системы гомологической рекомбинации у бактерий.

В этой работе мы попытались проверить гипотезу о том, что такие мутации могут значительно менять конформационную подвижность белка ResA в целом и, таким образом,

затрагивать механизмы катализа этого фермента или его способность специфически связывать субстрат в активном центре.

В качестве основного метода исследования был выбран метод молекулярной динамики. Основываясь на данных рентгеноструктурного анализа и атомной силовой микроскопии, была построена минимальная модель филамента белка RecA, которая затем использовалась для моделирования с применением молекулярной динамики в периодическом водном боксе.

Было показано, что средняя конформационная подвижность по всей аминокислотной цепи белка RecA из *E.coli* и его гиперактивных мутантов X53 и D112R значительно не отличается. Однако в отличие от белка RecA из *E.coli*, в мутантах X53 и D112R конформационная подвижность петли L1 (аминокислотные остатки 155-160) значительно понижена за счет дополнительных взаимодействий остатков Glu-156 и Glu-158 одной субъединицы с Arg-176 и Arg-169 соседней субъединицы белка RecA, соответственно. Поскольку известно, что эти элементы структуры белка RecA участвуют во взаимодействии с ДНК, то изменение их подвижности может оказывать влияние на биологическую активность белка RecA.

Научный руководитель Петухов М. Г. Доцент НОЦ «Биофизика» при СПбГПУ, с. н. с.  
ПИАФ РАН

#### Литература

1. E. Lindahl and B. Hess and D. van der Spoel (2001) GROMACS 3.0: A package for molecular simulation and trajectory analysis J. Mol. Mod. 7, 306-317
2. Petukhov, Michael and Lebedev, Dmitry and Shalguev, Valery and Islamov, Akhmed and Kuklin, Aleksandr and Lanzov, Vladislav and Isaev-Ivanov, Vladimir (2006) Conformational flexibility of RecA protein filament: transitions between compressed and stretched states., Proteins, vol. 65, no. 2, 296-304

## Метод поиска низкоэнергетических конформаций биомолекул с гарантированной сходимостью

*Якимов Александр Павлович  
студент*

*Физико-механический факультет, Санкт-Петербургский государственный  
политехнический университет, Санкт-Петербург, Россия  
E-mail:aleks@spamtest.ru*

В настоящее время одной из наиболее актуальных нерешённых проблем молекулярной биологии является задача поиска третичной структуры белка по заданной аминокислотной последовательности.

Считается, что для белка сравнительно небольшого размера в 100 аминокислотных остатков, в фазовом пространстве двугранных углов его основной и боковых цепей имеется порядка  $10^{100}$  индивидуальных минимумов функции конформационной энергии. Перебор всех возможных конформаций белка для поиска той, возможно единственной конформации, в которой белок активен, очевидно невозможен и в природе, поскольку занял бы время порядка  $10^{80}$  лет (парадокс Левинталя). Однако, остается неизвестным действительно ли эта активная конформация является глобальным минимумом свободной энергии данной последовательности или всего лишь одной из промежуточных достаточно стабильных структур, наиболее доступных кинетически за все время существования данного белка. Ответ на этот вопрос имел бы огромное значение не только с точки зрения фундаментальной физики белка, но и для искусственного конструирования белков с наперед заданными свойствами для использования в промышленности и в медицине. В настоящее время самым эффективным методом решения данного класса задач, являются методы, основанные на использовании интервального анализа и так называемых методов математики надёжных вычислений.

Целью настоящей работы являлось создание методов и соответствующих компьютерных программ для построения пространственной структуры биомолекул в обобщенных интервальных координатах, целевой энергетической функции и их производных в интервальном аналитическом виде, и реализации алгоритма поиска глобального минимума с гарантированной сходимостью.

Реализованы алгоритмы построения интервальной геометрии белков с произвольной аминокислотной последовательностью и расчёта целевой функции для Ван-дер-Ваальсовых

взаимодействий, а также их первых производных в аналитическом виде. Представление целевой функции и их производных в аналитическом виде является необходимым условием для интервальных алгоритмов поиска глобального минимума с гарантированной сходимостью. Использование обобщённых координат обусловлено необходимостью снизить размерность фазового пространства (число степеней свободы) оптимизируемой системы.

Научный руководитель — М.Г. Петухов, доцент НОЦ «Биофизика» СПбГПУ; с.н.с. Петербургского института ядерной физики РАН

#### Литература

1. Mazur A.K. *et al.* (1991) Derivation and testing of explicit equations of motion for polymers described by internal coordinates *J Comput Phys* 92, 261-272
2. Kearfott R.B. *Rigorous Global Search: Continuous Problems*. Dordrecht etc.: Kluwer Academic Publishers 1996
3. Parsons J. *et al.* (2005) Practical conversion from torsion space to Cartesian space for in silico protein synthesis *J Comput Chem* 26, 1063-1068