

Исследование механических свойств белков методом молекулярной динамики

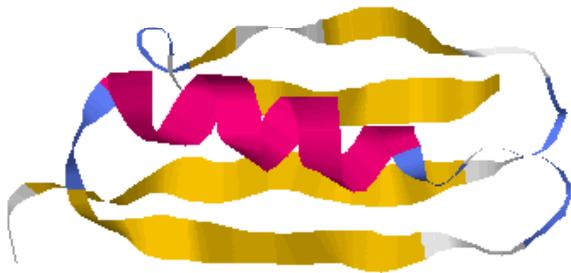
Глякина А.В.* , Галзитская О.В.** , Балабаев Н.К.*

*Институт математических проблем биологии РАН, Пущино

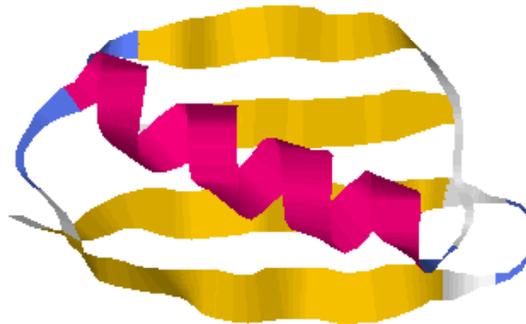
**Институт белка РАН, Пущино

Объекты исследования: иммуноглобулинсвязывающие домены белков L и G

Белок L (pdb код 2ptl)
(951 атом)



Белок G (pdb код 1pgb)
(853 атома)



RMSD 1.38 Å

| | | | |
|------|----|---|----|
| 2ptl | 4 | TIKANLIFANGSTQTAEFKGTFEKATSEAYAYADTLKKDNGEYTVDVADKGYTL | 57 |
| | | T+K G T T + + YA + + +GE+T D A K +T+ | |
| 1pgb | 11 | TLK-----GETTTEAVDAATAEKVFKQYANDNGV---DGEWTYDDATKTFTV | 54 |

По аминокислотной последовательности эти белки идентичны
только на 15%

Метод молекулярной динамики:

Уравнения движения Ньютона

$$m_i \frac{d^2 \vec{r}_i}{dt^2} = \vec{F}_i(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N), \quad i = 1, \dots, N$$

m – масса атома

r – радиус-вектор атома

F – сила, действующая на атом

$$\vec{F}_i = - \frac{\partial U(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N)}{\partial \vec{r}_i} + \vec{F}_i^{external}$$

$$U = \sum_{\text{Bonds}} u_b + \sum_{\text{Angles}} u_g + \sum_{\text{Torsion angles}} u_\phi + \sum_{\text{All pairs}} \sum u_{vdw} + \sum_{\text{All charged pairs}} \sum u_q$$

Валентные связи: $\sum_{\text{bonds}} K_r (r - r_{eq})^2$

Валентные углы: $\sum_{\text{angles}} K_\theta (\theta - \theta_{eq})^2$

Углы внутреннего вращения:

$$\sum_{\text{dihedrals}} \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\phi - \gamma)]$$

$$U_{vdw} = 4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \cdot W_{vdw}(r_{ij})$$

$$U_q = \sum \sum \frac{q_i q_j}{\epsilon \cdot r_{ij}} \cdot W_q(r_{ij})$$

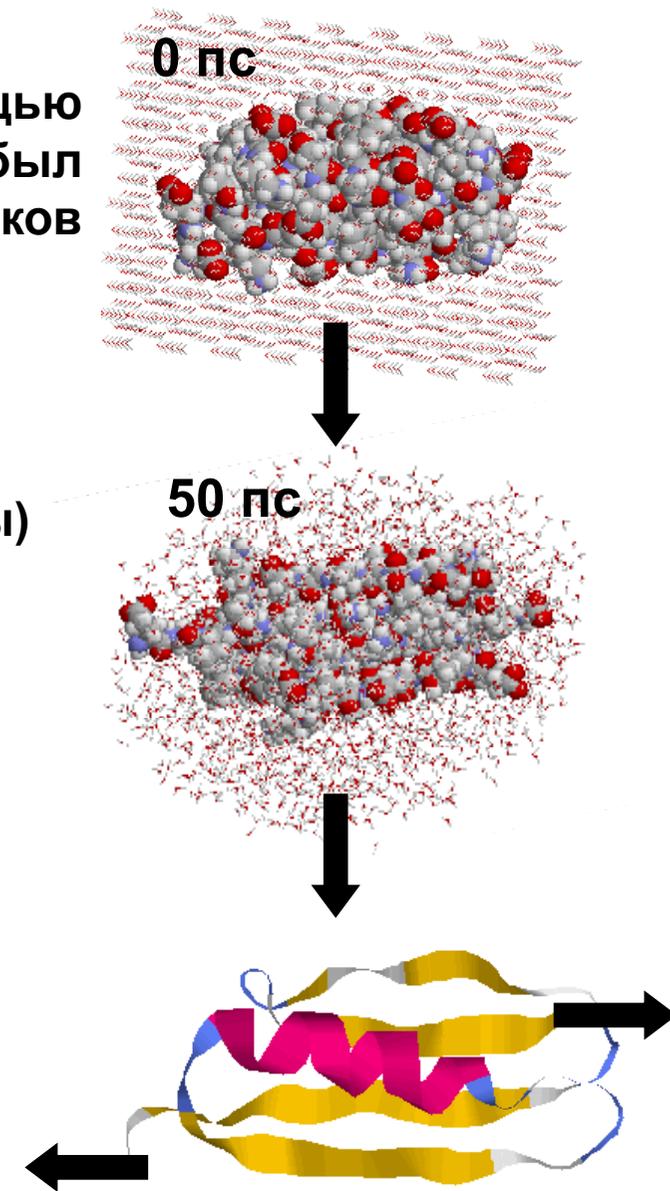
Условия моделирования:

Методом молекулярной динамики с помощью программы ПУМА (ИМПБ РАН) был промоделирован процесс разворачивания белков под действием приложенной внешней силы.

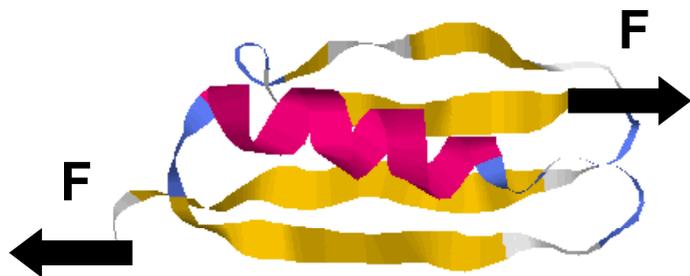
Белок L (951 атом белка + 1771 молекул воды)

Белок G (853 атома белка + 1844 молекул воды)

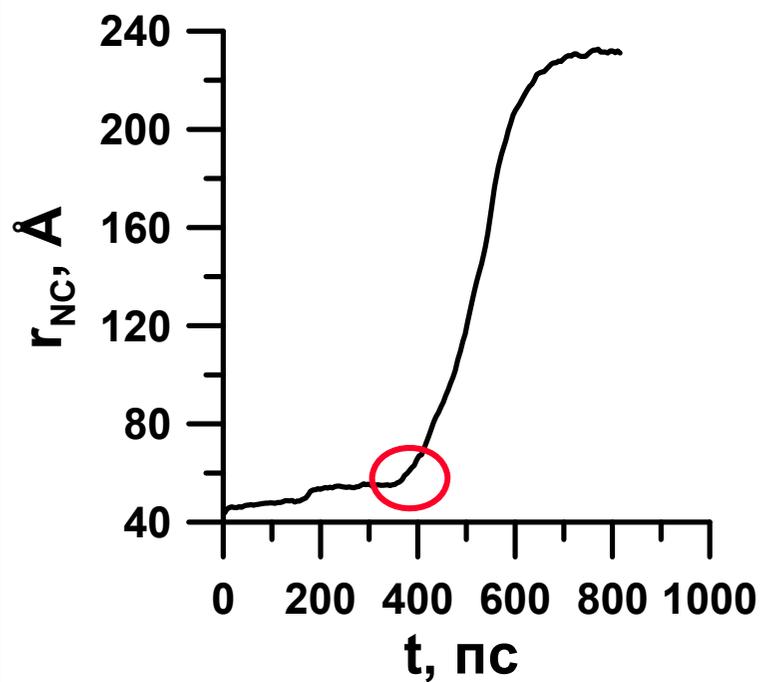
- полноатомная модель белка
- явная модель растворителя
- постоянная температура $T=350$ К (поддерживалась с помощью столкновительного термостата)



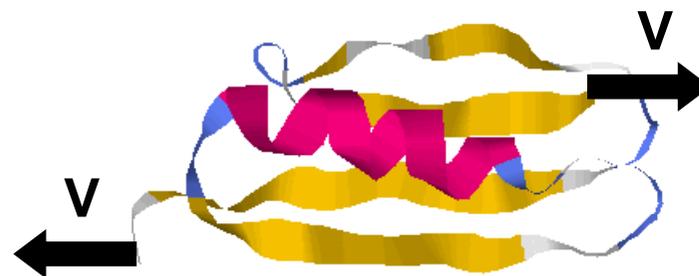
$F = \text{const}$



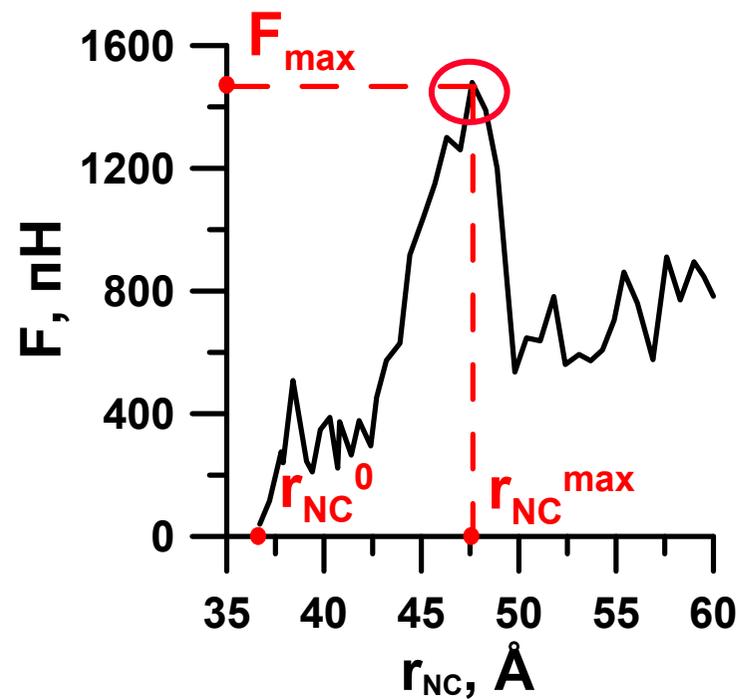
$F = 600, 700, 800, 900$ и 1000 пН



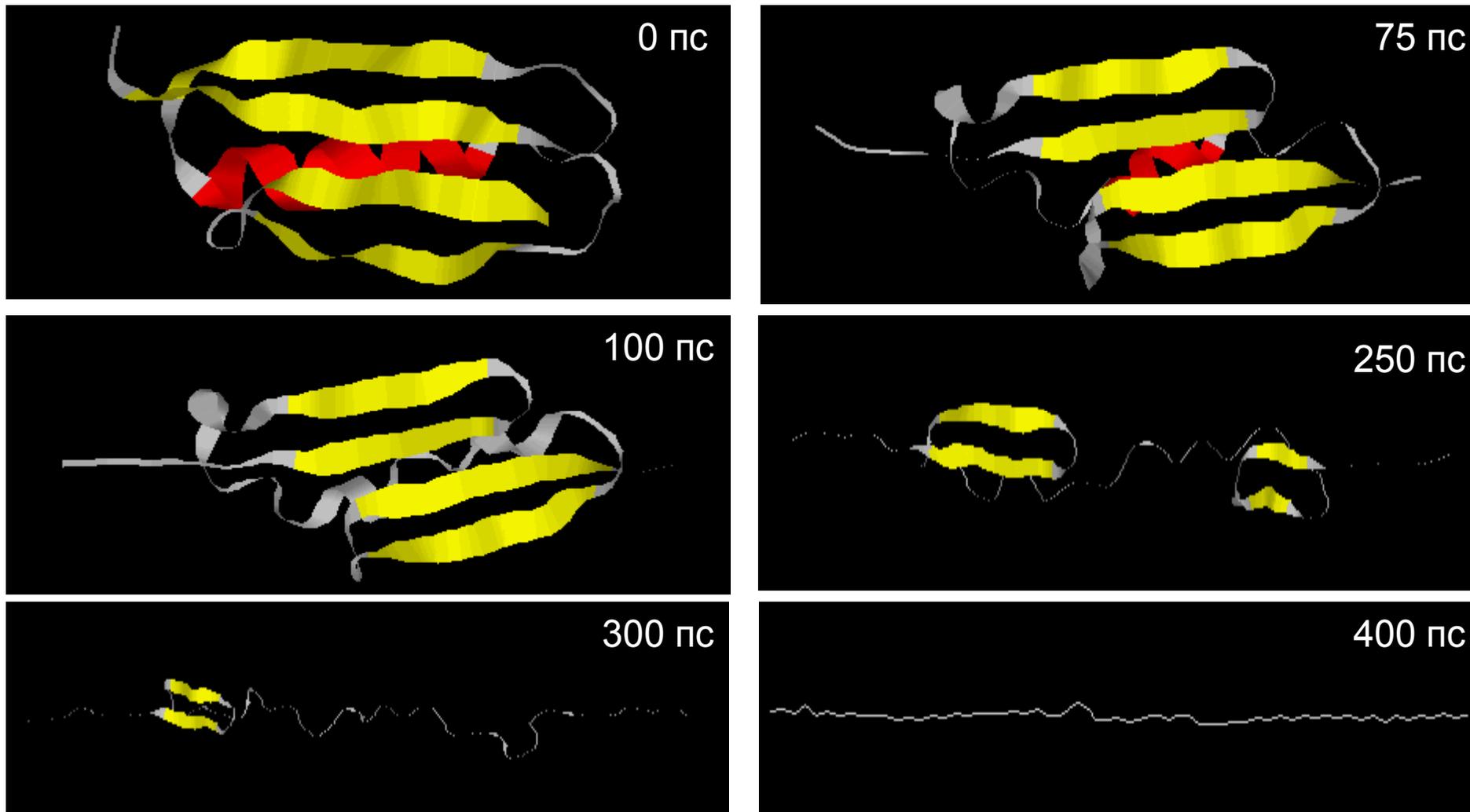
$v = \text{const}$



$v = 0.005, 0.125$ и 0.0625 Å/пс

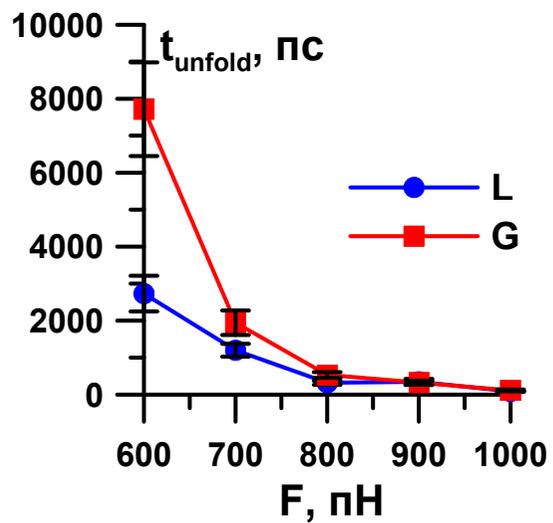
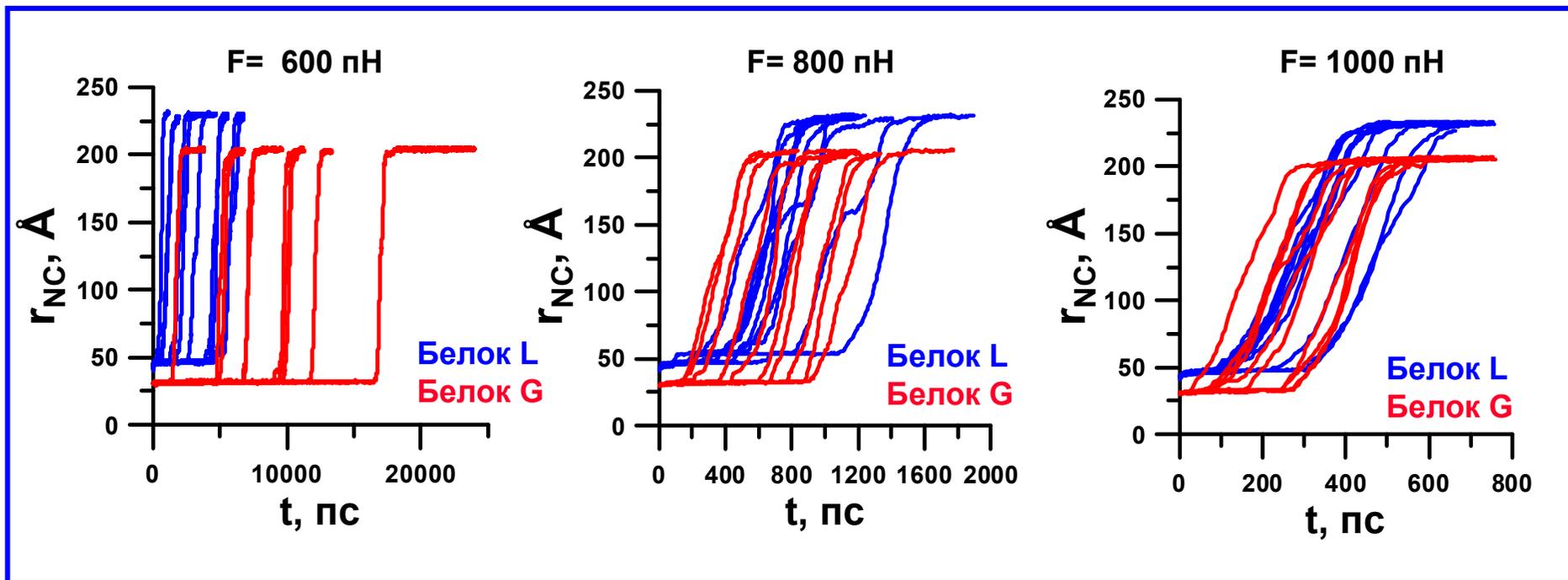


Белок L

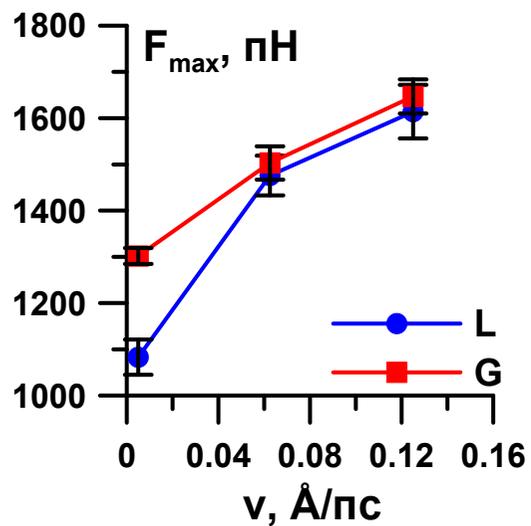
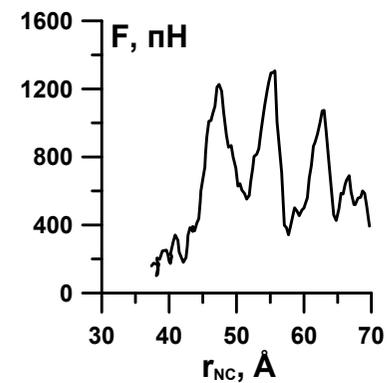
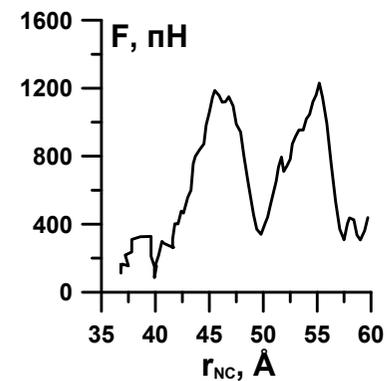
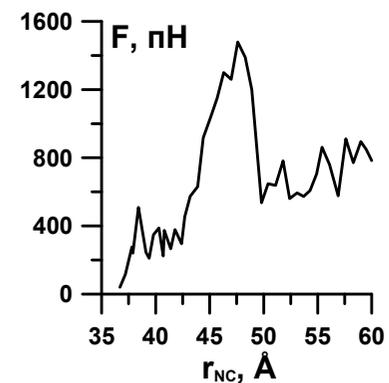
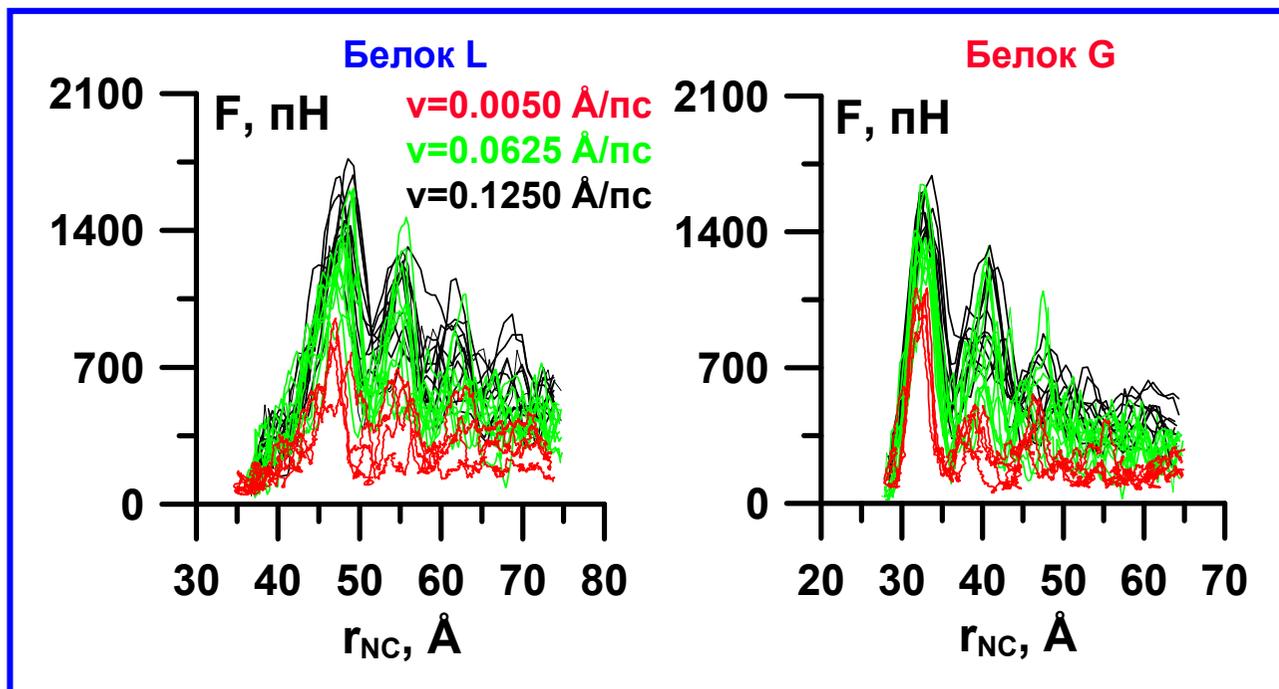


$F=1000$ пН, $T=350$ К

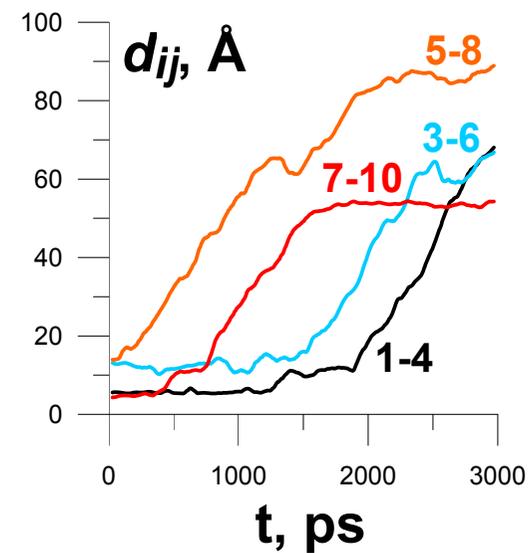
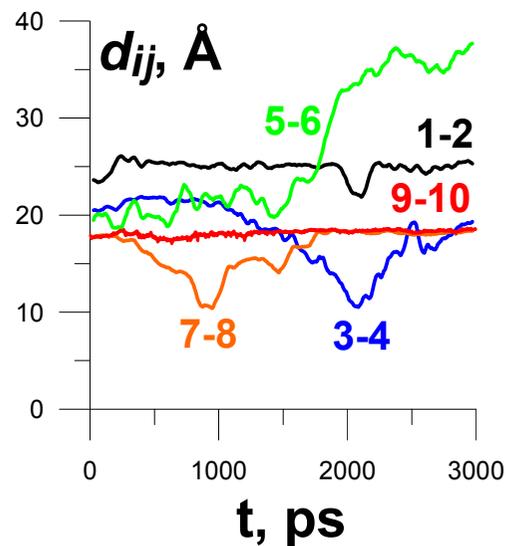
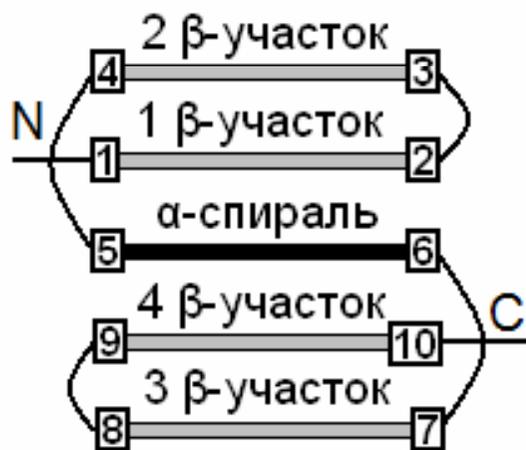
$F = \text{const}$



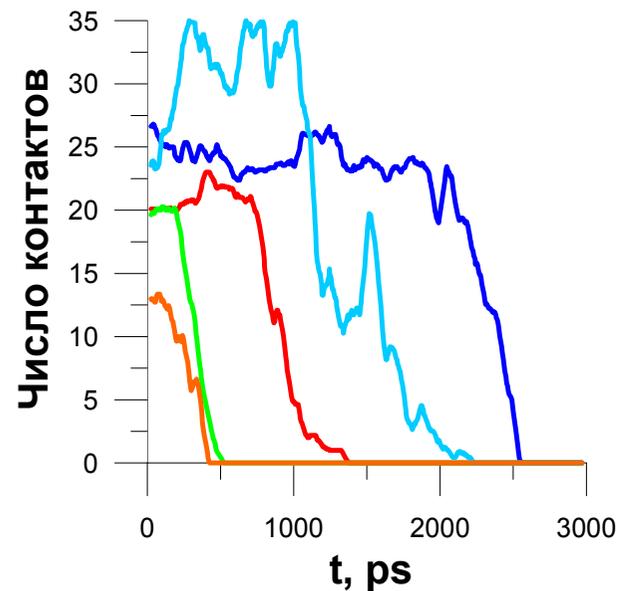
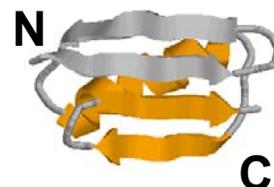
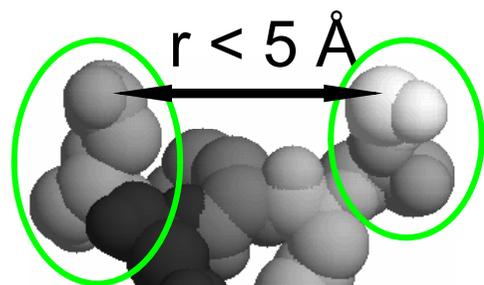
$v = \text{const}$



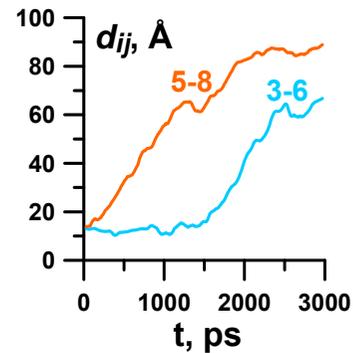
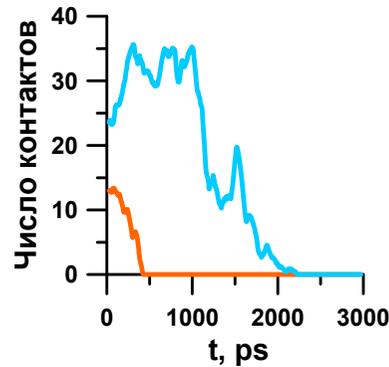
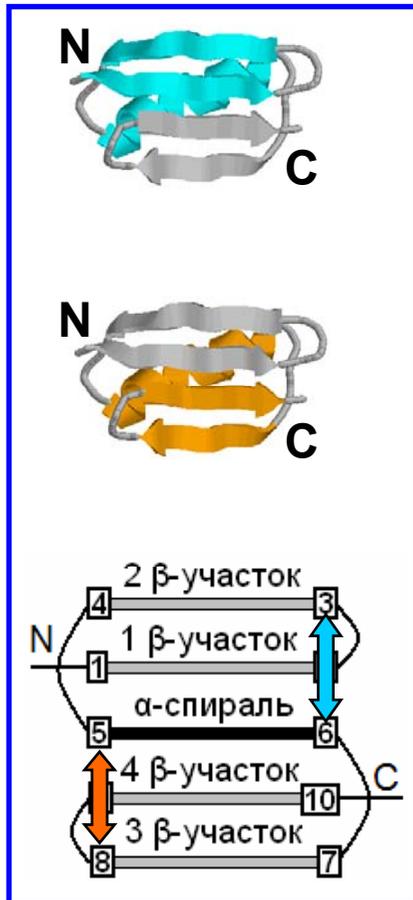
Расстояния между концами элементов вторичной структуры



Контакты между элементами вторичной структуры



Пути механического разворачивания белков L и G

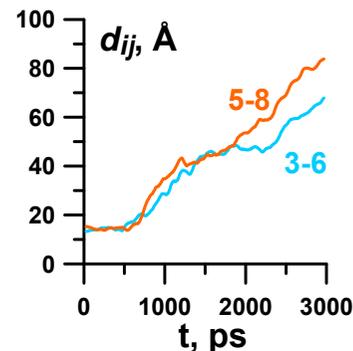
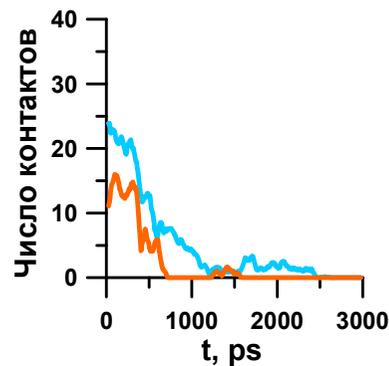


I.

N-шпилька – спираль – C-шпилька

Белок L: в 50 траекториях из 74

Белок G: в 48 траекториях из 74

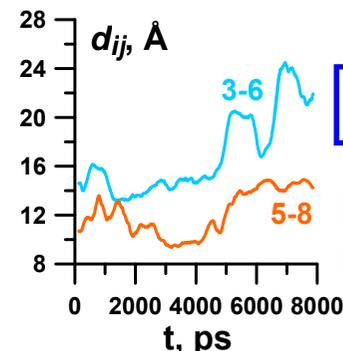
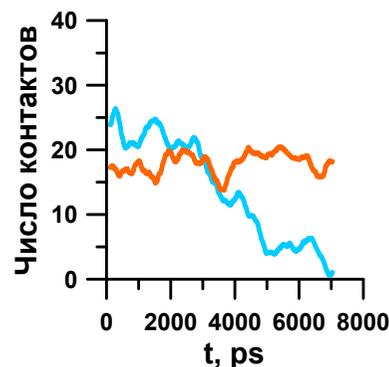


II.

N-шпилька – спираль – C-шпилька

Белок L: в 17 траекториях из 74

Белок G: в 24 траекториях из 74



III.

N-шпилька – спираль – C-шпилька

Белок L: в 7 траектории из 74

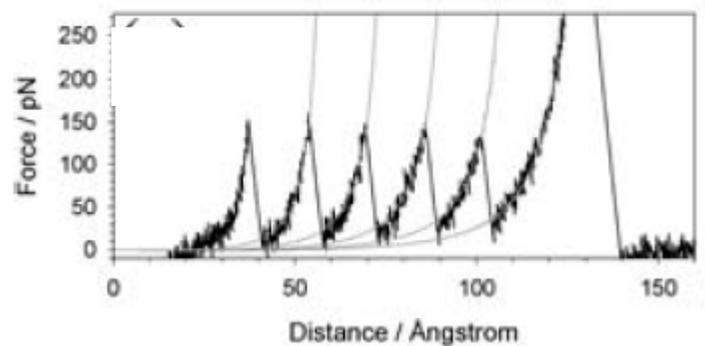
Белок G: в 2 траектории из 74

Выводы:

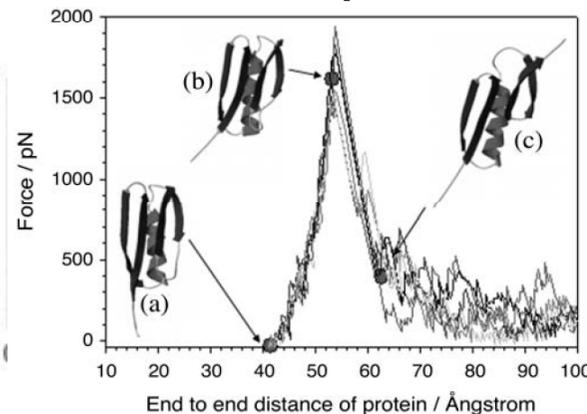
- 1. Обнаружено, что при больших силах и больших скоростях растяжения средние времена и средние максимальные силы, которые требуются для разворачивания белков L и G отличаются незначительно. С уменьшением силы и скорости растяжения для разворачивания белка G в среднем требуется большее время и большая сила, чем для белка L.**
- 2. Показано, что на пути механического разворачивания белков L и G появляются промежуточные состояния.**
- 3. Установлено наличие трех путей разворачивания белков L и G. Во всех случаях нативные структуры белков сначала распадаются на две структурные единицы. В первом случае этими структурными единицами являются [N-шпилька + α -спираль] и [C-шпилька], во втором – [N-шпилька] и [C-шпилька] (α -спираль не примыкает ни к одному из этих блоков) и в третьем – [N-шпилька] и [α -спираль + C-шпилька].**

Brockwell et al (2005) Mechanically Unfolding the Small, Topologically Simple Protein L. *Biophysical Journal*. **89**, 506–519

эксперимент

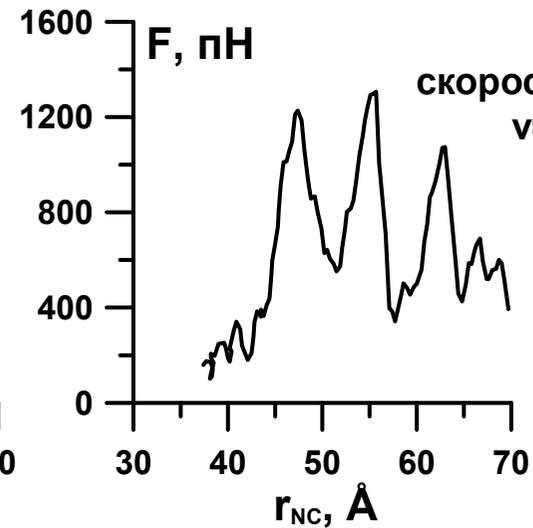
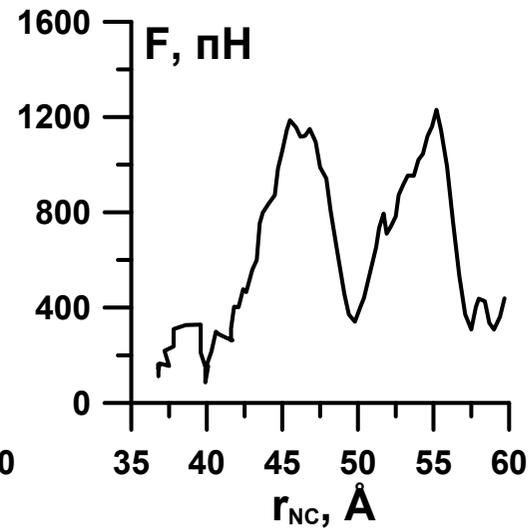
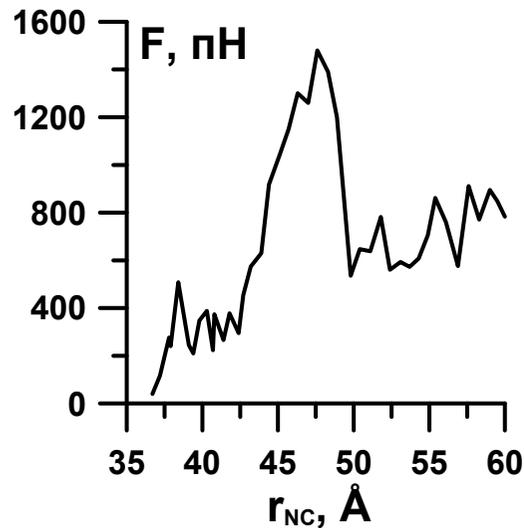


моделирование



Полноатомная модель
белка L и неявная модель
растворителя

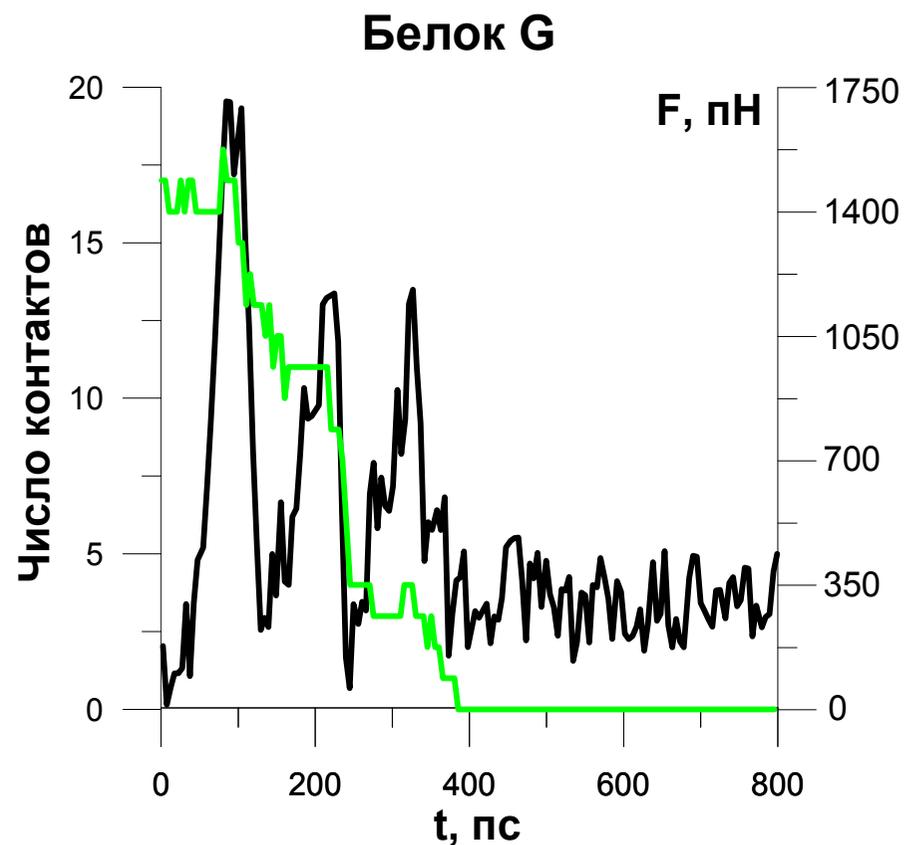
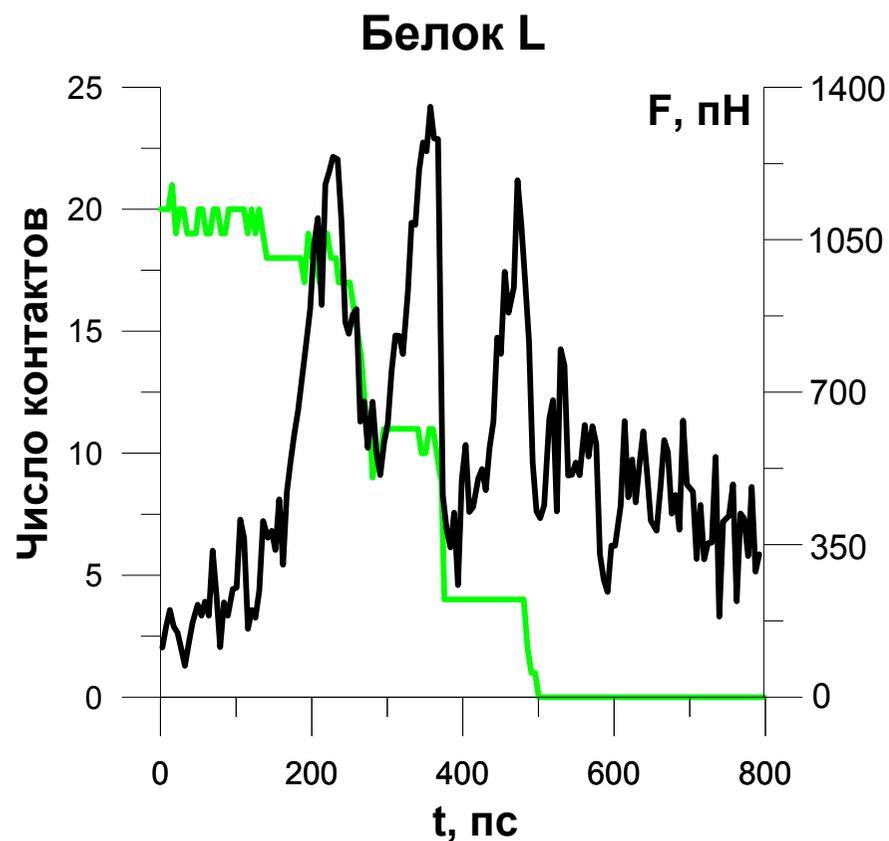
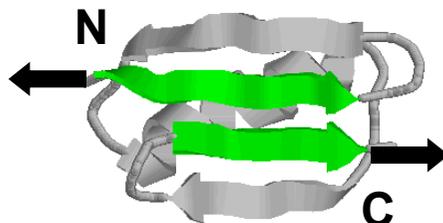
скорость растяжения
 $v=0.04 \text{ \AA/пс}$



Белок L
скорость растяжения
 $v \approx 0.06 \text{ \AA/пс}$

Новые экспериментальные данные: Waldauer et al (2008) Ruggedness in the folding landscape of protein L. *HFSP Journal*. **2**, 388–395

$v=0.0625 \text{ \AA/пс}$



Зависимость силы (черная кривая) и числа контактов между 1 и 4 β -участками (зеленая кривая) от времени.

Метод молекулярной динамики

Уравнения движения Ньютона

$$m_i \frac{d^2 \vec{r}_i}{dt^2} = \vec{F}_i(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N), \quad i = 1, \dots, N$$

m – масса атома

r – радиус-вектор атома

F – сила, действующая на атом

$$\vec{F}_i = - \frac{\partial U(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N)}{\partial \vec{r}_i} + \vec{F}_i^{external}$$

Валентные взаимодействия:

$$U = \sum_{\text{Bonds}} u_b + \sum_{\text{Angles}} u_g + \sum_{\text{Torsion angles}} u_\phi + \sum_{\text{All pairs}} \sum u_{\text{VdW}} + \sum_{\text{All charged pairs}} \sum u_q$$

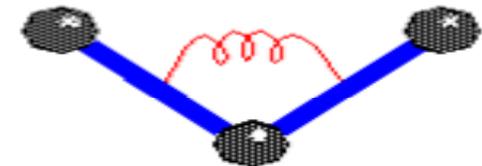
Валентные связи:

$$\sum_{\text{bonds}} K_r (r - r_{eq})^2$$



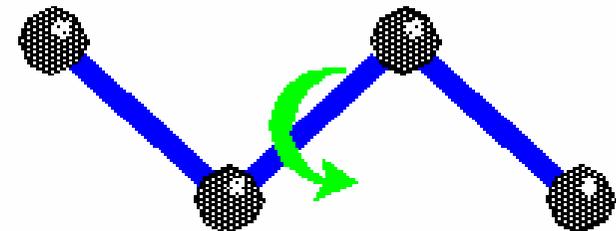
Валентные углы:

$$\sum_{\text{angles}} K_\theta (\theta - \theta_{eq})^2$$



Углы внутреннего вращения:

$$\sum_{\text{dihedrals}} \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\phi - \gamma)]$$

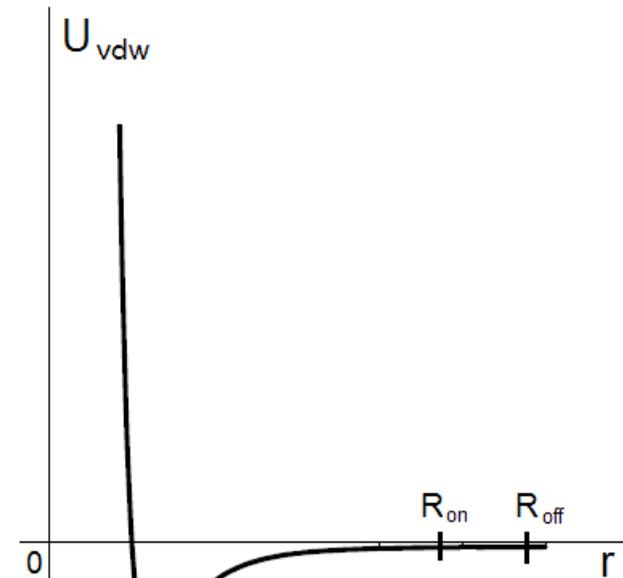


Невалентные взаимодействия:

$$U = \sum_{\text{Bonds}} u_b + \sum_{\text{Angles}} u_g + \sum_{\text{Torsion angles}} u_\varphi + \boxed{\sum \sum u_{vdW}} + \sum_{\text{All charged pairs}} u_q$$

$$U_{vdW} = 4\varepsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \cdot W_{vdW}(r_{ij})$$

$$W_{vdW}(r_{ij}) = \begin{cases} 1, & r_{ij} \leq R_{on} \\ \frac{(R_{off}^2 - r_{ij}^2)^2 \cdot (R_{off}^2 - 3R_{on}^2 + 2r_{ij}^2)}{(R_{off}^2 - R_{on}^2)^3}, & R_{on} < r_{ij} < R_{off} \\ 0, & r_{ij} \geq R_{off} \end{cases}$$

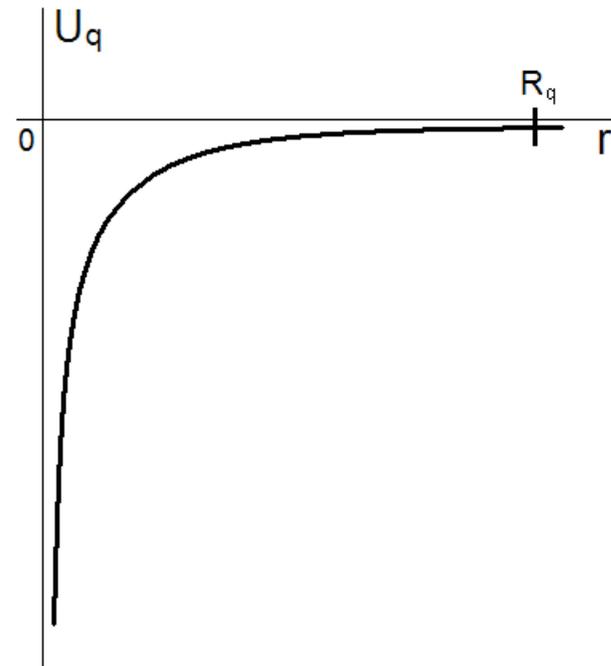


Невалентные взаимодействия:

$$U = \sum_{\text{Bonds}} u_b + \sum_{\text{Angles}} u_g + \sum_{\text{Torsion angles}} u_\varphi + \sum_{\text{All pairs}} \sum u_{\text{VdW}} + \boxed{\sum_{\text{All charged pairs}} \sum u_q}$$

$$U_q = \sum \sum \frac{q_i q_j}{\varepsilon \cdot r_{ij}} \cdot W_q(r_{ij})$$

$$W_q(r_{ij}) = \begin{cases} \left(1 - \frac{r_{ij}}{R_q}\right)^2, & r_{ij} \leq R_q \\ 0, & r_{ij} > R_q \end{cases}$$



Столкновительный термостат

$$\frac{dr_{i,\alpha}}{dt} = v_{i,\alpha}$$

$$m_i \frac{dv_{i,\alpha}}{dt} = -\frac{\partial U}{\partial r_{i,\alpha}} + \sum_k f_{k,\alpha} \cdot \delta(t - t_k)$$

$i = 1, 2, \dots, N; \quad \alpha = \{x, y, z\};$

$\delta(t)$ – дельта функция Дирака;

$f_{k,\alpha}$ - стохастическая импульсная сила

Balabaev N.K., Lemak A.S.//Russ.J.Phys.Chem., 1995. V.69. №1. P.28.

Lemak A.S., Balabaev N.K.//Molecular Simulation. 1995. V.15. P.223.

Столкновительный термостат моделируется посредством столкновений атомов исследуемого объекта с виртуальными частицами массой m_0 :

$$\vec{f}_k = 2 \frac{m_0 m_i}{m_0 + m_i} (\vec{v}_0 - \vec{v}_i),$$

$v_{0,\alpha}$ выбирается из распределения Гаусса

$$P(\vec{v}_0) = \left(\frac{m_0}{2\pi k_B T_{ref}} \right)^{3/2} \cdot \exp\left(-\frac{m_0 \vec{v}_0^2}{2k_B T_{ref}} \right)$$

Разностная аппроксимация уравнений движения

$$\frac{d^2 \vec{r}_i}{dt^2} \approx \frac{\vec{r}_i(t+h) - 2\vec{r}_i(t) + \vec{r}_i(t-h)}{h^2}$$

h – шаг численного интегрирования

$$h \sim 10^{-15} c$$