

Московский физико-технический институт (государственный университет)  
Физтех-школа физики и исследований им. Ландау  
ОП Вычислительная физика конденсированного состояния и живых систем  
Объединенный институт высоких температур РАН

Работа допущена к защите  
зав. кафедрой

\_\_\_\_\_ Норман Г.Э.

«\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 г.

## **Выпускная квалификационная работа на соискание степени БАКАЛАВРА**

**Тема: Молекулярно-Динамическая модель  
кристалла Лизоцима**

Направление: 03.03.01 – Прикладные математика и физика

Выполнил студент гр. 786 \_\_\_\_\_ Поляченко Юрий Анатольевич

Научный руководитель,

д. ф.-м. н., в. н. с.

\_\_\_\_\_ Стегайлов В.В.

Москва – 2021

# Оглавление

|  |    |
|--|----|
| <b>Введение</b> . . . . .  | 3  |
| <b>Глава 1. Описание эксперимента по измерению объемного модуля упругости <math>K</math></b> . . . . . | 5  |
| 1.1. Поверхностная адсорбция . . . . .   | 6  |
| 1.2. Модель Flory-Huggins . . . . .  | 7  |
| 1.3. Эксперимент . . . . .   | 7  |
| 1.4. Описание эксперимента моделью Flory-Huggins . . . . .   | 7  |
| <b>Глава 2. Построение МД модели кристалла Лизоцима</b> . . . . .                                      | 8  |
| 2.1. Подготовка PDB-белка к расчету . . . . .  | 8  |
| 2.2. Сходимость уровня гидротации . . . . .  | 8  |
| 2.3. 2 метода расчета модуля упругости $K$ по траекториям . . . . .                                    | 8  |
| <b>Глава 3. Результаты моделирования</b> . . . . .   | 9  |
| 3.1. Сравнение расчетных и экспериментальных $K$ . . . . .   | 9  |
| 3.2. Анализ мобильности молекул воды . . . . .   | 9  |
| 3.3. 2-фазное моделирование для учета влажности . . . . .  | 9  |
| <b>Заключение</b> . . . . .  | 10 |
| <b>Список литературы</b> . . . . .   | 11 |

## Введение

**Актуальность работы.** Всестороннее изучение белков может быть полезно в широком круге задач, стоящих сейчас перед человечеством, т.к. белки - тип биомолекул, выполняющих основную часть функций в клетке. Лучшее понимание устройства белков может способствовать, например, разработке новых методов исправления их неправильной работы, что значило бы излечение многих серьезных болезней. На сегодняшний день существуют методы определения последовательности белков, работающие по большей части в автоматическом режиме и не требующие больших затрат ресурсов. Но для глубокого понимания устройства белка необходимо знать не только его аминокислотную последовательность, но и трехмерную структуру. Метод кристаллографии, считающийся сейчас классическим для определения 3D-структуры белков, уже менее тривиален в реализации. Одна из главных сложностей в нем - необходимость кристаллизации белка для его исследования. Кристаллизация белков часто сопряжена с созданием необычных и при этом строго контролируемых физических условий, что уже говорит о сложности процесса. Иногда же в силу особенностей конкретной молекулы ее кристаллизация вообще не представляется возможной. В таких случаях кристаллизация может быть проведена с заменой частей белка, мешающих ей. Это опять же многократно усложняет процесс, т.к. нужно предпринимать попытки кристаллизации многих подобных белков. Методы молекулярного моделирования активно используются для поиска мутаций, способствующих кристаллизации белка. Однако возможная роль молекулярного моделирования не исчерпывается этими вопросами.

**Цель работы** состояла в том, чтобы довести молекулярно-динамическую модель кристаллического Лизоцима до приемлимого воспроизведения экспериментальных измерений его модуля упругости. Имея такую модель,

можно будет интерпретировать результаты экспериментов с молекулярно-атомарной точки зрения. Также такая модель заметно упростит исследование лизоцима в различных условиях, т.к. не будет необходимости каждый раз проводить экспериментальные измерения. Наконец, подход создания МД модели, разработанный для кристаллического лизоцима, может быть модифицирован для создания МД моделей более сложных белков, таких как Гемоглобин. Это может помочь найти для таких белков мутации, способствующие кристаллизации, т.к. опять же не будет необходимости экспериментально проверять множество различных малых мутаций белка в различных физических условиях.

Работа состоит из трёх глав и заключения.

В главе 1 описывается эксперимент по измерению объемного модуля упругости  $K$  кристаллического лизоцима, результаты которого в дальнейшем используются как референсные значения.

В главе 2 рассказывается об этапах построения МД модели

В главе 3 приведены основные результаты численного моделирования.

В заключении кратко обсуждаются полученные результаты и делаются соответствующие выводы. Изложены также перспективы развития работы.

## Глава 1

# Описание эксперимента по измерению объемного модуля упругости $K$

В этой главе описывается эксперимент по измерению объемного модуля упругости кристаллического лизоцима. В дальнейшем эти экспериментальные точки будут использованы в качестве референсных значений для проверки корректности создаваемой МД модели.

В разделе 1.1 кратко излагаются результаты теории Brunauer-Emmett-Teller (BET) [1], описывающей процесс поверхностной адсорбции.

В разделе 1.2 показано применение теории Flory-Huggins [2, 3], которая описывает смешивание воды и молекул белка на 3-мерной сетке.

В разделе 1.3 описаны детали ЯМР-эксперимента, результаты которого далее используются для измерения модуля упругости белкового кристалла.

В разделе 1.4 представлено описание экспериментальных данных моделью Flory-Huggins, позволяющее извлечь значения модуля упругости.

Гидратация играет важную роль в свертывании белков, их динамике и функциях [1-4]. Например ферментативная активность лизоцима заметно возрастает при уровнях гидратации выше  $h = 0.2$  (в граммах воды на грамм сухого белка) [2, 5]. Взаимодействие белков с водой также было одной из центральных тем при изучении свертывания белка с того момента как концепция гидрофобного взаимодействия была введена Каузмана в 1959 [1].

Для лизоцима уровень  $h = 0.2$  соответствует давлению пара  $P/P_0 \sim 0.7$ , где  $P_0$  – давление насыщенного пара при данной температуре. При дальнейшем насыщении происходит дополнительное поглощение воды в сравнении с линейным ростом при  $P/P_0 < 0.7$ . Опубликованы работы, связывающие именно это изменение в поведении лизоцима с его ключевыми функциями

[2,13]. На данный момент не существует консенсуса относительно механизма этого дополнительного поглощения [2,6].

Гравиметрический метод, широко применяемый для исследования белков в физиологическом диапазоне температур, может быть неудобен для работы при температурах ниже комнатной и приближающихся к 0 C°. Поэтому в данной экспериментальной работе уровень гидратации измерялся с помощью ядерного магнитного резонанса водородов  $^1\text{H}$  в системе [15,16].

## 1.1. Поверхностная адсорбция

Прежде чем приводить и как-либо интерпретировать экспериментальные измерения уровней гидратации лизоцима, нужно ознакомиться с самим процессом и тем как его описывают в литературе. Относительно простой моделью, описывающей адсорбцию воды на белковой поверхности, является Brunauer-Emmett-Teller (BET) теория [4]. Она дает оценку количества воды, абсорбируемой на поверхности белка при данной влажности. Водяной пар рассматривается как идеальный газ, что оправдано в нашем случае <sup>1</sup>.

[5]

---

<sup>1</sup> Плотность насыщенного пара  $\rho_{sat}$  при исследуемых нами температурах составляет  $\sim 10\text{g/m}^3$ . Можно рассмотреть 2 критерия идеальности водяного пара:

1. Отношение размера молекулы воды  $d_{\text{H}_2\text{O}}$  к характерной длине свободного пробега  $\lambda \sim 1/n\sigma$ .

$$\frac{\lambda}{d_{\text{H}_2\text{O}}} \sim \frac{\rho_{liq}}{\rho_{gas}} \sim \frac{10^3}{10^{-2}} \sim 10^5$$

2. Отношение кулоновской диполь-дипольной энергии  $U_{coul}$  при данной плотности к кинетической энергии  $k_B T$ .  $U_{coul} \sim k_C p^2 / r^3$ , где  $k_C$  - кулоновская константа для системы СИ,  $p$  - дипольный момент молекулы воды,  $r$  - характерное расстояние между молекулами воды. Оценочно  $1/r^3 \sim n = \rho_{gas} N_A / \mu$ , где  $N_A$  - число Авогадро,  $\mu$  - молярная масса воды.  $p \sim 6 \cdot 10^{-30}$  Кл·м, откуда

$$\frac{k_B T}{U_{coul}} \sim \frac{k_B T}{k_C p^2 n} \sim \frac{\mu R T}{(p N_A)^2 \rho k_C} \sim 10^5$$

Как видно, оба критерия дают хорошую идеальность пара при нашей плотности.

## 1.2. Модель Flory-Huggins

## 1.3. Эксперимент

## 1.4. Описание эксперимента моделью Flory-Huggins

## Глава 2

# Построение МД модели кристалла Лизоцима

В предыдущей главе были приведены все необходимые теоретические сведения для дальнейшего численного решения краевых задач модели Томаса-Ферми с поправками. В этой главе будет показано, как реализован алгоритм расчёта.

В предыдущей главе был описан метод, которым были получены референсные значения укрутости  $K$ , согласовавшиеся с ранее опубликованными значениями.

В разделе 2.1 описана подготовка кристалла лизоцима из базы PDB к симуляции. Далее в 2.2 продемонстрирована сходимость количества добавляемой в белок воды по некоторым базовым параметрам. Наконец, в 2.3 описаны 2 используемых метода расчета модуля упругости по имеющимся МД траекториям.

### 2.1. Подготовка PDB-белка к расчету

1

### 2.2. Сходимость уровня гидротации

2

### 2.3. 2 метода расчета модуля упругости $K$ по траекториям

3



## Глава 3

### Результаты моделирования

В этой главе приведены результаты и анализ расчётов.

В разделе 3.1 сравниваются значения  $K$ , полученные двумя методами, описанными выше, и экспериментальные значения. Обсуждаются возможные причины расхождения.

Далее в разделе 3.2 исследуется мобильность молекул воды, т.к. изменения именно в ней могут провоцировать изменение характера поведения  $K$  с температурой.

Затем в 3.3 получена зависимость плотности пара от количества воды, добавляемой в систему. По ней можно определить количество воды, необходимое для воспроизведения эксперимента в заданной влажности

#### 3.1. Сравнение расчетных и экспериментальных $K$

1

#### 3.2. Анализ мобильности молекул воды

2

#### 3.3. 2-фазное моделирование для учета влажности

3

## Заключение

В ходе выполнения данной работы:

- Сформулирован алгоритм подготовки кристалла к MD-расчету.
- Проверены сходимости по параметрам системы.
- Реализовано 2 независимых метода расчета  $K$  кристалла.  $K$ , рассчитанные по этим 2 методам, согласуются между собой, но плохо согласуются с экспериментом.
- Проанализирована модильность молекул воды в белке.
- Проведено сравнение результатов при различных моделях воды.
- Лизоцим стабилизирован при различных влажностях с использованием 2-фазного моделирования.
- Найден приближенный диапазон влажности, оптимальный для расчета модуля упругости.
- В дальнейшем планируется провести расчет  $K$  при различных влажностях. Так же возможно проведение расчетов с другими параметризациями белка для улучшения совпадения с экспериментом.

## Список литературы

1. de Boer J. H. The Dynamical Character of Adsorption. Oxford: Clarendon Press, 1968.
2. Kuntz I., Kauzmann W. Hydration of Proteins and Polypeptides // Advances in Protein Chemistry. Elsevier, 1974. P. 239–345. URL: [https://doi.org/10.1016/s0065-3233\(08\)60232-6](https://doi.org/10.1016/s0065-3233(08)60232-6).
3. Rowen J. W., Simha R. Interaction of Polymers and Vapors // The Journal of Physical and Colloid Chemistry. 1949. — jun. Vol. 53, no. 6. P. 921–930. URL: <https://doi.org/10.1021/j150471a019>.
4. Brunauer S., Emmett P. H., Teller E. Adsorption of Gases in Multimolecular Layers // Journal of the American Chemical Society. 1938. — feb. Vol. 60, no. 2. P. 309–319. URL: <https://doi.org/10.1021/ja01269a023>.
5. Гамбош П. Статистическая теория атома и её применения. Москва: Издательство Иностранной Литературы, 1951.