

МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ В ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ И ПРИКЛАДНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ (БИОИНЖЕНЕРИЯ И НАНОБИТЕХНОЛОГИИ)

К.В. Шайтан, О.В. Левцова, М.П. Кирпичников

Московский государственный университет
shaytan49@yandex.ru

Поступила 30.06.09

Обсуждаются динамические подходы к молекулярному моделированию и дизайну био- и наноструктур: полимеров, пептидов, биомембран, ионных каналов, углеродных нанотрубок и их комплексов с биополимерами. Рассматривается пространственная самоорганизация макромолекул и их комплексов с наночастицами, транспорт ионов через каналы мембранных рецепторов, диффузия в мембранных структурах различных биологически активных молекул. Изучается взаимодействие антимикробных пептидов с биомембранами. Рассмотрена молекулярная динамика взаимодействия углеродных нанотрубок с биологическими мембранами; функционирование молекулярного устройства для доставки молекул через мембрану (наношприц); рефолдинг полимерной цепи при взаимодействии с нанотрубкой.

УДК 539.2;577.3

1. Введение

Молекулярное моделирование является эффективным инструментом в молекулярной биоинженерии, нано-материаловедении и др. [1-6]. Потенциал промышленного развития, основанный на технологиях атомной точности, в ближайшие годы будет связан в значительной степени с компьютерно-ориентированными методами моделирования сложных систем, с дизайном новых функциональных материалов *in silico* (компьютерная симуляция), в особенности, биологических и биомиметических материалов. Благодаря росту компьютерных мощностей сейчас стало возможным исследовать сложные биологические системы, такие как интегральные мембранные белки, комплексы ДНК с белками и многое другое [7-15]. Молекулярное моделирование включает в себя целый ряд методов: молекулярную динамику, квантовую химию, моделирование структуры по гомологии и т.п.

Наибольшее развитие в настоящее время получил метод молекулярной динамики (МД), который позволяет исследовать не только структурные особенности и физико-

химические свойства достаточно сложных (в том числе, биологических) объектов, но и моделировать динамику функциональных процессов [16-18].

В основе метода молекулярной динамики лежит представление о многоатомной молекулярной системе как о классической системе взаимодействующих материальных точек. Потенциальная энергия системы определяется в виде суммы вкладов от различных типов взаимодействий между атомами: потенциальной энергии валентных связей, валентных углов, торсионных углов, кулоновских сил и взаимодействий Ван-дер-Ваальса [19]. Силовое поле часто задается системой парных атом-атомных потенциалов, параметры которых калибруются для определенного типа молекулярных объектов (биологические объекты, полимеры, минералы, металлы и др.).

Решение системы большого числа классических уравнений движения для атомных частиц проводится, как правило, с использованием разностной схемы Верле [20]. Выбор шага интегрирования и длины траектории в значительной степени связан с компромиссом между требуемой точностью и реальными затратами при проведении вычислений. Следует также отметить, что на моделируемую систему обычно накладываются условия постоянства температуры (средней кинетической энергии атомов), а также постоянства давления. Это достигается использованием специальных алгоритмов (термостаты и баростаты). Использование этих алгоритмов должно проводиться при тщательном контроле над равномерным распределением энергии по степеням свободы [21, 22].

В молекулярной динамике мы обычно имеем дело со средними значениями по траекториям или со средними по времени. Экспериментальные величины обычно соотносят со средними значениями по ансамблю. Сравнение этих статистических характеристик системы является весьма деликатной проблемой и требует выполнения ряда условий. Конечно, необходимо иметь дело с достаточно длинными траекториями. Однако легко убедиться, что даже для простейшей полимерной цепи из 100 звеньев времени жизни Вселенной и самого мощного суперкомпьютера не хватит, чтобы перебрать все возможные конформации (порядка 3^{100}). Поэтому в молекулярном моделировании крайне важна физическая составляющая при поставке численного эксперимента, выбор специальных условий, обеспечивающих достаточно полное сканирование значимой части конфигурационного пространства системы. Этот подход, в частности, был применен при моделировании биомембран [23].

Наряду с равновесной молекулярной динамикой, где атомы движутся под действием только межатомных взаимодействий, используется также и управляемая (или, направленная) молекулярная динамика, позволяющая изучать влияние дополнительных внешних силовых воздействий и специальных граничных условий [24, 25]. Однако здесь требуется более четкая физическая постановка задачи и дополнительные аналитические усилия при интерпретации результатов.

Ниже в статье кратко обрисованы некоторые области использования молекулярной динамики для исследования систем разной сложности: от простых полимеров и отдельных аминокислотных остатков до нанобиосистем, в рамках исследований, проводимых на кафедре биоинженерии Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Для упрощения чтения данной статьи мы приводим в приложении краткий Словарь используемых терминов.

Фолдинг модельных полимерных структур

Закономерности формирования пространственной структуры полимеров и биополимеров остаются малоизученными, несмотря на их важнейшую роль при функционировании биологических систем. Методами молекулярной динамики в настоящее время доступно исследование фолдинга (сворачивания) относительно простых моделей полимерной цепи. Отметим, что пространственная самоорганизация характерна даже для обычной свободно сочлененной молекулярной цепи с ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями между звеньями.

Ниже описана динамика фолдинга в модельных системах – гомополимерных цепях. В качестве звеньев цепи использовались модельные атомы с массой 32 а.е.м. Для невалентных взаимодействий звеньев цепи использовался потенциал 6-12 (Леннард-Джонса). Как было показано в [26], в таких системах при определенных и достаточно четко формулируемых условиях могут самопроизвольно формироваться структурные элементы, некоторые из которых имеют геометрическое сходство с элементами вторичной структуры белков и нуклеиновых кислот. Быстрое формирование регулярных пространственных укладок наблюдается только при определенных начальных конфигурациях. Тип конечной структуры зависит от соотношения всего лишь двух параметров взаимодействия: длины связей между звеньями и эффективного радиуса мономерных звеньев.

Вычислительные эксперименты по молекулярной динамике фолдинга показали, что вытянутая цепь может достаточно быстро формировать целый ряд упорядоченных структур. Тип конечной структуры зависит от отношения параметра потенциала Леннард-Джонса (LD) $r_{\min}$, к равновесной длине b валентной связи. Среди возникающих структур наблюдаются правые и левые спирали, двойные спирали, шпильки, а также структуры, состоящие из свернутых петель. Целый ряд этих структур имеет геометрическое сходство с элементами вторичной структуры полипептидов и нуклеиновых кислот.

Для цепочки из 100 звеньев при глубине потенциала LD-взаимодействия $\epsilon = 10$ ккал/моль и включенных взаимодействиях между звеньями с индексами i и $i + 2$, при значениях $r_{\min} < b$, образуются очень компактные структуры, которые не поддаются определенной классификации. На интервале $b \leq r_{\min} < 2 \cdot b$ образуются спиральные (точнее, винтовые) структуры, напоминающие α -спирали пептидов. В силу сферической симметрии LD-потенциалов левые и правые спирали образуются с равной вероятностью. Кроме того, могут формироваться структуры, в которых сочетаются и левые, и правые спирали. При значениях $r_{\min} > 2b$ простые спирали становятся менее компактными и менее устойчивыми и могут легко перестроиться в более сложные структуры, такие, как двойные спирали в составе шпилек, сходных со шпильками, которые формируются у РНК и ДНК. Здесь же могут формироваться различные структуры другого уровня сложности, где структурной единицей являются петли. Подобные структуры наблюдаются у молекул РНК.

При отключенных LD-взаимодействиях между звеньями с индексами i и $i + 2$ (рис. 1) все конечные структуры схожи с конфигурациями, полученными в первом варианте, однако они формируются при других значениях $r_{\min}$.

Инициирование структурной самоорганизации происходит на концах линейного полимера как на наиболее подвижных участках цепи. В замкнутых цепочках инициирование структурообразования происходит в местах конфигурационных дефектов (резкого

изгиба). Были рассмотрены две модели: замкнутая в виде плоского кольца цепь из 200 звеньев, а также замкнутая цепь, лежащая в двух пересекающихся под углом 60° плоскостях.

При отсутствии в начальной конфигурации замкнутой цепи выраженных дефектов, упорядоченные структуры формируются в произвольных участках цепи. Изгиб цепи под острым углом в данной модели инициирует образование спиральных структур непосредственно на месте внесенного дефекта.

Таким образом, в рамках данной модели процесс структурной самоорганизации и конечная структура зависят не только от параметров системы, но и от начального состояния.

Представляет интерес также взаимодействие двух полимерных цепей, в результате которого формируются спиральные структуры, подобные двойным спиралям ДНК. В одном из рассмотренных вариантов начального состояния концевой участок первой цепи исходно был сближен с концевым участком другой цепи (рис. 2а). При такой начальной конфигурации в процессе сворачивания цепи меняют взаимную ориентацию, то есть изначально сближенные концы цепи оказываются на противоположных концевых участках двойной спирали. Одна цепь движется вдоль другой, в результате чего в системе накапливается внутреннее напряжение, которое может впоследствии исказить структуру двойной спирали.

Во втором варианте - начальное состояние системы сформировано расположенными параллельно цепями (рис. 2б). Двуспиральные структуры при указанных параметрах взаимодействия формируются относительно быстро (десятки пс), независимо от длины цепей. В силу сферической симметрии LD-потенциалов полимерные цепи могут формировать структуры, в которых чередуются левые и правые двойные спирали, разделенные короткими неспирализованными участками. Система стремится преобразовать такую структуру в однородную, содержащую либо левую, либо правую двойную спираль. Перестройка структуры происходит за сравнительно большие времена.

Отдельного рассмотрения заслуживает способность простого модельного полимера к рефолдингу при взаимодействии со вспомогательной наноструктурой. В качестве базовой модели системы, способствующей быстрой специфической укладке полимерной цепи независимо от начальной конфигурации, была рассмотрена нанотрубка, взаимодействующая с линейным полимером. При определенных параметрах LD-взаимодействия [26], полимерная цепь, проходя через нанотрубку, разворачивается, а затем формирует новую упорядоченную структуру. Система функционирует только при определенном строении поверхности потенциальной энергии взаимодействия модельной нанотрубки с цепью (рис. 3).

Энергетическая поверхность системы формирует «ущелье», которое расширяется ближе к выходу из нанотрубки. Также для выхода полимерной цепи важно, чтобы уровень потенциальной энергии цепи на входе в нанотрубку был выше, чем на выходе. После окончания сборки, взаимодействие между полимерной цепью и нанотрубкой должно быть отключено, то есть данный процесс является энергезависимым.

Биополимеры, как правило, представляют собой гетерополимеры, то есть они состоят из различных мономеров. Боковые заместители аминокислот, составляющих белки и полипептиды, имеют различные размеры и заряды. Хорошо известно, что отдельные элементы

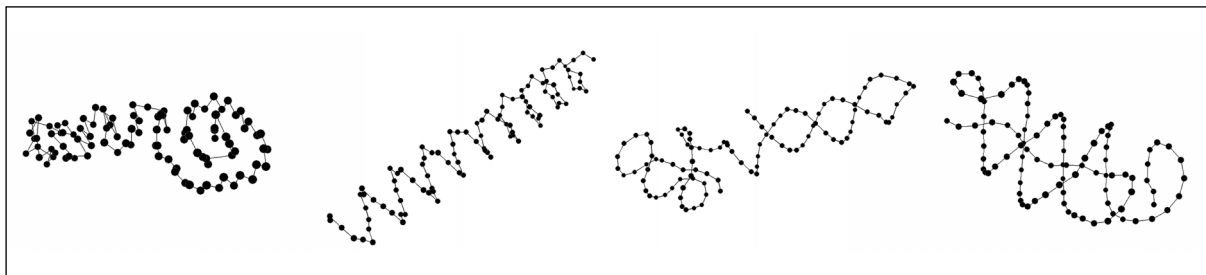


Рис. 1. Типы конечных структур, формирующихся при разных значениях параметра $r_{\min}$ из вытянутой цепочки с выключенными LD-взаимодействиями между звеньями с индексами i и $i+2$. Слева направо: $r_{\min} = 3 \text{ \AA}$, $r_{\min} = 5 \text{ \AA}$, $r_{\min} = 6 \text{ \AA}$, $r_{\min} = 6.5 \text{ \AA}$. Во всех случаях равновесная длина валентной связи $b = 2 \text{ \AA}$

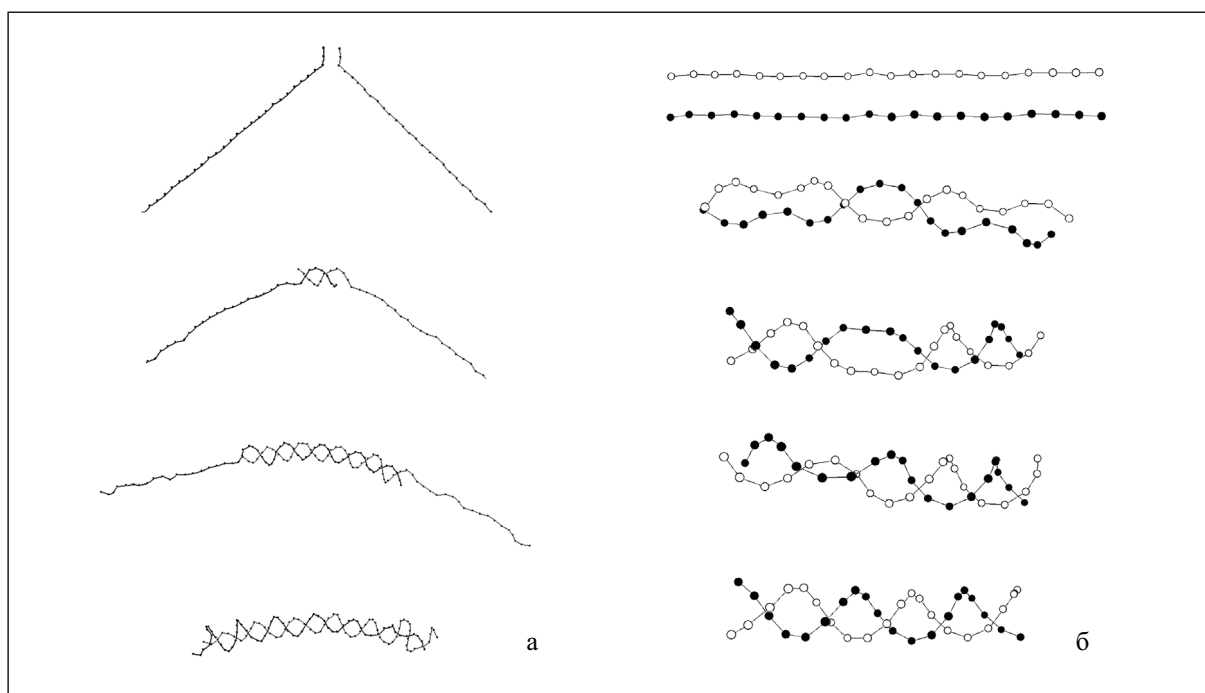


Рис. 2. Процесс формирования в двойной спирали при взаимодействии двух цепочек с различными вариантами начального состояния системы: а) концевые участки цепей сближены. Сверху вниз: 0 пс, 40 пс, 260 пс, 340 пс.; б) Цепи параллельны. Сверху вниз: 0 пс, 30 пс, 695 пс, 1495 пс, 1562 пс.

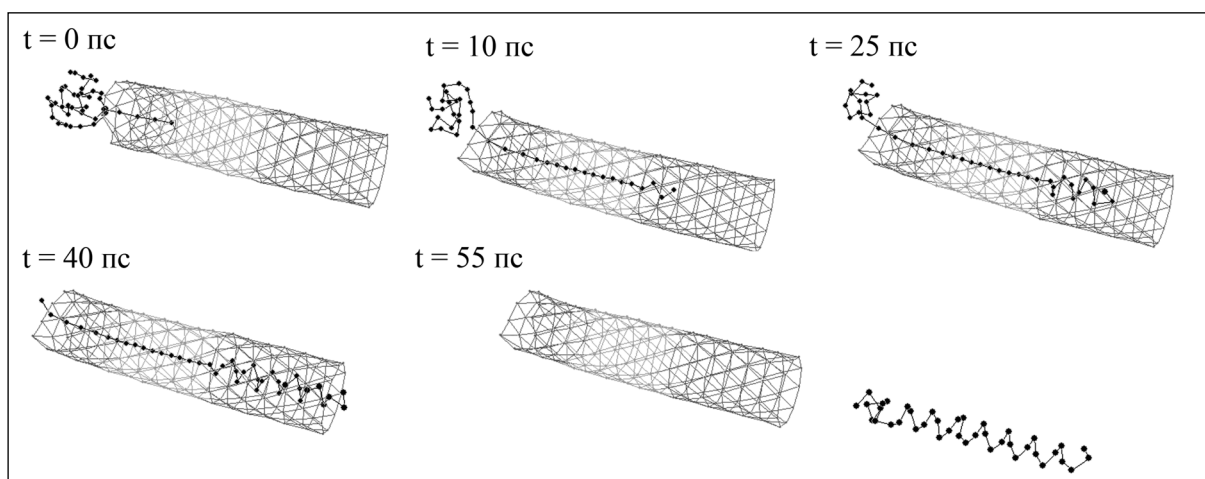


Рис. 3. Процесс рефолдинга полимерной цепочки при взаимодействии с нанотрубкой в разные моменты времени

вторичной структуры белков могут быть сформированы аминокислотами с сильно различающимися параметрами. Это свидетельствует об устойчивости данных структурных элементов к флуктуации параметров мономеров, входящих в их состав. Между тем, в третичной структуре биополимеров, как правило, присутствует несколько различных элементов вторичной структуры, определяемых первичной последовательностью мономеров.

Для более корректного воспроизведения структур, формируемых биополимерами, модель требует дальнейшего усложнения: в ней должна присутствовать основная цепь, определяющая способность системы к структурной самоорганизации, и различающиеся по параметрам взаимодействия боковые радикалы, которые определяют конечную гетерогенную структуру биополимера и стабилизируют отдельные структурные элементы.

Введение боковых групп увеличивает разнообразие конечных трехмерных структур, при этом образование определенных структур определяется параметрами взаимодействия между звеньями цепи. Взаимодействие боковых заместителей может приводить к формированию уникальных типов структур, не наблюдаемых у неразветвленных цепей, таких как плоские структуры, схожие с β -структурами белков и полипептидов [26].

Динамические свойства аминокислотных остатков

Формирование пространственной структуры и функциональная активность белковых полимеров тесно связаны с особенностями их динамического поведения. В настоящее время не вполне ясным остается вопрос: какие, и в какой мере индивидуальные свойства отдельных аминокислотных остатков важны для формирования трехмерных белковых структур и их биологической активности? Насколько критичной может оказаться замена природных аминокислотных остатков на их аналоги, гомологи или изомеры? Этот, фундаментальный с точки зрения биоинженерии, вопрос может иметь и практические приложения при создании белков *de novo* и других принципиально новых биологически активных структур.

В рассматриваемом контексте важно знать конформационные и динамические свойства элементарных звеньев – аминокислотных остатков и их модификаций, а также влияние остатков друг на друга [27-33]. В этом отношении удобны в качестве моделей для исследования монопептиды и дипептиды, состоящие из одного или двух аминокислотных остатков, связанных с N-конца с ацетилом, а с C-конца – с метиламином [33-35]. Относительно небольшое число атомов позволяет достаточно подробно изучить различные варианты динамического поведения системы за счёт вариации внешних параметров. Такие структуры могут быть изучены методами молекулярной динамики весьма подробно, причем, как изолированно, так и в присутствии явно заданных растворителей (т.е., если в систему взаимодействующих атомов явно входят молекулы растворителя).

Обычно для характеристики конформационных возможностей аминокислотных остатков пользуются картами Рамачандрана [36-38], которые отображают разрешенные и запрещенные области для пары торсионных (рис. 4).

Сечения Пуанкаре (или карты уровней свободной энергии) у всех монопептидов в подпространстве торсионных углов ϕ - ψ имеют схожую структуру. На рис. 5 представлены карты 2-D сечений Пуанкаре для глютаминовой кислоты. Наиболее темные области на рисунках соответствуют наибольшему заселению конформаций. Углы отложены от -360 до $+360$ градусов, для более наглядного представления переходов между локусами с минимальной свободной энергией.

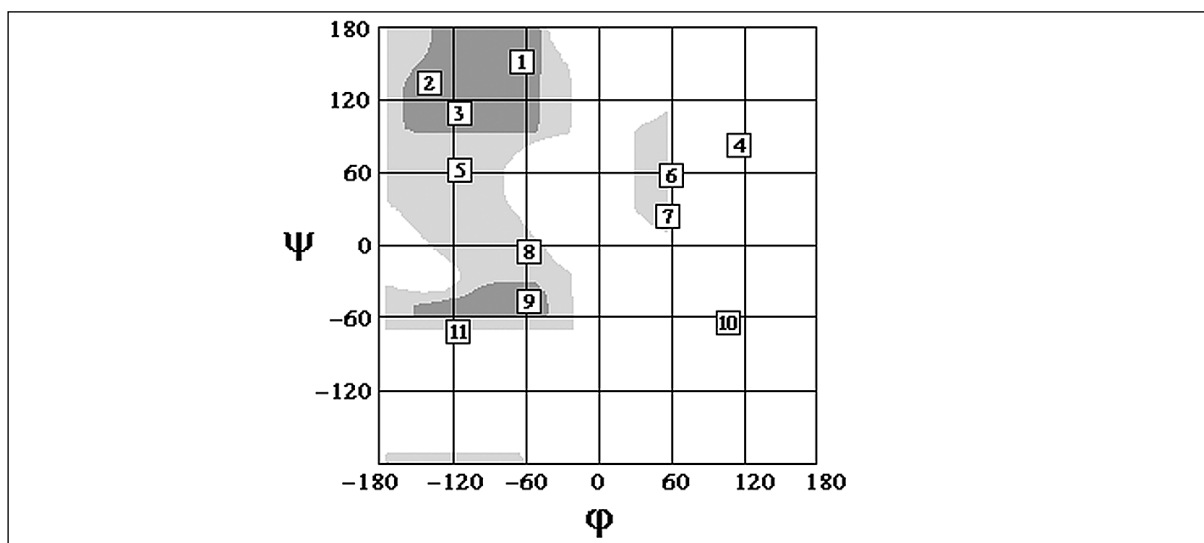


Рис. 4. Карта Рамачандрана для аминокислотного остатка по углам ϕ (вокруг связи $\text{NH}-\text{C}_\alpha$) и ψ (вокруг связи $\text{C}_\alpha-\text{CO}$). Конформации, которые могут быть достигнуты любым аминокислотным остатком, представлены темно-серым цветом. Большинство аминокислот может заселять области, обозначенные светло-серым цветом. Белым обозначены запрещенные конформации, которые, тем не менее, могут встречаться в некоторых белковых структурах. Обозначения областей: 1 – вторая спираль полипролина (коллагеновая спираль), 2 – антипараллельная β -конформация, 3 – параллельная β -конформация, 4 – левая π -спираль, 5 – правая 2_7 -спираль, 6 – левая α -спираль, 7 – левая 3_{10} -спираль, 8 – правая 3_{10} -спираль, 9 – правая α -спираль, 10 – левая 2_7 -спираль, 11 – правая π -спираль

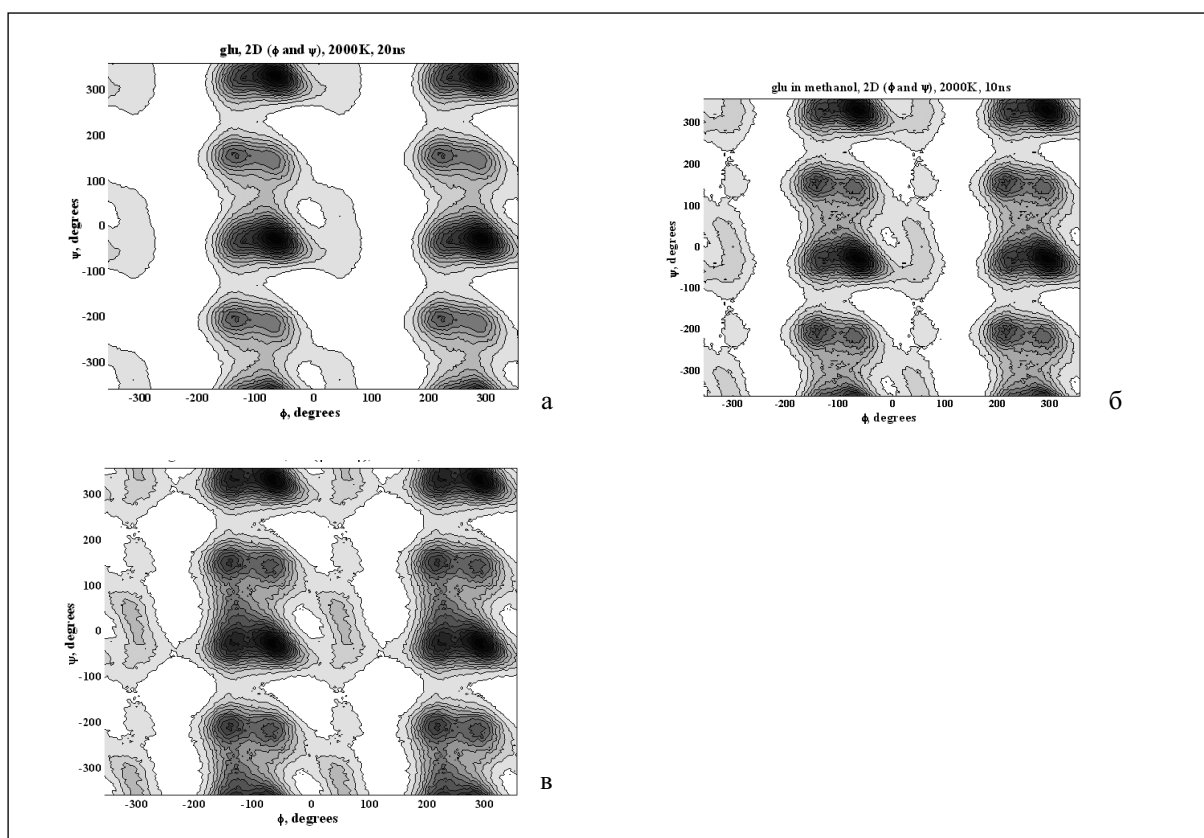


Рис. 5. Двумерные сечения Пуанкаре для торсионных углов ϕ (ось абсцисс) и ψ (ось ординат), в градусах (-360, 360) остатка глутаминовой кислоты. Наиболее заселенные области конформационного пространства выделены более темным цветом: А – пептиды в столкновительной среде, Б – в метаноле, В – в воде

Для всех аминокислотных остатков кроме пролина наиболее заселёнными оказываются области, соответствующие β -конформациям и правой α -спирали. Эти локусы связаны коллективной степенью свободы, причем переход между ними осуществляется через образование правой 2_7 -спирали. Область, соответствующая левой α -спирали, а также левой 3_{10} -спирали наиболее чувствительна к окружению, при этом внутреннее вращение по углу ϕ менее чувствительно к выбору растворителя, по сравнению с углом ψ . В целом, присутствие растворителя сглаживает рельеф потенциальной поверхности и увеличивает набор вероятных конформаций при данных условиях. Этот эффект обсуждался ранее в литературе [39, 40]. В частности, рассматривалась возможность образования водородных связей внутри молекулы монопептида между NH и C=O группами, а также между соответствующими группами молекул монопептида и растворителя. В столкновительной среде состояние, в котором существует водородная связь внутри монопептида, оказывается более выгодным. В растворителях более выгодным оказывается образование водородных связей не внутри молекулы монопептида, а между молекулами растворителя и монопептида.

Эффект влияния растворителей на распределение свободной энергии может быть проиллюстрирован кластерным анализом двумерных карт свободной энергии для углов ψ и ϕ в столкновительной среде, водном окружении и метаноле (рис. 6). Наибольшие различия наблюдаются для остатков глицина и пролина. В столкновительной среде четко выделяются следующие группы: 1) аминокислотные остатки, обладающие небольшими боковыми радикалами, и остатки, имеющие кольца в составе боковых радикалов или три заместителя, присоединённых к шарнирной CH_2 группе, 2) аминокислотные остатки, боковые радикалы которых несут положительный заряд, 3) аминокислотные остатки с отрицательно заряженными боковыми радикалами (глутаминовая и аспарагиновая кислоты), 4) глицин, 5) пролин. В метаноле можно выявить четыре группы однотипных сечений Пуанкаре: 1) глицин, 2) пролин, 3) аргинин, лизин, гистидин, 4) остальные аминокислотные остатки. В воде поведение торсионных углов в монопептидах становится более однотипным. Различия наблюдаются лишь у пролина и глицина.

При рассмотрении карт свободной энергии для монопептидов в различных растворителях видно, что для монопептидов не возникает новых пространственных форм, а растворитель лишь смещает равновесие конформаций в сторону тех структур, которые эффективнее взаимодействуют с молекулами растворителя.

Для исследования взаимовлияния аминокислотных остатков в пептидной цепи удобной моделью являются дипептиды, которые позволяют провести сравнительный анализ всех 400 доступных вариантов пар. Для исследования взаимовлияния все 400 дипептидов были разбиты на 20 групп, в которых аминокислота с N-конца была одинакова для всех 20 дипептидов одной группы, а аминокислота с C-конца варьировалась.

По взаимовлиянию аминокислотные остатки можно разделить на три группы: с незаряженными боковыми радикалами, с заряженными (arg, lys, asp, glu, asn, gln) и пролин.

Подвижность боковых радикалов незаряженных аминокислотных остатков слабо подвержена влиянию со стороны соседних аминокислотных остатков. На подвижность по углам ϕ и ψ N-концевой аминокислоты сильнее всего влияют глутаминовая и аспарагиновая кислоты, а также пролин (рис. 7).

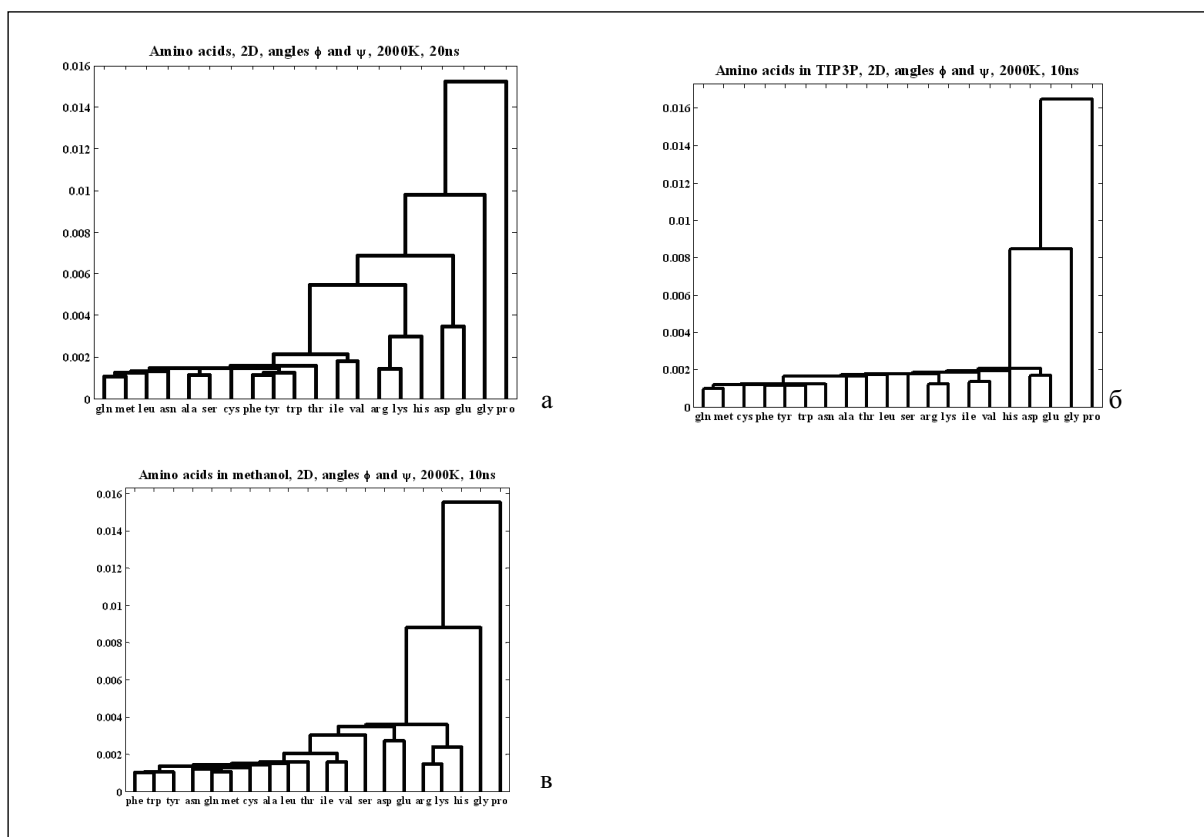


Рис. 6. Кластерные деревья для сравнения 2-D сечений Пуанкаре по углам ϕ и ψ :в столкновительной среде (А), в воде (Б) и в метаноле (В)

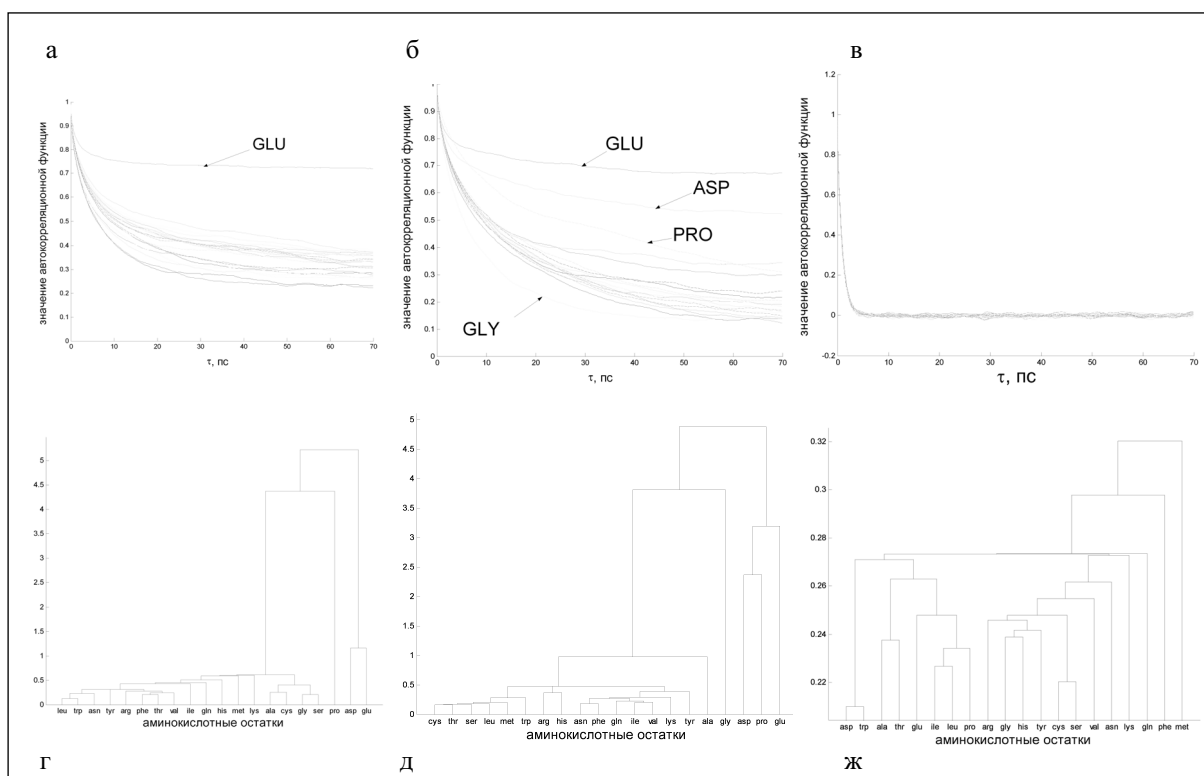


Рис. 7. Автокорреляционные функции углов ϕ (А), ψ (Б) и χ_1 (В) (первого аминокислотного остатка) для дипептидов ala-X (где X – любая аминокислота). Кластерный анализ по автокорреляционным функциям углов ϕ (Г), ψ (Д) и χ_1 (Е) (первого аминокислотного остатка)

Аспарагиновая и глутаминовая кислоты замедляют вращение аминокислотного остатка аланина по торсионным углам φ и ψ , что, вероятно, связано с образованием водородных связей между водородами у атомов азота и карбонильными кислородами боковых радикалов аспартата и глутамата. Вероятность образования водородной связи с атомом водорода остатка аланина в случае с глутаматом выше, т.к. более длинный боковой радикал облегчает это взаимодействие (рис. 8). Это приводит к тому, что глутамат в большей степени влияет на поведение угла φ , чем аспартат.

Одноименно заряженные аминокислотные остатки оказывают наиболее сильное влияние на подвижность соседних боковых радикалов. Характеристическое время автокорреляционных функций по углу φ и χ исследуемого остатка (с N-конца дипептида) значительно меньше в случае, когда с C-конца расположен аминокислотный остаток с одноименно заряженным боковым радикалом (рис. 9). Это свидетельствует о том, что отталкивание боковых радикалов увеличивает подвижность боковых радикалов и N-конца.

Поведение автокорреляционных функций для угла ψ показывает, что аминокислоты glu, asp и pro влияют на заряженный аргинин так же, как и на незаряженные аминокислотные остатки, за счет образования водородных связей. Одноименно заряженные аминокислотные остатки сильно ограничивают вращение по углу ψ , причем взаимное отталкивание препятствует свободному вращению вокруг связей основной цепи между C_α -атомами.

Наибольшему влиянию на подвижность бокового радикала со стороны соседнего аминокислотного остатка подвержены аминокислоты с относительно большими боковыми радикалами. В случае незаряженных аминокислотных остатков подвижность бокового радикала уменьшается, независимо от типа соседней аминокислоты. Заряженные аминокислотные остатки испытывают наибольшее влияние со стороны одноименно заряженных аминокислот, под действием кулоновских взаимодействий подвижность радикала резко увеличивается.

Мембранные ионные каналы

Трансмембранный ионный транспорт является важнейшим регулятором физиологического состояния клетки. Важнейшими структурами, обеспечивающими эту регуляторную функцию, являются лиганд-зависимые ионные каналы мембранных рецепторов [41]. Ниже рассмотрены примеры моделирования хлорного и натриевого каналов глицинового и ацетилхолинового рецептора соответственно.

Глициновые и ацетилхолиновые рецепторы относятся к семейству лиганд-зависимых ионных каналов, обеспечивающих быструю передачу сигнала через нейроны в различные отделы центральной нервной системы [41, 42]. Эти лиганд-зависимые рецепторы имеют пентамерную белковую структуру, как и многие другие лиганд-зависимые рецепторы. Мембранная часть каждой субъединицы рецептора (рис. 10А) состоит из четырех α -спиралей и содержит четыре трансмембранных домена TM1-TM4 [43-46].

Активация глициновых рецепторов обеспечивается связыванием рецептора с глицином, что вызывает открытие хлорного канала [47, 48]. Для ацетилхолиновых рецепторов лигандом является ацетилхолин. Считается, что основную роль в миграции ионов играют спирали TM2, непосредственно формирующие пору канала и, таким образом, являющиеся наиболее важным компонентом рецептора с точки зрения функциональной активности. С мутациями в субъединицах рецепторов связаны некоторые патологии.

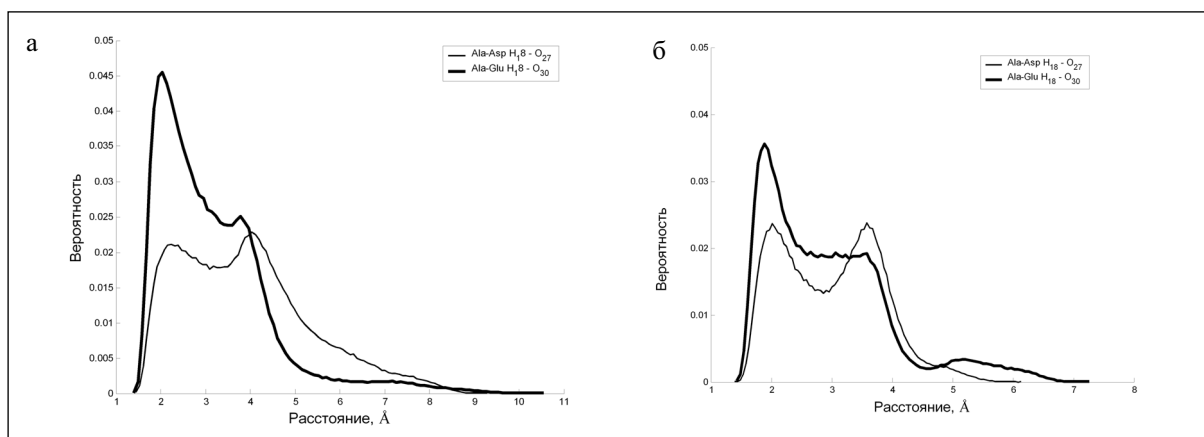


Рис. 8. А. Распределение вероятности расстояния между атомом водорода аланина и атомом кислорода боковых цепей аспартата и глутамата. Б. Распределение вероятности расстояния между атомом водорода и атомом кислорода боковой цепи аспартата и глутамата

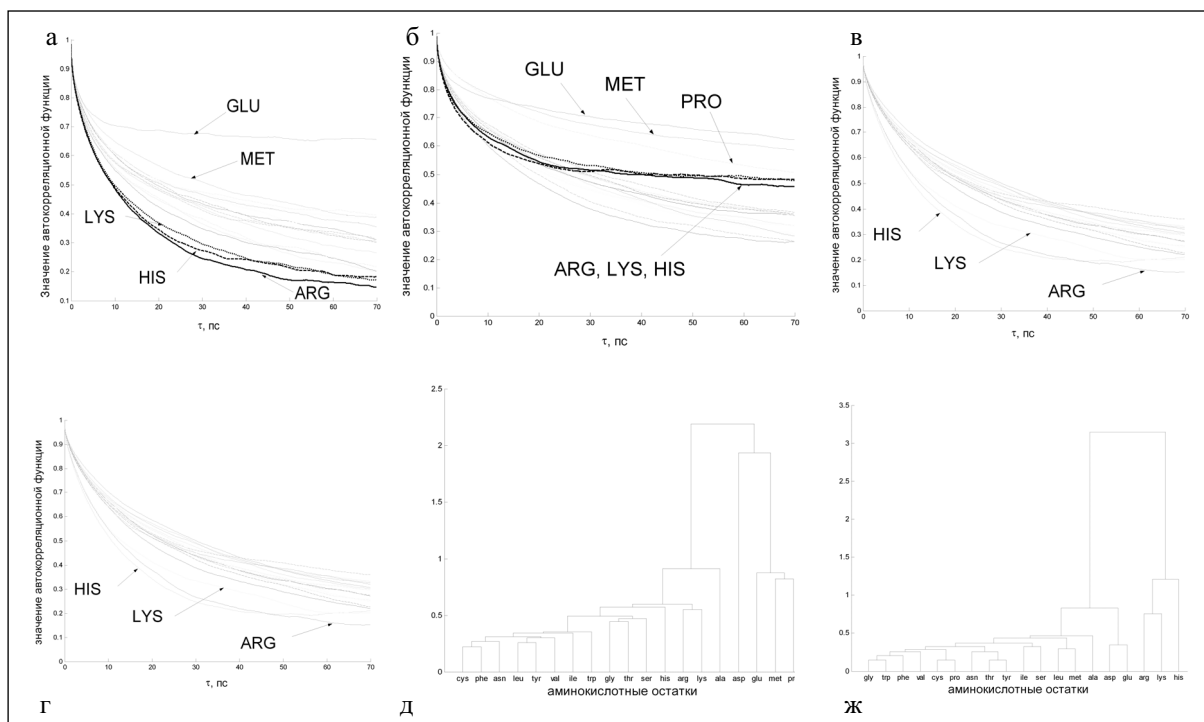


Рис. 9. Автокорреляционные функции углов $\phi(A)$, $\psi(B)$ и $\chi_1(B)$ (первого аминокислотного остатка) для дипептидов arg-X (где X – любая аминокислота). Кластерный анализ по автокорреляционным функциям углов $\phi(G)$, $\psi(D)$ и $\chi(E)$ (первого аминокислотного остатка)

Методами молекулярной динамики можно исследовать отдельные этапы процесса функционирования подобных рецепторов, например, открытие ионного канала и динамику движения ионов через пору канала [49-52].

Ацетилхолиновый рецептор

Из лиганд-зависимых ионных каналов наиболее подробно исследован мышечный никотиновый ацетилхолиновый рецептор (nAChR). Трёхмерная структура трансмембранного домена рецептора, выделенного из электрического органа электрического скака *Torpedo*, была определена в закрытом состоянии с разрешением 9 Å [53], 4,6 Å [54] и 4 Å [55] и в открытом состоянии с разрешением 9 Å [56].

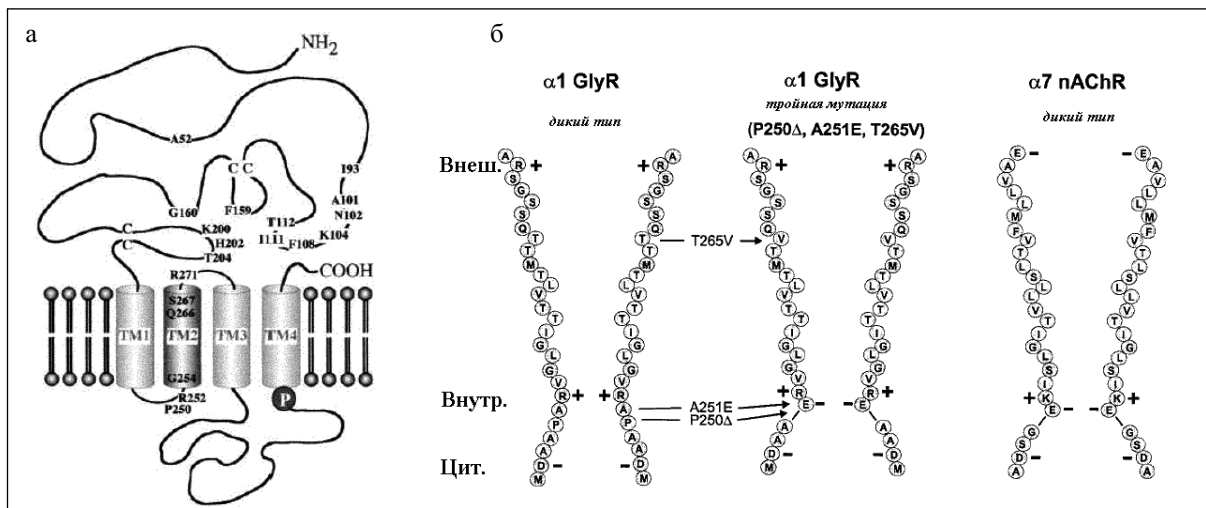


Рис. 10. α -субъединица глицинового рецептора. Мембранная топология (А); более темный на рисунке – трансмембранный домен TM2, формирующий пору. Схематическое представление двух трансмембранных доменов TM2 и соответствующих сечений пор гомомерных рецепторов: глицинового рецептора дикого типа и глицинового рецептора с тройной мутацией, из $\alpha 1$ -субъединиц, а также никотинового ацетилхолинового рецептора из $\alpha 7$ -субъединиц (Б)

Для изучения динамических особенностей селективности канала и моделирования процесса открытия канала с использованием данных рентгеноструктурного анализа была создана модель поры nAChR, содержащая 5 α -спиральных фрагментов, которая стабилизировалась углеводородным кольцом $(\text{CH}_2)_{105}$. Углеводородное кольцо использовалось с целью моделирования мембранного окружения канала (рис. 11).

Для определения состояния канала был проведен ряд численных экспериментов, в которых к пробной частице (радиус которой соответствует радиусу комплекса Na с шестью молекулами воды) прикладывалась внешняя сила вдоль оси поры канала. Под действием внешней силы $F = 1 \text{ ккал}/(\text{моль} \cdot \text{\AA})$ незаряженный комплекс останавливается в канале в области координат $z \approx 82 - 86 \text{ \AA}$ (рис. 12). Рассмотрение структуры канала показывает, что в этой области находятся остатки 13'- A-VAL255, B-VAL261, C-Val269, D-VAL255 и E-ILE264, которые образуют незаряженное кольцо, формирующее ван-дер-ваальсовские ворота канала. Прохождение пробной частицы оказывается невозможным из-за стерических препятствий, так как диаметр гидратированного иона натрия превышает диаметр канала в этой области координат ($\sim 6 \text{ \AA}$ при $z \approx 86 \text{ \AA}$) [57, 58].

Увеличение внешней силы до $2 \text{ ккал}/(\text{моль} \cdot \text{\AA})$ приводит к «пробою» области ворот, хотя наблюдается заметное торможение пробной частицы в области $z \approx 86 \text{ \AA}$ на время порядка 20 пс. Дальнейшее увеличение внешней силы приводит к уменьшению времени прохождения частицы через канал и полному исчезновению торможения частицы в области $z \approx 86 \text{ \AA}$ при $F = 5 \text{ ккал}/(\text{моль} \cdot \text{\AA})$ (рис. 12).

Торможение частиц в канале происходит вследствие наличия локальных энергетических минимумов (ловушек), отделенных от соседних состояний барьером, создаваемых воротами канала. С другой стороны, это означает, что энергетический профиль ворот канала весьма чувствителен к внешним воздействиям, и ворота могут быть открыты под действием относительно небольшой силы, приложенной, в частности, к верхним остаткам α -M2 спиралей (см ниже).

Кинетика прохождения положительно заряженной пробной частицы $\text{Na}^+(\text{H}_2\text{O})_6$ сквозь пору канала представлена на рис. 13. Комплекс $\text{Na}^+(\text{H}_2\text{O})_6$ притягивается к отри-

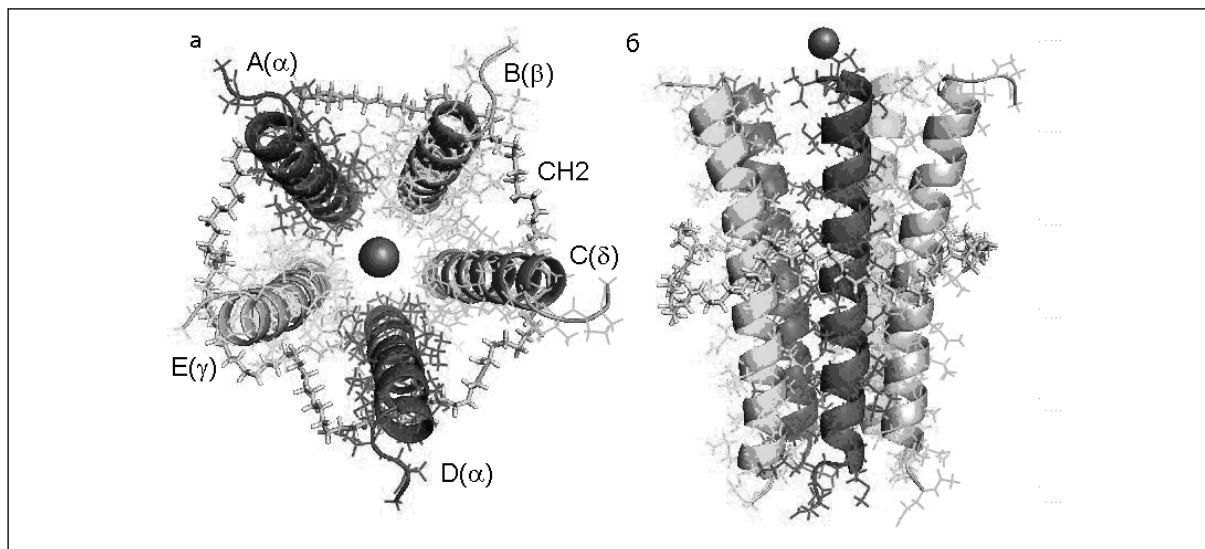


Рис. 11. Структура модели поры канала ацетилхолинового рецептора, состоящая из пяти ТМ2 спиралей и окруженная углеводородным кольцом $(CH_2)_{105}$

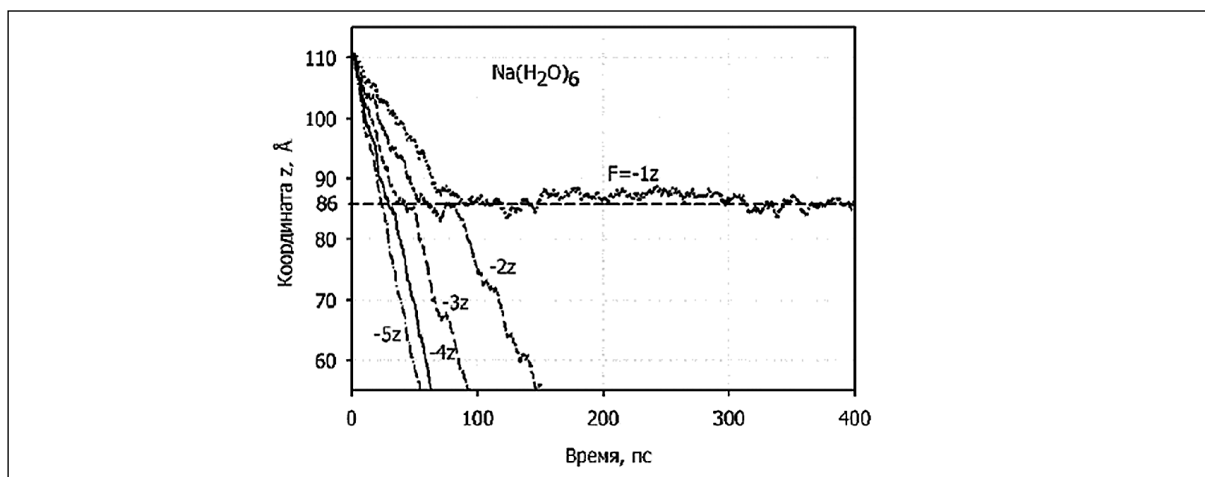


Рис. 12. Динамика движения незаряженной модельной частицы через пору канала под действием внешней силы различного модуля

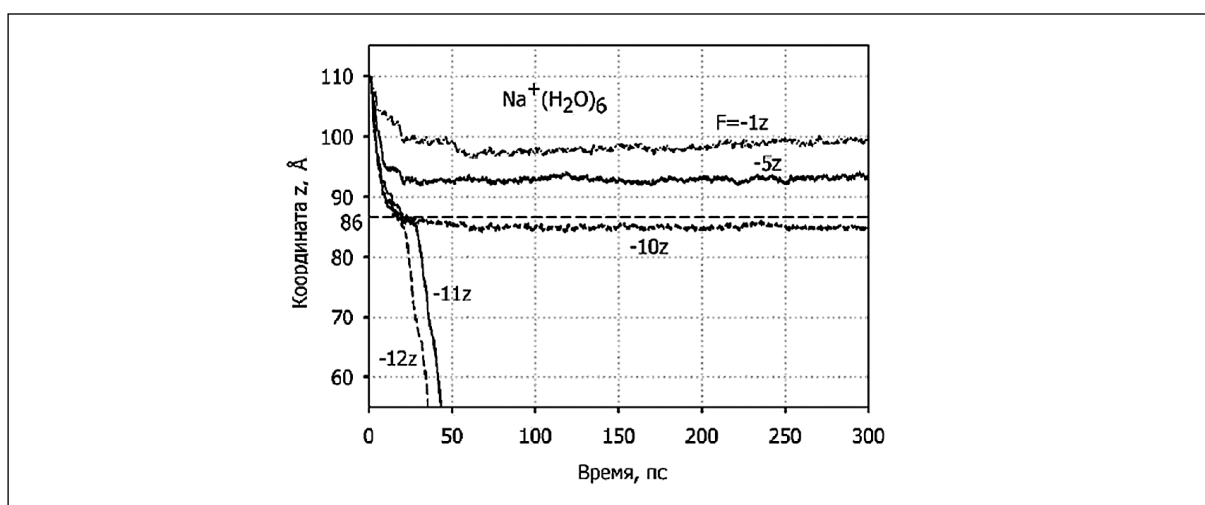


Рис. 13. Движение положительно заряженной модельной частицы через пору канала под действием внешней силы

цательно заряженным остаткам ASP или GLU, находящимся в положении 20' и 24', что препятствует прохождению иона при значениях внешней силы до 10 ккал/(моль·Å). Однако при силе больше 11 ккал/(моль·Å), комплекс успешно проходит через канал. При прохождении иона наблюдается торможение в области $z \approx 86 \text{ Å}$ на время порядка 10 пс. Дальнейшее увеличение внешней силы (до значений 18-20 ккал/(моль·Å)) приводит к существенному уменьшению времени прохождения частицы через канал (менее 20 пс) и полному исчезновению торможения частицы в области $z \approx 86 \text{ Å}$.

Приведенные выше данные показывают, что в закрытом состоянии торможение ионов в канале происходит за счёт двух составляющих: стерических препятствий и электростатического взаимодействия иона с заряженными боковыми группами. Стерические препятствия формируют энергический барьер ван-дер-ваальсовских ворот с крутизной не более 2 ккал/(моль·Å). Барьеры, сформированные за счёт электростатических взаимодействий с заряженными боковыми группами аминокислотных остатков, имеют в закрытом состоянии канала существенно большую крутизну – около 8-9 ккал/(моль·Å).

Согласно некоторым имеющимся представлениям, открытие канала nAChR происходит за счёт конформационных изменений при передаче вращательного момента на α -спирали, формирующие канал. Для моделирования действия вращательного момента, который передается от внутренних петель $\beta 1/\beta 2$ внеклеточного домена к атомам основной цепи остатков α -THR267, α -SER268, α -SER269 и α -ALA270 (цепей A и D), находящихся на верхнем конце α -M2 спиралей, прикладывались силы $F = 1 \text{ ккал/(моль·Å)}$, поворачивающие α -спирали против часовой стрелки (закручивание α -спирали, рис. 12A). Одновременно, к незаряженной пробной частице прикладывалась сила $F = 1 \text{ ккал/(моль·Å)}$ вдоль нормали к мембране (координата z). Напомним, что в отсутствие приложенного вращательного момента пробная частица при данном значении силы не проходит через канал. Однако ситуация меняется в случае закручивания α -спиралей. Пробная частица вначале, как и в ранее рассмотренном случае, «застревает» в области координат $z \approx 86 \text{ Å}$, а затем успешно проходит через полость канала (рис. 14б). Т.е. крутизна энергического барьера ван-дер-ваальсовских ворот уменьшается до значений менее 1 ккал/(моль·Å) за счёт приложенных моментов сил, направленных против часовой стрелки вокруг оси α -M2 спиралей (сила прикладывалась к верхним остаткам M2) к верхним остаткам α -M2 спиралей. Таким образом, конформационный переход, стимулированный приложенным моментом сил, приводит к открытию ворот канала, что подтверждает гипотезу о механизме открытия канала за счёт передачи вращательного момента сил на верхние остатки α -M2 (субъединиц A и D) в результате конформационных изменений внеклеточного домена после связывания лиганда.

Таким образом, открытие поры канала ацетилхолинового рецептора происходит за счёт поворота α -спиралей относительно своей оси. На данном этапе остается непонятным как передается вращательное движение спиралям от надмембранной части канала, с которой связывается лиганд.

Глициновый рецептор

Модель глицинового рецептора можно получить по гомологии со структурой ацетилхолинового рецептора, используя приложения Swiss-Model [59], 3D-JIGSAW [60] и др. Так же как и в случае с ацетилхолиновым рецептором, канал находится в закрытом состоянии, получить открытое состояние можно повернув TM2-спирали вокруг оси по-

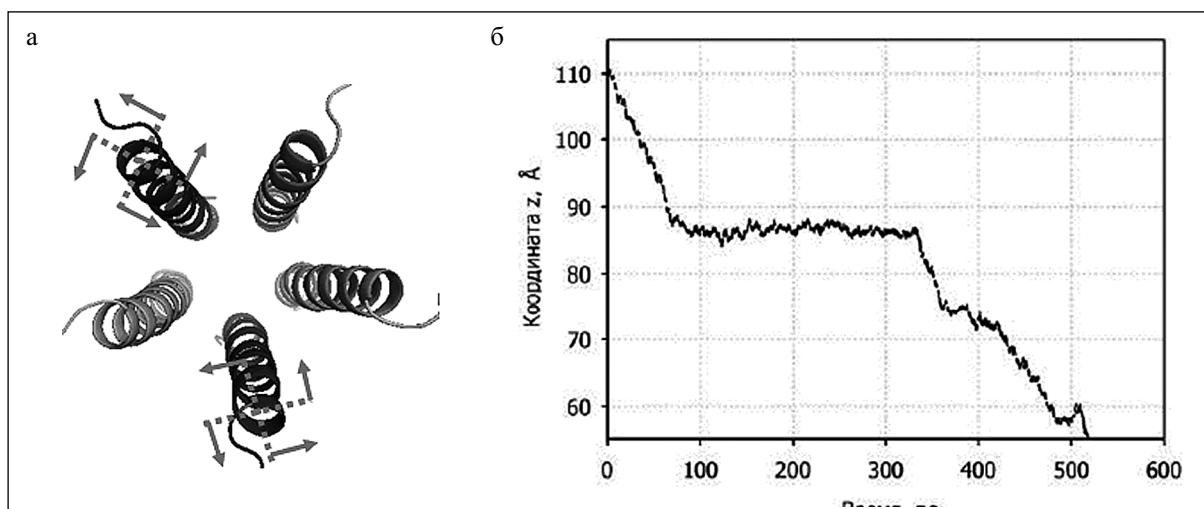


Рис. 14. А: Модель открытия канала nAChR. Моменты сил приложены к верхним остаткам M2 и направлены против часовой стрелки вокруг оси α -M2 спиралей. Б: Динамика прохождения незаряженной пробной частицы через пору канала под действием внешней силы 1 ккал/(моль $\times$ Å) в процессе открытия канала

ры. Правильность полученной таким способом модели канала оценивалась по расположению аминокислотных остатков, играющих ключевую роль в процессе прохождения ионов, то есть остатков аргинина и гидрофильных остатков, вероятно, экспонированных внутрь канала. Далее была изучена динамика движения различных ионов через пору канала глицинового рецептора.

На рис. 15 представлена динамика прохождения иона Cl^- сквозь пору глицинового рецептора под действием внешней силы. При движении иона наблюдаются две области снижения скорости, которые соответствуют двум положительным аргининовым кольцам внутри канала. Значение эффективного коэффициента диффузии иона Cl^- колеблется в пределах $1.38 \cdot 10^{-5} - 1.45 \cdot 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$ в различных частях канала. В варианте равновесной динамики выявляется также дополнительный минимум энергии в поре канала, образованный положительно заряженными атомами бокового радикала метеонина (Met).

В области экспонированных внутрь канала боковых радикалов остатков аргинина формируются чётко выраженные минимумы энергии, в которых ионы задерживаются продолжительное время, прежде чем пройти сквозь канал (рис. 16).

Молекулярная динамика биомембран

Биологические мембраны и их свойства играют важную роль в целом ряде различных клеточных процессов. Структурную основу биологической мембраны составляет бислой липидных молекул. С помощью МД возможно изучать такие свойства молекулярной системы и с таким уровнем подробности, которые, зачастую, недоступны другим методам изучения [61-64]. В том числе, это касается и микроскопической картины массопереноса в сильно анизотропных структурированных средах, диффузионных процессов на границе водной и мембранной фаз, формирования и релаксации в них неравновесных структур [23]. Ниже исследуется проблема неоднородности и анизотропности фосфолипидного бислоя при диффузии относительно небольших молекул.

Исследование методом МД пассивного транспорта в мембранах зачастую сталкивается со значительными вычислительными сложностями, поскольку данные процессы в

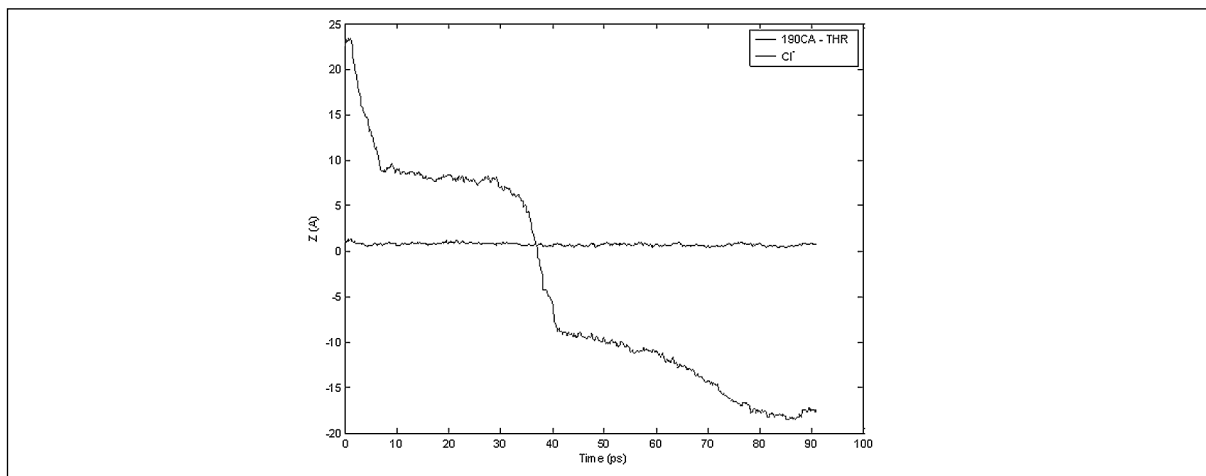


Рис. 15. Динамика прохождения иона Cl^- через пору канала. Внешняя сила 5 ккал/моль·Å. Для сравнения показана динамика атома углерода основной цепи одной из субъединиц

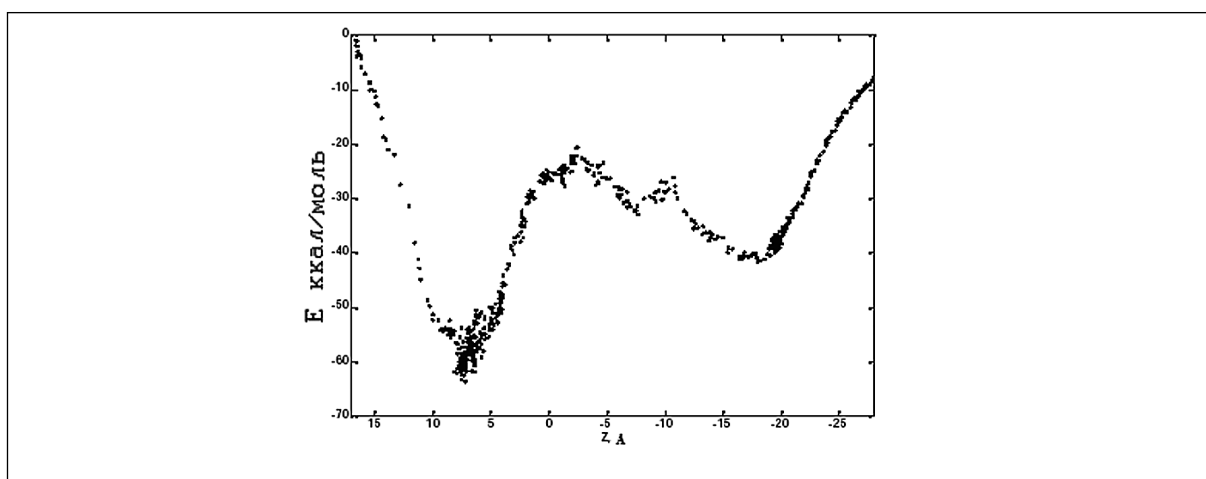


Рис. 16. Зависимость потенциальной энергии взаимодействия иона хлора с интерьером канала глицинового рецептора от координаты вдоль центральной оси канала

мембранах характеризуются временами порядка микросекунд, в то время как в реальных полноатомных расчетах для достаточно больших систем время даже в 100 нс является трудно достижимым. В связи с этим, весьма актуальным является использование управляемой молекулярной динамики, с помощью которой можно провести сравнительный анализ проницаемости липидных бислоев для небольших молекул (формамида, аммиака, воды, кислорода, глицерола, этандиола, этанола, масляной кислоты).

Мембрана состояла из бислоя 1-пальмитоил-2-олеоил-sn-глицеро-3-фосфатидилхолина (ПОФХ), содержащего 64 молекулы липида. Степень сольватации определялась соотношением 44 молекулы воды на молекулу липида. Использовалась модель воды TIP3P, причём валентные связи и валентные углы в молекулах воды не фиксировались, а определялись соответствующими потенциалами. Поверхностная плотность липидов была близкой к экспериментальным значениям (62 – 68 Å², [15, 65, 66]). В водную среду системы помещались изучаемые молекулы, к которым далее прилагалась постоянная сила, направленная по нормали к поверхности мембраны. Прилагались силы, равные 2 и 6 ккал/моль·Å⁻¹ (в последнем случае количество повторных замеров достигало трех). Сила прикладывалась равномерно ко всем атомам системы. Расчет траекторий

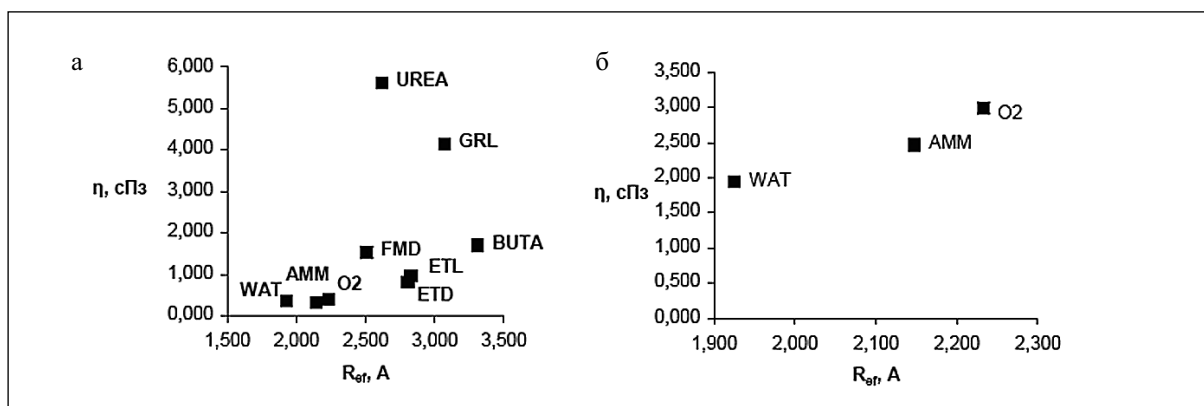


Рис. 17. Зависимость микровязкости от эффективного радиуса пробных молекул в системе ПОФХ-вода. Суммарная $F_{ext} = 10$ ккал/моль·Å⁻¹. 1 – внешняя сила 6 ккал/моль·Å⁻¹, 2 – внешняя сила 2 ккал/моль·Å⁻¹. WAT — вода, AMM — аммиак, O₂ — молекулярный кислород, FMD — формамид, ETD — этандиол, ETL — этанол, UREA — мочеви́на, GRL — глицерин, BUTA — масляная кислота

проводился до первого полного прохода через мембрану, но не более 2 нс. Под действием силы молекула проникает в мембрану. При этом смещение молекулы определяется, в основном, дрейфом под воздействием внешней силы, и вкладом диффузии можно пренебречь. В этом случае допустимо оценить локальный коэффициент трения как отношение величины приложенной силы к скорости дрейфа:

$$\gamma = \frac{F_{ext}}{v}.$$

Коэффициент трения удобно пересчитать в терминах микровязкости среды по формуле Стокса или в терминах коэффициента диффузии с помощью соотношения Эйнштейна:

$$D = \frac{k_b T}{\gamma} = \frac{k_b T}{6\pi\eta r}.$$

Отклонение от гидродинамической формулы Стокса обусловлено двумя обстоятельствами. Во-первых, радиусы частицы таковы, что приближение сплошной среды не работает. Во-вторых, величина приложенной силы и, соответственно, скорость движения относительно велики, и условие ламинарного обтекания также не соблюдается. Однако качественно соотношение Стокса работает и на микроуровне.

Существует некое критическое значение силы, при котором возможно проникновение частиц в мембрану (например 1 ккал/моль·Å⁻¹ для частиц радиуса 2 Å) [23]. Вычисленная вязкость уменьшается с увеличением прилагаемой силы, что свидетельствует о неньютоновском характере среды и слабой неравновесности данной системы при скоростях движения порядка 1–10 Å/пс.

Полученные значения эффективной микровязкости в зависимости от типа пробной молекулы и величины приложенной силы приведены на рис. 17.

Экспериментально известна усредненная величина вязкости поверхностного слоя, составляющая от 30 до 1190 сПз для различных липидных мембран [67]. Для ПОФХ известна также экспериментальная оценка усредненной вязкости порядка 18 сПз [68].

Отметим общую закономерность на рассматриваемом масштабе размеров частиц: чем больше радиус проникающей молекулы, тем больше эффективная микровязкость

мембраны. Отметим также эффект увеличения микровязкости при уменьшении внешней силы. Химический состав проникающей молекулы также влияет на микровязкость биомембраны. Наибольшее значение микровязкости наблюдается для мочевины, имеющей большой дипольный момент. Взаимодействие дипольных моментов мочевины и фосфолипидных голов липидов затрудняют ее проникновение. Полученная методами молекулярного моделирования картина согласуется с проницаемостью липидных мембран для изучаемых соединений.

Встраивание пептидов в биомембрану. Антимикробные пептиды

Развитые выше методы позволяют также моделировать встраивание различных пептидных структур в биомембраны [69-72]. Особенно это актуально для изучения молекулярного механизма действия мембраноактивных антимикробных пептидов [73-75]. Ряд фундаментальных вопросов формирования структуры пептид-мембранных комплексов остается пока невыясненным. В связи с этим, изучение методами полноатомного молекулярного моделирования взаимодействия мембран активных пептидов с биомембранами является актуальным как с фундаментальной, так и с прикладной точек зрения. В перспективе эти исследования позволят конструировать новые мембраноактивные агенты с заданной активностью и специфичностью.

Среди мембраноактивных антимикробных пептидов, продуцируемых низшими эукариотами, особенно популярны пептаиболы [76-79]. Пептаиболы продуцируются почвенными грибами родов *Trichoderma* и *Emericellopsis* и родственными им. Некоторые их представители паразитируют на других грибах и, в связи с этим, используются как био-защитные агенты при борьбе с грибковыми заболеваниями растений. Пептаиболы обладают линейной спиральной структурой и богаты нестандартными α,α -диалкилированными аминокислотами, а на С-конце имеют ацетилированный аминокислотный спирит (рис. 18).

Пептаиболы обладают значительной антибактериальной активностью по отношению к грамположительным бактериям, менее активны против грам-отрицательных бактерий. Многие пептаиболы эффективны против эндо- и эктопаразитов (амеб, нематод). Также пептаиболы проявляют цитотоксическую активность против раковых клеток. При действии на млекопитающих могут вызывать понижение температуры и уменьшение спонтанной двигательной активности при дозах порядка 1 мг/кг. Ниже рассматривается моделирование взаимодействия короткого пептаибола зервамицина ПВ [80-82] с модельными мембранами эукариот и прокариот.

В качестве модели эукариотической клетки использовался липидный бислой, состоящий из молекул ПОФХ, а для моделирования мембраны бактериальной клетки – липидный бислой из ПОФЭ и ПОФГ в соотношении 1:4. Проводились 2 типа экспериментов: равновесная МД для изучения связывания зервамицина ПВ с поверхностью мембраны и управляемая МД для изучения процесса встраивания пептида в липидный бислой, причем внешнее ускорение прикладывалось к различным атомам пептида. В начальной конформации молекула ZrvПВ помещалась выпуклой (полярной) стороной к поверхности мембраны на расстоянии 0,7 нм. При изучении поверхностного связывания молекулы зервамицина ПВ с мембраной особое внимание уделялось ориентации пептида относительно поверхности, стабильности спиральной структуры и образованию водородных связей между аминокислотными остатками и молекулами липидов.

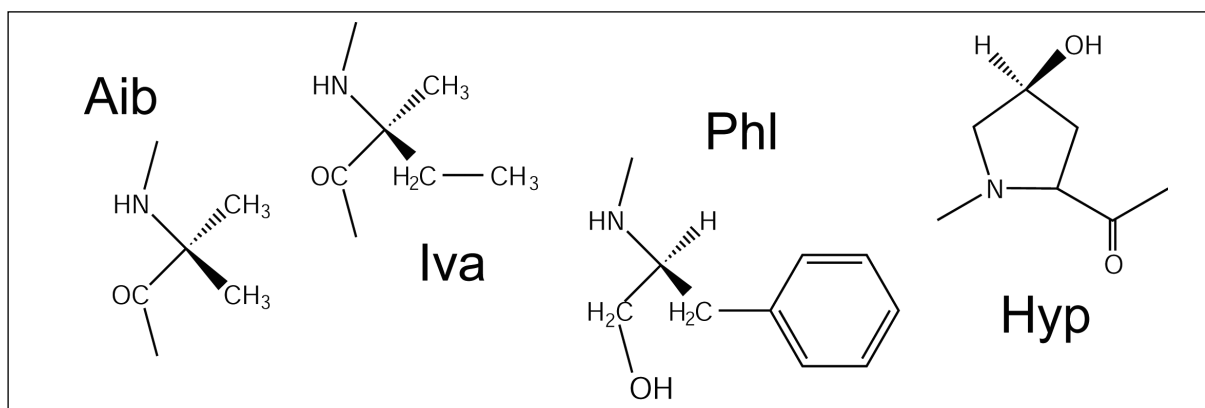


Рис. 18. Нестандартные аминокислотные остатки, встречающиеся в молекулах пептаиболов: Aib: α -аминоизомасляная кислота, Iva: D-изовалин, Phl: L-фенилаланинол, Hyp: L-4-транс-гидроксипролин

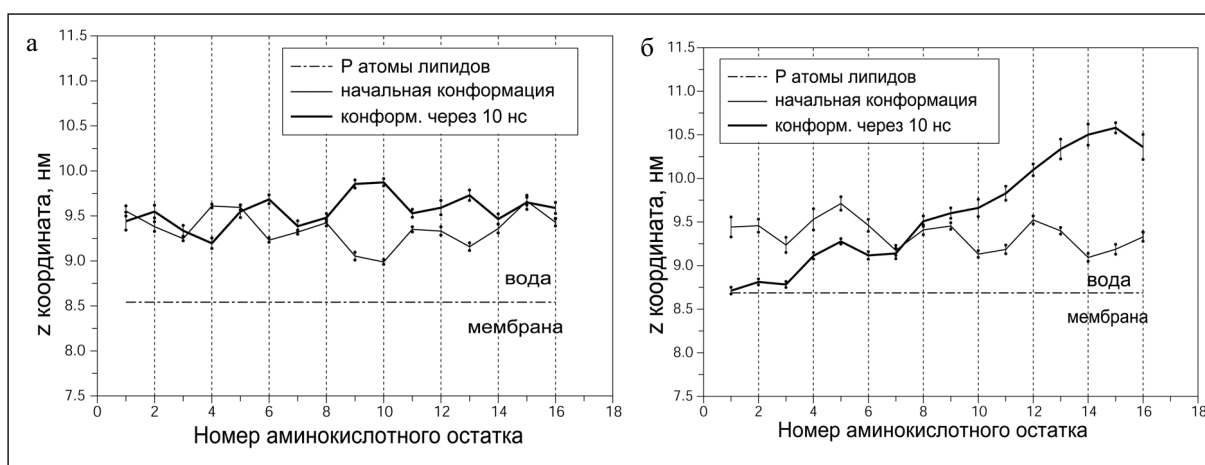


Рис. 19. Положение α -атомов относительно атомов фосфора липидных головок бислоя ПОФХ (А) и ПОФЭ/ПОФГ (Б) в начальной конформации и после 10нс равновесной динамики

Для определения положения пептида относительно поверхности мембраны в первые и последние 500 пс траектории было определено среднее положение α -атомов для каждого аминокислотного остатка молекулы зервамицина ПВ относительно поверхности мембраны. Граница мембраны определялась как z координата (вдоль оси нормали мембраны) центра масс атомов фосфора (рис. 19).

При взаимодействии ZrvПВ с липидным бислоем ПОФХ молекула ориентируется параллельно поверхности мембраны вогнутой (неполярной стороной), при этом молекула ZrvПВ не взаимодействует с гидрофобными хвостами липидов, а остается в водном окружении, взаимодействуя с полярными головками липидов. Особую роль в стабилизации данной конформации пептида относительно мембраны играют остатки глутамина (Gln3 и Gln11), которые взаимодействуют с полярными головками липидов и образуют три водородные связи. Остальные полярные аминокислотные остатки Thr6, Hyp10 и Hyp13 обращены в воду. Также наблюдается небольшое структурное изменение в области N-конца пептида, которое вызвано поворотом остатка Gln3 к поверхности мембраны.

Молекула зервамицина ПВ за счет ориентации внутримолекулярных водородных связей, стабилизирующих спираль, обладает дипольным моментом, направленным от C-конца к N-концу и приблизительно равным $50D$, что эквивалентно зарядам $+0,4e$ и

–0,4e на N- и C-концах. Фосфатидилглицероловые липиды придают поверхности мембраны суммарный отрицательный заряд. Таким образом, N-конец молекулы ZrvIIВ, несущий локальный положительный заряд, притягивается к поверхности мембраны, а C-конец удаляется от поверхности мембраны на расстояние $\sim 1,7$ нм. Внешнее электрическое поле также способствует такой ориентации пептида. Так же как и в случае с мембраной ПОФХ, пептид взаимодействует исключительно с полярной частью мембраны, но в данном эксперименте N-конец входит в область липидных головок и образует, как минимум, четыре водородные связи с молекулами липидов. В образовании водородных связей с полярными головками липидов участвуют остатки Ace0, Gln3 и Thr6.

Для исследования динамики встраивания зервамицина в модельные мембраны прокариот и эукариот с помощью метода управляемой молекулярной динамики был проведен ряд численных экспериментов, в которых внешняя сила прикладывалась отдельно к C и N-концам и к C α -атомам. В качестве начальной структуры использовались системы, состоящие из липидного бислоя и молекулы зервамицина IIВ после 10 нс релаксации на поверхности мембраны.

В обеих исследуемых системах (с липидными бислоями ПОФХ и ПОФЭ/ПОФГ) под действием силы 4,3 ккал/(моль·Å), приложенной к C-концу, ZrvIIВ в течение 10 нс развернулся C-концом к мембране, но не углубился в область гидрофобных хвостов. Вероятно, это связано с торможением за счет образования водородных связей между остатками Nup10, Gln11, Nup13, Phl16 и липидными головками. В эксперименте, где сила 0,27 ккал/(моль·Å) была приложена ко всем C-атомам пептида, ZrvIIВ в течение 10 нс оставался в области липидных головок параллельно поверхности бислоя. Когда сила была приложена к N-концу, пептид за 10 нс вошел в область липидных головок, не вызвав при этом структурных изменений в липидном бислое. Таким образом, данные численные эксперименты подтверждают гипотезу, что встраивание в мембрану происходит N-концом. Так как приложение силы ко всем C-атомам не привело к встраиванию пептида, можно сделать вывод, что воздействие на пептид, переводящее его из поверхностного состояния в трансмембранное, в основном направлено на N-конец молекулы, что хорошо согласуется с моделью потенциал-зависимой активации канала, согласно которой трансмембранный потенциал разворачивает дипольный момент молекулы, то есть «тянет» несущий локальный положительный заряд N-конца внутрь мембраны.

На следующем этапе работы более детально был исследован процесс встраивания молекулы зервамицина IIВ в липидные бислои. Для этого были рассчитаны три траектории, в которых к N-концу (к C α -атому остатка ACE0) были приложены силы, равные 4,3; 5,7 и 8,6 ккал/(моль·Å) соответственно, с целью определить оптимальное значение силы для моделирования встраивания (рис. 20). При ускорении, эквивалентном 4,3 ккал/(моль·Å), встраивание происходит медленно, и за 10 нс N-конец преодолевает только верхний монослой. Под действием 5,7 ккал/(моль·Å) ZrvIIВ полностью встраивается за 7 нс и остается в трансмембранном положении. При значении силы 8,6 ккал/(моль·Å) пептид проходит сквозь мембрану и выходит в водное окружение, не испытывая значительного торможения от энергетических барьеров. Таким образом, для изучения динамики встраивания ZrvIIВ в липидный бислой было выбрано значение внешней силы в 5,7 (ккал/моль·Å).

Динамика встраивания ZrvIIВ в липидный бислой ПОФХ неравномерна. Можно выделить три стадии. Вначале N-конец движется в водном окружении, приближаясь к

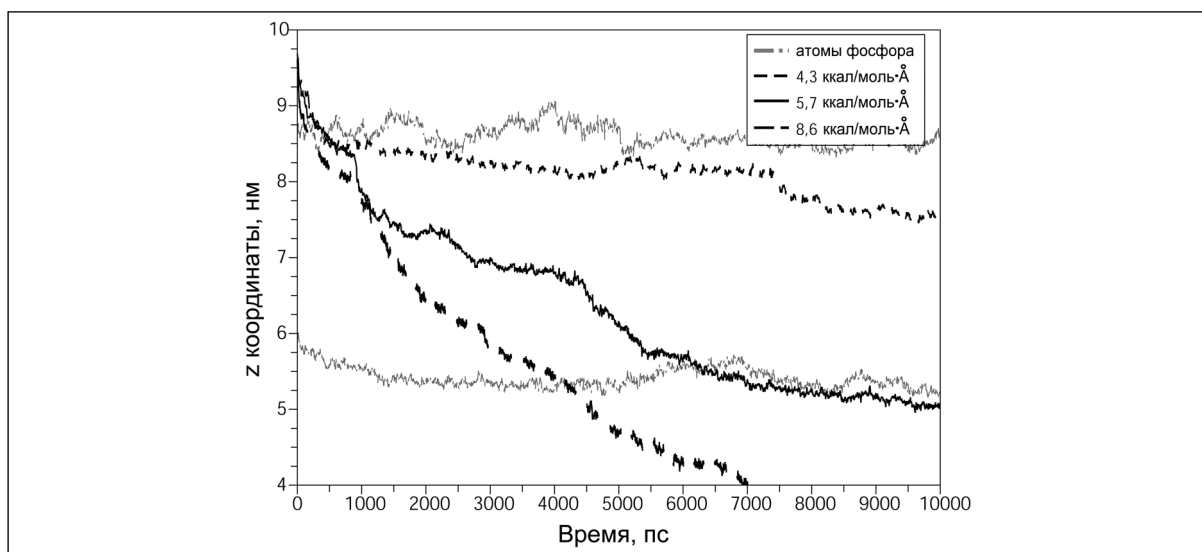


Рис. 20. Изменение z-координаты N-конца зервамицина ПВ относительно границы мембраны ПОФХ под действием внешней силы

липидным головкам. На первой стадии аминокислотные остатки Ace0-Trp1-Ile2 входят в гидрофобную область мембраны. Далее Gln3 и Thr6 образуют водородные связи с полярными головками липидов и, тем самым, замедляют дальнейшее встраивание пептида. На второй стадии в гидрофобную область входят остатки Gln3-Dva4-Ile5-Thr6-Aib7-Leu8-Aib9, а Hup10 и Gln11 взаимодействуют с полярной областью мембраны и вызывают замедление динамики встраивания. На третьей (заключительной) стадии весь пептид встраивается в липидный бислой.

Как было показано выше, сам процесс встраивания быстрее протекает для модельной мембраны прокариот. Однако в случае с модельной мембраной эукариот взаимодействие пептида с поверхностью липидного бислоя сильнее. Таким образом, можно сделать вывод, что селективность действия зервамицина ПВ имеет место не на стадии встраивания в мембрану, а на стадии адсорбции пептида на поверхности мембраны. Потенциальная энергия взаимодействия ZrvPВ с окружением при встраивании в мембрану ПОФЭ не изменяется, а при встраивании в мембрану ПОФЭ/ПОФГ уменьшается на ~200 кДж/моль. Однако в этом случае пептиду надо преодолеть более высокий энергетический барьер.

Моделирование гибридных нанобиоструктур

Взаимодействие полипептида с углеродной нанотрубкой

Наноструктуры и их комплексы с биологическими макромолекулярными структурами являются новым полем для применения молекулярной динамики [5, 83, 84]. Методы молекулярной динамики позволяют прогнозировать поведение новых молекулярных систем, перспективность использования которых экспериментально пока не изучалась. Одним из важнейших направлений исследований в этой области является взаимодействие нанотрубок с биологическими молекулами. Уже в ближайшее время подобные системы могут вызвать и большой практический интерес в связи с проблемой селективной доставки лекарств в клетки. Так, в работах [85-87] проводится расчёт проникновения молекулы ДНК-олигонуклеотида в нанотрубку в водной среде. Авторы работы [88] рас-

смаатривают прохождение РНК под действием приложенной силы через отверстия в коротких нанотрубках, организованных в монослой. В [89] изучалась самосборка однослойной нанотрубки в мультислойные структуры.

В наших численных экспериментах обнаружено явление самосборки полиаланина и углеродной нанотрубки с образованием структуры в виде спирали полиаланина внутри нанотрубки.

При 300K за время порядка 200ps происходит адсорбция (рис. 21) полипептида в α -спиральной конформации на поверхности нанотрубки (исходное положение пептида – на расстоянии $30\text{ \AA}$ от нанотрубки).

Дальнейшая эволюция комплекса может быть прослежена с использованием метода ускорения надбарьерных переходов путем повышения температуры. При этом наблюдается процесс спонтанного проникновения полиаланина в нанотрубку. Несмотря на то, что выигрыш в энергии в этом случае значительно больше, чем при адсорбции пептида на внешней поверхности, переход пептида из состояния снаружи нанотрубки в состояние внутри нанотрубки связан с преодолением определенного энергетического барьера, т.к. энергия адсорбции полипептида уменьшается при смещении пептида к краю нанотрубки.

На рис. 22 приведена детальная картина акта самосборки обсуждаемой структуры. Находясь на внешней стенке нанотрубки, пептид подавляющую часть времени проводит около ее центральной части. Изредка один из концов пептида оказывается около отверстия. Вследствие флуктуаций происходит перемещение пептида вдоль нанотрубки на такое расстояние, когда большая часть атомов не соприкасается с поверхностью трубки. Затем конец пептида притягивается к отверстию, после чего весь пептид быстро проникает в нанотрубку. Эта стадия при 1000K занимает 130ps . При 2000K самосборка идёт по такому же механизму, однако при повышении температуры процесс становится более обратимым, и за счет этого время от начала до завершения акта встраивания увеличивается до 300ps .

Время формирования активной для самосборки конфигурации при 1000K составило $4,64\text{ns}$, при 2000K – $0,655\text{ns}$. Это дает оценку величины энергии активации порядка $7,8$ ккал/моль. Ожидаемое время самосборки при 300K составляет в этом случае 43мкс . Отметим, что рассматриваемый процесс моделировался в вакууме. В органических растворителях энергия активации самосборки должна быть ниже за счет влияния энергии сольватации полипептида и нанотрубки.

Динамика функциональных наноструктур. Наношприц

Рассмотренный выше комплекс полипептида и нанотрубки с закрытым концом может быть, в принципе, использован для доставки пептида (или иной молекулы) через биологическую мембрану в клетку или отдельный компартмент. Зачастую требуется селективная доставка низкомолекулярных синтетических молекул, которые имитируют работу природных биологических макромолекул и имеют терапевтический потенциал, который сочетается с практичностью при широкомасштабном производстве биофармацевтических веществ. Эти конструкции могут быть также использованы и для изучения механизмов молекулярного распознавания.

Отметим, что создание таких систем может породить в ближайшее время новое направление – нанофармакологию. Молекулярная динамика в данном случае выступает

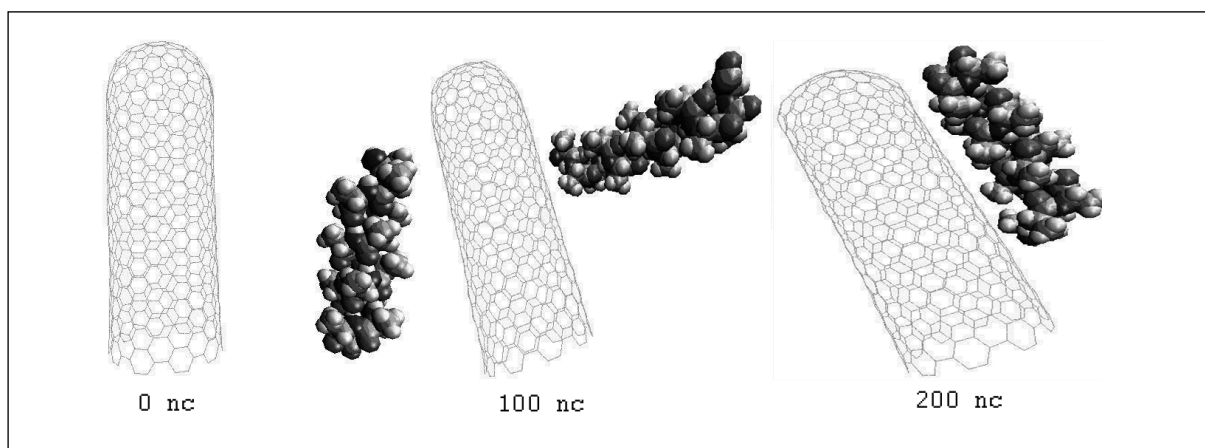


Рис. 21. Последовательные стадии прилипания полиаланина к внешней поверхности нанотрубки

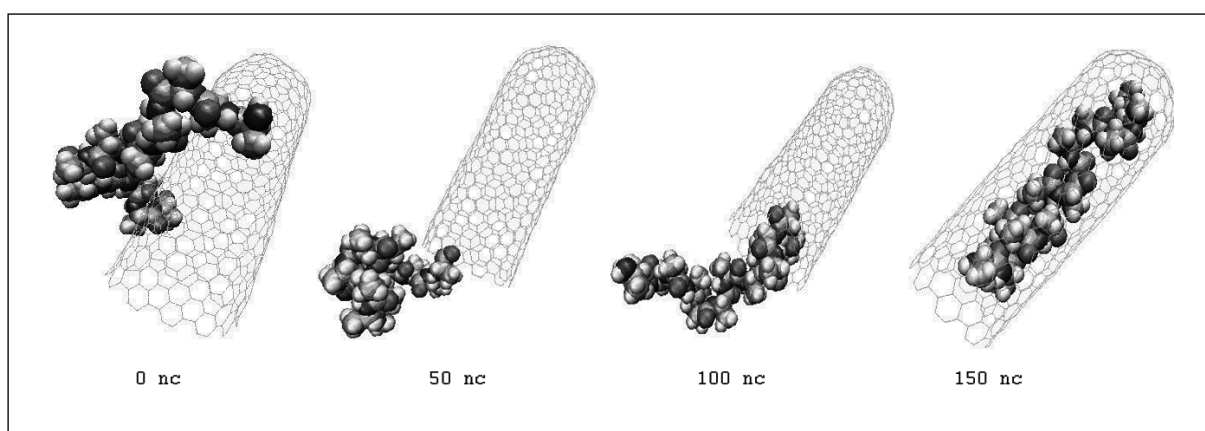


Рис. 22. Последовательные стадии самосборки комплекса пептида и нанотрубки при 1000 К

как инструмент проектирования функциональной молекулярной конструкции, позволяя определить необходимые параметры устройства. В качестве примера нами был смоделирован наносприц, использующий акт выталкивания пептида из нанотрубки в бислойную мембрану и в воду.

В качестве действующего агента, выталкивающего полиаланин из нанотрубки, брались восемь расширяющихся ван-дер-ваальсовых сфер. Увеличение радиуса сфер происходило со скоростями 0,25 и 0,5 Å/пс (время расширения 26 пс или 13 пс соответственно) до значений радиуса порядка радиуса нанотрубки. Это создавало практически «нановзрыв», и система срабатывала как «нанопушка». На рис. 23 и рис. 24 приведен сценарий выброса пептида при таких экстремальных параметрах «выстрела» с максимумом давления в нанотрубке порядка 10^5 бар. В момент «выстрела» нанотрубка несколько деформируется, но эти деформации не выходят за пределы ее прочности. По окончании процесса выталкивания пептида нанотрубка полностью восстанавливает первоначальную конформацию за время порядка 3 пс.

Полиаланин испытывает конформационные изменения в ходе рассматриваемого процесса. Начальная спиральная конформация наиболее сильно деформируется при выбросе полипептида в вакуум и менее всего – в мембрану. По-видимому, среда играет в этом процессе демпфирующую и структурирующую роль. Небольшое уширение распределения по конформациям при выбросе полиаланина в воду может быть связано с

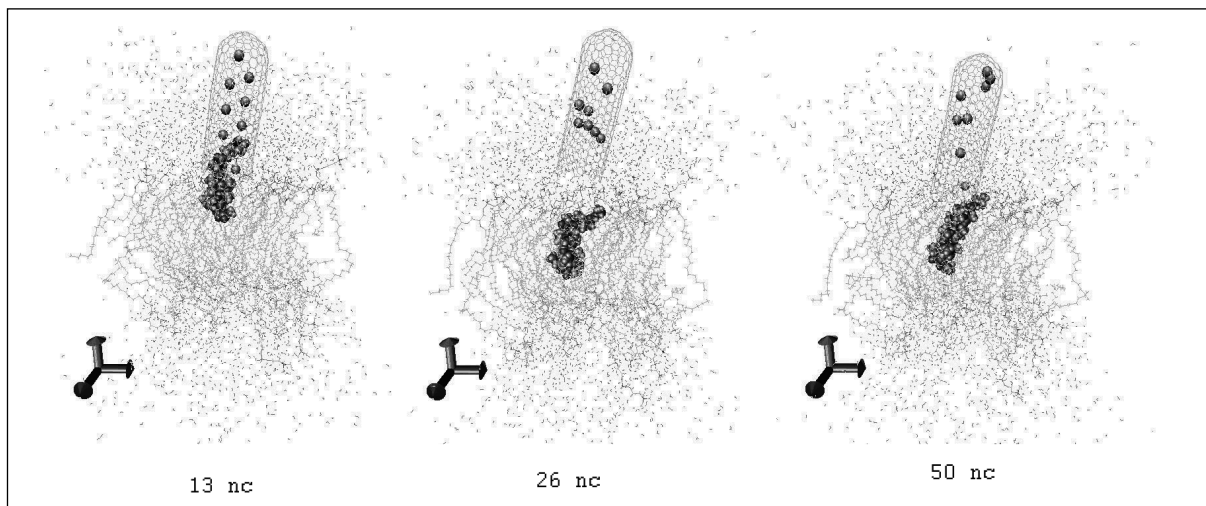


Рис. 23. Последовательные стадии выталкивания пептида в мембрану

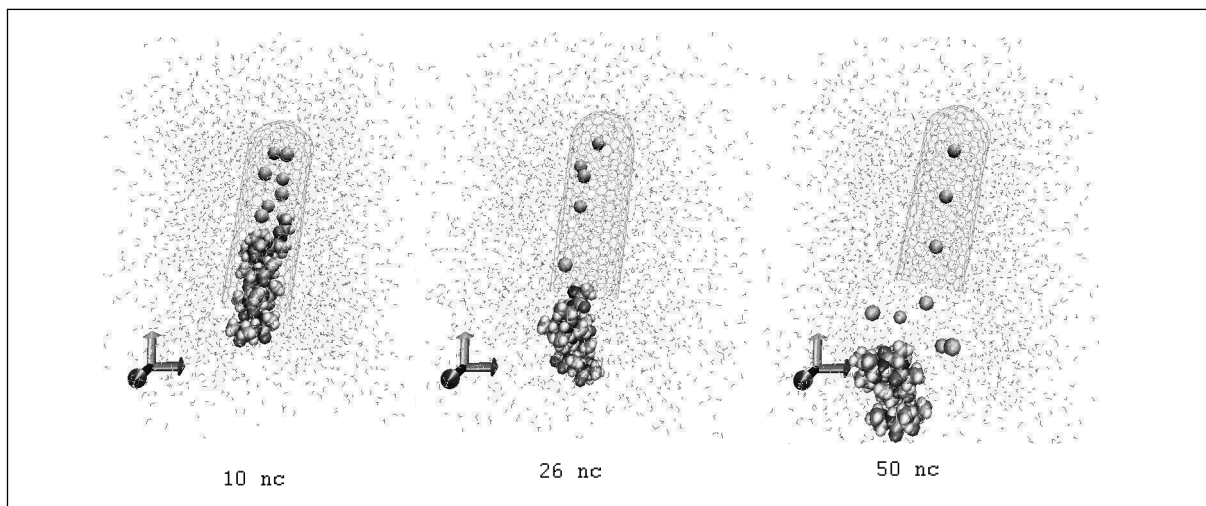


Рис. 24. Последовательные стадии выталкивания пептида в воду

дополнительным напряжением, возникающим при входе гидрофобной молекулы в водную среду.

Заключение

Молекулярная динамика является эффективным инструментом для получения детальной и экспериментально трудно доступной информации о структуре, динамических и кинетических свойствах неоднородных и анизотропных систем типа биомембран, ионных каналов, биополимеров, комплексов наночастиц с биополимерами и др. Имеющиеся калибровки силовых полей и протоколы молекулярного моделирования дают хорошее согласие вычисленных и измеренных физико-химических параметров рассматриваемых объектов, придавая методам МД статус численного эксперимента. Это обстоятельство делает молекулярное моделирование полезным для развития фундаментальных представлений в области формирования структуры макромолекулярных конструкций, так и определения кинетических свойств объектов, трудно поддающихся в настоящее время экспериментальным измерениям. Методы молекулярной динамики хорошо приспособлены и для решения задач прикладной науки в сфере молекулярного дизайна

функциональных макромолекулярных систем и наноконструкций. При переходе к более сложным объектам с числом атомов более 10^4 возрастает роль методов направленной (управляемой) молекулярной динамики. Здесь очень важны два момента. Во-первых, в рамках этого метода мы принципиально отказываемся от термодинамически равновесных траекторий, т.е. не требуем достижения системой полного равновесия и отказываемся от изучения процессов только в рамках анализа равновесных термодинамических флуктуаций. Для больших систем такой способ мало продуктивен. Во-вторых, в рамках развиваемого неравновесного подхода должен осуществляться контроль над локальным равновесием по наиболее значимым параметрам (флуктуации объема, давления, температуры). Далее на этом квазиравновесном фоне можно разыгрывать сценарии молекулярного процесса, стимулированного внешним воздействием или специальными граничными условиями.

* * *

Авторы признательны Российскому фонду фундаментальных исследований (грант № 09-04-12146-офи_м, 07-04-01169-а), Роснауке и Рособразованию за финансовую поддержку проводимых научных исследований.

Словарь

α -спираль – распространенный элемент вторичной структуры белков, которая имеет форму правозакрученной винтовой линии, и в которой каждая аминокислота ($-NH_4$) в каркасе образует водородную связь с карбонильной группой ($-C=O$) аминокислоты, находящейся на 4 аминокислоты раньше (водородная связь $i + 4 \rightarrow i$).

β -слой – несколько зигзагообразных полипептидных цепей, в которых водородные связи образуются между относительно удалёнными друг от друга в первичной структуре аминокислотами или разными цепями белка, а не близко расположенными, как имеет место в α -спирали.

ϕ угол – торсионный угол в аминокислотном остатке вокруг связи N-C α , где атом азота входит в пептидную связь.

ψ угол – торсионный угол в аминокислотном остатке вокруг связи C α -C, где атом углерода C входит в пептидную связь.

χ_1 угол – торсионный угол в аминокислотном остатке вокруг связи C α -C β , где атом углерода C β входит в состав боковой цепи.

антимикробные пептиды – короткие молекулы (пептиды) длиной от 12 до 50 аминокислот, способные разрушать клетки микроорганизмов.

баростат в МД – алгоритм, поддерживающий заданное давление в системе на каждом шаге интегрирования.

белки de novo – искусственно созданные белки с принципиально новой структурой или свойствами.

биомембрана (клеточная мембрана) – липидный бислой, отделяющий содержимое любой клетки от внешней среды, обеспечивая ее целостность; регулирует обмен между клеткой и средой.

боковые радикалы (группы) аминокислотных остатков – химическая группа, присоединенная к C α -атому и не участвующая в образовании пептидной связи.

взаимодействия Ван-дер-Ваальса – силы межмолекулярного взаимодействия с энергией 0,8 — 8,16 кДж/моль, возникающие при взаимной поляризации молекул. В молекулярной динамике описываются потенциалом 6-12 Леннарда-Джонса.

вторичная структура белка – локальное упорядочивание фрагмента полипептидной цепи, стабилизированное водородными связями и гидрофобными взаимодействиями (основные элементы вторичной структуры α -спирали и β -слои).

ван-дер-ваальсовская частица или сфера (леннард-джонсовские частицы) – бесструктурная частица, не обладающая зарядом, взаимодействующая с другими частицами только посредством сил Ван-дер-Ваальса.

закрытое состояние канала – конформация канала, при которой ионы не могут проходить сквозь пору канала

ионные (трансмембранные) каналы – порообразующие белки (одиночные либо целые комплексы), плотно упакованные вокруг водной поры, поддерживающие разницу потенциалов, которая существует между внешней и внутренней сторонами клеточной мембраны всех живых клеток. Благодаря этим порам ионы перемещаются согласно их электрохимическим градиентам через мембрану.

карта Рамачандрана – двумерная карта реализаций возможных конформаций, определяемых торсионными углами ϕ и ψ для аминокислотного остатка.

кластерный анализ – задача разбиения заданной выборки объектов (ситуаций) на непересекающиеся подмножества, называемые кластерами, так, чтобы каждый кластер состоял из схожих объектов, а объекты разных кластеров существенно отличались.

конформации – геометрические формы, которые могут принимать молекулы органических соединений при вращении атомов или групп атомов (заместителей) вокруг связей при сохранении неизменным порядка химических связей атомов, длины связей и валентных углов.

лиганд – молекула, связывающаяся с белком-мишенью и изменяющая его свойства или конформацию.

лизис клеток – растворение, разрушение клеток и их систем, в том числе микроорганизмов, под влиянием различных агентов, например ферментов, бактериолизин, бактериофагов, антибиотиков.

Липиды (мембранные) – как правило, представляют собой фосфолипиды, сложные липиды, сложные эфиры многоатомных спиртов и высших жирных кислот. Содержат остаток фосфорной кислоты и соединенную с ней группу атомов различной химической природы.

Микровязкость – локальная вязкость в объемах молекулярного масштаба.

моделирование структуры по гомологии – алгоритмы предсказания третичной структуры белка на основе известной структуры его гомологов.

Молекулярная динамика – метод, в котором временная эволюция системы взаимодействующих атомов или частиц рассчитывается путем интегрирования уравнений движения (классических уравнений Ньютона).

монопептиды – аминокислотный остаток, соединенный с н-метиламином и ацетилом так, чтобы образовывались две пептидные связи.

открытое состояние канала – конформация канала, в которой ионы могут проходить через пору канала.

основная цепь пептида – формируется пептидными связями, образованными остатками карбоксильной и аминной групп, включая $\text{C}\alpha$ -атомы, объединяющие данные группы в аминокислотном остатке.

первичная структура белка – последовательность аминокислот в полипептидной цепи
природные аминокислотные остатки – 20 важнейших аминокислот, участвующих в биосинтезе белков и кодирующиеся генетическим кодом.

прокариоты – одноклеточные живые организмы, не обладающие (в отличие от эукариот) оформленным клеточным ядром.

рецептор – мембранный белок, который передает сигнал через мембрану за счет связывания с лигандом.

синапс – место контакта между двумя нейронами или между нейроном и получающей сигнал эффекторной клеткой. Служит для передачи нервного импульса между двумя клетками.

столкновительная среда – виртуальная среда, моделирующая растворитель за счет соударений атомов с виртуальными частицами.

термостат в МД – алгоритм, поддерживающий заданную температуру системы на каждом шаге интегрирования.

третичная структура белка – пространственное строение полипептидной цепи — взаимное расположение элементов вторичной структуры, стабилизированное взаимодействием между боковыми цепями аминокислотных остатков.

торсионный угол – двугранный угол между плоскостями, на пересечении которых лежит линия вдоль валентной связи, связывающей выбранную пару атомов. Для однозначного определения значения угла имеются определенные правила, использующие химическую природу заместителей при этих атомах.

фолдинг – процесс спонтанного сворачивания полипептидной цепи в уникальную нативную пространственную структуру (так называемая третичная структура).

эукариоты – надцарство живых организмов, клетки которых содержат ядра. Все организмы, кроме бактерий и археев, являются ядерными.

Литература

1. Aksimentiev A., Brunner R., Cohen J., Comer J., Cruz-Chu E., Hardy D., Rajan A., Shih A., Sigalov G., Yin Y. and Schulten K. Computer modeling in biotechnology: a partner in development // *Methods Mol. Biol.*, 2008, **474**, 181-234.
2. Cuesta J.A. and D. Frenkel. Monte Carlo simulation of two-dimensional hard ellipses // *Phys. Rev.*, 1990, **42**, 2126-2136.
3. Park K. Nanotechnology: What it can do for drug delivery // *J. Control Release*, 2007, **120**, 1-3.
4. Lu D., Aksimentiev A., Shih A.Y., Cruz-Chu E., Freddolino P.L., Arkhipov A. and Schulten K. The role of molecular modeling in bionanotechnology // *Phys. Biol.*, 2006, **3**, 40-53.
5. Cruz-Chu E.R., Aksimentiev A. and Schulten K. Water-silica force field for simulating nanodevices // *J. Phys. Chem.*, 2006, **110**, 21497-21508.
6. Rosales-Hernandez M.C., Bermudez-Lugo J., Garcia J., Trujillo-Ferrara J. and Correa-Basurto J. Molecular modeling applied to anti-cancer drug development // *Anticancer Agents Med. Chem.*, 2009, **9**, 230-238.
7. Park S. and Schulten K. Calculating potentials of mean force from steered molecular dynamics simulations // *J. Chem. Phys.*, 2004, **120**, 5946-5961.
8. Cheatham T.E., III and Kollman P.A. Molecular dynamics simulation of nucleic acids // *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 2000, **51**, 435-471.
9. Gumbart J., Wang Y., Aksimentiev A., Tajkhorshid E. and Schulten K. Molecular dynamics simulations of proteins in lipid bilayers // *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2005, **15**, 423-431.
10. Khalili-Araghi F., Gumbart J., Wen P.C., Sotomayor M., Tajkhorshid E. and Schulten K. Molecular dynamics simulations of membrane channels and transporters // *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2009, **19**, 128-137.
11. Garfinkel D., Frenkel R.A. and Garfinkel L. Simulation of the detailed regulation of glycolysis in a heart supernatant preparation // *Comput. Biomed. Res.* 1968, **2**, 68-91.

12. *Dijkstra M. and Frenkel D.* Simulation study of the isotropic-to-nematic transitions of semiflexible polymers // *Phys. Rev. E.*, 1995, **51**, 5891-5898.
13. *Sotomayor M. and Schulten K.* Single-molecule experiments in vitro and in silico // *Science*, 2007, **316**, 1144-1148.
14. *Isralewitz B., Baudry J., Gullingsrud J., Kosztin D. and Schulten K.* Steered molecular dynamics investigations of protein function // *J. Mol. Graph. Model.* 2001, **19**, 13-25.
15. *Isralewitz B., Gao M. and Schulten K.* Steered molecular dynamics and mechanical functions of proteins // *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2001, **11**, 224-230.
16. *Gruebele M.* Protein dynamics: from molecules, to interactions, to biology // *Int. J. Mol. Sci.*, 2009, **10**, 1360-1368.
17. *Hills R.D. and Brooks C.L.* Insights from coarse-grained go models for protein folding and dynamics // *Int. J. Mol. Sci.*, 2009, **10**, 889-905.
18. *Tamerler C. and Sarikaya M.* Molecular biomimetics: utilizing nature's molecular ways in practical engineering // *Acta Biomater.*, 2007, **3**, 289-299.
19. *Дашевский В.Г.* Конформации органических молекул // *Химия*, М., 1974
20. *Allen M. and Tildesley D.J.* Computer simulation of liquids // Oxford University Press, Oxford, 1989.
21. *Голо В.Л., Шайтан К.В.* Динамический аттрактор в термостате Берендсена и медленная динамика биомакромолекул // *Биофизика*, 2002, **47**, 611-617.
22. *Golo V.L., Salnikov V.N. and Shaitan K.V.* Harmonic oscillators in the Nose-Hoover environment // *Phys. Rev. E. Stat. Nonlin. Soft. Matter Phys.*, 2004, **70**, 046130.
23. *Турлей Е.В., Шайтан К.В. и Балабаев Н.К.* Динамическая гетерогенность фосфолипидного бислоя и диффузия молекул на границе раздела фаз // *Биофизика*, 2005, **50**, 1042-1047.
24. *Yang K., Liu X., Wang X. and Jiang H.* A steered molecular dynamics method with adaptive direction adjustments // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2009, **379**, 494-498.
25. *Lu H. and Schulten K.* Steered molecular dynamics simulations of force-induced protein domain unfolding // *Proteins*, 1999, **35**, 453-463.
26. *Федик И.В., Шайтан К.В.* Рефолдинг модельного полимера при взаимодействии с нанотрубкой // *Биофизика*, 2008, **53**(1), 61-65.
27. *Chowdhury S., Zhang W., Wu C., Xiong G. and Duan Y.* Breaking non-native hydrophobic clusters is the rate-limiting step in the folding of an alanine-based peptide // *Biopolymers*, 2003, **68**, 63-75.
28. *Daggett V., Kollman P.A. and Kuntz I.D.* A molecular dynamics simulation of polyalanine: an analysis of equilibrium motions and helix-coil transitions // *Biopolymers*, 1991, **31**, 1115-1134.
29. *Ghosh I. and McCammon J.A.* Sidechain rotational isomerization in proteins. Dynamic simulation with solvent surroundings // *Biophys. J.* 1987, **51**, 637-641.
30. *Masunov A. and Lazaridis T.* Potentials of mean force between ionizable amino acid side chains in water // *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 1722-1730.
31. *Шайтан К.В., Ермолаева М.Д., Балабаев Н.К., Лемак А.С., Орлов М.В.* Молекулярная динамика олигопептидов 2. Корреляционные функции внутренних степеней свободы // *Биофизика*, 1997, **42**, 558-565.
32. *Шайтан К.В., Балабаев Н.К., Лемак А.С., Ермолаева М.Д., Ивайкина А.Г., Кислюк О.С., Орлов М.В., Гельфанд Е.В.* Молекулярная динамика олигопептидов 1. Использование длинных траекторий и высокие температур для определения статистического веса конформационных подсостояний // *Биофизика*, 1997, **42**, 42-53.
33. *Шайтан К.В., Левцова О.В., Терешкина К.Б., Оршанский И.А., Антонов М.Ю., Акимов М.П., Николаев И.Н.* Молекулярная динамика олигопептидов 7. Сравнительное изучение взаимовлияния аминокислотных остатков в дипептидных структурах // *Биофизика*, 2008, **53**, 550-555.
34. *Bisetty K. and Perez J.J.* Conformational Study of the PCU Cage Monopeptide: A Key Role of Some Force-Field Parameters // *J. Phys. Chem. B*, 2009, **113**, 5234-5238.
35. *Терешкина К.Б., Шайтан К.В., Левцова О.В., Голик Д.Н.* Молекулярная динамика олигопептидов 6. Сравнительное изучение сечений Пуанкаре монопептидных структур в средах с различной гидрофобностью // *Биофизика*, 2005, **50**, 974-985.
36. *Ramachandran G.N. and R. Chandrasekaran.* Conformational energy map of a dipeptide unit in relation to infrared and nuclear magnetic resonance data // *Biopolymers*, 1971, **10**, 935-939.
37. *Srinivasan N., Anuradha V.S., Ramakrishnan C., Sowdhamini R. and P. Balaram.* Conformational characteristics of asparaginyl residues in proteins // *Int. J. Pept. Protein Res.*, 1994, **44**, 112-122.
38. *Walther D. and F.E. Cohen.* Conformational attractors on the Ramachandran map // *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.*, 1999, **55**, 506-517.

39. Попов Е.М. Проблема белка. Том 3: Структурная организация белка // Наука, М., 1997.
40. Попов Е.М., Демин В.В., Шибанова Е.Д. Проблема белка. Том 2: Пространственное строение белка // Наука, М., 1996.
41. Collingridge G.L., Olsen R., Peters J.A. and M. Spedding. Ligand gated ion channels // *Neuropharmacology*, 2009, **56**, 1.
42. Collingridge G.L., Olsen R.W., Peters J. and Spedding M. A nomenclature for ligand-gated ion channels // *Neuropharmacology*, 2009, **56**, 2-5.
43. Utkin Y., Tsetlin V.I. and Hucho F. Structural organization of nicotinic acetylcholine receptors // *Membr. Cell Biol.*, 2000, **13**, 143-164.
44. Kosower E.M. A structural and dynamic model for the nicotinic acetylcholine receptor // *Eur. J. Biochem.*, 1987, **168**, 431-449.
45. Montal M. and Opella S.J. The structure of the M2 channel-lining segment from the nicotinic acetylcholine receptor // *Biochim. Biophys. Acta*, 2002, **1565**, 287-293.
46. Capener C.E., Kim H.J., Arinaminpathy Y. and Sansom M.S. Ion channels: structural bioinformatics and modelling // *Hum. Mol. Genet.*, 2002, **11**, 2425-2433.
47. Smit A.B., Brejc K., Syed N. and Sixma T.K. Structure and function of AChBP, homologue of the ligand-binding domain of the nicotinic acetylcholine receptor // *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2003, **998**, 81-92.
48. Barrantes F.J. Modulation of nicotinic acetylcholine receptor function through the outer and middle rings of transmembrane domains // *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.*, 2003, **6**, 620-632.
49. Roux B. and Schulten K. Computational studies of membrane channels // *Structure*, 2004, **12**, 1343-1351.
50. Khalili-Araghi F., Tajkhorshid E. and Schulten K. Dynamics of K⁺ ion conduction through Kv1.2 // *Biophys. J.*, 2006, **91**, 72-74.
51. Sotomayor M., Vasquez V., Perozo E. and Schulten K. Ion conduction through MscS as determined by electrophysiology and simulation // *Biophys. J.*, 2007, **92**, 886-902.
52. Yu J., Yool A.J., Schulten K. and Tajkhorshid E. Mechanism of gating and ion conductivity of a possible tetrameric pore in aquaporin-1 // *Structure*, 2006, **14**, 1411-1423.
53. Unwin N. Nicotinic acetylcholine receptor at 9 Å resolution // *J. Mol. Biol.*, 1993, **229**, 1101-1124.
54. Miyazawa A., Fujiyoshi Y., Stowell M. and Unwin N. Nicotinic acetylcholine receptor at 4.6 Å resolution: transverse tunnels in the channel wall // *J. Mol. Biol.*, 1999, **288**, 765-786.
55. Unwin N. Refined structure of the nicotinic acetylcholine receptor at 4Å resolution // *J. Mol. Biol.*, 2005, **346**, 967-989.
56. Unwin N. Acetylcholine receptor channel imaged in the open state // *Nature*, 1995, **373**, 37-43.
57. Unwin N. Structure and action of the nicotinic acetylcholine receptor explored by electron microscopy // *FEBS Lett.*, 2003, **555**, 91-95.
58. Miyazawa A., Fujiyoshi Y. and Unwin N. Structure and gating mechanism of the acetylcholine receptor pore // *Nature*, 2003, **423**, 949-955.
59. Guex N. and Peitsch M.C. SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: an environment for comparative protein modeling // *Electrophoresis*, 1997, **18**, 2714-2723.
60. Bates P.A., Kelley L.A., MacCallum R.M. and Sternberg M.J. Enhancement of protein modeling by human intervention in applying the automatic programs 3D-JIGSAW and 3D-PSSM // *Proteins Suppl.*, 2001, **5**, 39-46.
61. Berkowitz M.L. Detailed molecular dynamics simulations of model biological membranes containing cholesterol // *Biochim. Biophys. Acta*, 2009, **1788**, 86-96.
62. Mezei M. and Jedlovsky P. Statistical thermodynamics through computer simulation to characterize phospholipid interactions in membranes // *Methods Mol. Biol.*, 2007, **400**, 127-144.
63. Vigh L., Escriba P.V., Sonnleitner A., Sonnleitner M., Piotto S., Maresca B., Horvath I. and Harwood J.L. The significance of lipid composition for membrane activity: new concepts and ways of assessing function // *Prog. Lipid Res.*, 2005, **44**, 303-344.
64. Scott H.L. Modeling the lipid component of membranes // *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2002, **12**, 495-502.
65. Pabst G., Rappolt M., Amenitsch H. and Laggner P. Structural information from multilamellar liposomes at full hydration: full q-range fitting with high quality x-ray data // *Phys. Rev. E.*, 2000, **62**, 4000-4009.
66. Smaby J.M., Momsen M.M., Brockman H.L. and Brown R.E. Phosphatidylcholine acyl unsaturation modulates the decrease in interfacial elasticity induced by cholesterol // *Biophys. J.*, 1997, **73**, 1492-1505.
67. Dunham W.R., Sands R.H., Klein S.B., Duelli E.A., Rhodes L.M. and Marcelo C.L. EPR measurements showing that plasma membrane viscosity can vary from 30 to 100 cP in human epidermal cell strains // *Spectrochim. Acta A*, 1996, **52**, 1357-1368.

68. *Sonnleitner A., Schutz G.J. and T. Schmidt.* Free brownian motion of individual lipid molecules in biomembranes // *Biophys. J.*, 1999, **77**, 2638-2642.
69. *Khandelia H., Ipsen J.H. and Mouritsen O.G.* The impact of peptides on lipid membranes // *Biochim. Biophys. Acta*, 2008, **1778**, 1528-1536.
70. *Killian J.A. and. Nyholm T.K.* Peptides in lipid bilayers: the power of simple models // *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2006, **16**, 473-479.
71. *Gumbart J., Wang Y., Aksimentiev A., Tajkhorshid E. and Schulten K.* Molecular dynamics simulations of proteins in lipid bilayers // *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2005, **15**, 423-431.
72. *Efremov R.G., Nolde D.E., Konshina A.G., Syrtcev N.P. and Arseniev A.S.* Peptides and proteins in membranes: what can we learn via computer simulations // *Curr. Med. Chem.*, 2004, **11**, 2421-2442.
73. *Tieleman D.P., Berendsen H.J. and Sansom M.S.* Surface binding of alamethicin stabilizes its helical structure: molecular dynamics simulations // *Biophys. J.*, 1999, **76**, 3186-3191.
74. *Tieleman D.P., Sansom M.S. and Berendsen H.J.* Alamethicin helices in a bilayer and in solution: molecular dynamics simulations // *Biophys. J.*, 1999, **76**, 40-49.
75. *Tieleman D.P., Berendsen H.J. and Sansom M.S.* Voltage-dependent insertion of alamethicin at phospholipid/water and octane/water interfaces // *Biophys. J.*, 2001, **80**, 331-346.
76. *Toniolo C., Crisma M., Formaggio F., Peggion C., Epand R.F. and Epand R.M.* Lipopeptaibols, a novel family of membrane active, antimicrobial peptides // *Cell Mol. Life Sci.*, 2001, **58**, 1179-1188.
77. *Montesinos E.* Antimicrobial peptides and plant disease control // *FEMS Microbiol. Lett.*, 2007, **270**, 1-11.
78. *Whitmore L., Chugh J.K., Snook C.F. and Wallace B.A.* The peptaibol database: a sequence and structure resource // *Journal Peptide Science*, 2003, **9**, 663-665.
79. *Whitmore L. and Wallace B.A.* The Peptaibol Database: a database for sequences and structures of naturally occurring peptaibols // *Nucleic Acids Research*, 2004, **32**, 593-594.
80. *Ovchinnikova T.V., Murashev A.N.* The peptaibol antibiotic zervamicin displays neurotropic activity // *Dokl. Biochem. Biophys.*, 2007, **414**, 146-148.
81. *Argoudelis A.D., Dietz A. and Johnson L.E.* Zervamicins I and II, polypeptide antibiotics produced by *emerizellopsis salmosynnemata* // *J. Antibiot. (Tokyo)*, 1974, **27**, 321-328.
82. *Agarwalla S., Mellor I.R., Sansom M.S., Karle I.L., Flippen-Anderson J.L., Uma K., Krishna K., Sukumar M. and Balaram P.* Zervamicins, a structurally characterised peptide model for membrane ion channels // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1992, **186**, 8-15.
83. *Hilder T.A. and Hill J.M.* Modeling the loading and unloading of drugs into nanotubes // *Small*, 2009, **5**, 300-308.
84. *Zhu F. and Schulten K.* Water and proton conduction through carbon nanotubes as models for biological channels // *Biophys. J.*, 2003, **85**, 236-244.
85. *Pei Q.X., Lim C.G., Cheng Y. and Gao H.* Molecular dynamics study on DNA oligonucleotide translocation through carbon nanotubes // *J. Chem. Phys.*, 2008, **129**, 125101.
86. *Xie Y., Kong Y., Soh A.K. and Gao H.* Electric field-induced translocation of single-stranded DNA through a polarized carbon nanotube membrane // *J.Chem.Phys.*, 2007, **127**, 225101.
87. *Cui D., Ozkan C.S., Ravindran S., Kong Y. and Gao H.* Encapsulation of pt-labelled DNA molecules inside carbon nanotubes // *Mech. Chem. Biosyst.*, 2004, **1**, 113-121.
88. *Yeh I.C. and Hummer G.* Nucleic acid transport through carbon nanotube membranes // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2004, **101**, 12177-12182.
89. *Zou J., Ji B., Feng X.Q. and Gao H.* Self-assembly of single-walled carbon nanotubes into multiwalled carbon nanotubes in water: molecular dynamics simulations // *Nano. Lett.* 2006, **6**, 430-434.

MOLECULAR MODELLING IN FUNDAMENTAL AND APPLIED RESEARCH (BIOENGINEERING AND NANOBITECHNOLOGY)

K.V. Shaitan, O.V. Levtsova, M.P. Kirpichnikov

Moscow State University
shaytan49@yandex.ru

Received 30.06.09

Dynamical approaches to molecular modelling and design of bio- and nanostructures are discussed. Among the objects under investigation there are biomembranes, ion channels, antimicrobial peptides, carbon nanotubes and their complexes with biopolymers. Diffusion phenomena of bioactive molecules in membrane structures, dynamics of ion transport through the channel of acetylcholine and glycine receptors are studied. Antimicrobial peptides interaction with biomembranes is investigated. Molecular dynamics of the interaction between carbon nanotubes and biological membranes, self-assembly of a polyalanine-nanotube complex, functioning of a molecular device for delivery of molecules through the membrane, refolding of a polymer chain interacting with a nanotube - these processes are under consideration.