

УДК 551.511.61,577.322.52

## К гидродинамической интерпретации процесса укладки $\alpha$ -спирального белка\*

В.А. Андрущенко, С.Ф. Чекмарев

*Институт теплофизики им. С.С. Кутателадзе СО РАН, Новосибирск  
Новосибирский государственный университет*

E-mail: chekmarev@itp.nsc.ru

С использованием метода молекулярной динамики проведено моделирование укладки белка в виде  $\alpha$ -спиральной шпильки из развернутого состояния в компактное функциональное (нативное) состояние. Процесс укладки интерпретируется как стационарное движение сжимаемой «жидкости укладки». Показано, что плотности потоков укладки подчиняются тем же соотношениям подобия, что и скорости несжимаемой жидкости в классической теории турбулентности Колмогорова, с той разницей, что роль ключевого параметра, представляющего собой скорость изменения кинетической энергии на единицу массы жидкости, играет скорость изменения дисперсии потоков на единицу объема.

**Ключевые слова:**  $\alpha$ -спиральный белок, процесс укладки, потоки укладки, турбулентность.

Классическая теория турбулентности предполагает, что движущаяся среда (жидкость или газ) несжимаема [1, 2]. В то же время, плотность среды может сильно изменяться, как, например, в сверхзвуковых турбулентных струях [3], при вулканических извержениях [4] и формировании астрофизических объектов [5–6]. Одним из основных вопросов при переходе от несжимаемой жидкости к сжимаемой является вопрос о том, какой вид приобретают соотношения подобия для изменения скорости потока с расстоянием, введенные А.Н. Колмогоровым для однородной изотропной турбулентности в несжимаемой жидкости [7].

Исходя из предположения, что в инерционном интервале сохраняется скорость изменения кинетической энергии  $\rho u^2 u / l$  ( $l$  — характерный размер вихрей), равная скорости диссипации энергии [8], в работе [4] было предложено рассматривать вместо скорости потока жидкости  $\mathbf{u}(\mathbf{r})$  «взвешенную скорость»  $\mathbf{v}(\mathbf{r}) = \rho(\mathbf{r})^{1/3} \mathbf{u}(\mathbf{r})$ , где  $\rho(\mathbf{r})$  — плотность жидкости. В этом случае  $\delta v(l) \propto l^{1/3}$ , что представляет собой обобщение гипотезы Колмогорова для несжимаемой жидкости [7]. Соответственно, структурные функции  $p$ -го порядка имеют вид  $C_p(l) = \langle \delta v^p(l) \rangle \propto l^{p/3}$ .

В то же время, представляется более естественным иметь дело не со взвешенной скоростью  $\mathbf{v}(\mathbf{r})$ , а с плотностью потока жидкости  $\mathbf{j}(\mathbf{r}) = \rho(\mathbf{r})\mathbf{u}(\mathbf{r})$ . При этом возникают два основных вопроса: удовлетворяют ли плотности потока каким-либо соотношениям подобия и, если так, что является аналогом скорости изменения потока энергии, который играет роль основного параметра в инерционном интервале. В настоящей работе эти вопросы исследуются на примере динамики укладки (фолдинга) белка.

\* Исследование выполнено за счет гранта РФФИ (проект № 14-14-00325).

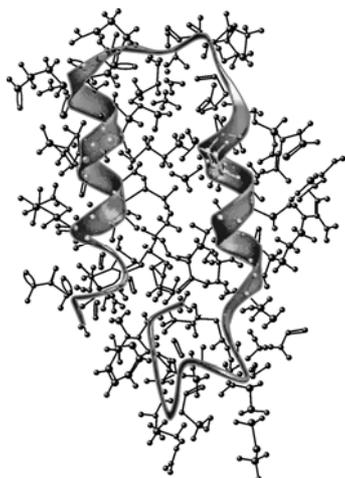


Рис. 1. Нативная структура белка (A domain; 1zda.pdb [14]).

Точки и тонкие линии показывают атомную структуру белка, а ленты — его вторичную структуру.

Фолдинг белка — это процесс сворачивания белка из развернутого состояния, которое он имеет после синтеза, в компактное функциональное (нативное) состояние. Хотя фолдинг белка и движение жидкости существенно отличаются как по природе самих систем, так и по их динамике, определенная аналогия между ними существует, если рассматривать потоки вероятности укладки белка в трехмерном пространстве коллективных переменных [9]. В этом случае процесс укладки можно представить как стационарный поток «жидкости укладки» из развернутого состояния белка в нативное; при этом роль плотности жидкости укладки играет вероятность обнаружения белка в данной точке пространства, которая, как правило, изменяется на несколько порядков. Было обнаружено, что во многих случаях потоки укладки содержат множество мелких вихрей [10–12], что роднит их с турбулентным движением жидкости.

В настоящей работе в качестве модельной системы был выбран белок в виде  $\alpha$ -спиральной шпильки, представляющий собой мотив, часто встречающийся в белках [13]. В рассматриваемом случае использовалась структура mini-protein A domain [14] (рис. 1). Моделирование процесса укладки проводилось методом молекулярной динамики (МД) в среде пакета CHARMM [15]. Поскольку для получения удовлетворительной статистики по потокам укладки требовалось большое число МД-траекторий (было смоделировано 200 траекторий), использовалось приближение неявного растворителя [16, 17], позволяющее радикально ускорить процесс сворачивания белка. Для определения текущей структуры белка использовался набор расстояний между  $C_\alpha$ -атомами белковой цепи, который формировал исходное конформационное пространство состояний белка. Это пространство затем сводилось к трехмерному пространству коллективных переменных  $\mathbf{g} = (g_1, g_2, g_3)$  с помощью метода главных компонент [18]; в сумме эти переменные покрывают 88 % вариации расстояний, определяющих ковариационную матрицу. Переменные  $g_1$ ,  $g_2$  и  $g_3$  имеют размерность длины и измеряются в ангстремах (Å). Траектории начинались в развернутом состоянии белка и заканчивались в нативном. Момент достижения нативного состояния определялся условием, что среднеквадратичное отклонение от нативной структуры по  $C_\alpha$ -атомам меньше, чем среднеквадратичное отклонение различных копий нативного состояния, определенного с помощью ядерного магнитного резонанса, между собой (3,8 Å) [14]. Было получено, что распределение времен укладки носит экспоненциальный характер, а среднее время укладки  $t_f \approx 0,5$  мкс. Экспоненциальное распределение времен укладки свидетельствует о присутствии двух характерных состояний белка: полукompактных и нативно-подобных, разделенных барьером по свободной энергии, что характерно для укладки коротких белков [13].

Потоки вероятностей укладки  $\mathbf{j}(\mathbf{g})$  вычислялись как числа переходов в единицу времени через текущий элемент поверхности в  $\mathbf{g}$ -пространстве подобно тому, как вычисляются средние потоки молекул в кинетической теории, т.е., характеристические точки системы в  $\mathbf{g}$ -пространстве играли роль молекул [9]. На рис. 2a показано векторное поле потоков  $\mathbf{j}(\mathbf{g})$ , а на рис. 2b — области, где дивергенция потоков  $\nabla \cdot \mathbf{j}(\mathbf{g})$  отлична от нуля: в области развернутых состояний ( $U$ ), откуда МД-траектории стартовали ( $\nabla \cdot \mathbf{j}(\mathbf{g}) > 0$ ), и в области нативных состояний ( $N$ ), где они заканчивались ( $\nabla \cdot \mathbf{j}(\mathbf{g}) < 0$ ). Из рис. 2a видно, что потоки становятся очень хаотичными (турбулентными) при приближении к нативному состоянию.

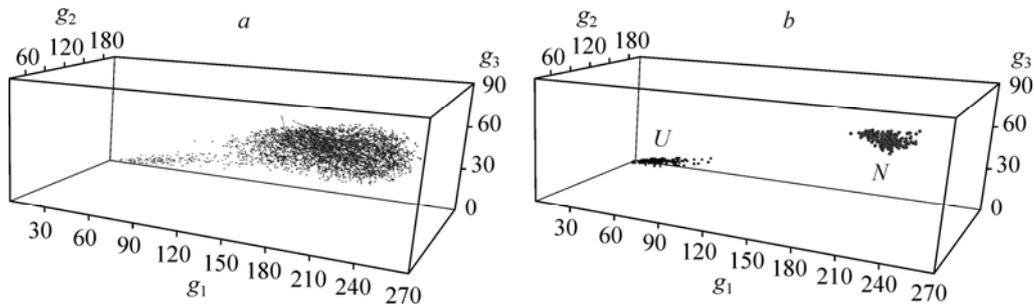


Рис. 2. Векторное поле (a) и дивергенция (b) потоков. Переменные  $g_1$ ,  $g_2$  и  $g_3$  измеряются в Å.

Вероятность обнаружения системы в различных точках  $\mathbf{g}$ -пространства, т.е. плотность «жидкости укладки», изменялась примерно в  $10^4$  раз.

На рис. 3 приведены продольные структурные функции второго и третьего порядков, которые вычислялись как  $C_{II}(l) = \langle \delta j_{II}(l)^2 \rangle$  и  $C_{III}(l) = \langle \delta j_{III}(l)^3 \rangle$ , где  $\delta j_{II}(l) = [\mathbf{j}(\mathbf{g} + \mathbf{l}) - \mathbf{j}(\mathbf{g})] \cdot \mathbf{l} / l$ ,  $\mathbf{l}$  — приращение в  $\mathbf{g}$ -пространстве, а угловые скобки означают усреднение по ансамблю траекторий укладки белка. Видно, что в области изменения инкремента от  $l \approx 50$  до  $l \approx 120$   $C_{II}(l) \propto l^{2/3}$  и  $C_{III}(l) \propto l$ , согласно теории А.Н. Колмогорова. Подобное поведение структурных функций наблюдалось ранее для укладки другого белка — SH3 домена [10]. Существенно, что функция третьего порядка в этом случае отрицательна, что свидетельствует о наличии прямого каскада конформационных превращений белка — от крупномасштабных изменений структуры к мелкомасштабным — по мере приближения к нативному состоянию. Дисперсия вероятностей потоков укладки  $\sigma^2 = \langle [\mathbf{j}(\mathbf{g}) - \langle \mathbf{j}(\mathbf{g}) \rangle]^2 \rangle$  служит аналогом кинетической энергии на единицу массы  $e$

в теории А.Н. Колмогорова. Последняя может быть переписана как  $e = (\sum m u_i^2 / 2) / (nmV) = (\sum u_i^2 / 2) / (mV) = n^{-3} (\sum j_i^2 / 2) / V = n^{-3} \sigma^2 / 2$ , где  $m$  — масса молекулы,  $u_i$  — скорость молекулы,  $n$  — плотность жидкости (числовая),  $j_i = n u_i$  — плотность потока молекул,  $V$  — объем, который занимает жидкость,  $\sigma^2$  — дисперсия потоков на единицу объема. Таким образом, можно ожидать, что скорость изменения дисперсии потоков укладки  $\varepsilon = d\sigma^2 / dt$  будет постоянной, играя роль ключевого параметра, сходного с постоянной скоростью изменения кинетической энергии для несжимаемой жидкости. На рис. 4 показана зависимость дисперсии потоков от времени  $\Delta\sigma^2(\Delta t) = \langle \sigma^2(t + \Delta t) - \sigma^2(t) \rangle_t$ , где  $\sigma^2(\tau) = \langle \{ \mathbf{j}[\mathbf{g}(\tau)] - \langle \mathbf{j}[\mathbf{g}(\tau)] \rangle \}^2 / V \rangle_{\mathbf{g}}$  — дисперсия потоков укладки на единицу объема в момент

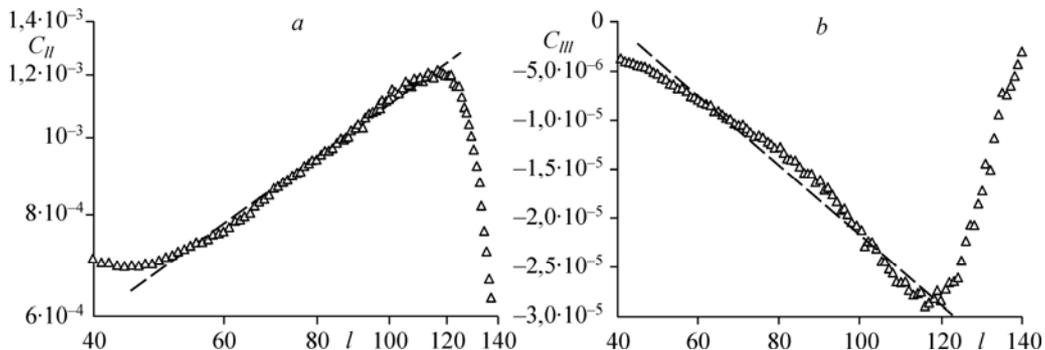


Рис. 3. Структурные функции второго (a) и третьего (b) порядков.

Пунктирные линии показывают зависимости  $C_{II} \propto l^{2/3}$  (a) и  $C_{III} \propto l$  (b); приращение координат  $l$  измеряется в Å.

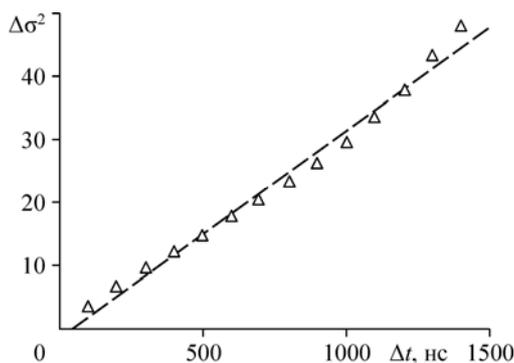


Рис. 4. Изменение дисперсии потоков со временем.

времени  $\tau$ ,  $j[g(\tau)]$  — пространственное распределение потоков в момент времени  $\tau$ , а угловые скобки означают усреднение по времени и по пространству. Видно, что дисперсия изменяется со временем приблизительно по линейному закону, т.е. скорость изменения дисперсии близка к постоянной.

Таким образом, на примере укладки белка показано, что плотности потоков для сжимаемой жидкости подчиняются тем же соотношениям подобия, что и скорости несжимаемой жидкости в классической теории турбулентности А.Н. Колмогорова с той разницей, что роль ключевого параметра — скорости изменения кинетической энергии на единицу массы жидкости — играет скорость изменения дисперсии потоков на единицу объема.

### Список литературы

1. Монин А.С., Яглом А.М. Статистическая гидромеханика. Ч. 1. М: Наука, 1965. 640 с.
2. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Теоретическая физика. Т. 6. Гидромеханика. М: Наука, 1986. 736 с.
3. Кутателадзе С.С., Новопашин С.А., Перепелкин А.Л., Ярыгин В.Н. Тонкая структура течения сверхзвуковой недорасширенной турбулентной струи // Доклад Академии наук СССР. 1987. Т. 295, вып. 3. С. 556–558.
4. Ogdén D.E., Glatzmaier G.A., Wohletz K.H. Effects of vent overpressure on buoyant eruption columns: implications for plume stability // Earth Planet. Sci. Lett. 2008. Vol. 268. P. 283–292.
5. Kritsuk A.G., Norman M.L., Padoan P., Wagner R. The statistics of supersonic isothermal turbulence // Astrophys. J. 2007. Vol. 665. P. 416–431.
6. Federrath C. On the universality of supersonic turbulence // Monthly Not. Royal Astronom. Soc. 2013. Vol. 436. P. 1245–1257.
7. Колмогоров А.Н. Локальная структура турбулентности в несжимаемой вязкой жидкости при очень больших числах Рейнольдса // Доклад Академии наук СССР. 1941. Т. 30. С. 299–303.
8. Lighthill M.J. The effect of compressibility of turbulence // Gas Dynamics of Cosmic Clouds. 1955. Proc. 2nd IAU Symposium. 1955. P. 121–130.
9. Chekmarev S.F., Palyanov A.Yu., Karplus M. Hydrodynamic description of protein folding // Phys. Rev. Lett. 2008. Vol. 100. Iss. 1. P. 018107-1–018107-4.
10. Kalgin I.V., Chekmarev S.F. Turbulent phenomena in protein folding // Phys. Rev. E. 2011. Vol. 83, Iss. 1. P. 011920-1–011920-11.
11. Kalgin I.V., Chekmarev S.F. Folding of a  $\beta$ -sheet miniprotein: probability fluxes, streamlines, and the potential for the driving force // J. Phys. Chem. B. 2015. Vol. 119. P. 1380–1387.
12. Andryushchenko V.A., Chekmarev S.F. A hydrodynamic view of the first passage folding of Trp-cage miniprotein // Eur. Biophys. J. 2016. Vol. 45. P. 229–243.
13. Финкельштейн А.В., Птицын О.Б. Физика белка. М.: Книжный Дом Университет, 2002. 376 с.
14. Starovasnik M.A., Braisted A.C., Wells J.A. Structural mimicry of a native protein by a minimized binding domain // Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1997. Vol. 94. P. 10080–10085.
15. Brooks B.R., Brucoleri R.E., Olafson B.D., States D.J., Swaminathan S., Karplus M. CHARMM: A program for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations // J. Comp. Chem. 1983. Vol. 4. P. 187–217.
16. Neria E., Fischer S., Karplus M. Simulation of activation free energies in molecular systems // J. Chem. Phys. 1996. Vol. 105. P. 1902–1921.
17. Ferrara P., Apostolakis J., Caffisch A. Evaluation of a fast implicit solvent model for molecular dynamics simulations // Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics. 2002. Vol. 46. P. 24–33.
18. Jolliffe I. Principal component analysis. N.Y.: Springer Verlag, 2002. 486 p.

Статья поступила в редакцию 27 июля 2016 г.