

Литература

1. *Xu, D., Schulten K., Becker O.M., Karplus M.* Temperature quench echoes in proteins. *J.Chem.Phys.* 103(8), 3112-3123 (1995).
2. *Kale L., Skee R., Bhandarkar M., Brunner R., Gursoy A., Krawetz N., Phillips J., Shinozaki A., Varadarajan K., and Schulten K.* NAMD2: Greater scalability for parallel molecular dynamics. *J. Comp. Phys.*, **151**, 283-312, (1999).
3. *Костиков А.П.* Применение метода молекулярного динамического моделирования в биофизике. Сб. "Пошуки і знахідки", Вып. 3, Славянск, СГПУ, 2004, стр. 7-9.
4. *Костиков А.П., Скакуненко А.Г.* Исследование неравновесных свойств молекул белков. Сб. "Пошуки і знахідки", Вып. 9, том 4, Славянск, СГПУ, 2009, стр.122-125.

Мазурина Ю.А., Костиков А.П.

¹*Студентка 5 курса группы 5М–2 физико-математического факультета СГПУ,*

²*Доцент кафедры физики СГПУ*

Исследование α -спиральных структур полипептидов и белков с использованием метода Управляемой Молекулярной Динамики

Проблема самоорганизации (самопроизвольного сворачивания) белков состоит из целого ряда сложных вопросов, ответы на которые пытаются найти очень большое количество исследовательских групп, в которые входят физики, биологи, математики.

Вторичная структура белков представлена набором β -структур и спиральных участков. Один из самых распространенных спиральных элементов вторичной структуры белков – α -спираль. Структура α -спирали образуется, если линейная цепочка аминокислот сворачивается в спираль, в которой каждая аминокислота образует водородные связи с соответствующей четвертой аминокислотой вдоль этой же цепочки. Несмотря на большой прогресс в понимании процессов образования и распада спиральных структур, существует целый ряд вопросов, ответы на которые либо отсутствуют, либо недостаточно изучены /1-2/.

Степень устойчивости α -спиралей по отношению к различным внешним воздействиям, механизмы образования и распада спиральных структур – это те вопросы, к которым имеет прямое отношение данная работа. В частности, задачей данной работы было исследование устойчивости к механическому воздействию α -спиральных структур в белках и модельных полипептидах. В

качестве основного объекта исследования мы выбрали небольшой белок из трех α -спиралей, упакованных в компактный «пучек», код белка – 1bdd.

В качестве метода исследования использован метод молекулярно-динамического моделирования (МДМ). Мы использовали программу моделирования NAMD /3/. Метод исследования, выбранный нами в рамках МДМ – управляемая молекулярная динамика (УМД), позволяет воздействовать механически не любые участки молекулы. Как правило, при механическом воздействии положение одного из атомов молекулы фиксируется, этот атом в дальнейшем будет неподвижен. Второй атом, тоже любой, изменяет свое положение полностью контролируемым способом, – этот атом называют управляемым. В программе NAMD возможны два способа управления движением управляемого атома: постоянная скорость или постоянная сила, приложенная к этому атому. В том и другом случае в процессе симуляции динамики молекулы, она растягивается по заданному алгоритму, в конце процесса растягивания участок молекулы между двумя упомянутыми атомами становится линейным. Наблюдение за деталями процесса растягивания дает уникальную информацию о внутримолекулярных силах, аналогично информации получаемой методом атомной силовой микроскопии.

В частности, нас интересовал вопрос, что происходит с молекулой белка, если одна из ее составляющих (одна из трех α -спиралей) разворачивается. Другой вопрос – на который мы хотели получить ответ, можно ли обнаружить кооперативный характер водородных связей удерживающих структуру α -спирали.

Процедура подготовки молекулы к компьютерному моделированию (симуляции) динамики проводилась по нашей стандартной методике /4/. Процедуры УМД были аналогичны процедурам, разработанным ранее /5/.

При растягивании молекулы с постоянной скоростью мы обнаружили, что зависимость приложенной к молекуле растягивающей силы от времени имеет четко выраженный максимум (800 ± 300 пН) с последующим уменьшением силы. Оказалось, что средняя α -спиральная часть молекулы остается практически неизменной вплоть до достижения максимума силы. Если принять во внимание, что при растягивании молекулы приложенная сила компенсируется внутримолекулярными силами взаимодействия, становится очевидным, что максимальное значение этих сил в исследуемой молекуле составляет (800 ± 300 пН). После достижения этого максимума мы наблюдали разрушение всех трех α -спиралей молекулы и их взаимодействия друг с другом. Под природой сил взаимодействия в данном случае, следует подразумевать внутримолекулярные водородные связи. Известно, что именно водородные связи ответственны за структуру α -спиралей. Учитывая сказанное, интерпретация событий, происходящих после достижения максимума, сводится к разрыву всех внутримолекулярных водородных связей. В результате белковая глобула переходит в состояние вытянутой полипептидной цепочки, с полностью нарушенной третичной и вторичной структурой.

Следующий компьютерный эксперимент с той же молекулой, но при постоянной растягивающей силе, равной 500 пН, позволил лучше понять характер взаимодействий, ответственных за стабильность пространственной структуры молекулы. На рис.1 показан один из результатов такого эксперимента.

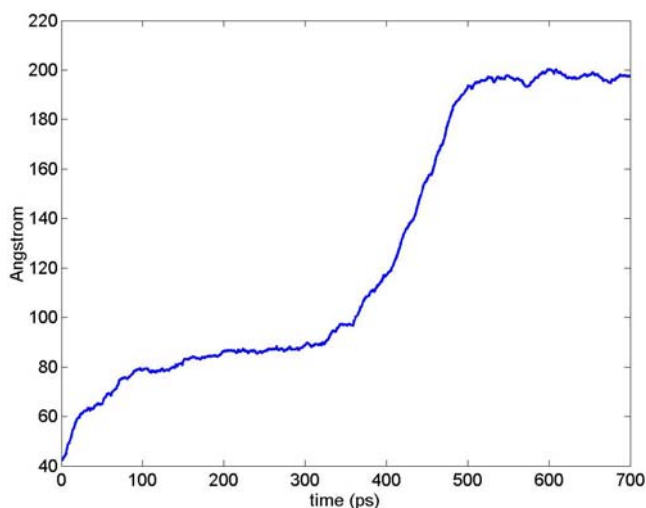


Рис.1. Зависимость расстояния от времени между N-концом (атом Ca 1-го остатка) и С-концом (атом Ca 60-го остатка) молекулы 1bdd в воде. Растяжение молекулы проводили при 300 К с постоянной силой 500 пН.

Как видно из рисунка в представленной зависимости имеется достаточно протяженный участок, на котором приложенная постоянная сила растягивания не приводила к заметному разворачиванию молекулы, сопровождаемому увеличением расстояния между концами молекулы. Этот участок соответствует промежуточному состоянию процесса разворачивания молекулы. Более подробное изучение позволило понять характер промежуточного состояния. Оказалось, что это наиболее устойчивая центральная часть молекулы из трех α -спиралей, объединенных водородными связями в компактную третичную структуру – «пучек» спиралей.

Поскольку из приведенного эксперимента нельзя понять существует ли какая-либо разница между водородными связями внутри каждой из α -спиралей и водородными связями между α -спиралями, мы выполнили серию экспериментов, в которых механическая сила растягивания прикладывалась только к одной из трех α -спиралей молекулы. Кроме того, мы имели возможность отделить любой из фрагментов молекулы белка и затем исследовать этот фрагмент как отдельную молекулу. В таком эксперименте полностью исключались внутримолекулярные силы взаимодействия, ответственные за третичную структуру белка. Некоторые результаты таких экспериментов приведены ниже.

На рис.2 показана зависимость от времени расстояния между двумя концами одной из α -спиралей молекулы при ее растягивании с постоянной силой, остальные части молекулы при этом могли самопроизвольно перестраивать свою пространственную структуру так, чтобы в каждый момент времени соответствовать равновесной конфигурации.

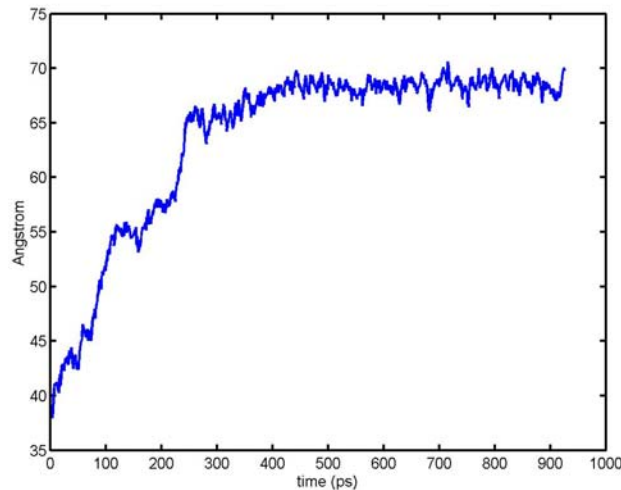


Рис.2. Зависимость от времени расстояния между неподвижным атомом $C\alpha$ 40-го остатка и управляемым атомом $C\alpha$ 60-го остатка для молекулы 1bdd в воде. Остальное – как на рисунке 1.

Из рисунка видно, что от момента начала растягивания до 300 пс расстояние между указанными атомами возросло почти по линейному закону. Небольшая особенность наблюдалась в диапазоне 150-200 пс. В этом диапазоне времен можно заметить небольшую «ступеньку». Сравнивая эту «ступеньку» с плато на рис.1, можно сделать вывод, что в данном случае промежуточное состояние при разворачивании молекулы либо отсутствует, либо оно очень слабо выражено, т.е. не имеет четко выраженных свойств.

Более подобное исследование позволило нам установить, что наблюдаемая «ступенька» отражает взаимодействие растягиваемой α -спирали с остальной частью молекулы, т.е. отражает наличие третичной структуры белка. При выполнении аналогичного эксперимента с фрагментом молекулы белка – полипептидной цепочкой от 40-го до 60-го аминокислотных остатков мы наблюдали линейную зависимость без признаков «ступеньки». Из результатов такого эксперимента, мы можем сделать вывод, что в исследуемом полипептиде со спиральной структурой взаимодействия между любой парой соседних витков спирали равноправны. Именно поэтому разворачивание спирали происходило одновременно на всех ее участках, т.е. по кооперативному механизму.

Литература

1. Zhou Y. and Karplus M. "Interpreting the folding kinetics of helical proteins." *Nature* 401(6751): 400-403 (1999).
2. Wako, H., J. An, et al. "Environment-dependent and position-specific frequencies of amino acid occurrences in alpha-helices." *Chem-Bio Informatics Journal* 3(2): 58-77. (2003).
3. Kale L., Skee R., Bhandarkar M., Brunner R., Gursoy A., Krawetz N., Phillips J., Shinozaki A., Varadarajan K., and Schulten K.. *NAMD2: Greater scalability for parallel molecular dynamics. J. Comp. Phys.*, 151, 283-312, (1999).
4. Костиков А.П. Применение метода молекулярного динамического моделирования в биофизике. Сборник "Пошуки і знахідки", Выпуск 3, Славянск, СГПУ, 2004, стр. 7-9.
5. Костиков А.П., Медведева И.В. Исследование разворачивания белков при механических возмущениях. Сборник "Пошуки і знахідки", Выпуск 9, том 4, Славянск, СГПУ, 2009, стр. 112-117.

Худько В.В., Костиков А.П.

¹Студентка 5 курса группы 5М–2 физико-математического факультета СГПУ,
²Доцент кафедры физики СГПУ

Исследование сворачивания-разворачивания белков термофильных организмов с использованием метода Управляемой Молекулярной Динамики

При выяснении многих вопросов о функциях белков, нарушениях этих функций приходится выяснять большой круг вопросов, относящихся к структуре белка. Представления о первичной, вторичной, третичной структуре молекулы белка позволяют упорядочить массив вопросов о связи структуры белка и его функции, но сами вопросы чаще всего остаются без ответа. В частности, нет четкого понимания, почему некоторые организмы способны нормально функционировать при экстремальных условиях (очень низких или очень высоких температурах, высоких давлениях и т.п.). Ясно, что тщательное изучение всех компонентов таких организмов представляет безусловный интерес.

В нашей работе исследовался один из белков (1csp), входящий в состав термофильных организмов /1/. Наиболее яркой особенностью этого белка является его пространственная структура – набор элементов β -структуры без каких-либо признаков спиральных структур.