

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
им. М.В. Ломоносова  
ФИЗИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

Лазутин Алексей Александрович

**ВЛИЯНИЕ СТРОЕНИЯ ЗВЕНА, ПОТЕНЦИАЛА  
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ И ПЕРВИЧНОЙ  
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ НА КОНФОРМАЦИОННЫЕ  
СВОЙСТВА БЕЛКОВОПОДОВНЫХ СОПОЛИМЕРОВ:  
КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ**

Специальность 02.00.06 — Высокомолекулярные соединения

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук

Москва – 2004

Работа выполнена на кафедре физики полимеров и кристаллов физического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова.

Научный руководитель:

кандидат физико-математических наук, доцент Иванов В.А.

Официальные оппоненты:

доктор физико-математических наук, профессор Шайтан К.В.

кандидат физико-математических наук Рабинович А.Л.

Ведущая организация:

Институт высокомолекулярных соединений РАН

Защита состоится 26 мая 2004 г. в 16<sup>00</sup> на заседании диссертационного совета Д 501.002.01 в Московском государственном университете им. М.В. Ломоносова по адресу: 119992, ГСП-2, Москва, Воробьевы Горы, МГУ, физический факультет, ауд. ЦФА

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке физического факультета МГУ.

Автореферат разослан 26 апреля 2004 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д 501.002.01

кандидат физико-математических наук

Лаптинская Т.В.



## Общая характеристика работы.

### Актуальность темы работы.

В настоящее время все больший интерес в науке проявляется к функциональным свойствам биологических макромолекул, в том числе, с точки зрения прикладных исследований. Если раньше промышленность производила в основном конструкционные полимерные материалы (резины, пластики), то приблизительно с 80<sup>х</sup> годов прошлого века большее внимание уделяется функциональным полимерам (суперабсорбенты, мембраны). Функциональные полимеры решают все более и более сложные задачи, так что в литературе выделяют класс "интеллектуальных" полимерных систем (полимерные системы для контролируемого выделения лекарств, полимеры, чувствительные к различным полям). В поисках иных задач, которые могут решать полимеры, разумно взглянуть на самые сложные построению и выполняемым задачам полимеры — биополимеры (белки, ДНК, РНК). Изучение механизмов их функционирования важно не только для понимания процессов жизнедеятельности клетки, но и для возможного воспроизведения этих механизмов в искусственных полимерных системах. Это и есть так называемый биомиметический подход, который в последнее время широко обсуждается в научной литературе.

Можно посмотреть на эту проблему и с другой стороны. Исследование механизмов работы биологических сополимеров является достаточно сложной задачей. На ранних стадиях биомолекулярной эволюции предшественники современных биологических полимеров имели, скорее всего, более простое строение и выполняли более простые функции. Поэтому, исследуя модели возможных путей биомолекулярной эволюции, можно научиться создавать синтетические

полимеры, обладающие новыми полезными свойствами.

Последовательность мономерных звеньев в биологических полимерах уникальна и сформирована в процессе эволюции так, что обеспечена достижимость нативной конформации молекулы. С другой стороны, последовательности большинства искусственных сополимеров случайны, имеют марковскую статистику. Важной задачей является получение сополимеров с неслучайной последовательностью, адаптированной к выполнению определенных функций, по своей сложности похожих на функции биологических полимеров.

Метод компьютерного моделирования играет важную роль при исследовании систем сополимеров с различной статистикой первичной последовательности из-за сложности теоретического описания подобных систем, а также из-за трудностей постановки реального эксперимента, связанных с наличием большого числа варьируемых параметров в таких системах. Метод компьютерного эксперимента позволяет достаточно быстро изучить модельную систему в широком диапазоне значений многих параметров.

### Цель работы.

Целью настоящей работы являлось изучение с помощью компьютерного моделирования конформационного поведения макромолекул *HP*-сополимера с различными типами первичной последовательности мономерных звеньев типов *H* (гидрофобных) и *P* (полярных или гидрофильных) под влиянием различных факторов: 1) изменения первичной последовательности, 2) введения дополнительного нетривиального потенциала взаимодействия между звеньями, 3) более подробного учета деталей структуры мономерного звена.

## Научная новизна результатов.

В представленной работе

- обнаружен эффект микросегрегации мономерных звеньев одного типа в *HP*-сополимере с последовательностью, моделирующей структуру мембранного белка;
- впервые разработан алгоритм для моделирования анизотропной насыщающейся связи;
- показано, что включение как изотропных, так и анизотропных насыщающихся связей в белковоподобный *HP*-сополимер не приводит к существенному повышению стабильности пространственной структуры цепи;
- впервые проведено исследование агрегации белковоподобных *HA*-цепей, состоящих из амфифильных (*A*) и гидрофобных (*H*) мономерных звеньев в растворе; показано, что сополимеры с белковоподобной последовательностью в такой модели практически не агрегируют, а у сополимера с регулярной последовательностью амфифильных и гидрофобных звеньев агрегация более выражена;
- впервые в растворе регулярных *HA*-сополимеров обнаружены межцепные линейные микроструктуры, состоящие из индивидуальных цилиндрических глобул, соединенных между собой торцами.

## Практическая значимость.

Исследование простых компьютерных моделей конформационно-зависимого синтеза первичных последовательностей сополимера яв-

ляется первой ступенью на пути к созданию синтетических сополимеров, способных выполнять сложные функции. Кроме того, исследование сополимеров с неслучайными последовательностями — это еще один шаг к пониманию механизмов действия биополимеров. Предложенные в диссертации модели являются довольно "грубыми", чтобы исследовать реальные процессы химического синтеза, но они позволяют оценить значимость тех или иных факторов (вида последовательности, вкладов в потенциал взаимодействия, структуры мономерного звена) для получения сополимеров с оптимальными свойствами.

В диссертации разработаны новые эффективные алгоритмы для "огрубленных" компьютерных моделей. Их использование позволяет исследовать поведение ансамблей молекул на больших временных и пространственных масштабах.

### Структура работы.

Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения, списка цитированной литературы из 63 наименований и двух приложений. Она содержит 93 страницы, включая 36 рисунков.

### Публикации.

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ и 11 тезисов конференций.

### Апробация работы.

Основные результаты диссертации докладывались и обсуждались на конференциях студентов и аспирантов по физике и химии полимеров и тонких органических пленок (Дубна 2000, Санкт-Петербург

2000, Дубна 2002); на Второй и Третьей Всероссийской Каргинских конференциях "Физика и химия полимеров в начале 21го века" (Черноголовка, 2000) и "Полимеры-2004" (Москва, 2004); на международном симпозиуме "Nonlinear Dynamics in Polymer Science and Related Fields" (Десна, 1999), на международном симпозиуме "Europhysics Conference on Computational Physics", (Ахен, Германия, 2001); на совещании Discussion Meeting on Multi-Level Ordering "Molecular Organization for Nanosystems" (Клостер Банц, Германия, 2003).

## Содержание работы.

Во введении обоснована актуальность темы работы, представлены ее цели и структура.

Первая глава состоит из трех частей, которые содержат обзор литературы по теме диссертации. Первая часть посвящена изложению основных подходов и достигнутых результатов в области теоретического описания гетерополимеров. Во второй части рассматриваются различные подходы к конструированию немарковских последовательностей для сополимеров. В третьей части представлено описание модели цепи с флуктуирующей длиной связи, использованной для компьютерного моделирования в диссертации.

Оригинальные результаты содержатся во второй, третьей и четвертой главах.

Во второй главе исследуется схема конформационно-зависимого синтеза последовательности  $HP$ -сополимера, грубо моделирующего пространственную структуру мембранного белка. В качестве "родительской" конформации для последующей процедуры "окраски", т.е. присвоения звеньям двух типов  $H$  и  $P$ , используется конформация гомополимерной глобулы.

Процедура "окраски" была выбрана с учетом того, что центральный слой глобулы мембранного белка находится в липидном бислое и соответственно состоит преимущественно из гидрофобных аминокислот, а в боковых полусферах, выступающих в растворитель внутри и вне клетки, расположены в основном гидрофильные аминокислоты.

Исходная гомополимерная макромолекула в клубковом состоянии (рис. 1, а) представляет собой цепь без самопересечений. При температуре  $T = 2$  (в условных энергетических единицах, связанных с выбранным потенциалом взаимодействия), которая ниже температуры перехода клубок-глобула для гомополимерной цепи, цепь коллапсирует в глобулу (b). Затем звеньям, расположенным в узком слое, приписывается тип  $H$  — гидрофобные, остальным звеньям приписывается тип  $P$  — гидрофильные (с). Толщина слоя выбирается такой, чтобы соблюсти заданный состав: 30% звеньев типа  $H$  и 70% звеньев типа  $P$ .  $HP$ -сополимер с последовательностью типа мембранного белка готов для исследования (d).

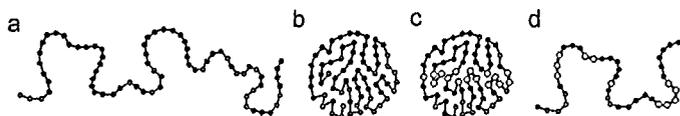


Рис. 1. Приготовление последовательностей  $HP$ -сополимера, моделирующего пространственную структуру мембранного белка.

В работе применяется метод Монте-Карло и хорошо известная решеточная модель цепи с флуктуирующей длиной связи. При моделировании вводится потенциал объемного взаимодействия между звеньями, соответствующий так называемой гидрофобно-полярной (ГП-,  $HP$ -) модели. Пары звеньев, находящихся в непосредственном

контакте, т.е. на расстоянии, меньшем некоторого заранее заданного радиуса взаимодействия, приписывается энергия  $\epsilon_{\alpha\beta}$ , где  $\alpha, \beta = H, P$  — тип мономерного звена. В оригинальной ГП-модели взаимодействии задается потенциалом:  $\epsilon_{PP} = 0, \epsilon_{HP} = 0, \epsilon_{HH} = -1$ , что соответствует притяжению между гидрофобными  $H$ -звеньями. В данной работе использовалась ГП-модель с притяжением между всеми типами звеньев:  $\epsilon_{PP} = -1, \epsilon_{HP} = -1, \epsilon_{HH} = -2$ .

При окраске (рис. 1) мы отслеживали, в каком полушарии, верхнем или нижнем, находилось данное мономерное звено типа  $P$ , и приписывали ему тип  $P_1$  или  $P_2$  соответственно. После разворачивания глобулы в клубок и последующего коллапса цепи снова в глобулу мы отслеживали расположение этих звеньев. Оказалось, что звенья, находившиеся в одном полушарии в момент окраски, преимущественно оставались вместе, а звенья, находившиеся изначально в разных полушариях, оставались разделены.

Явление микросегрегации, то есть пространственного разделения мономерных звеньев различного типа в пределах одной молекулы, давно обнаружено экспериментально, а также рассматривалось теоретически. Однако в описанных случаях микросегрегация была основана на разности потенциалов взаимодействия между разными типами мономерных звеньев. В нашей работе наблюдалось разделение звеньев, не отличающихся по энергии взаимодействия, то есть с энергетической точки зрения одинаковых. Таким образом, разделение звеньев было обусловлено только свойствами самой последовательности.

Для получения численного результата для цепи длиной  $N = 250$  мономерных звеньев была исследована температурная зависимость числа контактов между мономерными звеньями типа  $P$ , находившимися в момент окраски в одном полушарии и в разных полушариях.

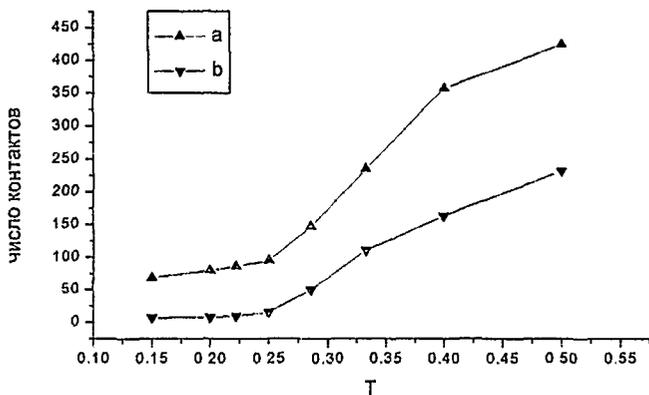


Рис. 2. Зависимость от температуры числа контактов между мономерными звеньями типа  $P$ , находившимися в момент окраски в разных полушариях(а) и в одном полушарии(б);  $N = 250$ ,  $N_H = 75$ ,  $N_P = 175$ .

На рис. 2 приведены значения числа таких контактов в расчете на одну цепь. В случае гауссовой цепи максимальное число контактов между звеньями типа  $P$  из разных полушарий равно  $(\frac{N_P}{2})^2$ , а из одного —  $2 \times \frac{1}{2} \frac{N_P}{2} (\frac{N_P}{2} - 1)$ , где  $N_P$  — число звеньев типа  $P$ . Эти величины — одного порядка по большому параметру  $N_P$ , поэтому никакой дополнительной перенормировки не требуется.

Видно, что с уменьшением температуры число контактов обоих типов увеличивается, что объясняется переходом в плотное глобулярное состояние, но число контактов между звеньями, находившимися в момент окраски в одном полушарии, растет быстрее и больше по величине.

Если энергетическое взаимодействие не объясняет пространственную микросегрегацию, то, вероятно, за нее отвечает структура последовательности. Мы исследовали гистограммы длин блоков, содержащих только звенья типа  $H$ . При этом проводилось разделение

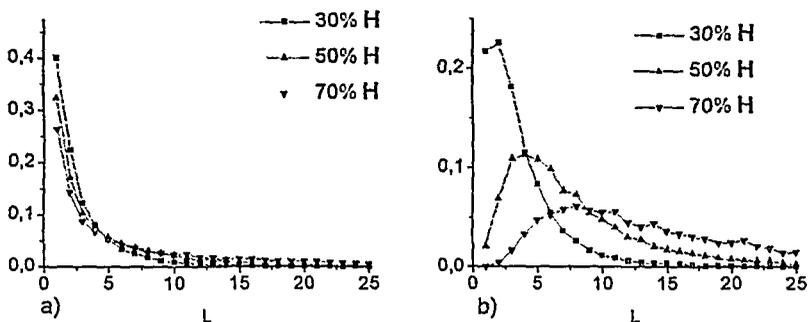


Рис. 3. Гистограммы длины блоков мономерных звеньев типа  $H$ : а) “петли” б) “мостики”. Разными символами показаны зависимости для разного процентного состава  $H$ -звеньев.

этих блоков на две группы: 1)  $H$ -блоки, ограниченные звеньями типа  $P$ , принадлежавшими одной полусфере (мы назвали их “петлями” или “заходящими” субцепями, так как они заходят в ядро и выходят обратно в ту же самую полусферу); 2)  $H$ -блоки, ограниченные звеньями типа  $P$ , принадлежавшими разным полусферам (мы назвали их “мостиками” или “проходящими” субцепями, так как они проходят внутренний слой насквозь, соединяя разные полусферы).

Гистограммы для “заходящих” и “проходящих”  $H$ -блоков для различных соотношений  $H$  и  $P$  звеньев показаны на рис. 3. Видно, что в среднем длина “петель” мала, и вероятность такой подпоследовательности иметь единичную длину максимальна. У “мостиков”, напротив, наиболее вероятная длина больше единицы и, конечно, зависит от соотношения  $H$  и  $P$  звеньев, то есть от толщины слоя  $H$  звеньев.

Итак, простейшее объяснение эффекту микросегрегации может выглядеть следующим образом: после перехода из глобулярного состояния в клубковое и обратно сначала формируется ядро из  $H$  зве-

пьев, так как взаимодействие между ними в два раза сильнее, и лишь затем на это ядро осаждается слой  $P$  звеньев, образуя единую глобулу. При формировании  $H$  ядра “заходящие” субцепи, имеющие малую длину, не могут пройти ядро насквозь, выходят с той же стороны, с которой вошли, и, таким образом, остаются последовательно-стями типа “петли”, а мономеры типа  $P$ , ограничивающие такую  $H$ -подпоследовательность, оказываются расположенными близко друг от друга в пространстве (при этом они и в исходной конформации находились в одной полусфере). “Проходящие”  $H$ -субцепи имеют длину, достаточную для того, чтобы пройти ядро насквозь и, таким образом, остаться последовательностями типа “мостиков”, то есть они допускают удаленное расположение  $P$  звеньев, которые находятся по обе стороны от этого  $H$ -блока и которые принадлежали разным полусферам в исходной конформации. Итак, мы видим, что исходная структура “родительской” конформации восстанавливается.

В третьей главе рассматривалось влияние дополнительных взаимодействий (по типу насыщающихся связей между некоторыми выделенными звеньями) на способность белковоподобного сополимера восстанавливать структуру “родительской” глобулы.

Используется метод Монте-Карло и модель цепи с флуктуирующей длиной связи. Вводится потенциал объемного взаимодействия между звеньями, соответствующий гидрофобно-полярной ( $HP$ -) модели. Пары звеньев, находящихся на расстоянии меньшем, чем  $\sqrt{6}$  друг от друга (в единицах длины ребра элементарного куба решетки), приписывается энергия  $\varepsilon_{\alpha\beta}$ , где  $\alpha, \beta = H, P$  — тип мономерного звена. Мы использовали следующие значения:  $\varepsilon_{PP} = 0$ ,  $\varepsilon_{HP} = 0$ ,  $\varepsilon_{HH} = -1$ .

Некоторая часть последовательностей  $HP$ -сополимеров, изучаемых в данной главе, была приготовлена в соответствии с концепцией

конформационно-зависимого синтеза. Была использована процедура "окраски" типа "ядро-оболочка", т.е. поверхностным звеньям гомополимерной глобулы присваивался тип *P*, а внутренним — тип *H*, и дополнительно нескольким парам гидрофобных *H*-звеньев в ядре присваивалось свойство взаимодействовать друг с другом с образованием насыщающейся связи.

Уникальная пространственная структура природных белков формируется во многом за счет водородных связей. В диссертации для их описания была выбрана модель насыщающихся связей: каждое мономерное звено может взаимодействовать только с одним звеном из всех, находящихся в пределах радиуса взаимодействия. Другими словами, после формирования связи между двумя звеньями присутствие других мономерных звеньев в их непосредственной близости не изменит полную энергию системы. Ожидалось, что введение таких дополнительных взаимодействий избирательного типа может привести к улучшению восстанавливаемости структуры глобулы белковоподобного сополимера.

Начальная клубковая конформация гомополимерной цепи длиной  $N = 128$  звеньев (рис. 4а) при температуре  $T = 2$  (ниже температуры перехода клубок-глобула) коллапсирует в глобулу (рис. 4б). Затем звеньям, расположенным в ядре глобулы, приписывается тип *H* — гидрофобные (заштрихованы на рисунке 4с серым цветом), остальным звеньям приписывается тип *P* — полярные (рис. 4с). Состав цепи был взят равным 50% звеньев типа *H* и 50% звеньев типа *P*. После этого выбирается несколько пар гидрофобных звеньев (два гидрофобных звена, которые лежат в пределах радиуса взаимодействия насыщающейся связи и не являются соседями вдоль по цепи) и им приписывается свойство быть способными формировать насыщающиеся связи (на рисунке отмечены черным цветом). Полное

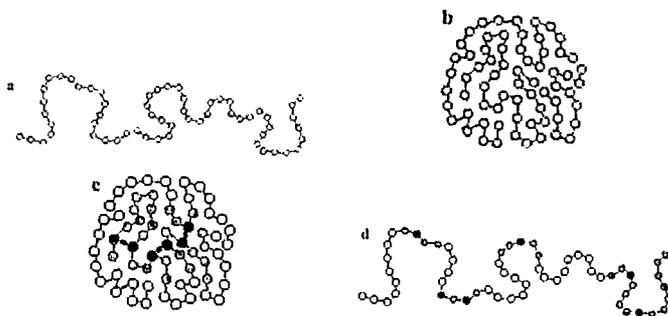


Рис. 4. Приготовление белковоподобного НР-сополимера с насыщающимися связями (см. пояснения в тексте).

число мономерных звеньев, способных сформировать насыщающиеся связи, было выбрано  $M = 16$ . Белковоподобный НР-сополимер с насыщающимися связями готов для исследования (рис. 4d).

Для моделирования насыщающейся связи в алгоритм вводились дополнительные шаги Монте-Карло создания и разрыва таких связей. На шаге создания связи пара звеньев, способных образовывать насыщающуюся связь, но еще свободных, получает возможность образовать эту связь с вероятностью, пропорциональной больцмановскому весу, а на шаге разрыва имеющиеся в системе связи могут быть разорваны с вероятностью, также пропорциональной больцмановскому весу. Исследования проводились для значения энергии одной насыщающейся связи  $\epsilon_{SB} = -1$ . При локальном смещении одного из звеньев имеющаяся связь учитывается как жесткая и неразрушаемая. Благодаря разделению шагов создания и разрыва связей и выполнению условия микроскопической обратимости (детального баланса) на каждом из них, наш алгоритм удовлетворяет условию детального баланса и в целом.

Для исследования структуры насыщающихся связей, восстано-

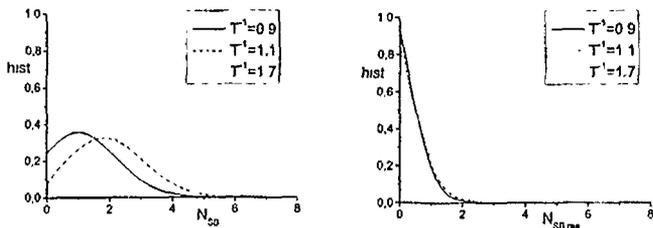


Рис. 5. Гистограмма числа насыщающихся связей в системе (слева) и тех из них, что присутствовали в "родительской" конформации (справа).

ленных при коллапсе из клубкового состояния, мы измеряли число насыщающихся связей в системе и сравнивали его с числом тех из них, что совпадают со связями, присутствовавшими в "родительской" конформации. Гистограммы этих величин при разных значениях температуры показаны на рис. 5. Из сравнения этих гистограмм видно, что вне зависимости от температуры и, таким образом, от среднего числа насыщающихся связей в системе, связи, присутствовавшие в "родительской" конформации, не восстанавливаются.

При дальнейших исследованиях вводился также потенциал анизотропного насыщающегося взаимодействия, чтобы увеличить избирательность данного потенциала и тем самым улучшить восстанавливаемость структуры глобулы. Для такого потенциала процедура создания связи была модифицирована таким образом, что насыщающуюся связь два мономерных звена могут формировать только в том случае, если две плоскости, образованные каждым из этих мономерных звеньев и их ближайшими соседями вдоль по цепи, параллельны. Соответствующим образом была модифицирована и процедура "окраски" звеньев. В связи с эффективным уменьшением ширины потенциальной ямы при таком изменении потенциала, глубина ямы

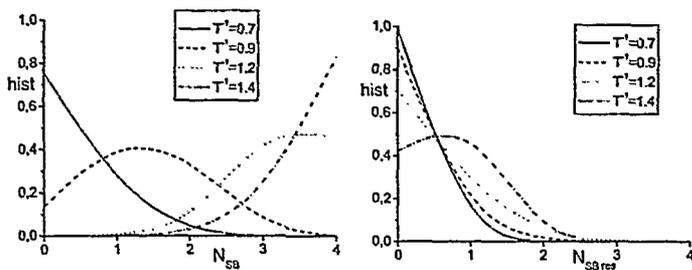


Рис. 6. Гистограмма числа анизотропных насыщающихся связей в системе (слева) и тех из них, что присутствовали в "родительской" конформации (справа).

была увеличена до  $\epsilon_{SB} = -5$ . Число звеньев, способных образовывать насыщающиеся связи, было уменьшено до  $M = 8$ .

Гистограммы числа анизотропных насыщающихся связей в системе и тех из них, что присутствовали в "родительской" конформации, представлены на рисунке 6. При температуре, достаточно низкой для того, чтобы все насыщающиеся связи образовались ( $1/T = 1.4$ ), только одна из них присутствовала в "родительской" конформации. Это говорит о большей избирательности анизотропного потенциала и о несколько лучшем восстановлении исходной структуры. Тем не менее, при имеющемся проценте восстановления исходных связей невозможно говорить о том, что структура глобулы восстановилась. Ожидается, что при увеличении длины цепи и числа звеньев, способных образовывать насыщающиеся связи, структура будет восстанавливаться лучше.

В четвертой главе компьютерная модель была расширена на случай сополимеров содержащих амфифильные ( $A$ ) группы вместо чисто гидрофильных ( $P$ ). Хорошо известно, что в подавляющем большинстве реальных амфифильных полимеров каждое мономерное звено имеет двойной (гидрофобно-гидрофильный) характер, так что

повторяющееся мономерное звено, обычно рассматриваемое как чисто гидрофобное или чисто гидрофильное, на самом деле включает одновременно и гидрофобную и гидрофильную части. В новой модели вместо гидрофильных и гидрофобных звеньев используются гидрофобные и амфифильные звенья. Амфифильные звенья содержат два силовых центра: гидрофобный и гидрофильный. С использованием данной модели было проведено компьютерное моделирование методом молекулярной динамики регулярных *HA*-сополимеров и квазислучайных *HA*-сополимеров, имеющих белковоподобные последовательности. Основной целью было изучение стабильности цепей к агрегации в условиях плохого растворителя для гидрофобных групп. Для этой цели исследовались системы из многих цепей в селективном растворителе. Морфология раствора и свойства данных систем зависят от первичной структуры амфифила, температуры и концентрации, а также от параметров взаимодействия между компонентами системы.

Для описания взаимодействия в системе использовался параметр  $\tilde{\chi}$ , аналогичный параметру взаимодействия Флори-Хаггинса  $\chi$  и характеризующий качество растворителя в интегральной форме. В то время как относительные силы  $H-H$ ,  $H-P$  и  $P-P$  взаимодействий определяют разделение  $H$  и  $P$  звеньев в компактных (глобулярных) конформациях, интегральный параметр взаимодействия контролирует степень компактности этих конформаций, а также агрегационные свойства сополимера.

Для того, чтобы получить одиночный белковоподобный *HA*-сополимер, была применена следующая вычислительная стратегия:

- Случайно генерируется гомополимер заданной длины  $N$  без самопересечений.

- Конформация уравнивается при низкой температуре в течение времени, более чем достаточного для того, чтобы цепь стала глобулой. Получившаяся гомополимерная глобула — жидкая, т.е. температура была не настолько низкой, чтобы вызвать жесткое замораживание.
- Поверхность глобулы в процессе молекулярно-динамического моделирования претерпевает химическую реакцию; это означает, что мономерные звенья на поверхности вместо того, чтобы быть гидрофобными, приобретают амфифильные свойства:  $H + P \rightarrow A$ . Этот процесс моделируется поэтапной химической реакцией присоединения  $P$  мономеров к гидрофобной основной цепи. Реакция рассматривается как последовательность чередующихся шагов: присоединение нового  $P$  мономера к цепи и последующая релаксация цепи. Процесс заканчивается, когда заданное число гидрофобных мономерных звеньев превращено в тип  $A$ . В результате получается готовая белковоподобная амфифильная глобула, имеющая структуру "ядро-оболочка".

Кубическая ячейка с периодическими граничными условиями, в которой проводилось моделирование, содержит  $n = 27$  сополимеров. Длина стороны ячейки  $L_{box}$  ( $L_{box} = 25\sigma$ ; объем  $V = L_{box}^3$ ). Моделирование проводилось для ряда значений параметра  $\tilde{\chi}$  в интервале от 0.46 до 4.06. При таких условиях с ростом  $\tilde{\chi}$  одиночные цепи могут формировать плотные глобулярные конформации. Для больших значений  $\tilde{\chi}$ , значительно превышающих критическое значение  $\tilde{\chi}^*$  формирования глобул, система многих цепей может заморозиться в метастабильном состоянии. По этой причине моделирование проводилось только вблизи от температуры перехода клубок-глобула.

Для описания процесса ассоциации-диссоциации анализировались

среднее агрегационное число  $\langle m \rangle$  гидрофобных центров при агрегации в кластеры и функция распределения размера кластеров  $W(m)$ , и проводилась оценка соответствующей свободной энергии, характеризующей межмолекулярную агрегацию.

При моделировании амфифильная цепь рассматривалась принадлежащей межмолекулярному агрегату, если любая ее гидрофобная часть касалась гидрофобной части, принадлежащей другой цепи, т.е. расстояние между хотя бы двумя звеньями разных цепей было меньше контактного расстояния  $r_0$ . Если таких межмолекулярных контактов не наблюдалось, считалось, что в системе присутствует 27 отдельных цепей. Размер агрегата, определенного таким образом описывается агрегационным числом цепей  $\langle M \rangle$ , которое есть среднее число макромолекул в агрегате. Это число может быть вычислено как  $\langle M \rangle = \sum_M MW(M)$  или  $\langle M \rangle = \langle m \rangle / N$ , где  $\langle m \rangle$  — средний размер гидрофобного кластера в моделируемом ящике, а  $N$  — длина гидрофобной цепи. Очевидно, при отсутствии притяжения между гидрофобными центрами (т.е. при  $\tilde{\chi} = 0$ ) усредненная по времени функция распределения размера кластера и соответствующее среднее агрегационное число определяется случайными контактами между этими центрами и зависит в первую очередь от их плотности. В данном случае можно ожидать, что  $\langle M \rangle \ll 1$ . Для бесконечно разбавленного раствора неагрегирующих глобул (при  $\tilde{\chi} \gg 1$ ) ожидается, что  $\langle M \rangle \approx 1$ . Формирование межмолекулярных агрегатов будет приводить к  $\langle M \rangle > 1$ .

На рис. 7 представлена зависимость  $\langle M \rangle$  от параметра  $\tilde{\chi}$  для двух цепей с разным типом первичной последовательности. Видно, что при "строгом" определении гидрофобного кластера, использованном в наших вычислениях, белковоподобные глобулы практически не агрегируют: для всего спектра изучаемых  $\tilde{\chi}$  значение  $\langle M \rangle \leq 1$ .

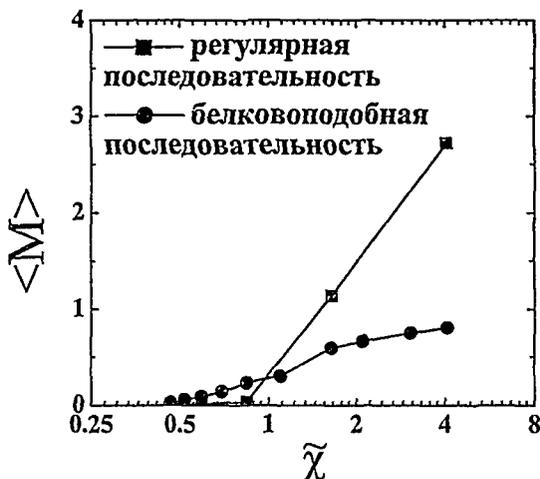


Рис. 7. Среднее агрегационное число цепей как функция качества растворителя  $\tilde{\chi}$ , в полулогарифмической шкале для многоцепной системы регулярного (■) и белковоподобного (●) сополимеров.

Конечно, значения  $\langle M \rangle$  подвержены сильному влиянию выбора конкретного контактного расстояния  $r_0$  (они увеличиваются с ростом  $r_0$ ). В противоположность белковоподобным цепям регулярные сополимеры проявляют тенденцию к образованию маленьких агрегатов с  $\langle M \rangle \geq 2$ , когда гидрофобное притяжение становится значительным. Тщательное исследование мгновенных фотографий подтверждает это наблюдение. Из них также видно, что цилиндрические глобулы могут соединяться своими торцами, формируя удлиненные структуры, состоящие из индивидуальных глобул, соединенных между собой линейным образом. Одним из объяснений может служить тот факт, что гидрофильная оболочка, изолирующая гидрофобное ядро от растворителя, является более разреженной около торцов цилиндрической глобулы, чем у ее боковой стороны. Это

первое свидетельство формирования микроструктуры такого типа. Однако, в данной работе не представляется возможным вычислить подробно ее геометрические параметры и характеристики упаковки из-за небольшого размера исследованных систем.

Еще один способ изучения процесса формирования кластеров -- наблюдение за изменением соответствующей свободной энергии,  $\Delta F$ . Для этого, следуя стандартному квазихимическому подходу, рассмотрим раствор полимера как многокомпонентную систему, в которой межмолекулярные агрегаты различных размеров ( $A_M, M > 1$ ) существуют в равновесии с унимерами ( $A_1$ ),  $A_1 \rightleftharpoons A_M$ . Эти агрегаты рассматриваются как различные компоненты, характеризующиеся каждый своей концентрацией и химическим потенциалом. Эти концентрации  $[A_1]$  и  $[A_M]$  (или молярные доли) можно найти через интегрирование парной корреляционной функции центров масс цепей. Отсюда получаем оценку константы равновесия процесса ассоциации  $K$  и  $\Delta F$ , разности свободной энергии цепей, принадлежащих межмолекулярному агрегату и унимеру. При  $\Delta F < 0$  цепям энергетически выгодно объединяться. При  $\Delta F > 0$  выгодно существование уномеров.

Вычисленные значения  $\Delta F$  представлены на Рисунке 8 как функция параметра взаимодействия  $\tilde{\chi}$ . Как видно, понижение температуры или, что эквивалентно, увеличение параметра взаимодействия  $\tilde{\chi}$  сдвигает равновесие  $A_1 \rightleftharpoons A_M$  ( $M \geq 2$ ) в системе белковоподобных сополимеров к неагрегированному состоянию, что отражено на Рисунке 8 как увеличение  $\Delta F$ . Увеличение свободной энергии объясняется появлением плотной гидрофильной оболочки вокруг сформировавшейся сферической глобулы, которая служит практически непреодолимым энергетическим барьером, предотвращающим агрегацию. Когда качество растворителя ухудшается, цепи сжимаются,

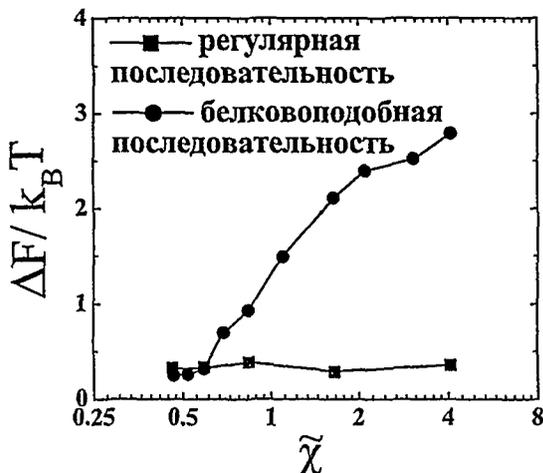


Рис. 8. Свободная энергия агрегации  $\Delta F$  как функция параметра взаимодействия  $\tilde{\chi}$  в полулогарифмическом масштабе для многоцепной системы регулярных (■) и белковоподобных (●) сополимеров.

что сопровождается усилением этого гидрофильного "защитного барьера". С другой стороны, свободная энергия агрегации, вычисленная для системы регулярных сополимеров, слабо зависит от качества растворителя и остается близкой к нулю при всех исследовавшихся значениях энергетического параметра  $\tilde{\chi}$  (см. Рисунок 8). Такое поведение также можно понять, основываясь на данных о конформационной структуре этого сополимера. Так как цилиндрические глобулы имеют большое отношение поверхности к объёму, гидрофильная оболочка регулярного сополимера является не очень плотной и не обеспечивает достаточной защиты, такой как в случае белковоподобных сополимеров. Более того, подробный анализ глобулярных конформаций показывает, что этот слой практически отсутствует около торцов цилиндра. Эти факты объясняют более выраженную тенденцию

регулярного сополимера к линейной агрегации в растворе. Тем не менее, так же как и в случае белковоподобного сополимера, в растворе регулярного сополимера не наблюдается крупномасштабной агрегации макромолекул, по крайней мере при изучавшихся значениях параметров системы.

В заключении перечислены все основные результаты диссертации и положения, выносимые на защиту.

## Основные результаты и выводы диссертации.

1. С помощью компьютерного моделирования методом Монте-Карло изучены свойства одиночной макромолекулы гидрофобно-полярного *HP*-сополимера с первичной последовательностью, приготовленной на основе представлений об общей структуре мембранного белка.
  - (а) Обнаружен эффект микрорасслоения полярных мономерных звеньев, различающихся положением в исходной ("родительской") конформации.
  - (б) Проведен статистический анализ последовательности, и на его основе дано простейшее объяснение этого эффекта.
2. Методом Монте-Карло исследовано влияние дополнительных взаимодействий по типу насыщающихся связей между некоторыми звеньями на восстанавливаемость структуры глобулы белковоподобного *HP*-сополимера.
  - (а) Разработаны алгоритмы для моделирования изотропных и анизотропных насыщающихся связей методом Монте-Карло.
  - (б) Показано, что включение небольшого числа таких связей в структуру исходной ("родительской") глобулы не вызывает

заметного улучшения восстанавливаемости ее структуры.

3. С помощью компьютерного моделирования методом молекулярной динамики изучена агрегативная способность молекул белковоподобного гидрофобно-амфифильного *HA*-сополимера в растворе для новой модели, учитывающей амфифильное строение мономерных звеньев.

(а) Показана хорошо выраженная тенденция сополимеров с белковоподобной последовательностью амфифильных и гидрофобных звеньев существовать в растворе в виде одиночных глобул, не агрегируя.

(b) Показана большая склонность регулярного сополимера к агрегации в межцепные линейные микроструктуры, состоящие из индивидуальных цилиндрических глобул, соединенных друг с другом торцами.

### Список публикаций по теме диссертации.

1. V. A. Ivanov, A. V. Chertovich, A. A. Lazutin, N. P. Shusharina, P. G. Khalatur, A. R. Khokhlov, "Computer Simulation of Globules with Microstructure", *Macromolecular Symposia*, 1999, v. 146, p. 259.
2. A.V.Chertovich, V.A.Ivanov, A.A.Lazutin, A.R.Khokhlov, "Sequence Design of Biomimetic Copolymers: Modeling of Membrane Proteins and Globular Proteins with Active Enzymatic Center", *Macromolecular Symposia*, 2000, v. 160, p. 41.
3. A.R. Khokhlov, A. Yu. Grossberg, P.G. Khalatur, V.A. Ivanov, E.N. Govorun, A.V. Chertovich, A.A. Lazutin, "Conformation-Dependent Sequence Design of Protein-Like AB-Copolymers", In: *Proceedings of the International School of Physics "Enrico Fermi", Course CXLV: "Protein folding, evolution and design"*, Eds. R.A.Brogli and E.I.Shakhnovich, IOS Press, Amsterdam, 2001, pp. 313-330.
4. A. R. Khokhlov, V. A. Ivanov, A. V. Chertovich, A. A. Lazutin, "Conformation-Dependent Sequence Design of Copolymers: Example of Bio-Evolution Mimetics Ap-

- proach", in *Structure and Dynamics of Confined Polymers*, J.J Kasianovicz et al., (eds), Kluwer Academic Publishers, 2002, pp. 333-350.
5. A.R. Khokhlov, P.G. Khalatur, V.A. Ivanov, A.V. Chertovich, A.A. Lazutin, "Conformation-Dependent Sequence Design: a Review of the Method and Recent Theoretical and Computer Simulation Results", *SIMU Newsletter*, 2002, v. 4, p. 79.
  6. I.V. Chegodaeva, A.V. Chertovich, A.A. Lazutin, V.A. Ivanov, A.R. Khokhlov, "Conformational Dependent Sequence Design of AB-Copolymers: Study of Chain Properties by Mean of a Monte Carlo Computer Simulation", *Abstracts of 3rd International Symposium on "Molecular Mobility and Order in Polymer Systems"*, Saint-Petersburg, Russia, 7-10 June, 1999, p. P-143.
  7. V.A. Ivanov, A.V. Chertovich, A.A. Lazutin, "Computer Simulation of Conformational-Dependent Sequence Design of AB-Copolymers", *Abstracts of CECAM-ESF Workshop on "Computer Simulation of Polymer Blends and Copolymer Systems"*, Lyon, France, 13-15 September 1999, p. 13.
  8. V.A. Ivanov, A.V. Chertovich, A.A. Lazutin, P.G. Khalatur, A.R. Khokhlov, "Conformational Dependent Sequence Design of Protein-Like AB Copolymers", *Abstracts of International Conference on "Nonlinear Dynamics in Polymer Science and Related Fields"*, Desna, Russia, 11-15 October 1999, p. 175.
  9. A.A. Lazutin, V.A. Ivanov, A.R. Khokhlov, "AB-Copolymers Modeling Globule with Membrane-Like Structure: MC Computer Simulation", *Abstracts of The Second Kargin Symposium "Chemistry and Physics of Polymers at the Beginning of 21st Century"*, Chernogolovka, Russia, 29-31 May, 2000, p. P2-91.
  10. А.А. Лазутин, "АВ-сополимеры, моделирующие глобулы со структурой мембранного типа: компьютерный эксперимент", тезисы докладов "Конференции студентов и аспирантов", Санкт-Петербург, 18-20 октября 2000 г., с. 51.
  11. А.А. Лазутин, "АВ-сополимеры, моделирующие глобулы со структурой мембранного типа: компьютерный эксперимент", тезисы докладов VII Международной конференции студентов и аспирантов по фундаментальным наукам "Ломоносов-2000", секция "Физика", 2000 г., с. 286.
  12. А.А. Лазутин, "Моделирование белковоподобных АВ-сополимеров мембранного типа", тезисы докладов "Конференции студентов и аспирантов", Дубна, 6-7 февраля 2000 г., с. 29.
  13. A.A. Lazutin, V.A. Ivanov, A.R. Khokhlov, "AB-copolymers Mimicking Some Properties of Membrane Proteins: MC Computer Simulation", *Book of Abstract of "Eu-*

rophysics Conference on Computational Physics", Aachen, Germany, 5-8 September, 2001, p. A77.

14. А.А. Лазутин "Белковоподобные сополимеры с насыщающимися связями. Компьютерное моделирование методом Монте-Карло.", тезисы докладов конференции студентов и аспирантов, г. Дубна, 1-3 апреля 2002 г., с. 45.
15. A.A. Lazutin, V.A. Ivanov, A.R. Khokhlov, "Protein-Like Copolymers with Saturating Bonds: Monte Carlo Computer Simulation", Book of Abstracts of 4th International Symposium "Molecular Order and Mobility in Polymer Systems", Saint-Petersburg, June 3-7, 2002, p. P-118.
16. А.А. Лазутин, П.Г. Халатур, А.Р. Хохлов, "Агрегация гидрофобно-амфифильных сополимеров: компьютерное моделирование", тезисы докладов третьей всероссийской конференции "Полимеры-2004", Москва, 27 января - 1 февраля, 2004, т. 2, с. 187.



РНБ Русский фонд

2007-4

16879

13 MAR 2004