

## **НОВЫЙ МЕТОД КОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ОБРАЗОВАНИЯ БЕЛОК-БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ**

© 2009 г. **И. Б. Коваленко, А. М. Абатурова, Г. Ю. Ризниченко,**  
член-корреспондент РАН **А. Б. Рубин**

Поступило 02.04.2009 г.

Большинство биохимических процессов связано с функционированием белковых молекул и их комплексов в реакциях ферментативного катализа, передачи клеточных сигналов. Предсказание структуры белковых комплексов путем их моделирования представляет собой сложную, до сих пор не решенную до конца проблему.

В процессе образования комплекса определяющую роль играют следующие факторы: скорость диффузии белков к месту докинга, дальнедействующие электростатические взаимодействия между поверхностями белков, геометрическая и химическая комплементарности областей связывания, молекулярная подвижность в белок-белковом интерфейсе, водородные связи, ван-дер-ваальсовы взаимодействия, гидрофобные взаимодействия, солевые мостики. Известно, что на разных этапах образования комплекса различные факторы играют разную роль [1]. В настоящее время не существует универсального метода моделирования процесса образования комплекса белков, учитывающего все эти факторы и точно предсказывающего структуру образовавшегося комплекса белков [1, 2].

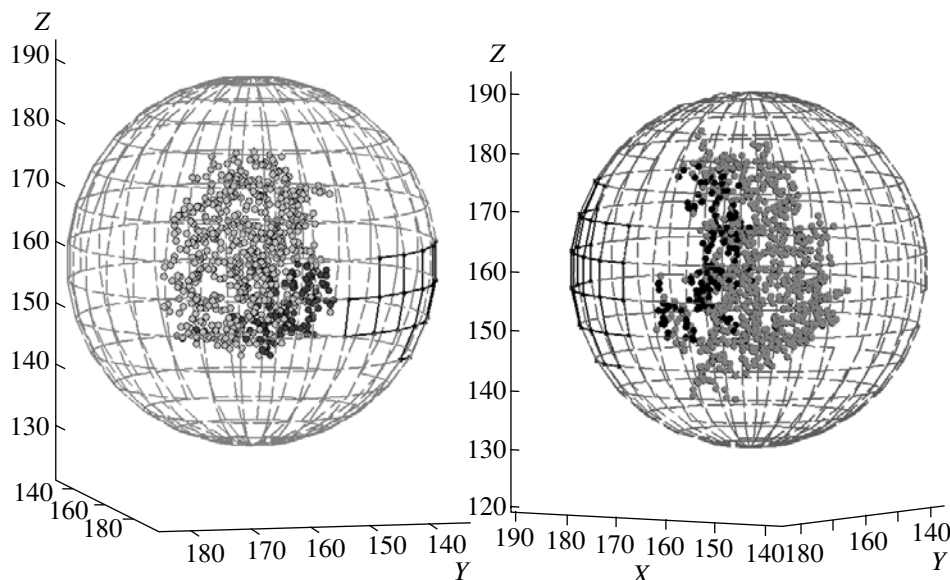
Диффузия молекул и дальнедействующие электростатические взаимодействия, а также геометрическая форма молекул играют определяющую роль при образовании предварительного комплекса. Электростатические взаимодействия делают процесс формирования предварительного комплекса белков более эффективным, значительно ускоряя его. Если геометрическое соответствие областей связывания устанавливается уже в предварительном комплексе, то это обеспечивает оптимальную взаимную ориентацию двух молекул перед последующим формированием финального комплекса. В свою очередь гидрофобные взаимодействия, водородные связи и молекулярная подвижность играют важную

роль в превращении предварительного комплекса в финальный [1].

В данной работе разработан новый метод определения областей связывания белков и структуры предварительного комплекса, учитывающий броуновскую диффузию и электростатические взаимодействия белков при их сближении и позволяющий значительно упростить задачу последующего точного моделирования и предсказания структуры образованного финального комплекса. В методе броуновской динамики, который может быть применен для предсказания структуры комплекса белков, рассмотрено ограничено взаимодействием только двух молекул в растворе [3–5]. Особенностью и новизной нашего метода, как будет показано ниже, является возможность с его помощью исследовать взаимодействия нескольких молекул белков одновременно. Это позволяет моделировать процесс образования большого количества комплексов так, как это происходит в растворе или компартменте клетки, а также наблюдать реальную кинетику этого процесса во времени.

В нашем методе процесс образования комплекса белков условно разделен на несколько этапов: 1) броуновская диффузия белков к месту докинга; 2) их сближение за счет действия электростатических сил притяжения между молекулами, взаимная ориентация молекул в пространстве и формирование предварительного комплекса; 3) образование финального комплекса. Как будет показано ниже, ориентация молекул белков в предварительных комплексах, предсказанная с помощью предложенной компьютерной модели, в большинстве случаев соответствует их реальной ориентации в финальных комплексах.

**Описание метода.** В основе предлагаемого подхода лежит метод прямого компьютерного моделирования диффузии и образования комплексов подвижных белковых переносчиков электрона [6–8]. Моделирование производится в виртуальном трехмерном кубическом реакционном объеме, в котором случайным образом распределены молекулы белков. Для описания движения используется уравнение Ланжевена, опи-



**Рис. 1.** Представление рассчитанной на модели вероятности связывания молекул барстара (слева) и барназы (справа) в виде “глобуса” распределения вероятности. Темные кружки, соответствующие атомам, принадлежат контактирующим аминокислотным остаткам по данным рентгеноструктурного анализа комплекса белков барназа–барстар. Сектора сферы, обрамленные темными линиями, соответствуют областям белка с высокой вероятностью связывания, по расчетам на модели.

сывающее изменение каждой координаты со временем под действием случайной и внешней сил:

$$\xi_x \frac{dx}{dt} = f_x(t) + F_x,$$

где  $x$  – координата, вдоль которой рассматривается движение,  $\xi_x$  – коэффициент вязкого трения вдоль этой координаты,  $f_x(t)$  и  $F_x$  – проекции случайной и электростатической сил на ось  $x$  соответственно. Случайная сила  $f_x(t)$  распределена нормально с нулевым средним и дисперсией, равной  $\frac{2kT\xi_x}{\Delta t}$ . Здесь  $k$  – постоянная Больцмана,  $T$  –

температура,  $\Delta t$  – шаг по времени, который является постоянным в нашем методе. Для вычисления коэффициентов вязкого трения в модели форма молекулы белка аппроксимируется эллипсоидом вращения, а не сферой, как это обычно принято в моделях броуновской динамики [3–5].

Трехмерные модели молекул белков строятся по данным Protein Data Bank. При расчете столкновений белков используется описание формы белков с помощью небольшого количества (10–100) сфер, что дает достаточно реалистичное представление поверхности молекулы для расчета столкновений с другими молекулами и одновременно сокращает время расчетов по сравнению с методами броуновской динамики, в которых используется атомное разрешение поверхности белка. Электростатические взаимодействия между белками учитываются при сближении белков на расстояние

менее 35 Å. Белок представляется как область с диэлектрической постоянной  $\epsilon = 2$  и пространственно распределенными парциальными зарядами, а для окружающего раствора  $\epsilon = 80$ . Электростатическое поле, создаваемое зарядами на поверхности белков, рассчитывается по уравнению Пуассона–Больцмана, что позволяет учесть различные значения диэлектрической проницаемости белков и раствора.

В модели имитируется движение и взаимодействие нескольких сотен молекул белков, что дает возможность наблюдать непосредственно кинетику взаимодействия белков, учитывая взаимодействие нескольких молекул одновременно, и изучать процесс формирования предварительных комплексов в зависимости от геометрических размеров и формы реакционного объема. Используется разбиение множества взаимных положений двух белков на попарно непересекающиеся подмножества, соответствующие интервалу угла поворота  $12^\circ$  одной молекулы относительно другой в сферической системе координат (рис. 1). Получающиеся при таком достаточно детальном разбиении сектора содержат в себе всего один–два аминокислотных остатка на поверхности молекулы. Задача моделирования состоит в том, чтобы найти те сектора и соответствующие им аминокислотные остатки, которые в процессе диффузии и электростатического взаимодействия белков сближаются наиболее часто, т.е. подсчитать вероятность сближения различных аминокислотных остатков и выбрать те из них, для которых

вероятность наибольшая. Во всех численных экспериментах с использованием компьютерной модели в реакционном объеме кубической формы  $70 \times 70 \times 70$  нм моделировалось движение и взаимодействие 100 пар молекул белков на временном интервале 1 мс при постоянном шаге 100 пс.

Для проверки предлагаемого метода использованы пары белков, для которых из экспериментов известны структуры образованных ими комплексов. Если предварительный комплекс не является электростатически оптимальным, то определенный в модели финальный комплекс будет существенным образом отличаться от финального комплекса белков в растворе. Были исследованы восемь пар белков, из них для семи пар (барназа–барстар, колицин E9DNase – иммунный белок 9, ацетилхолинэстераза – фасцикулин 2, тромбин – тромбомодулин, эритропоэтин – эритропоэтинсвязывающий белок, интерлейкин 4 – интерлейкин 4-рецептор, пластоцианин – цитохром f) предсказанные на модели области связывания соответствуют экспериментально определенным областям и лишь для одной пары (колицин E3 RNase – иммунный белок 3) – не соответствуют. На рис. 1 показаны результаты моделирования для молекул белков барназы и барстара: часто сближающиеся области белка показаны темно-серым цветом соответствующего сектора, редко сближающиеся – светло-серым цветом. Из рис. 1 видно, что рассчитанные с помощью модели области с высокой вероятностью связывания (сектора сферы, обрамленные темными линиями) находятся напротив экспериментально определенных областей связывания (темные кружки – атомы), т.е. соответствуют экспериментальным данным. В модели предсказанные структуры предварительных комплексов образуются в результате электростатических взаимодействий и геометрической комплементарности областей связывания. Очевидно, в подавляющем большинстве рассмотренных случаев при сближении белков их электростатические взаимодействия с наибольшей вероятностью обеспечивают взаимное положение белковых молекул, выгодное для их последующего связывания и формирования предварительно комплекса, который затем переходит в финальный.

Таким образом, разработан метод компьютерного моделирования формирования белок-белкового комплекса, учитывающий одновременные диффузию и взаимодействие нескольких сотен молекул белков. Поверхность белковой молекулы аппроксимирована набором сфер, форма – эллипсоидом вращения, электростатическое поле зарядов на поверхности вычислено с учетом разных значений диэлектрической постоянной белков и воды. На примере восьми пар белков показано, что этот метод позволяет достаточно точно предсказать области связывания и структуру предварительного комплекса белковых молекул и является достаточно точным для моделирования процесса формирования комплекса. Построенная модель позволяет проводить моделирование взаимодействий белков при различном распределении зарядов на белках, различной ионной силе и pH среды и таким образом предсказывать области связывания для различных белков при разных условиях.

Авторы выражают благодарность Грэму Смиту и Яну Смиту за обсуждение особенностей структуры исследованных комплексов белков.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты 07–04–00375; 08–04–00354).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Kleanthous C.* Protein-Protein Recognition. N.Y.: Oxford University Press, 2000. 1000 p.
2. *Tramontano A.* The Ten Most Wanted Solutions in Protein Bioinformatics. Boca Raton (FL): CRC Press, 2005. 270 p.
3. *Northrup S.H., Luton J.A., Boles J.O., Reynolds J.C.L.* // J. Computer-Aided Molec. Design. 1987. V. 1. P. 291–311.
4. *Gross E.L., Pearson D.C., Jr.* // Biophys. J. 2003. V. 85. P. 2055–2068.
5. *Spaar A., Dammer C., Gabdouliline R. et al.* // Biophys. J. 2006. V. 90. № 6. P. 1913–1924.
6. *Kovalenko I.B., Abaturova A.M., Gromov P.A. et al.* // Phys. Biol. 2006. V. 3. P. 121–129.
7. *Коваленко И.Б., Абатурова А.М., Грачев Е.А. и др.* // Биофизика. 2008. Т. 53. № 2. С. 261–270.
8. *Kovalenko I.B., Diakonova A.N., Abaturova A.M., Riznichenko G.Yu.* // Proc. Flavins and Flavoproteins Int. Symp. Prensas Univ. de Zaragoza. 2008. P. 437–442.