

Нерух Дмитрий Александрович

**Сложная динамика больших биомолекулярных систем в
водных растворах**

1.5.4 Биохимия

1.5.8 Математическая биология, биоинформатика

Автореферат

диссертации на соискание учёной степени

доктора биологических наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Курский государственный университет»

Официальные оппоненты: **Соколов Алексей Викторович,**

доктор биологических наук, профессор РАН,
заведующий лабораторией анализа межмолекулярных взаимодействий отдела молекулярной биологии, генетики и фундаментальной медицины, ФГБУН «Институт экспериментальной медицины»

Лисица Андрей Валерьевич,

доктор биологических наук, академик РАН,
руководитель научного центра практического образования, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» (ИБМХ)

Чуев Геннадий Николаевич,

доктор физико-математических наук, главный научный сотрудник, ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» РАН

Павлов Александр Александрович,

доктор химических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель центра Цифрового материаловедения ФГБУН «Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова» РАН

Защита состоится 3 июля 2026 г. на заседании диссертационного совета ПДС 0300.025 созданного на базе ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6.

С диссертацией можно ознакомиться в читальном зале УНИБЦ (Научная библиотека) ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6.

Электронные версии диссертации и автореферата размещены на сайте РУДН по адресу: <https://www.rudn.ru/science/dissovet> и отправлены для размещения на официальном сайте ВАК при Минобрнауки России: <https://vak.minobrnauki.gov.ru>.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2026 года.

Ученый секретарь

диссертационного совета ПДС 0300.025

доктор биологических наук, профессор

Лукашева Елена Васильевна

Общая характеристика работы

Актуальность темы. Современные суперкомпьютеры способны моделировать молекулярные системы размером в сотни миллионов атомов в рамках модели классической молекулярной динамики (МД), описывающей атомы как точечные массы, взаимодействующие по закону Ньютона. И хотя общедоступные модели состоят из десятков, максимум сотен тысяч атомов, рекордные результаты опубликованы для системы размером больше миллиарда (10^9) атомов. Такие масштабы позволяют говорить о перспективах полноатомного моделирования *целой живой клетки* (оценочные размеры – от половины до шести миллиардов атомов), а также целого ряда *биохимических процессов*, представляющих интерес для экспериментальной биологии. И, действительно, моделирование, например, целых вирусных капсидов или клеточных органелл в последние годы не является уже чем-то экстраординарным, хотя и по-прежнему требует значительных вычислительных ресурсов.

Сложность, однако, заключается в том, что такие впечатляющие масштабы достижимы только по пространству, в то время как по времени рост значительно скромнее. Это связано с принципиальными ограничениями физической концепции МД, которая позволяет увеличивать количество одновременно моделируемых атомов через распределение атомов по параллельным вычислительным ядрам, что невозможно сделать для временных шагов: миллионный шаг моделирования может быть выполнен только после последовательного выполнения всех предыдущих шагов. Поэтому на сегодняшний день максимально достижимые времена моделирования не превышают нескольких микросекунд, максимум – десятков микросекунд, даже для скромных по количеству атомов систем.

Важно подчеркнуть, что это – принципиальное ограничение, связанное как с алгоритмом МД, так и с принципами, на которых построены компьютеры. Чтобы проиллюстрировать ситуацию, рассмотрим идеализированный “компьютер”, состоящий из 100 миллионов вычислительных ядер, которые обмениваются данными с памятью со скоростью света (максимально возможная скорость), а расстояние между “ядром” и “памятью” – 1 см. Также будем считать, что один МД шаг состоит из 4 элементарных операций. Тогда расчёт *одной секунды* жизни следующих систем займёт:

- самая маленькая биологическая клетка ($3 \cdot 10^8$ атомов): *7 дней*,
- клетка человека (10^{14} атомов): *6342 лет*,
- условная “кошка” (10^{10} клеток или 10^{18} атомов): *190 258 752 лет*.

Подробности расчётов этих оценок приведены в приложении к диссертации. Т.е. атомистическое моделирование макроскопических сложных объектов на данный момент *принципиально невозможно*.

Очевидно, что необходимо другое описание системы, не атомистическое, по крайней мере в тех частях системы, где это возможно. Например, вода и водные растворы, занимающие преобладающую часть биологических систем, может быть описана в рамках более экономной гидродинамики на макро- и мезо-масштабах. Несмотря на то, что гидродинамика была создана и развивалась для строго макроскопических систем (“бесконечное” число атомов в каждом “элементарном” объёме гидродинамического поля – фундаментальное предположение в гидродинамике), современные обобщения уравнений классической гидродинамики позволяют описывать микрообъёмы, содержащие всего несколько сотен молекул. Это позволяет распространить гидродинамическое описание до тех же масштабов, на которых действует атомистическая молекулярная динамика, и заменить атомистическое описание воды в тех частях системы, где молекулярные подробности несущественны.

Таким образом, актуальной становится разработка подходов, сочетающих атомистическое и гидродинамическое описание системы в рамках одной модели, с физически обоснованным сопряжением этих фундаментально разных описаний вещества. Такие “гибридные” модели активно разрабатываются последние 20-30 лет, пожалуй наиболее развиты модели с разного рода “огрубляющим” или “крупнозернистым” представлением атомов, когда группа атомов объединяется в одну квази-частицу, что снижает вычислительные затраты. Более предпочтительным представлением на больших масштабах является именно гидродинамика, вернее её обобщение – флуктуационная гидродинамика, предложенная Ландау и Лифшицем и активно развивающаяся по сей день. Здесь, в отличие от разного рода “мегаатомов”, соблюдены все механические, термодинамические и кинетические фундаментальные принципы: от законов сохранения вещества и энергии до корректно воспроизводимых коэффициентов переноса.

Также очевидно, что при разработке таких гибридных моделей ключевую роль играет корректное воспроизведение физико-химических свойств вещества, как в микроскопической атомистической, так и в макроскопической гидродинамической частях модели. Этот аспект предъявляет ещё более сложные требования к модели, особенно в частях системы, где эти два описания “сопрягаются” или переходят друг в друга. Здесь необходимо воспроизведение не только основных физических свойств вещества, таких как плотность, давление, температура и т.д., но и более тонких параметров, таких как коэффициенты переноса, динамические характеристики или физикохимические параметры, как константы ассоциации химических реакций, биофизических и биохимических характеристик. Как показывает практика, именно эти последние свойства вещества особенно сложны для расчёта в компьютерных моделях.

Степень разработанности темы. Несмотря на активную разработку гибридных моделей в мировой литературе, эта задача весьма нетривиальна и на сегодняшний день достаточно далека от завершения. Как правило, существующие модели обеспечивают выполнение только одного или нескольких основополагающих законов, оставляя прочие за пределами внимания. Обычно это

связано с конкретной областью, в которой модель вводится и используется. Например, в “гранулированных” моделях стараются, чтоб выполнялся закон сохранения энергии (в силу “Молекулярно Динамического” генезиса этих моделей), оставляя без внимания закон сохранения импульса (локально) и иногда даже вещества. Последнее связано со сложностью “перетока” массы между атомами и мезочастицами, в силу нефизичности последних. С другой стороны, модели, основанные на обобщении гидродинамических подходов, часто упускают из виду закон сохранения энергии, который, как правило, выполняется автоматически для гидродинамических потоков в жидкостях при комнатных физико-химических условиях.

Следует также подчеркнуть, что разработка физически обоснованной гибридной модели неизбежно требует высокопроизводительного компьютерного расчёта с использованием очень больших МД систем на самых высокопроизводительных суперкомпьютерах.

Целью данной работы является разработка гибридных атомистически-гидродинамических методов на основе высокопроизводительного компьютерного моделирования больших молекулярных систем в водном растворе, а также применение этих методов наряду с традиционными методами молекулярного моделирования для получения биохимических характеристик ряда биомолекулярных систем с точностью, количественно совпадающей с экспериментальными биохимическими данными.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи**.

1. Разработать теорию гибридной модели “Молекулярная Динамика - Гидродинамика” с получением соответствующих уравнений движения.
2. Воплотить разработанную теорию в компьютерном коде, как в специально для этой цели созданной программе, так и встроив её в общеупотребительный пакет GROMACS, включающем параллельные вычисления для высокопроизводительных суперкомпьютеров.
3. Исследовать физико-химические и биохимические свойства таких гибридных систем для нескольких моделей жидкостей и биомолекулярных растворов, включая свойства этих систем с точки зрения нелинейной динамики и динамической сложности.
4. Провести моделирование полноатомной модели капсида для двух вирусов – PCV2 и MS2, а также исследовать их физико-химические и биохимические свойства в растворе как для чисто Молекулярно Динамического представления, так и гибридного, описанного выше.
5. Проанализировать динамику молекулярных систем с точки зрения нелинейной динамики и теории сложности. Связать эти свойства с особенностями движения молекул воды и биомолекул в растворе.
6. Исследовать несколько моделей белка в растворе с целью изучения таких свойств как их конформационная динамика и механизмы процессов ассоциации и диссоциации малых молекул с белком.

7. Доказать возможность применения разработанных гибридных методов для решения прикладных задач биохимии: моделирования поведения белков в водных растворах, их взаимодействия с другими белками и небелковыми биомолекулами, моделирования механизмов инфицирования клетки вирусами, моделирования взаимодействия лигандов с белковыми мишенями.

Научная новизна.

1. Впервые разработана и реализована в программном пакете гибридная модель жидкости, связывающая на основе физически обоснованных фундаментальных принципов атомистическое и континуальное, гидродинамическое описание; связь осуществлена в двух вариантах – как в одном направлении от гидродинамики к атомам, так и в обоих направлениях самосогласованно между представлениями.
2. Впервые построена полноатомная модель капсидов двух вирусов, PCV2 и MS2, проведено Молекулярно Динамическое моделирование этих капсидов, изучены физико-химические и биохимические свойства системы, включая характеристики зарядов на капсиде и распределение и потоки ионов из раствора; показана критическая роль правильного распределения ионов между внутренним пространством капсида и внешним раствором в стабильности капсида.
3. Динамика воды и водных растворов проанализирована с точки зрения теории нелинейных динамических систем, получены характеристики хаотического движения молекул воды, количественно оценена сложность этой динамики.
4. Получены количественные характеристики влияния воды на конформационную динамику белков; рассчитана константа диссоциации малой молекулы-лиганда изониазида и белка каталазы с количественным совпадением с экспериментальной величиной этой константы; по результатам моделирования получена свободная энергия взаимодействия ряда новых производных тиазолопиримидина с альбумином, показано количественное совпадение с экспериментально измеренными значениям.

Теоретическая и практическая значимость состоит в разработке и апробации нового подхода в моделировании жидкостей и растворов биологических макромолекул, который позволяет описывать моделируемую систему одновременно на масштабах, различающихся на несколько порядков, как по пространству, так и по времени. При этом исследователь может произвольно определять области, в которых атомистическое разрешение необходимо (например, вблизи макромолекул), описывая остальное пространство с помощью экономной гидродинамики без ущерба для качества описания атомистических областей. Подход реализован в общеупотребительном пакете Молекулярной Динамики GROMACS и доступен для свободного использования. Также получены несколько моделей капсидов целого вируса с атомистическим разрешением. Эти модели особенно важны для обработки результатов современной криоэлектронной микроскопии, которая

включает подобное моделирование как необходимый этап в обработке измеренных данных. При этом сложность заключается в неравномерном разрешении экспериментально измеренных электронных плотностей, что требует нетривиальных подходов в построении атомистической модели по измеренным данным. Наконец, очень важна валидация полученной модели, что можно сделать только имея согласованную МД модель и проведя моделирование на существенных временах, что было сделано для описанных биомолекулярных систем.

Результаты работы имеют важное значение для решения прикладных задач биохимии, медицинской химии и экспериментальной медицины: моделирования поведения и взаимодействия белковых и небелковых молекул в водных растворах. Например, полученная константа диссоциации изониазида из активного центра каталазы совпала с экспериментально измеренной величиной в пределах погрешности эксперимента и расчета. Это – достаточно редкий случай в моделировании такого рода величин, где обычно совпадение в пределах 2-3 порядков величины считается хорошим.

Методология и методы исследования. Теоретическая часть исследования включала разработку уравнений движения с использованием подходов из фундаментально разных областей физики жидкостей: континуальной гидродинамики, описывающей жидкость с помощью полей плотности, скорости и внутренней энергии и дискретной Молекулярной Динамики, оперирующей конечным набором точечных масс. Сопряжение этих двух разнородных подходов с выполнением фундаментальных законов сохранения (массы, импульса и энергии) составляло суть теоретической части работы.

Практическое воплощение полученных уравнений движения было проведено путём встраивания новых уравнений в пакет GROMACS, что требовало нетривиальных методов кодирования с использованием языка программирования C++ и методов параллельных вычислений, адаптированных для высокопроизводительных суперкомпьютеров.

Наконец, расчеты проводились на самых быстрых (на момент расчетов) суперкомпьютерах в мире: универсальных K-computer и Fugaku (RIKEN Center for Computational Science, Japan) и специализированном суперкомпьютере MDGRAPE-4 (RIKEN BDR Institute, Japan), построенном для быстрых расчетов с использованием Молекулярной Динамики. Также расчеты производили на других суперкомпьютерах: Athena, Cirrus, Sulis (HPC Midlands+ Consortium, Великобритания) и нескольких локальных кластерах в университете Астон (Бирмингем, Великобритания) и Санкт-Петербургском Научно-Исследовательском Институте Фтизиопульмонологии.

Результаты расчетов валидировались экспериментальными биохимическими и биологическими методами и в большинстве случаев совпадали количественно.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Теоретическая концепция, связывающая атомистическую Молекулярную Динамику на микромасштабах и флуктуационную гидродинамику на макромасштабах, с плавным переходом одного описания в другое при изменении масштаба и выполнением законов сохранения на всех промежуточных масштабах; полученные уравнения движения в рамках этой концепции.
2. Программное воплощение этих уравнений движения, встроенное в пакет GROMACS, адаптированное для расчётов на высокопроизводительных суперкомпьютерах.
3. Результаты моделирования в рамках этой концепции ряда жидких систем: от простых жидкостей до растворов малых молекул, пептидов, белков и целых вирусных капсидов; валидация подхода с использованием экспериментальных данных и результатов моделирования с использованием классической Молекулярной Динамики.
4. Результаты моделирования полноатомного представления вирусных капсидов бактериофага MS2 и вируса PCV2 и анализ их физических и биохимических свойств, в том числе распределения зарядов, самих капсидов, а также водного раствора внутри и вокруг них; сравнение результатов этого моделирования с результатами моделирования с использованием гибридной модели, описанной выше; анализ влияния протонирования ключевых аминокислотных остатков белков капсида PCV2 на процесс самосборки капсида на основании моделирования с использованием метода Молекулярной Динамики при постоянном pH.
5. Анализ атомистических траекторий воды и водных растворов с точки зрения нелинейной динамики и хаоса, в том числе с использованием подхода “Computational Mechanics” для количественной оценки статистической сложности этих траекторий; демонстрация возможностей метода различить хаотическую и стохастическую траекторию, а также наличие долговременных нетривиальных корреляций в хаотической траектории воды, в отличие от статистически неотличимой суррогатной стохастической траектории.
6. Анализ конформационной динамики пептида в водном растворе, выявление немарковского характера этой динамики, анализ роли молекул воды в такой динамике.
7. Биохимическое моделирование сродства нескольких новых соединений-кандидатов в противоопухолевые препараты к альбумину; количественное соответствие полученных термодинамических характеристик для этих веществ с экспериментально измеренными калориметрическим титрованием.
8. Моделирование динамики малых молекул во взаимодействии с белком в водном растворе, в том числе расчёт констант ассоциации и диссоциации с получением значений, количественно совпадающих с экспериментальными данными.

Достоверность полученных результатов обеспечивается множественными сравнениями с результатами как эксперимента, так и других компьютерных моделей, в том числе “de facto” стандартной классической Молекулярной Динамики и классической гидродинамики. Результаты для сравнения были получены как из литературы, так и из работ автора.

Апробация работы. Основные результаты работы докладывались на многочисленных международных конференциях и форумах. Например:

- “CECAM 2024 - Perspectives and challenges of future HPC installations for atomistic and molecular simulations”, Berlin (Germany), 2024,
- “9th Annual CCPBioSim Conference”, Leeds (UK), 2023,
- “Грановские чтения”, Санкт Петербург, 2023,
- “WATOC 2020, 12th Triennial Congress of the World Association of Theoretical and Computational Chemists”, Vancouver (Canada), 2022,
- “Faraday Discussion: Challenges in biological cryo electron microscopy”, Sheffield (UK), 2022,
- “Современные проблемы биомедицины”, Санкт Петербург, 2021,
- “EMLG2019”, Kutna Hora (Czech Republic), 2019,
- “EMLG2018”, Nagoya (Japan), 2018,
- “WATOC 2017, 11th Triennial Congress of the World Association of Theoretical and Computational Chemists”, Munich (Germany), 2017.

Личный вклад. Автор лично разработал концепцию и теорию описанных новых подходов и методов. Автор лично проводил компьютерные расчеты на суперкомпьютерах, а также обрабатывал результаты расчетов на локальных рабочих станциях и личных компьютерах. Автор инициировал и принимал участие в обсуждении результатов расчетов с коллегами-экспериментаторами. Все научные положения, выводы и практические рекомендации сформулированы лично автором.

Публикации. Основные результаты по теме диссертации изложены в 59 печатных изданиях, 49 из которых изданы в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения и 10 приложений. Полный объем диссертации **317** страниц текста с **162** рисунками и **14** таблицами. Список литературы содержит **394** наименования.

Содержание работы

Во введении обосновывается актуальность исследований, проводимых в рамках данной диссертационной работы, приводится обзор научной литературы по изучаемой проблеме, формулируется цель, ставятся задачи работы, излагается научная новизна и практическая значимость представляемой работы. В последующих главах описываются разработанные и использованные

методы, а также полученные результаты как в общей методологии, так и для конкретных биохимических объектов. Особое внимание уделяется разделам, описывающим биохимические и биофизические свойства биомолекулярных структур.

Первая глава посвящена разработке и тестированию фундаментально нового подхода в описании жидких систем, включая биохимические: растворы белков, аминокислот и биологических структур на масштабах от дипептида до полной модели вируса. Суть подхода состоит в гибридизации уравнений движения атомов в классическом приближении Ньютонской динамики (МД) с континуальным макроскопическим описанием жидкости с помощью гидродинамических полей (классические уравнения Навье-Стокса).

Последние были взяты в форме обобщения уравнений Навье-Стокса, учитывающего тепловые флуктуации, так называемые уравнения флуктуационной гидродинамики Ландау-Лифшица (LL-FH):

$$\begin{cases} \frac{\partial \rho}{\partial t} + \text{div}(\rho \mathbf{u}) = 0 \\ \frac{\partial \rho u_i}{\partial t} + \text{div}(\rho u_i \mathbf{u}) = \nabla_j \left(\Pi_{ij} + \tilde{\Pi}_{ij} \right), \quad i = 1, 3 \\ \frac{\partial \rho E}{\partial t} + \text{div}(\rho E \mathbf{u}) = \nabla_j \left(\left(\Pi_{ij} + \tilde{\Pi}_{ij} \right) \cdot u_i \right) + \text{div}(\mathbf{q} + \tilde{\mathbf{q}}) \end{cases} \quad (1)$$

где $E = C_V T + \frac{1}{2} \mathbf{u}^2$ — плотность удельной энергии, $C_V = \frac{R}{\gamma-1}$ — теплоемкость при постоянном объеме, $R = \frac{k_B}{m}$ — газовая постоянная, члены в правой части состоят из усредненной величины и стохастического слагаемого, обозначаемого тильдой. Усредненные члены в правой части уравнений (1) — стандартный тензор напряжения

$$\Pi_{\alpha,\beta} = - (p - \zeta \text{div} \mathbf{u}) \delta_{\alpha,\beta} + \eta (\partial_\alpha u_\beta + \partial_\beta u_\alpha - 2D^{-1} \text{div} \mathbf{u} \delta_{\alpha,\beta})$$

и поток тепла $q_\alpha = \kappa \cdot \partial_\alpha T$, где η и ζ — сдвиговая и объемная вязкости, D — размерность пространства, κ — коэффициент теплопроводности, и T — температура. Флуктуирующая часть уравнений LL-FH соответствует континуальному описанию тепловых флуктуаций скорости, чья статистика подчиняется флуктуационно-диссипационной теореме. Модель LL-FH позволяет точно описывать статистические свойства атомистической системы с правильным стандартным отклонением массы, импульса и кинетической энергии для контрольных объемов размером от 100 атомов на ячейку. В пределе больших объемов модель LL-FH естественным образом переходит к обычным уравнениям Навье-Стокса.

В рамках предлагаемой модели объединены два представления жидкости: 1) стандартное классическое представление МД, где речь идет о наборе точечных масс, взаимодействующих друг с другом посредством эмпирически заданного потенциала и 2) континуум флуктуационной гидродинамики Ландау-Лифшица. В качестве модели рассматривается условная двухфазная жидкость, представляющая одно и то же химическое вещество (рис. 1). «Фазы» смешаны на самых мелких масштабах так, что поверхностное натяжение не учитывается, и обе «фазы» одновременно занимают один и тот же контрольный объем. Парциальные концентрации «фазы» МД и «фазы» LL-FH

равны s и $1 - s$ соответственно, где s — параметр модели $0 \leq s \leq 1$. В общем случае s — задаваемая пользователем функция пространства и времени, которая определяет, сколько атомистической информации требуется в конкретной области моделирования, рис. 1.

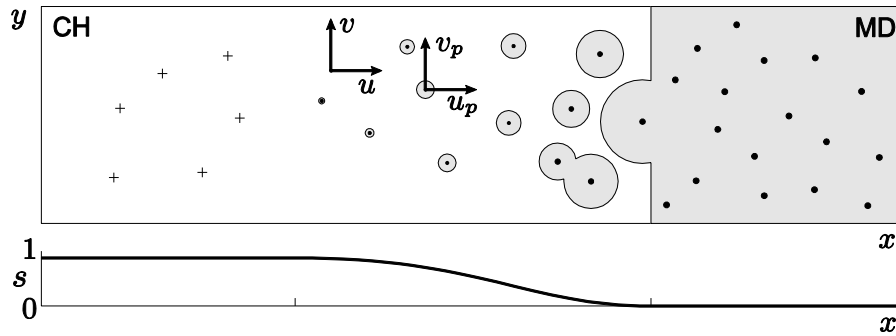


Рис. 1 — Схематическое представление гибридной модели; форма функции s (внизу) определяет чисто МД частицы (справа), которые постепенно трансформируются в пассивные метки, следующие за гидродинамическим потоком (слева).

Фаза МД описывает частицы, свойства которых (плотность и скорость) рассчитываются в среднем по ячейке на регулярной сетке, и образует МД «жидкость» с плотностью $\sum_p \rho_p$ и импульсом $\sum_p \rho_p u_{ip}$, где $\rho_p = \frac{m_p}{V}$, u_{ip} — плотность МД частицы и скорость пространственной составляющей i соответственно, m_p — это масса частицы, а V — объем ячейки. Эйлера фаза (ФН), соответствующая средним по ячейкам на регулярной сетке, формирует «жидкость» ФН с плотностью ρ и импульсом ρu_i , по одному значению на ячейку. Смесь этих двух жидкостей имеет плотность $\tilde{\rho} = s\rho + (1 - s)\sum_p \rho_p$ и импульс $\tilde{u}_j \tilde{\rho} = s u_j \rho + (1 - s)\sum_p \rho_p u_{jp}$. Суммирование \sum_p выполняется по ячейке и включает $N(t)$ частиц, находящихся в ячейке.

Требование сохранения массы и импульса смеси ФН и МД «жидкостей» при всех значениях концентрации s приводит к новым уравнениям движения для частиц, где наряду со стандартными МД силами, частицы испытывают силы, действующие со стороны гидродинамической фазы:

$$\begin{aligned} \frac{du_{jp}^N}{dt} &= \frac{(1 - s)}{\rho_p V_{cell}} F_{jp} \\ &+ \frac{1}{\rho_p N(t)} \frac{\partial}{\partial x_i} \left[s(1 - s)\alpha(x) \frac{\partial}{\partial x_i} \left(\tilde{\rho} - \sum_p \rho_p \right) \frac{\sum_p u_{jp}}{N(t)} \right] - \\ &- \frac{1}{\rho_p N(t)} \frac{\partial}{\partial x_i} \left[s(1 - s)\beta(x) \frac{\partial}{\partial x_i} \left(\tilde{u}_j \tilde{\rho} - \sum_p \rho_p u_{jp} \right) \right]. \end{aligned} \quad (2)$$

Моделирование жидкости с помощью этих уравнений было выполнено для широкого спектра жидких систем. В качестве простейшей модели была исследована так называемая модель Mercedes Benz или BN2D, представляющая собой двухмерную модель воды, где молекулы попарно взаимодействуют через потенциал Леннард-Джонса и потенциал, зависящий от ориентации молекулы (зависящий в свою очередь от соответствующей ориентации «плеч» молекул), рис. 2.

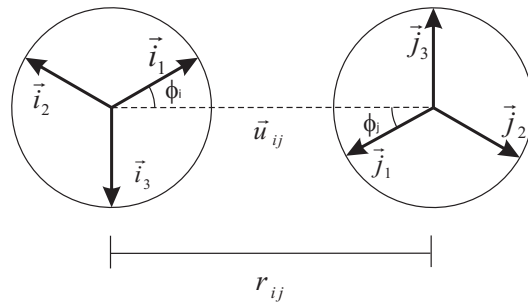


Рис. 2 — Модель воды «Mercedes Benz».

Такого взаимодействия оказывается достаточно для воспроизведения термодинамических свойств реальной воды. В настоящей работе впервые было реализовано молекулярно-динамическое моделирование такой модели воды, а также получены термодинамические свойства этой жидкости.

Предлагаемый гибридный подход количественно воспроизвел структурные и динамические характеристики жидкости. Так, функция радиального распределения молекул, рис. 3, остается такой же, как и для модели МВ без гибридизации. Это означает, что внешняя гидродинамическая сила не влияет на распределение молекул МВ в локальной окрестности. Рассчитанная автокорреляционная функция поступательной скорости (VACF), используя реальную скорость частицы $\frac{dx}{dt}$ показана на рис. 4. Для больших значений s VACF становится более растянутой во времени и в пределах $s \rightarrow 0$ и $s \rightarrow 1$ она приближается к соответствующим VASF чистого МД и чистого FH.

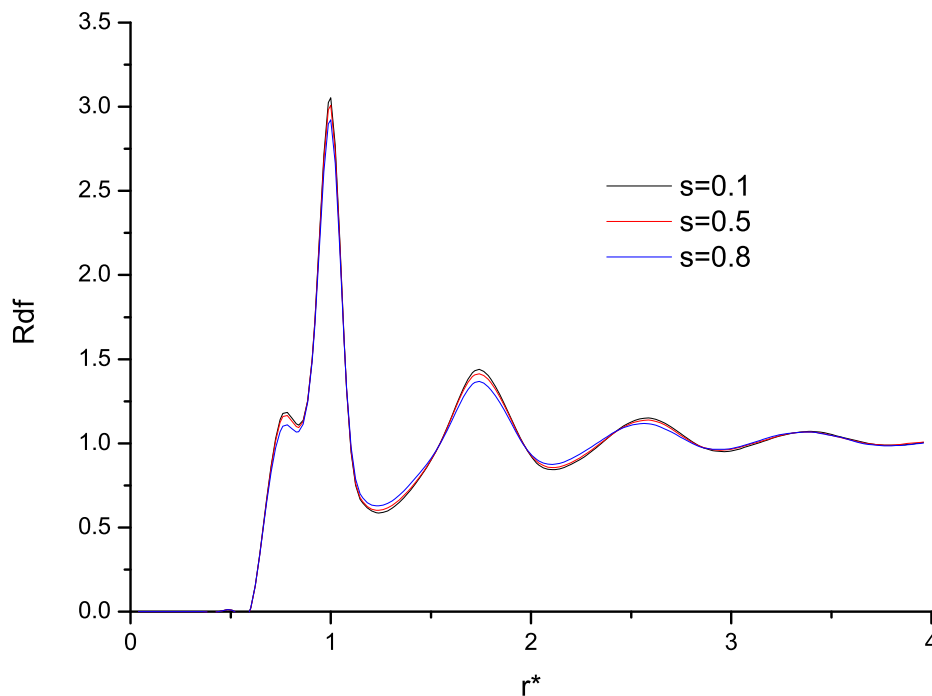


Рис. 3 — Функция радиального распределения модели воды «Mercedes Benz» для различных значений s .

Следующая по сложности модель жидкости, для которой было проведено «гибридное» моделирование, был жидкий аргон, «de facto» стандарт для тестирования новых подходов. Для аргона

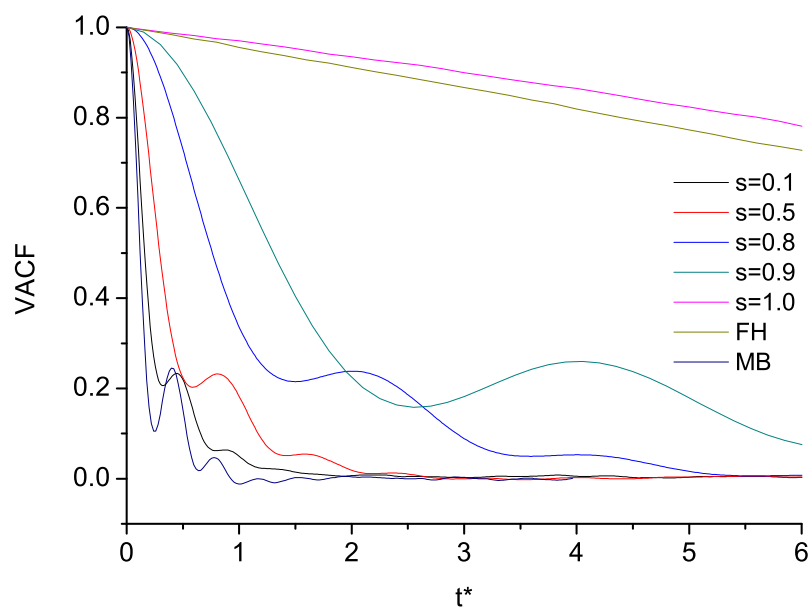


Рис. 4 — Функция автокорреляции поступательной скорости модели воды «Mercedes Benz» для различных значений s .

предложенная гибридная модель не только количественно воспроизвела структурные и динамические характеристики при постоянном параметре гибридизации s , но также показала физически верное поведение при s меняющейся в пространстве: была выделена область в объеме жидкого аргона, в которой описание было чисто атомистическим ($s = 0$), которое плавно переходило к чисто гидродинамическому описанию ($s = 1$) за пределами этого объема. В качестве достаточно чувствительной характеристики физичности такой модели было проведено моделирование прохождения акустической волны через атомистическую область которое показало, что волна не претерпевает существенных изменений по сравнению с чисто гидродинамическим описанием.

Стоит подчеркнуть, что разработанный гибридный подход был реализован в пакете с открытым исходным кодом GROMACS. GROMACS — универсальный код C/C++, позволяющий проведение высокопроизводительного моделирования, то есть решение ньютоновских уравнений движения для систем до нескольких миллионов частиц. Наша реализация связанной модели МД/ФН состоит из двух основных частей: решатель МД (предоставляется GROMACS) и решатель LL-ФН (независимая функция C). Уравнения флуктуационной гидродинамики решаются на эйлеровой равномерной ортогональной сетке с использованием консервативной малодиссипативной конечно-разностной схемы. Решатель МД основан на алгоритме Верле, позволяющем легко включать дополнительные члены в уравнения движения для координат и скоростей каждой частицы на каждом временном шаге в соответствии с модифицированными уравнениями движения. Дополнительные члены соответствуют полям, полученным из решения LL-ФН, определенного на сетке Эйлера с шагом, определенным в соответствии с размером контрольного объема. Чтобы получить значения полей LL-ФН в положениях частиц между точками сетки используется интерполяция. Реализация поддерживает внутренний параллелизм GROMACS, что означает, что моделирование с гибридной моделью МД/ФН может быть выполнено с использованием CUDA, MPI или GROMACS

Thread MPI протоколов. В частности, были использованы специализированные суперкомпьютеры для МД расчетов четвертого поколения MDGRAPE-4, разрабатываемые в группе Makoto Taiji из японского института RIKEN. MDGRAPE-4 ориентирован на быстрое моделирование малых систем, основанный на технологии SoC. Целевая производительность составляет 200 пс моделирования в секунду для системы со 100 тыс. атомов.

Наконец, были подробно исследованы гибридные модели воды, как в виде чистой воды, так и различные водные растворы. На рис. 5 показан снимок SPC/E воды для случая сферической атомистической области в центре объема. Разрез, где центральная сфера представляет область МД с белыми и красными молекулами воды, окруженная синими сферами, которые представляют более тяжелые и медленные частицы с преобладанием гидродинамики (водяные капли). Частицы воды с преобладанием гидродинамики на рисунке представлены сферами для ясности в отображении переходной зоны между МД и LL-FH. В реальности эти капли также являются молекулами воды, где относительный вес уравнения МД или LL-FH задаются значением s в соответствии с гибридной моделью МД/LL-FH.

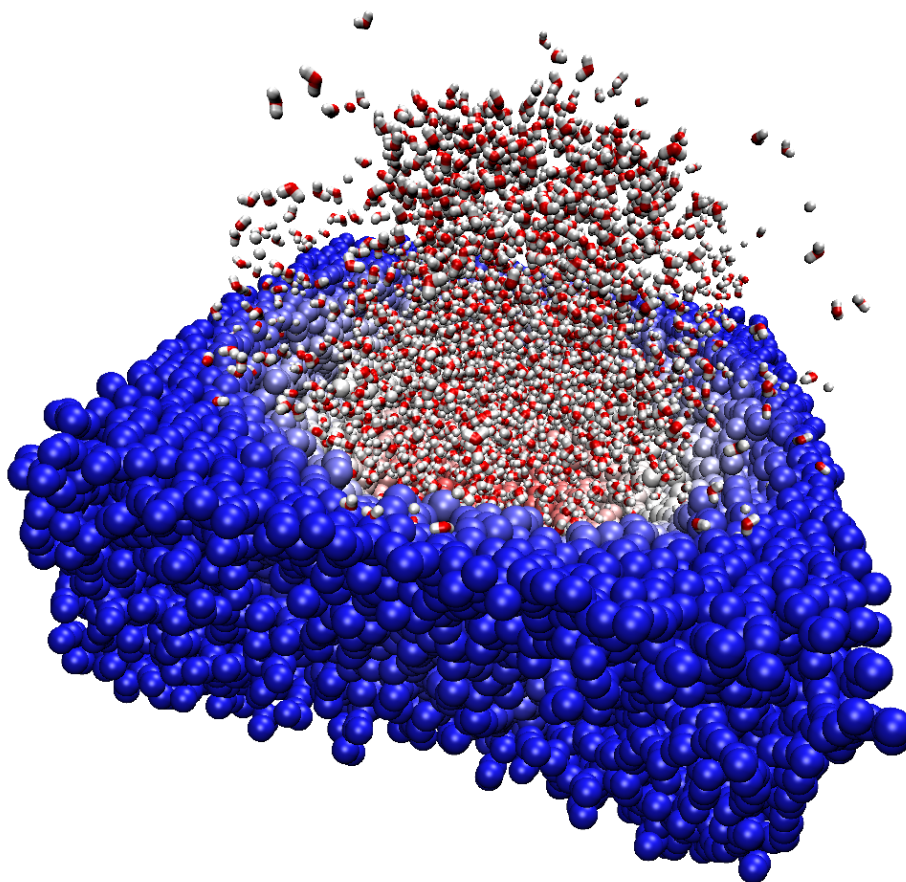


Рис. 5 — Разрез, показывающий SPC/E воду в случае переменной s ; белые и красные молекулы — молекулы в МД-области, синие сферы — капли воды в области с преобладанием гидродинамики.

Аналогично результатам для аргона было показано, что пространственное распределение атомов воды хорошо сохраняется как для постоянной s , так и для области МД, где s переменная.

Следующий шаг – добавление небольшой пептидной молекулы, цвиттерионной формы диаланина, в воду. Одна молекула пептида изначально помещается в центр МД-сферы (область $s = 0$, изображенная на рис. 6) и в окружении разработанной гибридной модели SPC-E/гидродинамической воды. Начальная конфигурация изображена на рис. 6.

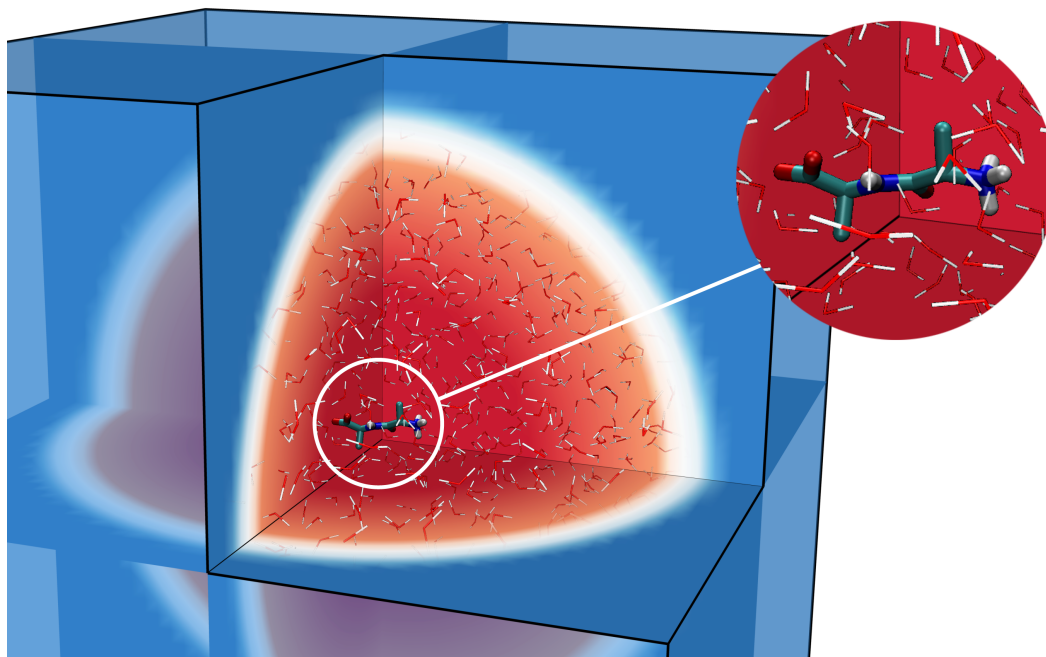


Рис. 6 — Переменный параметр s и МД-сфера с небольшой пептидной молекулой, цвиттерионной формой диаланина, внутри в центре сферы. Красная сфера — область чистой МД ($s = 0$), синий — область флуктуационной гидродинамики ($s = 1$).

В случае неподвижной гибридной зоны моделирование останавливается, когда макромолекула достигает гибридной зоны. Чтобы продлить время моделирования, вводится нестационарная зона МД, связанная с движением центра масс пептидной системы, так что параметр связывания s становится функцией пространства и времени, $s = s(x, y, z, t)$.

Чтобы проверить влияние области с преобладанием гидродинамики ($s > 0$) на область МД ($s = 0$) вычислялись коэффициенты поступательной самодиффузии D как для воды, так и для молекул пептида в этой области и сравнивались с величинами, полученными в чистом МД. Результаты расчетов показали, что несмотря на небольшое завышение значения D для воды и занижение для пептида, совпадение остается количественным. Стоит отметить, что такая динамическая характеристика как коэффициент диффузии является одной из наиболее сложных величин для расчета в компьютерных моделях.

В качестве наиболее сложной системы, имеющей непосредственное отношение к биохимии биологических объектов, был проведен расчет полноатомной модели небольшого вируса.

Полноатомный капсид вируса РСV2 при старте моделирования из кристаллографической структуры схлопывается после приблизительно 1 нс времени моделирования, при этом он остается стабильным в гибридном моделировании (рис. 7). Этот эффект может быть объяснен артефактами стандартных периодических граничных условий в случае полноатомного моделирования.

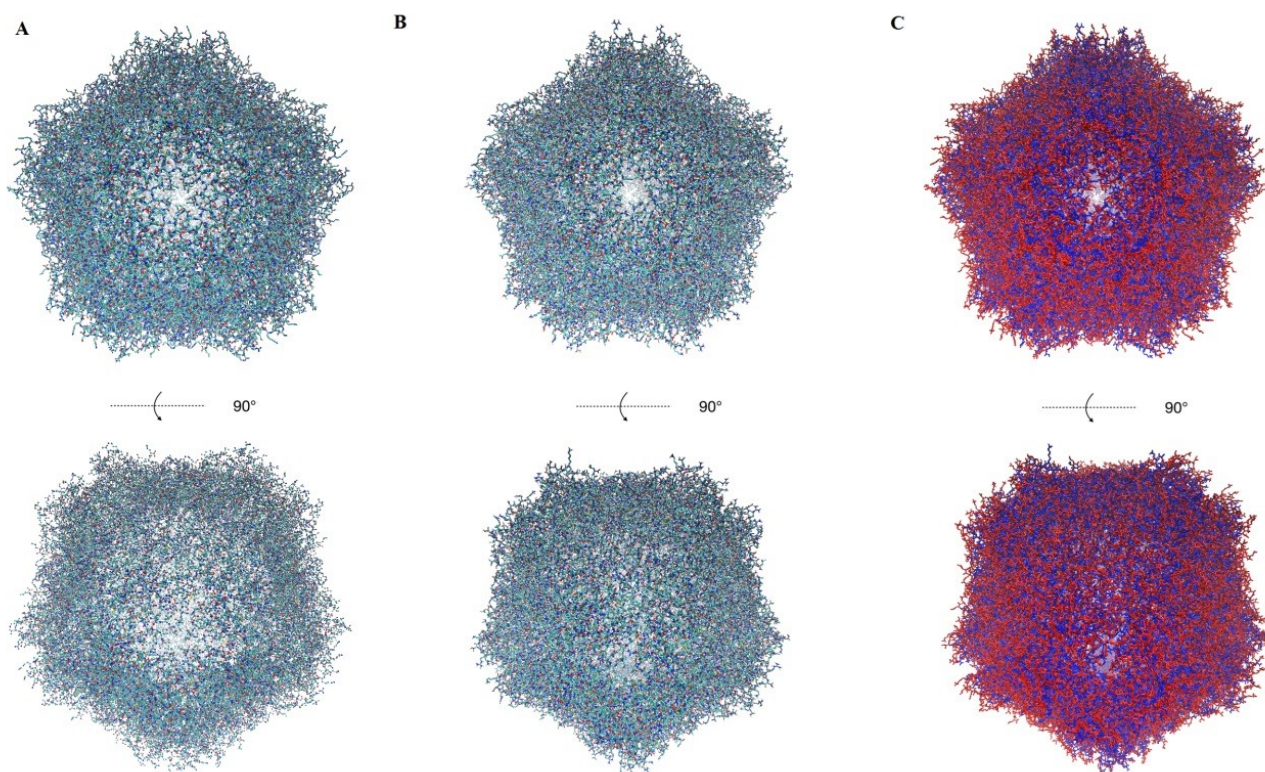


Рис. 7 — Капсид РСV-2 стабилен в гибридном моделировании LL-FH/МД: исходная форма вируса после уравнивания, соответствующая экспериментальной структуре; В — смоделированная структура в гибридном LL-FH/МД; С это сравнение А и В (синий – моделирование, красный – исходный вирус после уравнивания).

Интересно, что коллапс капсида вируса наблюдается в чистом МД моделировании, даже если размер системы увеличен до 4 000 000 атомов, то есть содержит гораздо больше молекул воды. В противоположность, для модели LL-FH/МД расчетная область вдвое больше, что соответствует вдвое большему размеру зоны чистого МД (примерно 1 x 180 000 атомов) и отодвигает «гибридную границу» от вируса, находящегося в центре чистой зоны МД, приводя к правильной симметричной структуре, очень похожей на экспериментальную. Результатом этого теста было то, что форма вируса практически не изменилась, независимо от размера используемой вычислительной области. В частности, RMSD атомов основной цепи капсида составляли 0.4 нм для меньшей вычислительной области и 0.5 нм для большей, что демонстрирует практически неизменную структуру по сравнению с кристаллографическими экспериментальными данными.

Обобщая результаты первой главы, следует отметить, что новый гибридный метод LL-FH/МД реализован для моделирования нескольких жидкостей, таких как вода MB, жидкий аргон, вода SPC/E, растворы пептида и вирусной частицы в равновесии. Показано, что этот метод

позволяет получить сходящееся решение, которое правильно воспроизводит макроскопические параметры, такие как стандартные отклонения тепловых флуктуаций и средней скорости потока. Это достигается без введения какой-либо специальной обработки частиц МД, такой как «изменение масштаба» решения МД. Было продемонстрировано следующее:

- для постоянного параметра s текущая трехмерная реализация гибридного метода правильно воспроизводит макроскопические флуктуации плотности и скорости в соответствии с литературными данными;
- для переменного параметра s , несмотря на некоторую чувствительность к размеру системы гибридной зоны МД/LL-FH, гибридный метод сохраняет важные структурные функции жидкостей, такие как функция радиального распределения, а также автокорреляционную функцию скорости в атомистической части решения; изменение структурных функций происходит постепенно при изменении разрешения представления при введении влияния гидродинамики на МД;
- показано, что масса и импульс МД-части решения сохраняются в гибридной зоне МД/LL-FH в пределах 0.5%;
- автокорреляции плотности и скорости МД части решения правильно сохраняются в гибридной зоне МД/LL-FH в соответствии с флуктуационно-диссипационной теоремой;
- результаты моделирования бегущей акустической волны через гибридный МД/LL-FH слой продемонстрировали способность метода правильно передавать импульс в нестационарном течении с точностью до статистического шума;
- результаты гибридного метода молекулярной диффузии воды и диффузии диаланина в воде показывают разумное согласие с эталонным моделированием МД.

Гибридный метод LL-FH/МД был расширен для динамического отслеживания особенностей атомистического разрешения, которые могут развиваться в потоке. Было выполнено моделирование двух очень разных биомолекулярных систем: диффузии пептида в воде и взаимодействие капсида цирковируса с водой. Было показано, что гибридная модель в состоянии сохранить важные свойства молекулярной части системы. При диффузии пептида в воде, флуктуации массы и импульса зоны чистой молекулярной динамики, окружающие пептид, были найдены в отличном согласии с теорией. Полученный коэффициент диффузии из гибридного решения был найден в очень хорошем согласии со всеми эталонными моделированиями. Для моделирования капсида вируса в воде, по сравнению с полноатомным моделированием, существующий гибридный метод сохраняет структуру вируса и приводит к корректному среднеквадратичному отклонению (RMSD) структуры атомов основной цепи. Это асимптотическое значение достаточно мало, что предполагает стабильность структуры, и также достаточно мало чувствительно к размеру расчетной области в случае гибридного метода. В отличие от полноатомного моделирования со стандартными периодическими условиями, которые не могут обеспечить постоянное среднеквадратичное

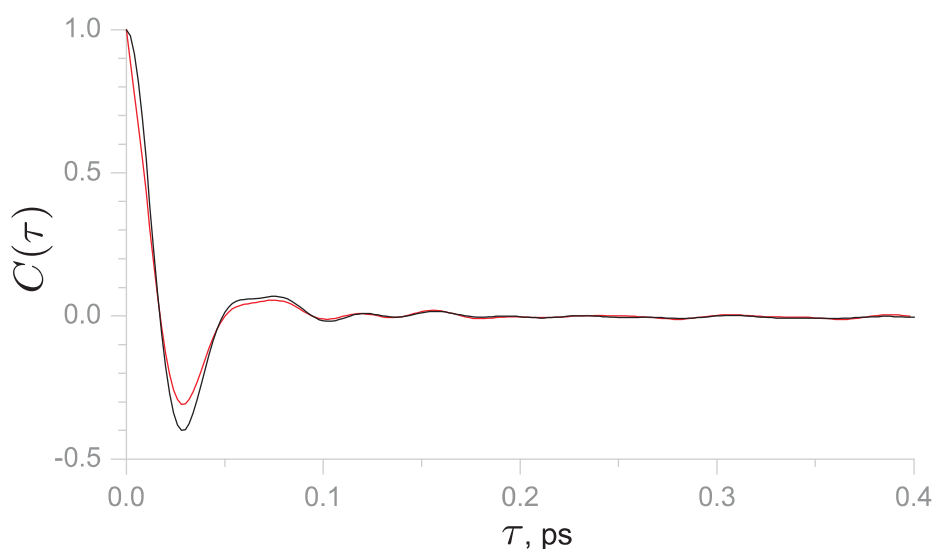


Рис. 8 — Автокорреляционные функции $C(\tau) \equiv \frac{1}{T} \sum_t^T \mathbf{v}_t \cdot \mathbf{v}_{t+\tau}$ для исходной скорости водорода в объемной воде (черный) и сигнала, состоящего из 27 символов (красный).

отклонение, а также не могут сохранить стабильность вирусного капсида даже при увеличенном размере вычислительной области.

Вторая глава посвящена исследованию сложности молекулярного движения с точки зрения нелинейной динамики. Вследствие очень большой размерности молекулярных траекторий (размерность равна утроенному количеству атомов в системе за вычетом ограничений, таких как связи между атомами, жесткие углы между ними и т.д.), доходящей до миллионов, был использован подход, анализирующий молекулярные траектории в терминах динамики символов. Молекулярная траектория преобразуется в последовательность символов из алфавита, состоящего всего из нескольких символов. Полученная символьная последовательность может быть проанализирована с помощью различных статистических методов. Важным моментом является тот факт, что траектория анализируется не как отдельные символы, а как последовательность символьных строк (слов). Это позволяет извлечь подробную информацию из изначально непрерывной траектории, несмотря на кажущееся очень грубое представление с использованием всего нескольких символов (см., например, рис. 8 где скорость атома водорода воды представлена всего 27 дискретными значениями).

В работе проанализирована динамика жидкой воды, используя такой подход и обнаружена удивительно медленная сходимость рассчитанных статистических показателей. Статистика временных рядов для воды ведет себя принципиально по-другому по сравнению с псевдослучайными последовательностями (например, цифры числа π) или со случайным суррогатным сигналом, имеющим корреляционную функцию (и, следовательно, спектр мощности), идентичную корреляционной функции воды. Более того, динамика воды напоминает поведение, наблюдаемое в

простой хаотической системе, такой как отображение Чирикова-Тейлора или стандартное отображение. Таким образом, можно предположить, что такие неслучайные свойства молекулярных траекторий могут носить детерминированный хаотический характер.

В качестве количественного анализа сложности символьных рядов, полученных из молекулярных траекторий была использована так называемая «статистическая сложность». Статистическая сложность — это мера, введенная J. Crutchfield и K. Young в 1989 году. Она оказалась полезной для описания различных сложных систем, в том числе с сотнями степеней свободы. Статистическая сложность многомерных траекторий, генерируемых динамикой статистического ансамбля молекул воды, возрастает до временного масштаба одной микросекунды, т.е. чрезвычайно длительного временного интервала для типичного моделирования молекулярной динамики. Алгоритм статистической сложности строит так называемую ϵ -машину, состоящую из «обуславливающих состояний», определяющих динамические свойства исследуемого временного сигнала.

Можно предположить, что большое значение статистической сложности, наблюдаемое в проведенных численных экспериментах, определяется наличием периодических островов с липкими границами в фазовом пространстве Гамильтоновых систем. Липкость определенных областей в фазовом пространстве приводит к долговременным эффектам памяти, которые ответственны за нарушение статистической независимости будущих состояний от прошлых. Это, в свою очередь, делает неустойчивой процедуру группировки историй в обуславливающие состояния, составляющую ядро алгоритма статистической сложности Crutchfield. В результате алгоритм находит все больше и больше обуславливающих состояний, необходимых для построения ϵ -машины как цепи Маркова, а значение сложности растет с числом обуславливающих состояний.

Обобщая, в данной главе современные методы нелинейной динамики и оценки сложности динамических систем были применены к жидким молекулярным системам. В результате были обнаружены аномально длинные по времени корреляции и детерминистический характер хаоса в молекулярных траекториях, приводящие к самоорганизации молекулярных структур, которые, возможно, лежат в основе таких фундаментальных биохимических процессов, как сворачивание белковых молекул в нативную структуру.

Третья глава посвящена атомистическому моделированию капсидов вирусов как полноразмерных биологических объектов, включающих все необходимые белки, а также реалистичную водную среду, состоящую из молекул воды, необходимых ионов и других малых молекул. На рис. 9 показана структура вируса PCV2, одного из объектов, которому посвящены три раздела главы.

Современные экспериментальные возможности для измерения атомистической структуры очень больших молекулярных систем (недавний пример представляет собой измеренную с помощью крио-ЭМ структуру вирусного капсида диаметром 125 нм) в значительной степени полагаются на сложные методы моделирования, которые сопоставляют известные химические

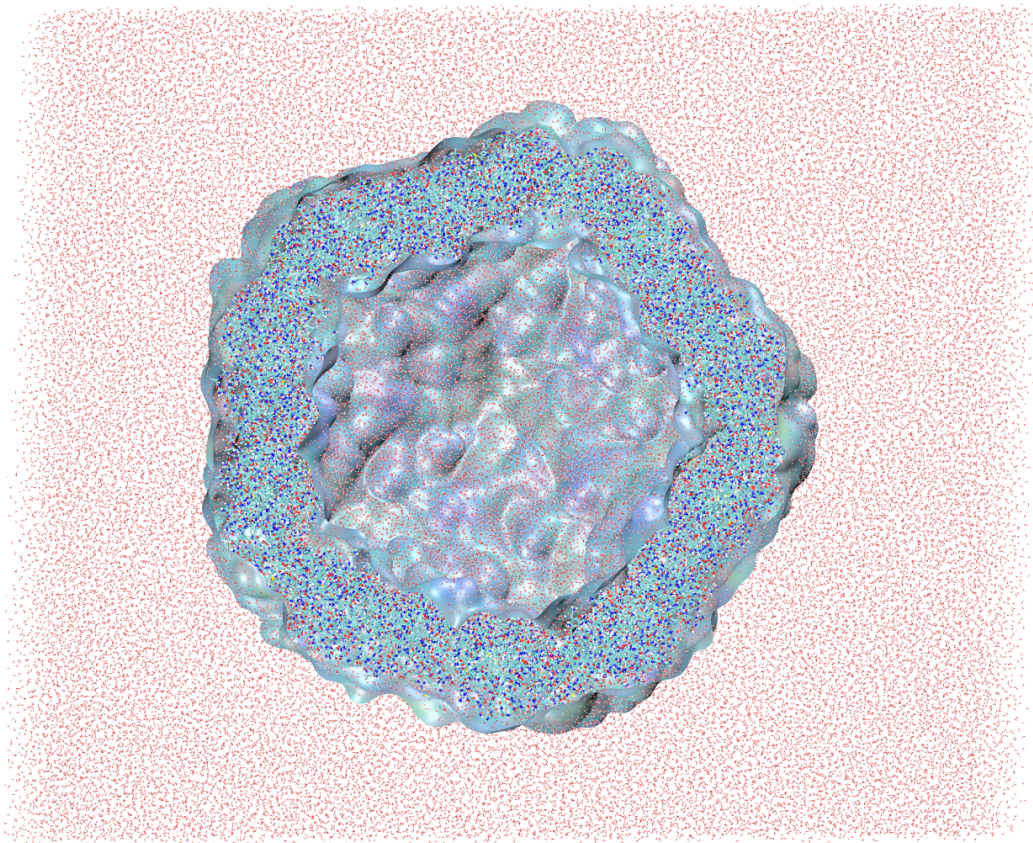


Рис. 9 — Разрез полноатомной модели капсида РСV2 без генома, погруженного в ячейку, заполненную атомистической водой.

структуры с трехмерными картами плотности, полученными из экспериментальных данных. В настоящее время эти методы моделирования в основном касаются *структурной* подгонки, которая особенно сложна для тех частей плотности, где возможна неоднозначность из-за более низкого разрешения или отсутствия данных. Однако атомистическая *динамика* очень важна как для лучшего качества подгонки (например, путем указания гибких областей молекул, где экспериментальные данные по определению имеют низкое качество), так и для последующего использования полученных атомистических моделей (например, предоставления короткоживущих конформаций, невидимых в эксперименте). «Моделирование атомистической динамики» означает классическую молекулярную динамику (МД). Таким образом, МД моделирование очень больших (по современным стандартам МД) систем полезно и важно, несмотря на технические трудности, вызванные огромным количеством атомов в системе.

Так, были получены результаты по распределению зарядов на внешней и внутренней поверхности капсида РСV2, критически важные для стабильности капсида. На рис. 10 показано распределение ионов хлора и натрия, необходимое для структурной устойчивости капсида. Нарушение этого распределения приводит к коллапсу капсида, что и наблюдали в процессе моделирования.

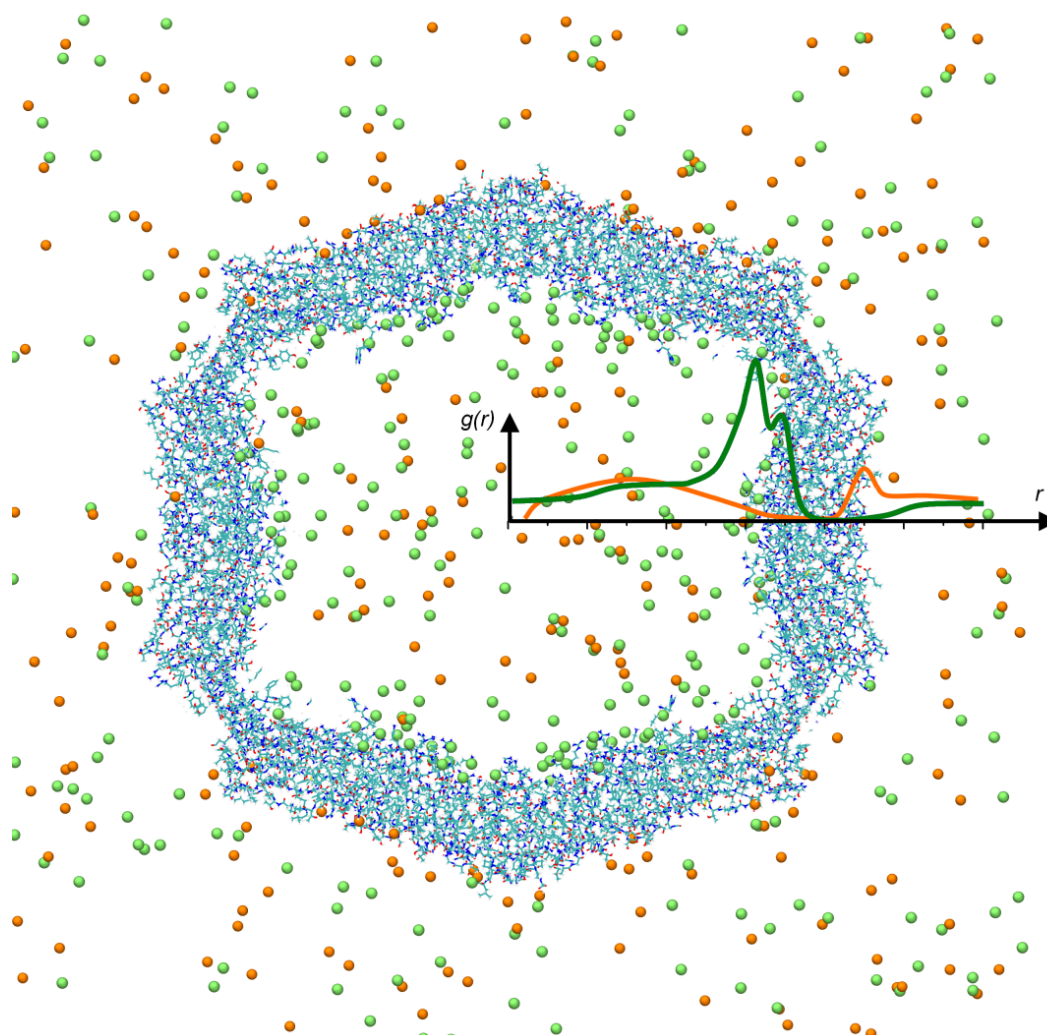


Рис. 10 — Схематическое изображение распределения ионов Cl^- (зеленый) и Na^+ (оранжевый) в системе и RDF, количественно определяющая их концентрацию в зависимости от расстояния от центра масс капсида.

Подробный анализ распределения ионов на внутренней поверхности капсида, рис. 11, показывает геометрически правильные структуры которые, вероятно, могут имитировать локализацию фосфатных групп ДНК/РНК. Это также может иметь биологические последствия, поскольку стабильность капсида может определяться определенным расположением цепи ДНК.

Капсиды PCV2 собираются внутри клетки, чтобы заключить в себя нуклеиновую кислоту. Существует протокол *in vitro* для сборки капсидов PCV2 в отсутствие нуклеиновой кислоты. Важно, что протонирование белков, составляющих капсид (СР) отвечает за регуляцию сборки капсида. В частности, белки собираются в капсиды при рН 5, но не при рН 3 или 7. Это говорит о том, что рН 5 каким-то образом имитирует клеточные условия, необходимые для самосборки капсида. Использование традиционной МД для изучения влияния рН на структуру невозможно, поскольку этот подход сохраняет единственное состояние протонирования для каждого остатка, соответствующее рН=7 на протяжении всего моделирования. В настоящей работе интерпретированы биохимические результаты, чтобы определить, что происходит с мономерной структурой белков при этих значениях рН, выполняя недавно разработанное моделирование молекулярной

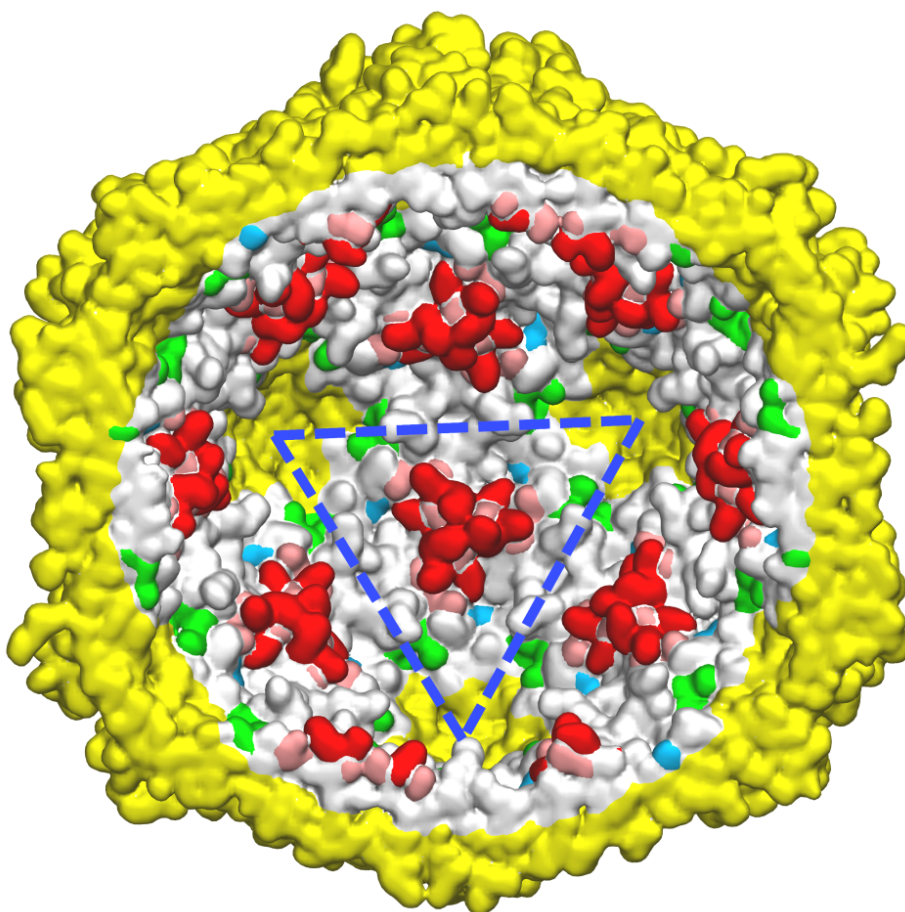


Рис. 11 — Половина капсида, показывающая расположение богатых хлоридом аминокислот 172(Asn), 174(Lys), 175(Arg) (красные) и 94(Arg), 95(Lys), 173(Asn), 176 (Asn) (розовые) и теряющих хлорид аминокислот 43(Arg), 97(Lys), 142(Arg), 213(Tyr) (зеленые) и 118(Val), 156(Phe) (синие); остатки на расстоянии более 75Å от центра масс капсида показаны желтым цветом; один тример обозначен пунктирной линией.

динамики при постоянном pH (CpHMD) с методами обмена репликами (RE) в pH-измерении (CpH REMD). В отличие от классического подхода МД, моделирование CpHMD позволяет изменять состояния протонирования аминокислот в процессе моделирования. Метод RE обеспечивает улучшенную выборку.

Внутри клетки CP собирается при pH, близком к нейтральному, чтобы заключить в себя нуклеиновую кислоту. *In vitro* CP собирается при pH, близком к нейтральному, только в присутствии нуклеиновой кислоты; таким образом, взаимодействие между CP и нуклеиновой кислотой является необходимым условием для сборки капсида. Взаимодействие CP-нуклеиновая кислота, вероятно, обусловлено высоким содержанием Arg в концевом сегменте CP. Чтобы уменьшить взаимодействие CP-нуклеиновая кислота и сосредоточиться на взаимодействии CP-CP во время сборки капсида, было принято решение заменить и исключить этот концевой фрагмент из исследований сборки. Было показано, что CP PCV2, лишенный нуклеиновой кислоты, собирается *in vitro* только в кислых условиях (pH 5, рис. 12). Более ранние структурные исследования показали, что эти капсиды неотличимы от капсидов, собранных в клетках насекомых и млекопитающих.

Следовательно, при отсутствии нуклеиновой кислоты рН 5 может выступать в качестве движущего фактора для сборки СР. Чтобы понять, как рН 5 влияет на сборку капсида, были смоделированы СР при различных значениях рН, используя моделирование МД при постоянном рН с техникой обмена репликами в рН-измерении. Моделирование СрН-REMD показало, что петля GH занимает положение, наблюдаемое в капсиде, только при рН 5. Расчет значений рКа с использованием конформаций СР, полученных с помощью СрН-REMD, продемонстрировал, что петля GH занимает правильное положение при рН 5, поскольку Asp126/Asp127 и Asp168 депротонированы, а Asp172 протонирован. Однако эти аспарагиновые кислоты депротонируются при рН 7, и электростатическое отталкивание между ними отталкивает петлю GH от петли EF, что подавляет сборку капсида.

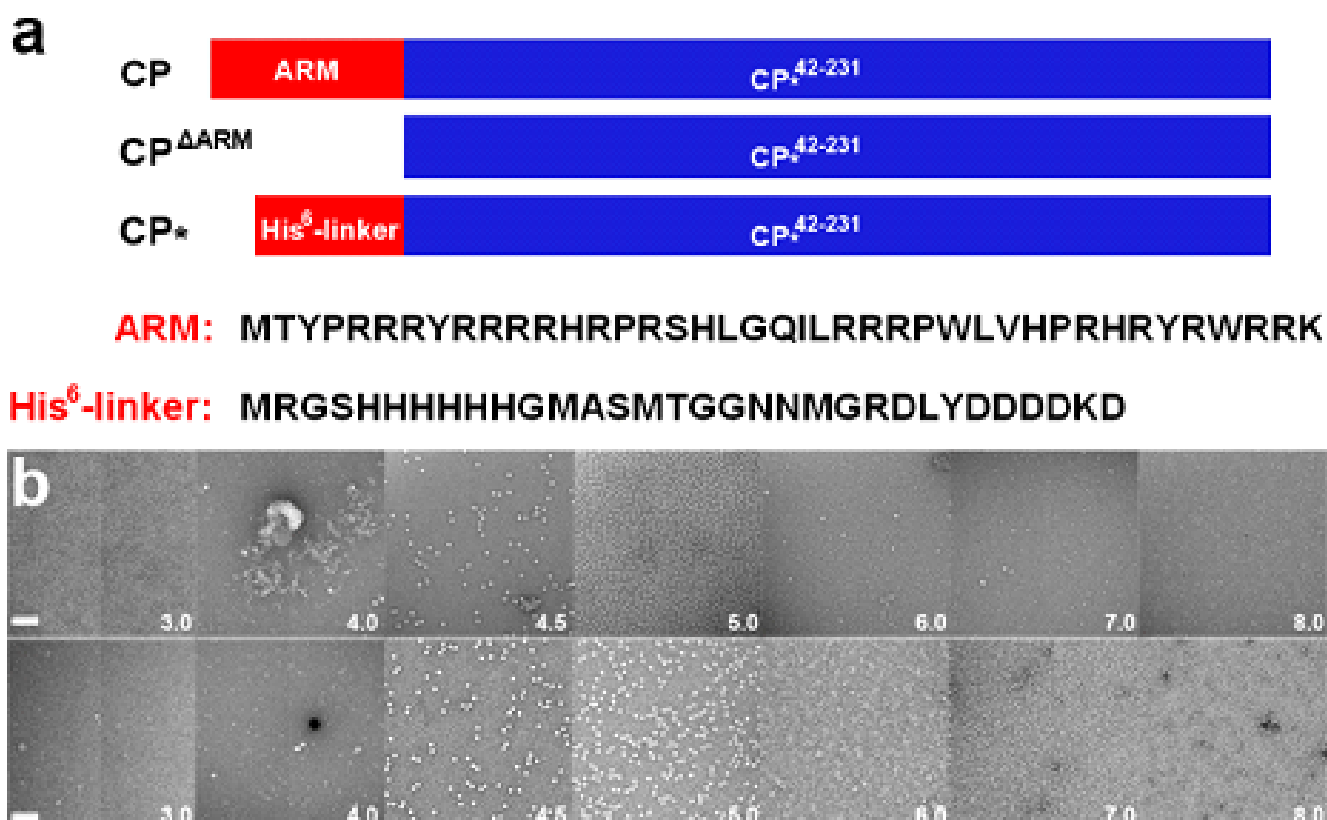


Рис. 12 — Сборка капсида PCV2 *in vitro*; (а) схематические изображения полноразмерного СР, СР^{ΔARM} и СР* описывающий различия между белками. Аминокислотные последовательности N-концов приведены ниже; (б) микрофотографии, полученные с помощью трансмиссионного электронного микроскопа, отрицательно окрашенного *in vitro* собранного капсида PCV2 сверху, влияние рН (белый текст) на сборку СР*; внизу, влияние рН (белый текст) на сборку СР^{ΔARM}.

Карта электростатического потенциала капсида PCV2 показала, что его внутренняя поверхность заряжена положительно. Аминокислоты, ответственные за эти заряды, вероятно, взаимодействуют с отрицательно заряженными фосфатами нуклеиновой кислоты, упакованной в капсид. Действительно, было показано, что замены аминокислот, которые мешают взаимодействию фосфата нуклеиновой кислоты с СР, нарушают сборку капсида. Учитывая, что Khayat и

др. продемонстрировали, что петля GH (Lys179) взаимодействует с фосфатами остова нуклеиновой кислоты и что эта петля важна для сборки капсида (как показали эти исследования), можно предположить, что взаимодействие между петлей GH и нуклеиновой кислотой может отвечать за правильное позиционирование петли GH для сборки капсида. В то время как другие авторы продемонстрировали сборку капсида *E. coli* экспрессированный CP при pH 7, остается определить, содержал ли их материал нуклеиновую кислоту, которая могла бы облегчить процесс сборки.

Таким образом, полученные результаты имеют как фундаментальное, так и практическое значение, поскольку они обеспечивают понимание того, как вирус регулирует свою самосборку, и открывают новые возможности для разработки противовирусных терапевтических средств. Насколько известно, это первое объяснение механизма сборки PCV2.

Наконец, в этой главе исследован другой вирус, (+)ssRNA бактериофаг MS2, инфицирующий *E. coli*. Этот вирус – идеальный кандидат для полностью атомистического моделирования, поскольку он небольшой (его геном короткий, 3569 нуклеотидов), его икосаэдрический капсид лишь незначительно больше, чем у PCV2 (27 нм против 23 нм), но он гораздо более подробно изучен с использованием различных методов молекулярной биологии и биофизики.

Молекулярная структура капсида MS2 была недавно измерена с атомистическим разрешением, что позволило получить не только структуру симметричных частей капсида, но и несколько белков, которые отличаются от остального капсида, что делает его асимметричным. В последней публикации Licis даже представлены части генома, разрешенные на атомистическом уровне, и большая часть генома с разрешением, позволяющим получить его остов. Таким образом, для настоящего исследования была возможность построить очень реалистичную МД-модель капсида вируса, включая его асимметричные части, которые, как известно, играют важную биологическую роль в инфицировании бактерий.

Капсид MS2 в основном состоит из множественных копий одного белка длиной 129 аминокислотных остатков. Белок принимает три различные конформации, обозначаемые как А, В и С, которые образуют два типа димеров: асимметричный АВ и симметричный СС, которые, в свою очередь, образуют структурные блоки капсида – пентамеры и тримеры, рис. 13. Капсид состоит из 59 АВ и 30 СС димеров. Наконец, в стенку капсида встроены белок созревания из 393 остатков. Капсид образует полупроницаемую стенку с порами, через которые проходит вода и ионы. Эта информация была использована для разработки МД модели капсида и анализа ряда его структурных и динамических свойств.

В результате исследования биохимических свойств капсида, таких как распределение зарядов, вторичных структур мономерных белков и их отличие как друг от друга, так и от крио-ЭМ структуры, были получены количественные параметры потока ионов через стенку капсида. Суммарный поток ионов – значителен и достигает $(4.5 \pm 0.5) \text{ Na}^+$ и $(4.9 \pm 0.4) \text{ Cl}^-$ за нс (рис. 14). Для

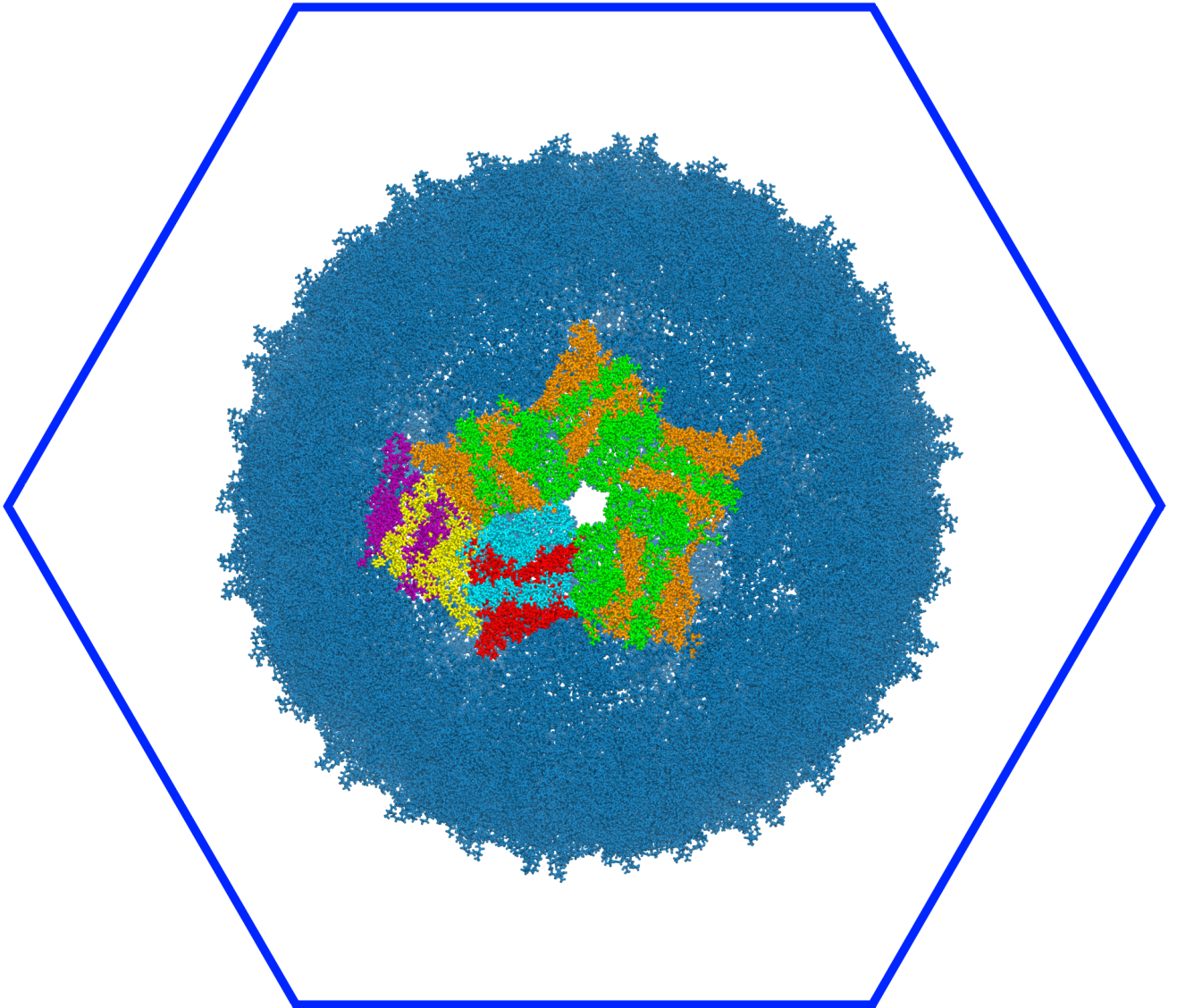


Рис. 13 — Модель капсида в коробке в форме ромбического додекаэдра; несколько белков оболочки окрашены, выделяя пентамер, окружающий пору (зеленые, оранжевые, синие и красные молекулы), и блок тримера (зеленые, оранжевые, синие, красные, фиолетовые и желтые молекулы); ионы и молекулы воды не показаны.

Cl^- и, в меньшей степени, Na^+ , выходящий поток несколько сильнее входящего: через 50 нс моделирования содержание ионов внутри изменилось на -37 для Cl^- и -12 для Na^+ .

Ситуация полностью противоположна капсиду PCV2, где транспорт воды был в 70 раз ниже, а транспорт ионов был незначительным. Это объясняется большим диаметром пор в капсиде MS2, достигающим приблизительно 15 нм.

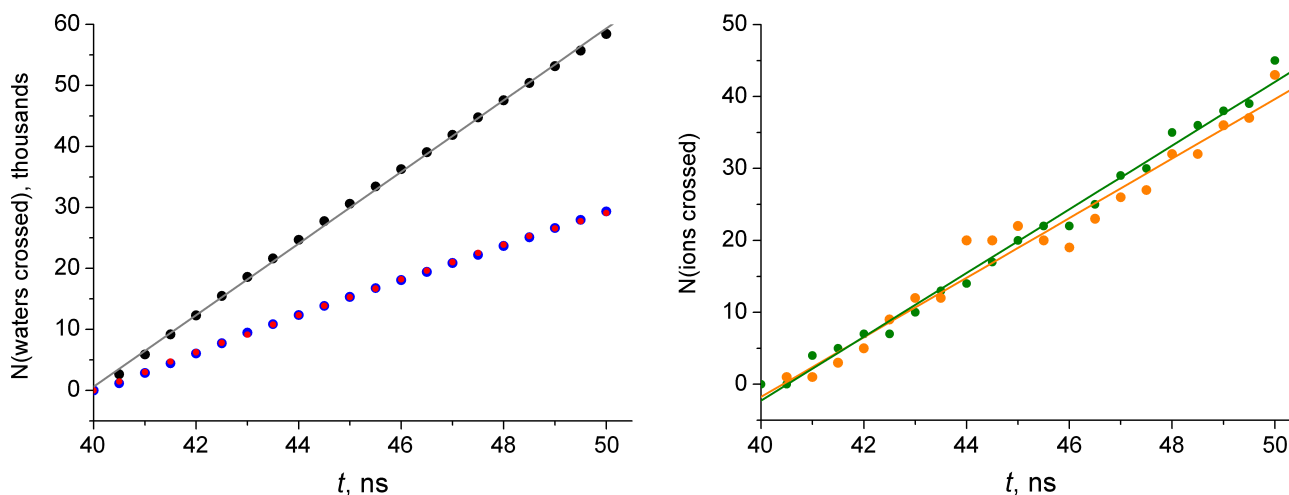


Рис. 14 — Слева: число молекул воды, вошедших (красный) или покинувших (синий) внутреннюю часть капсида, по сравнению со структурой через 40 нс, суммой вошедших и покинувших (черный) и ее линейной аппроксимацией (серый); справа: число ионов Na^+ (оранжевый) или Cl^- (зеленый), пересекших стенку капсида в обоих направлениях, по сравнению с исходной структурой, и ее линейная аппроксимация.

Таким образом, построена МД-модель капсида MS2, включая его асимметричные части (белок созревания и несколько деформированных белков вокруг) и одну подпоследовательность, отсутствующую в экспериментальных данных. После первоначальной корректировки атомистическая структура капсида при комнатной температуре и в физиологическом растворе оказалась стабильной и в значительной степени совпадала с измеренной крио-ЭМ структурой, за небольшим исключением трех остатков, расположенных на внешней поверхности.

Был проанализирован ряд структурных и динамических свойств капсида, которые невозможно получить экспериментально. Распределение ионов внутри и снаружи капсида выявило выраженный слой ионов хлора на внутренней поверхности, в то время как ионы натрия образовали удивительно диффузный слой на внешней поверхности капсида. Наконец, поры в стенке капсида обеспечивают существенный транспорт воды и ионов в обоих направлениях.

В **четвертой главе** приведено описание вычислительных биохимических исследований нескольких белков, их конформационной динамики и взаимодействия белков с различными малыми молекулами: лигандами, выступающими в роли лекарственных веществ либо как консервантов, способствующих сохранению белковой структуры.

Начинается глава с исследования базовых блоков конформационной динамики белка, приводящих к его сворачиванию. Движение и функция белка определяются элементарными конформационными переходами, описываемыми изменениями двугранных углов остова биополимера. Обычно углы колеблются вокруг усредненного значения, приписываемого «метастабильным» конформационным состояниям, и иногда существенно изменяют своё значение, что соответствует конформационным переходам.

Динамика таких метастабильных состояний часто описывается с помощью модели марковских состояний (MSM). Важным требованием MSM является марковское свойство состояний, то есть независимость переходов от предыдущих шагов. Это накладывает концептуальное ограничение на временной масштаб модели: временной шаг должен быть не меньше памяти системы. Недостатков MSM можно избежать, если разрешить состояниям быть немарковскими. Естественным развитием теории марковских процессов является теория скрытых марковских процессов. Здесь переходы могут зависеть от предыдущих шагов, и эти зависящие от времени состояния группируются в последовательности состояний таким образом, что сами последовательности становятся марковскими.

В данном разделе был разработан вариант скрытого марковского описания конформационных переходов. Была использована та же методология, что и выше, «вычислительная механика» и было показано, что применение этого подхода к динамике белков (которая далее называется немарковской моделью состояния, μ MSM) позволяет обнаружить кратковременные «переходные» состояния, сократив временной шаг на порядок по сравнению с обычной MSM. Описывая переходы в таком мелком масштабе времени, можно выяснить подробные механизмы переходов. В частности, становится возможным анализ элементарных конформационных переходов, являющихся строительными блоками всех конформационных движений белков.

Поскольку механизмы переходов теперь могут быть раскрыты, продолжительность самих переходов (не время между переходами, а сам процесс конформационных перестроек) может быть количественно определена. Этого обычно невозможно достичь в MSM, поскольку время переходов обычно меньше, чем временной шаг MSM. Кроме того, можно идентифицировать и изучать «повторные пересечения», когда система демонстрирует несколько быстрых пересечений границы, разделяющей конформационные состояния – важная проблема, давно признанная в этой области.

Для дипептида L-аланил-L-аланин, рис. 15, показано, что механика его основного конформационного перехода (когда двугранный угол ψ меняет положение, вокруг которого он флуктуирует в метастабильном состоянии) может быть проанализирована на временных масштабах вплоть до 0.3 пс, т.е. на порядок меньших, чем позволяет MSM. ϵ -машина удачно описывает детали перехода $A \rightarrow B$: это обуславливающие состояния ‘2’, ‘7’, ‘4’ и ‘8’, рис. 16. Соответствующие этой динамике потоки двугранных углов показаны на рис. 17.

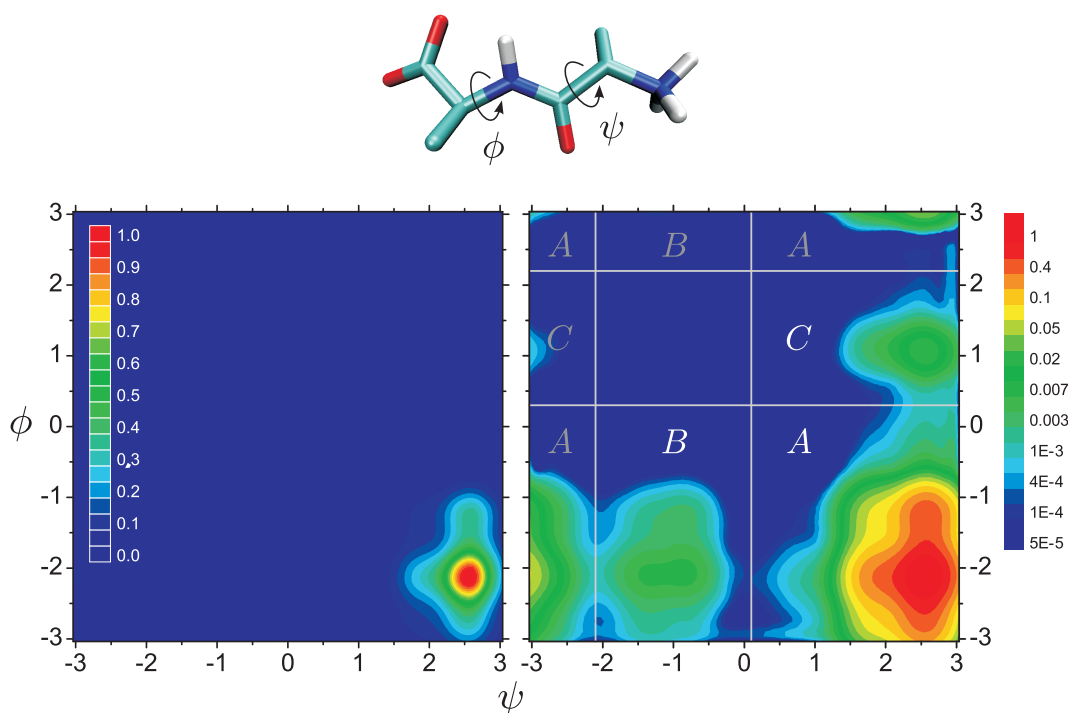


Рис. 15 — Вверху: цвиттер-ион L-аланил-L-аланина; слева: нормализованные вероятности конформаций (график Рамачандрана), образованные $2\mu\text{s}$ траекториями; справа: те же вероятности, подчеркивающие наличие двух второстепенных конформаций и разбиение для символизации.

Таким образом, представлено развитие метода MSM, которое учитывает немарковское поведение конформационных состояний белка. Метод позволяет избежать ряда недостатков, присущих MSM. В частности, для определения корректных метастабильных состояний не требуется множества микросостояний. Динамика системы автоматически находит необходимые состояния. Важно, что методология дает возможность сократить временной шаг, тем самым увеличивая временное разрешение модели. В принципе, разрешение ограничивается только объемом доступных для анализа данных, тогда как в стандартном MSM ограничение разрешения по времени является концептуальным.

Предлагаемый в настоящей работе метод дает подробное описание механизмов переходов. Он определяет важность множественных повторных переходов и количественно оценивает их вероятности. Поскольку механизмы переходов теперь можно выяснить с высоким временным разрешением, можно получить подробную молекулярную картину конформационных движений. Механизмы переходов для этого конкретного пептида показывают, что, вероятно, существуют и другие важные степени свободы, которые необходимо включить в картину. Можно предположить, что такие степени свободы должны включать молекулы воды.

В развитие темы роли воды в конформационных переходах белков, исследование того же диаланина продолжено в следующем подразделе главы. Фокус внимания теперь – поведение воды в моменты конформационных переходов, которые, как показано выше, можно определить с точностью до 0.3 пс.

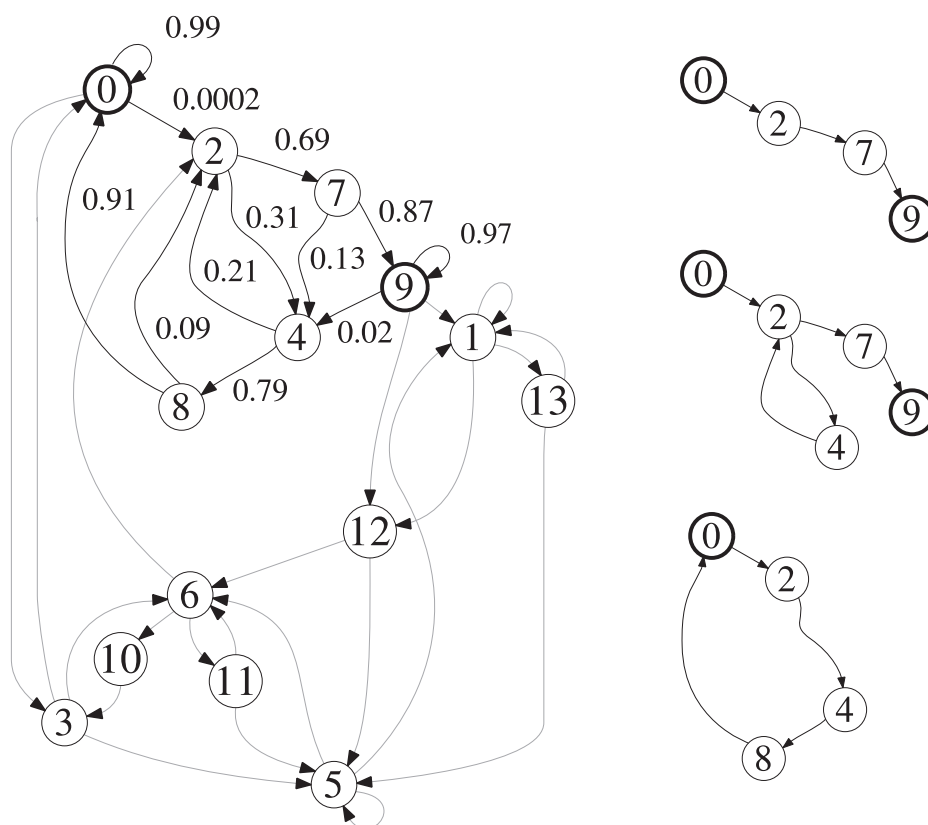


Рис. 16 — Слева: ϵ -машина для временного шага 0.3 пс, длина последовательностей $l = 4$, состояние '0' соответствует исходному состоянию 'A' (в основном состоит из последовательностей AAAA), аналогично, состояние '9' соответствует 'B', состояние '9' может быть достигнуто только из состояния '0' через состояния '2', '7', '4', '8', которые описывают механизм (пути) перехода $A \rightarrow B$; справа: три типичных случая во время перехода: прямой переход (вверху, вероятность 0.56), переход с несколькими повторными пересечениями (в середине, вероятность 0.03), неудачная попытка перехода (внизу, вероятность 0.27), вероятности этих случаев даны в предположении, что вероятность перехода из состояния «0» или в состояние «9» любым возможным путем равна 1.

В результате подробного исследования плотности воды вокруг пептида и корреляции этой плотности с конформационной динамикой самого пептида, обнаружено, что (i) от 10 до 1 пс до перехода, когда двугранные углы изменяются больше всего, молекулы воды имеют тенденцию концентрироваться в более определенных положениях вокруг пептида по сравнению с более равномерным распределением в другие моменты времени; (ii) во время перехода динамика распределения воды становится сильно коррелированной с динамикой двугранных углов; и (iii) эти корреляции полностью отсутствуют в периоды стабильной конформации.

Таким образом, можно сделать вывод, что вода и пептид ведут себя как единая динамическая система. Во время конформационного перехода пептид и окружающая его вода претерпевают переходы вместе. Это контрастирует с метастабильными периодами, когда их динамика по существу разъединена. Переход характеризуется более конкретно определенной сетью водородных связей воды. Таким образом, вполне вероятно, что вода является движущей силой всего процесса конформационных переходов.

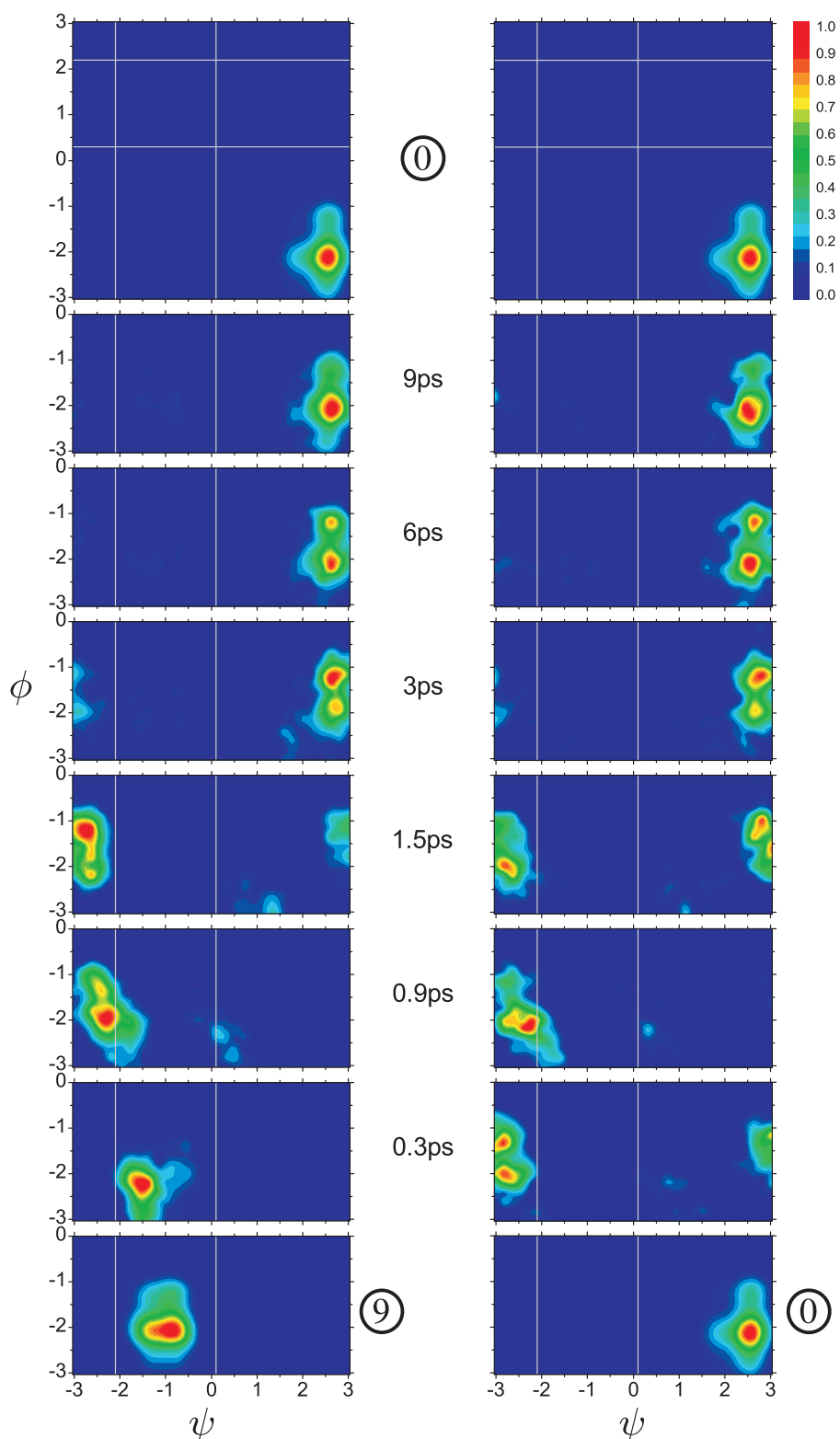


Рис. 17 — Поток двугранных углов, описывающий две различные возможности перехода из состояния «0»: слева, переход $A \rightarrow B$, справа, неудавшийся переход и возврат в состояние A ; числа показывают время до завершения перехода (то есть когда система достигает либо состояния '0', либо состояния '9').

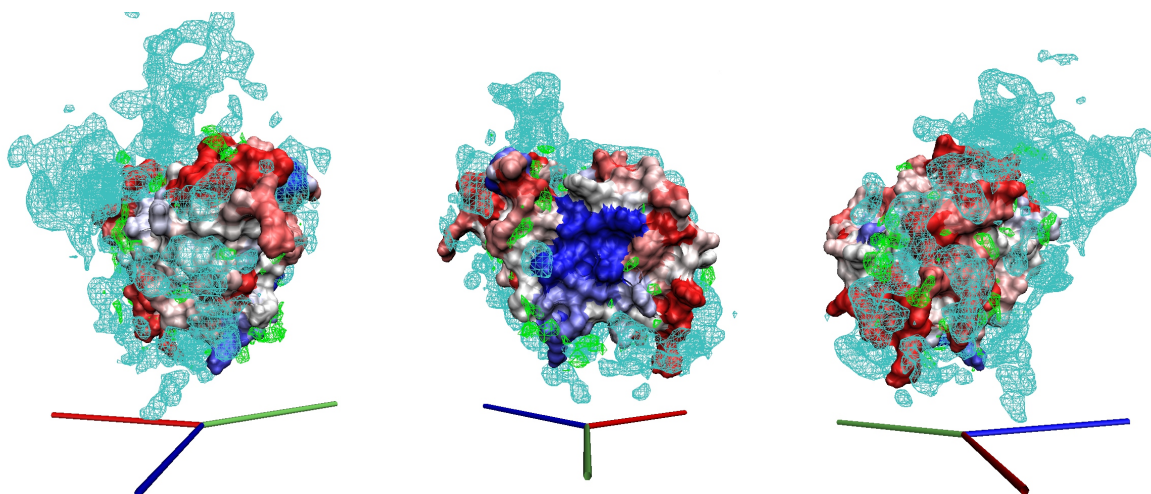


Рис. 18 — Плотность трегалозы на поверхности лизоцима. Поверхность белка окрашена в соответствии с разницей в гибкости остова, вызванной трегалозой; голубой: плотность трегалозы (в 6.4 раза выше, чем в основной массе); зеленый: плотность воды (в 1.5 раза выше, чем у объемной воды), показана молекулярная структура с трех разных точек зрения.

В следующем подразделе главы описаны молекулярные механизмы стабилизации лизоцима в растворе трегалозы. Несмотря на многочисленные экспериментальные и теоретические исследования взаимодействия трегалозы с белком, мало что известно о молекулярном механизме стабилизирующего действия трегалозы на биомолекулярную структуру, поскольку экспериментальные результаты трудно интерпретировать на атомистическом уровне. Разумно предположить, что стабилизация является результатом особых взаимодействий молекул сахара с белком, которые приводят к образованию нетривиальных, стабилизирующих молекулярных структур. Существуют три основные гипотезы, описывающие такие структуры.

- *Гипотеза механического захвата (стеклования)*: захват биомолекул в стекловидной матрице трегалозы, образованной в среде *концентрированного* раствора трегалозы с высокой вязкостью. Это должно защитить естественную конформацию биомолекул подобно насекомым, пойманным в янтаре.
- *Гипотеза замены воды*: защита биомолекул посредством прямого взаимодействия трегалозы с поверхностными группами биомолекул через водородные связи. Эта гипотеза предполагает, что большая часть молекул воды в первой гидратной оболочке биомолекулы должна быть заменена трегалозой.
- *Гипотеза захвата воды*: улавливание молекул воды в промежуточном слое между сахарами и биомолекулярной поверхностью.

Результаты показывают, что трегалоза образует на поверхности лизоцима неравномерные кластеры, положение которых коррелирует с гибкостью белковой цепи, рис. 18.

Можно сделать вывод, что распределение трегалозы по поверхности лизоцима неравномерно, и трегалоза образует кластеры на поверхности. Поэтому выводы экспериментальных и

теоретических исследований, предполагающие равномерное распределение, могут быть ошибочными. Результаты можно интерпретировать как подтверждающие как гипотезу захвата воды, так и гипотезу замещения воды; структура участков трегалозы согласуется с последней, тогда как наличие кластеров воды наряду с кластерами сахара согласуется с первой. Неравномерное распределение трегалозы означает, что обе гипотезы верны, но для разных частей структуры. Из-за различной химической природы структурных элементов белков некоторые из них (около 30%) предпочитают напрямую взаимодействовать с сахарами. Однако, несмотря на большое количество молекул трегалозы вблизи поверхности белка, для молекул воды также остается достаточно места и большая часть поверхности белка (около 70%) остается гидратированной.

Кластеры трегалозы значительно снижают подвижность соседних аминокислот лизоцима, за исключением нескольких аминокислот, расположенных близко к активному центру. При этом большая часть кластеров сосредоточена вокруг петель и менее структурированных элементов белка. Следовательно, это можно интерпретировать как то, что трегалоза оказывает наибольшее влияние на стабильность *третичной* структуры белка, а не на *вторичные* структурные элементы.

Заключительные три подраздела главы посвящены изучению взаимодействия белков с малыми молекулами-лигандами, выступающими в роли лекарственных препаратов.

Малые молекулы (лиганды) взаимодействуют (связываются) с белками и изменяют их биологическую функцию, иногда с желательными с медицинской точки зрения последствиями. Взаимодействие обычно описывается как химическая реакция между лигандом и белком, образующими комплекс лиганд-белок. Сила взаимодействия измеряется константой сродства, обратной равновесной константе диссоциации. Последняя представляет собой отношение констант скорости диссоциации (числа комплексов диссоциирующих на компоненты за единицу времени) к скорости ассоциации (обратного процесса). Таким образом, эффективность лиганда как кандидата в лекарственное средство определяется константами процессов связывания и диссоциации. Обе константы скорости можно измерить экспериментально, однако конкретные молекулярные механизмы лучше всего выявляются с помощью компьютерного моделирования. Современное оборудование и современные методы моделирования позволяют проводить реалистичное моделирование небольших белков в масштабах времени от сотен наносекунд до микросекунд, в течение которых происходят элементарные события ассоциации.

Значительные усилия были предприняты для расчета констант связывания с помощью моделирования Молекулярной Динамикой. Одной из самых сложных задач в этом исследовании является получение кинетики связывания непосредственно из моделирования, избегая использования термодинамических приближений, которые могли бы маскировать механизмы, определяющие скорости процессов. В дополнение к моделированию начальных (несвязанных) и конечных (связанных) состояний, важно проследить полный путь лиганда между состояниями, поскольку он может содержать этапы, ограничивающие скорость процесса.

Один из таких механизмов изменения скорости ассоциации связан с «диффузией» лиганда по поверхности белка. Хорошо известно, что диффузия лиганда на поверхности белка ускоряет поиск лигандом места связывания и, таким образом, облегчает связывание. В работе приведены результаты прямого моделирования систем DHFR-TMP и DHFR-BrWR (*дигидрофолатредуктаза микобактерии туберкулеза* в комплексе с ее кофактором NADPH, когда она связывается с триметопримом (TMP) или Br-WR9920 (BrWR), аналогом противомаларийного средства WR99210) в течение почти микросекунды с использованием полноатомной молекулярной динамики с атомистической водой. Этот белок является популярным объектом исследований антибактериальных агентов.

Было обнаружено, что лиганды притягиваются к поверхности белка. Однако притяжение недостаточно сильное, чтобы обездвижить лиганд, поэтому лиганд может перемещаться по поверхности прежде чем отсоединится, рис. 19. Таким образом, моделирование наглядно демонстрирует существование давно обсуждаемого канала реакции – неспецифического связывания с последующей поверхностной диффузией к месту связывания. Это – главный результат настоящей работы, подразумевающий ускорение процесса связывания. Кроме того, дана грубая оценка прочности неспецифического связывания, удерживающего лиганд на поверхности. Была использована модель Берга и Перселла, описывающая поиск места связывания на сфере с учетом диффузии на поверхности сферы. Оценки в рамках этой модели показывают, что связывание действительно достаточно сильное, чтобы существенно изменить скорость связывания.

Следующим объектом исследований было взаимодействие нескольких новых соединений, синтезированных нашими коллегами из Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета (вещества STR1-STR4, рис. 20), с альбумином (ЧСА). Показано, что расчетные методы дают результаты, количественно воспроизводящие экспериментальные значения. В качестве основного метода моделирования были использованы расчеты абсолютной свободной энергии связывания (ABFE) с использованием подхода ВАТ2 демонстрирующего высокую прогностическую точность с среднеквадратичным отклонением 1.0-1.5 ккал/моль.

Систематические названия синтезированных веществ STR1-STR4, соответственно, следующие (рис. 20):

- STR1: 2-амино-5-(4-(диметиламино)стирил)-7-метил[1,3,4]тиадиазоло[3,2-а]пиримидин-4-ия перхлорат;
- STR2: 2,7-диметил-5-(4-(диметиламино)стирил)-[1,3,4]тиадиазоло[3,2-а]пиримидин-4-ия перхлорат;
- STR3: 5-(4-(диметиламино)стирил)-7-метил-3-фенилтиазоло[3,2-а]пиримидин-4-ия перхлорат;
- STR4: 5-(4-(диметиламино)стирил)-7-метил-3-фенилтиазоло[3,2-а]пиримидин-4-ия перхлорат.

На рис. 21 представлена схема расположения веществ STR1-STR4 в сайтах связывания ЧСА по результатам начального докинга. Анализ результатов определения аффинности показал,

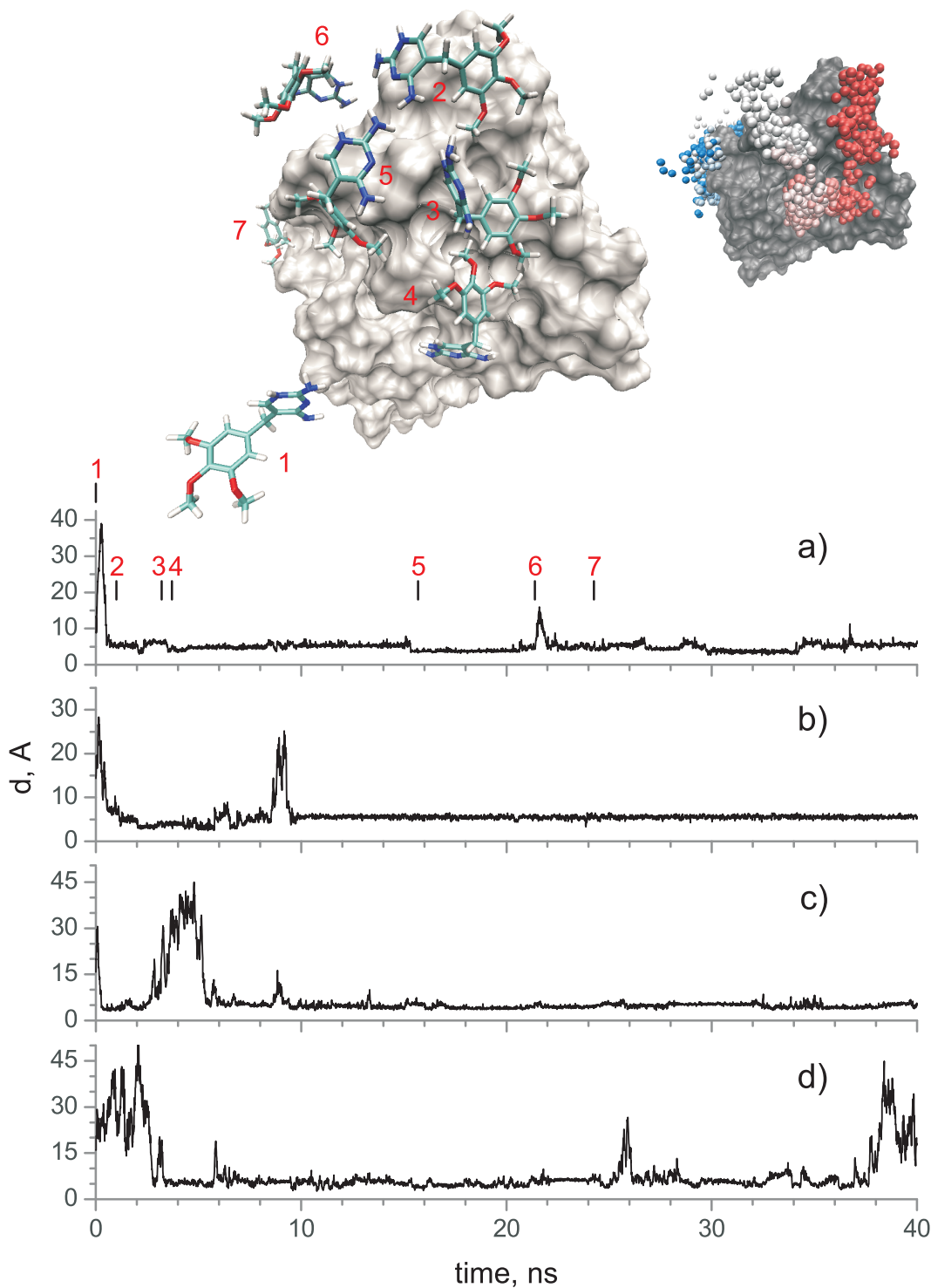


Рис. 19 — Расстояние d между центрами масс лиганда TMP (a, b, c) или BrWR (d) и ближайшим остатком белка; низкие, постоянные значения d соответствуют интервалам времени, когда лиганды находятся на поверхности (и между лигандом и поверхностью нет молекул воды), а значения выше ≈ 7 показывают диффузию лигандов в объеме; несколько репрезентативных положений лиганда TMP на поверхности (и, иногда, вне нее) показаны сверху, числа на графике времени (a), от 1 до 7, соответствуют положениям лиганда на поверхности; верхний правый рисунок показывает диффузию TMP на поверхности из положения 2 в положение 7, лиганд представлен в виде одного шара, постепенно меняющего свой цвет вдоль траектории от красного (положение 2) через белый (приблизительно положение 5) к синему (положение 7).

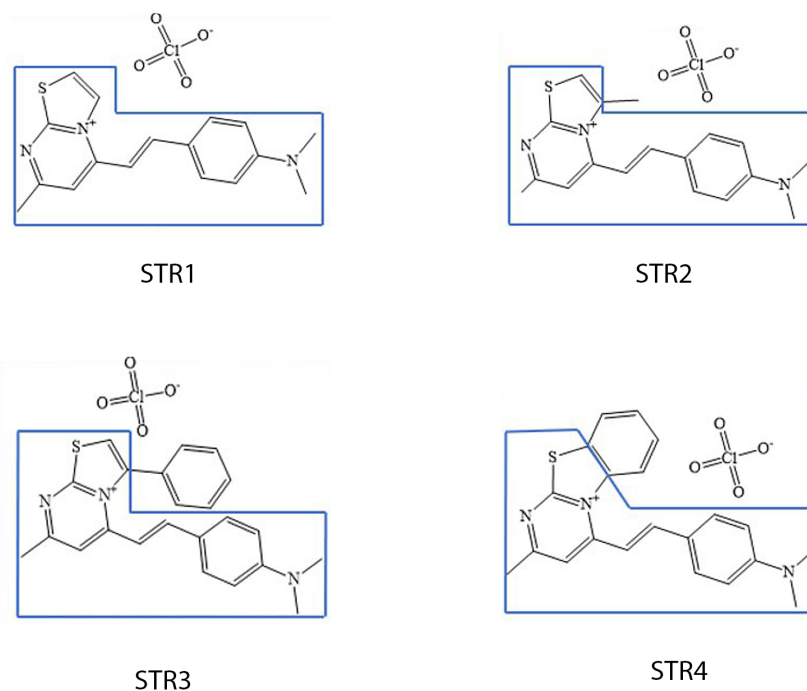


Рис. 20 — Структурные формулы веществ STR1-STR4, использованных в исследовании взаимодействия с альбумином.

что все вещества связываются с главным сайтом связывания (IIA) в белке. Это можно объяснить определённым расположением молекулы, что требует значительной деформации белка для десорбции данных соединений, а также наличием водородных связей между компонентами. Молекулы демонстрируют схожее поведение, за исключением соединения STR4, где не образовалось достаточно связей для удержания молекулы в сайте, что также подтвердилось отсутствием экспериментального значения для этого соединения. Расчетные значения свободной энергии связывания продемонстрировали хорошую корреляцию с экспериментальными данными калориметрического титрования, с расхождением в пределах 1–6 кДж/моль, что свидетельствует о высокой прогностической точности примененного вычислительного подхода.

Таким образом, установлено, что синтезированные производные тиазолопиримидина STR1-STR3 обладают высокой афинностью к ЧСА, что указывает на их значительный потенциал в качестве кандидатов для дальнейшей фармакокинетической оптимизации и доклинических исследований в качестве перспективных лекарственных препаратов. Комплексный подход, сочетающий вычислительные и экспериментальные методы, доказал свою эффективность для прогнозирования и анализа взаимодействий белок-лиганд.

Последний подраздел главы посвящен проблеме вычисления времени диссоциации лиганда из активного центра белка в том случае, когда взаимодействие белок-лиганд сильное, что типично для большинства лекарственных препаратов.

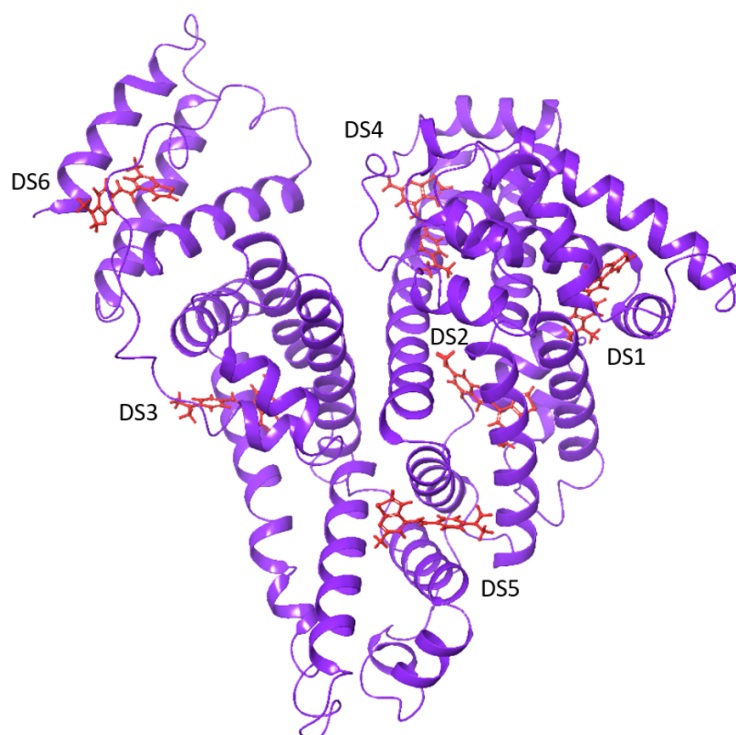


Рис. 21 — Расположение лигандов в сайтах связывания ЧСА, DS1 – IA, DS2 – IIA, DS3 – IIIA, DS4 – IB, DS5 – IIB, DS6 – IIIB.

Сродство соединения к связыванию, количественно определяемое константой диссоциации K_D , является ключевым свойством молекулы соединения для разработки лекарственных препаратов. K_D определяется как отношение констант скорости процессов диссоциации и ассоциации в системе белок-лиганд, $K_D = \frac{k_{\text{off}}}{k_{\text{on}}}$, где $k_{\text{off(он)}}$ — константа скорости диссоциации (ассоциации), а $\tau_{\text{off(он)}} = 1/k_{\text{off(он)}}$ — время диссоциации (ассоциации). Расчет скоростей ассоциации и диссоциации с использованием молекулярного моделирования является активной областью исследований. Более того, показано, что кинетические свойства, а не K_D , лучше коррелируют с экспериментальной эффективностью препарата.

Моделирование полноатомной молекулярной динамики в большинстве случаев не позволяет напрямую рассчитать кинетику ассоциации и диссоциации белок-лиганд, поскольку экспериментальные значения находятся в диапазоне времен порядка секунд, что на много порядков больше, чем доступные в настоящее время времена моделирования прямой МД. Это особенно актуально для времени диссоциации, поскольку оно намного больше времени ассоциации для потенциальных лекарств (что делает их хорошими кандидатами). Поэтому применяется ряд методов оценки скоростей диссоциации и выяснения механизмов диссоциации с использованием нано- и микросекундного моделирования. Несмотря на недавние успехи, рассчитанные скорости диссоциации воспроизводят экспериментальные значения «в пределах множителя 2-20», они «все еще намного меньше экспериментального значения» (на 2 порядка величины), или даже они соответствуют экспериментальным значениям с погрешностью «до 4 порядков».

Это несоответствие в последнее время является одной из основных трудностей, с которыми сталкивается подход МД к связыванию белка с лигандом; подчеркивается, что основным фактором, влияющим на столь большое несоответствие, является «экстраполяция методами моделирования для вывода долговременных характеристик».

В данной работе использован метод случайного ускорения МД (RAMD) в его варианте, называемом τ -RAMD для получения времен диссоциации лиганда изониазида, диссоциирующего от белка каталазы. Изониазид является основным препаратом для лечения туберкулеза, который воздействует на каталазу, жизненно важный белок для функционирования микобактерии туберкулеза. Идея метода заключается в приложении к лиганду небольшой силы f , сохраняя величину силы постоянной, но периодически и случайным образом изменяя ее направление с целью ускорения процесса отсоединения. Моделирование останавливается, когда лиганд достигает заданного расстояния от активного центра, в этот момент он считается диссоциированным и регистрируется время диссоциации. Этот подход в определенной степени аналогичен сопряжению пространственного разделения и скорости химической ассоциации/диссоциации но обеспечивает более простую реализацию, необходимую для полностью атомистического подхода МД. В результате τ -RAMD предоставляет набор времен диссоциации в зависимости от величины приложенной силы.

Зависимость полученных значений времени диссоциации τ от приложенной силы f на моль была приведена к линеаризованной форме путем последовательного дважды логарифмического преобразования, как показано на рис. 22. Очевидная линейность в зависимости от f подтверждает нашу теоретическую модель. Линейная аппроксимация этих значений

$$\ln(\ln(\tilde{\tau})) = \ln(\ln(\tilde{\tau}_0)) - \kappa f \quad (3)$$

дает искомое значение времени диссоциации τ_0 . Найденное экстраполированное значение τ_0 составляет 36.1 с, со статистически значимыми границами 0.2 и 72.0 с, что соответствует экспериментальному значению 50 ± 8 с количественно в пределах неопределенностей экстраполяции и эксперимента.

Таким образом, была применена методология τ -RAMD для получения вероятностей диссоциации лиганда от белка. Была также предложена теория для этих вероятностей, которая описывает их временную эволюцию в соответствии с двумя режимами: неэкспоненциальным для малых времен и стандартным экспоненциальным для больших времен. Были выявлены эти два режима в данных, полученных в результате моделирования. Наконец, была предложена модель, позволяющая экстраполировать полученные времена диссоциации на значение нулевой силы, количественно соответствующее экспериментально измеренному значению 50 секунд. Это контрастирует с оригинальным подходом τ -RAMD, в котором не предпринималось попыток такой экстраполяции. Важно отметить, что экстраполяция была выполнена на девять порядков величины τ , от наносекунд до секунд. Тем не менее, экстраполированное значение количественно

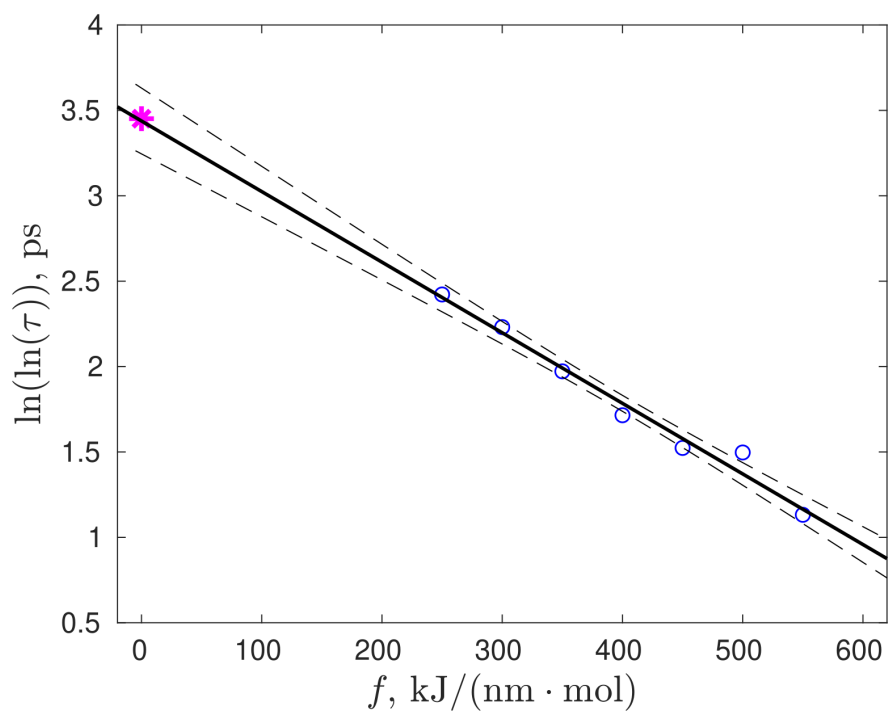


Рис. 22 — Последовательность времен диссоциации, определенная с помощью моделирования МД, линейаризованная с помощью преобразования координат как функции приложенных сил на моль (точки) и их линейной подгонки (сплошная линия); пунктирные кривые обозначают границы предсказания с уровнем достоверности, равным стандартному отклонению; звёздочкой отмечено экспериментальное значение.

воспроизводит экспериментальное, в отличие от большинства современных методов, описанных в литературе.

В **заключении** приведены основные выводы работы, которые заключаются в следующем:

1. Разработан теоретический подход для представления жидкого вещества с точки зрения атомистической классической молекулярной динамики и континуальной гидродинамики *одновременно*, обеспечивающий плавный переход одного представления в другое с изменением пространственного и временного масштабов, при этом соблюдаются фундаментальные физические законы сохранения на всех промежуточных масштабах.
2. Численное решение полученных уравнений движения реализовано в общеупотребительном пакете GROMACS с настройкой для вычислений на параллельных высокопроизводительных суперкомпьютерах. Разработанный код протестирован и валидирован с использованием наиболее производительных суперкомпьютеров, таких как K-computer, Sulis и другие.
3. В рамках разработанного подхода проведено моделирование ряда жидких систем, по мере усложнения: жидкий аргон, жидкая вода, водные растворы пептидов, белков и, наконец, целый вирусный капсид в физиологическом растворе. Рассчитаны физико-химические и биохимические характеристики систем и показано их соответствие как эталонным расчётным моделям, так и экспериментальным данным.
4. Проведено молекулярно-динамическое моделирование полноатомных моделей целых капсидов бактериофага MS2 и вируса PCV2. Исследованы биохимические и биофизические свойства этих систем, как то: распределение зарядов на капсиде и в растворе, показана ключевая роль растворённых ионов в стабильности вирусного капсида; динамика потоков ионов между капсидом и внешним раствором; биохимические механизмы самосборки вирусного капсида при определенном pH.
5. Изучена динамика молекулярных систем с точки зрения нелинейной динамики и теории сложности. Показаны особенности этой хаотической динамики и ее отличие от стохастического сигнала, наличие островов с “липкими” границами в фазовом пространстве соотнесено с квазипериодическими движениями молекул воды.
6. Применён подход “Computational Mechanics” к молекулярным траекториям и показан его потенциал в выявлении долговременных корреляций, значительно превышающих статистические корреляции рассчитанные стандартными методами. Выдвинуто предположение о связи этих долговременных корреляций с конформационными переходами в белках, потенциально приводящих к сворачиванию белка. Та же методология “Computational Mechanics” применена для выявления немарковского характера динамики конформационных переходов пептида в водном растворе, показана роль молекул воды в этом процессе.

7. Проведено моделирование нескольких систем белок-лиганд, где в качестве лиганда использовались малые молекул-модели лекарств. Рассчитанные биохимические и физико-химические характеристики систем, включая константы ассоциации и диссоциации максимально близко совпали с экспериментальными значениями.

Публикации по теме диссертации

1. *Bakumenko, M.* The Multiscale Hybrid Method with a Localized Constraint. II. Hybrid Equations of Motion Based on Variational Principles / M. Bakumenko, V. Bardik, V. Farafonov [и др.] // Ukrainian Journal of Physics. — 2024. — Т. 69, № 4. — С. 269. — DOI: 10.15407/ujpe69.4.269 (IF 0,8).
2. *Tariq, S. S.* Impact of mutations in SARS-CoV-2 recombinant sub-variant XBB.1.16 on the binding affinity with Human ACE2 receptor / S. S. Tariq, K. Zia, M. Nur-e-Alam [и др.] // Journal of Molecular Graphics and Modelling. — 2024. — С. 108813. — DOI: 10.1016/j.jmgm.2024.108813 (IF 3,15).
3. *Abdjan, M. I.* Exploring the mechanism of action of spirooxindoles as a class of CDK2 inhibitors: a structure-based computational approach / M. I. Abdjan, M. Shafiq, D. Nerukh [и др.] // Phys. Chem. Chem. Phys. — 2024. — advance article. — DOI: 10.1039/D4CP00844H (IF 2,87).
4. *Vodolazkaya, N.* Influence of various colloidal surfactants on the stability of MS2 bacteriophage suspension. The charge distribution on the PCV2 virus surface / N. Vodolazkaya, A. Laguta, V. Farafonov [и др.] // Journal of Molecular Liquids. — 2023. — Т. 387. — С. 122644. — DOI: 10.1016/j.molliq.2023.122644 (IF 5,69).
5. *Bakumenko, M.* The Multiscale Hybrid Method with a Localized Constraint. I. A Modified Control Volume Function for the Hybridized Mass and Momentum Equations / M. Bakumenko, V. Bardik, D. Nerukh // Ukrainian Journal of Physics. — 2023. — Т. 68, № 8. — С. 517. — DOI: 10.15407/ujpe68.8.517 (IF 0,59).
6. *Karabasov, S. A.* The nut-and-bolt motion of a bacteriophage sliding along a bacterial flagellum: a complete hydrodynamics model / S. A. Karabasov, M. A. Zaitsev, D. A. Nerukh // Scientific Reports. — 2023. — Т. 13, № 1. — С. 9077. — DOI: 10.1038/s41598-023-36186-1 (IF 4,6).
7. *Farafonov, V. S.* Estimation of Nanoparticle's Surface Electrostatic Potential in Solution Using Acid-Base Molecular Probes I: In Silico Implementation for Surfactant Micelles / V. S. Farafonov, A. V. Lebed, D. A. Nerukh [и др.] // The Journal of Physical Chemistry B. — 2023. — Т. 126, № 4. — С. 1022—1030. — DOI: 10.1021/acs.jpcc.2c07012 (IF 2,77).

8. *Farafonov, V. S.* Complete Virion Simulated: All-Atom Model of an MS2 Bacteriophage with Native Genome / V. S. Farafonov, M. Stich, D. A. Nerukh // *Journal of Chemical Theory and Computation*. — 2023. — Т. 19, № 21. — С. 7924—7933. — DOI: 10.1021/acs.jctc.3c00846 (IF 5, 77).
9. *Vodolazkaya, N.* Estimation of Nanoparticle's Surface Electrostatic Potential in Solution Using Acid-Base Molecular Probes. III. Experimental Hydrophobicity/Hydrophilicity and Charge Distribution of MS2 Virus Surface / N. Vodolazkaya, M. Nikolskaya, A. Laguta [и др.] // *The Journal of Physical Chemistry B*. — 2022. — Т. 126, № 41. — С. 8166—8176. — DOI: 10.1021/acs.jpcc.2c04491 (IF 2,77).
10. *Farafonov, V. S.* Reconstruction and validation of entire virus model with complete genome from mixed resolution cryo-EM density / V. S. Farafonov, M. Stich, D. Nerukh // *Faraday Discuss.* — 2022. — Т. 240, вып. 0. — С. 152—167. — DOI: 10.1039/D2FD00053A (IF 3,46).
11. *Tarasova, E.* Constant pH molecular dynamics of porcine circovirus 2 capsid protein reveals a mechanism for capsid assembly / E. Tarasova, N. Okimoto, S. Feng [и др.] // *Physical Chemistry Chemical Physics*. — 2021. — Т. 23, № 43. — С. 24617—24626. — DOI: 10.1039/d1cp02874j (IF 3,45).
12. *Maximova, E.* Protein-Ligand Dissociation Rate Constant from All-Atom Simulation / E. Maximova, E. B. Postnikov, A. I. Lavrova [и др.] // *The Journal of Physical Chemistry Letters*. — 2021. — Т. 12, № 43. — С. 10631—10636. — DOI: 10.1021/acs.jpcclett.1c02952 (IF 6, 48).
13. *Qaiser, H.* Structural insight into TNF- α inhibitors through combining pharmacophore-based virtual screening and molecular dynamic simulation / H. Qaiser, M. Saeed, D. Nerukh [и др.] // *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. — 2020. — Т. 39, № 16. — С. 5920—5939. — DOI: 10.1080/07391102.2020.1796794 (IF 3,31).
14. *Tarasova, E.* All-Atom Molecular Dynamics Simulations of Whole Viruses / E. Tarasova, D. Nerukh // *The Journal of Physical Chemistry Letters*. — 2018. — Т. 9. — С. 5805—5809. — DOI: 10.1021/acs.jpcclett.8b02298 (IF 7,33).
15. *Tarasova, E.* Details of charge distribution in stable viral capsid / E. Tarasova, V. Farafonov, M. Taiji [и др.] // *Journal of Molecular Liquids*. — 2018. — Т. 265. — С. 585—591. — DOI: 0.1016/j.molliq.2018.06.019 (IF 4,51).
16. *Tarasova, E.* Complete virus capsid at all-atom resolution: Simulations using molecular dynamics and hybrid molecular dynamics/hydrodynamics methods reveal semipermeable membrane function / E. Tarasova, I. Korotkin, V. Farafonov [и др.] // *Journal of Molecular Liquids*. — 2017. — Т. 245, Supplement C. — С. 109—114. — DOI: 10.1016/j.molliq.2017.06.124 (IF 4,51).

17. *Atamas, N.* The effect of water dynamics on conformation changes of albumin in pre-denaturation state: photon correlation spectroscopy and simulation / N. Atamas, V. Bardik, A. Bannikova [и др.] // *Journal of Molecular Liquids*. — 2017. — Т. 235. — С. 17–23. — DOI: 0.1016/j.molliq.2017.01.017 (IF 4,51).
18. *Tarasova, E.* All-Atom Molecular Dynamics Simulations of Entire Virus Capsid Reveal the Role of Ion Distribution in Capsid's Stability / E. Tarasova, V. Farafonov, R. Khayat [и др.] // *The Journal of Physical Chemistry Letters*. — 2017. — Т. 8, № 4. — С. 779–784. — DOI: 10.1021/acs.jpcllett.6b02759 (IF 8,71).
19. *Scukins, A.* Multiscale Molecular Dynamics/Hydrodynamics implementation of two dimensional 'Mercedes Benz' water model / A. Scukins, D. Nerukh, E. Pavlov [и др.] // *European Physical Journal E*. — 2015. — Т. 224, № 12. — С. 2217–2238. — DOI: 10.1140/epjst/e2015-02409-8 (IF 1,99).
20. *Scukins, A.* Molecular Dynamics implementation of BN2D or 'Mercedes Benz' water model / A. Scukins, V. Bardik, E. Pavlov [и др.] // *Computer Physics Communications*. — 2015. — Т. 190. — С. 129–138. — DOI: 10.1016/j.cpc.2014.12.019 (IF 3,09).
21. *Korotkin, I.* A Hybrid Molecular Dynamics/Fluctuating Hydrodynamics Method for Modelling Liquids at Multiple Scales in Space and Time / I. Korotkin, S. Karabasov, D. Nerukh [и др.] // *The Journal of Chemical Physics*. — 2015. — Т. 143. — С. 014110. — DOI: 10.1063/1.4923011 (IF 2,96).
22. *Markesteijn, A.* Concurrent multiscale modelling of atomistic and hydrodynamic processes in liquids / A. Markesteijn, S. Karabasov, A. Scukins [и др.] // *Phil. Trans. R. Soc.* — 2014. — Т. A 372, № 2021. — С. 20130379. — DOI: 10.1098/rsta.2013.0379 (IF 2,77).
23. *Pavlov, E.* Visualising and controlling the flows in biomolecular systems at and between multiple scales: from atoms to hydrodynamics at different locations in time and space / E. Pavlov, M. Taiji, A. Scukins [и др.] // *Faraday Discussions*. — 2014. — Т. 169, № 1. — С. 285–302. — DOI: 10.1039/c3fd00159h (IF 3,46).
24. *Karabasov, S.* Multiscale modelling: approaches and challenges / S. Karabasov, D. Nerukh, A. Hoekstra [и др.] // *Phil. Trans. R. Soc.* — 2014. — Т. A 372. — С. 20130390. — DOI: 10.1098/rsta.2013.0390 (IF 2,77).
25. *Nerukh, D.* Water-Peptide Dynamics during Conformational Transitions / D. Nerukh, S. Karabasov // *The Journal of Physical Chemistry Letters*. — 2013. — Т. 4, № 5. — С. 815–819. — DOI: 10.1021/jz400051p (IF 6,7).

26. *Bardik, V.* Free energy functional expansion as the generalized approach to the equation of state of dense fluids / V. Bardik, D. Nerukh, E. Pavlov [и др.] // Ukrainian Journal of Physics. — 2012. — Т. 57, № 6. — С. 612—618. — DOI: 10.15407/ujpe57.6.612 (IF 0,44).
27. *Nerukh, D.* Ligand Diffusion on Protein Surface Observed in Molecular Dynamics Simulation / D. Nerukh, N. Okimoto, A. Suenaga [и др.] // The Journal of Physical Chemistry Letters. — 2012. — Т. 3, № 23. — С. 3476—3479. — DOI: 10.1021/jz301635h (IF 6,48).
28. *Nerukh, D.* Non-Markov state model of peptide dynamics / D. Nerukh // Journal of Molecular Liquids. — 2012. — Т. 176. — С. 65—70. — DOI: 10.1016/j.molliq.2012.06.011 (IF 2,14).
29. *Bardik, V.* Equation of state for water in the small compressibility region / V. Bardik, D. Nerukh, E. Pavlov [и др.] // Ukrainian Journal of Physics. — 2012. — Т. 57, № 1. — С. 49—53.
30. *Bardik, V.* Light scattering study of human serum albumin in pre-denaturation: Relation to dynamic transition in water at 42C / V. Bardik, V. Gotsulskii, E. Pavlov [и др.] // Journal of Molecular Liquids. — 2012. — Т. 176. — С. 60—64. — DOI: 10.1016/j.molliq.2012.09.012 (IF 2,14).
31. *Ryabov, V.* Computational mechanics of molecular systems: Quantifying high-dimensional dynamics by distribution of Poincare recurrence times / V. Ryabov, D. Nerukh // Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science. — 2011. — Т. 21, № 3. — С. 037113. — DOI: 10.1063/1.3608125 (IF 2,05).
32. *Ryabov, V.* Quantifying long time memory in phase space trajectories of molecular liquids / V. Ryabov, D. Nerukh // Journal of Molecular Liquids. — 2011. — Т. 159, № 1. — С. 99—104. — DOI: 0.1016/j.molliq.2010.11.016 (IF 2,14).
33. *Fedorov, M. V.* Self-assembly of trehalose molecules on a lysozyme surface: the broken glass hypothesis / M. V. Fedorov, J. M. Goodman, D. Nerukh [и др.] // Physical Chemistry Chemical Physics. — 2011. — Т. 13, вып. 6. — С. 2294—2299. — DOI: 10.1039/C0CP01705A (IF 3,57).
34. *Nerukh, D.* Identifying and correcting non-Markov states in peptide conformational dynamics / D. Nerukh, C. H. Jensen, R. C. Glen // The Journal of Chemical Physics. — 2010. — Т. 132, № 8. — С. 084104. — DOI: 10.1063/1.3328781 (IF 3,09).
35. *Ruzhytska, S.* Identification of metastable states in peptide's dynamics / S. Ruzhytska, M. N. Jacobi, C. H. Jensen [и др.] // The Journal of Chemical Physics. — 2010. — Т. 133, № 16. — С. 164102. — DOI: 10.1063/1.3493333 (IF 3,09).
36. *Nerukh, D.* Dynamical frustration of protein's environment at the nanoseconds time scale / D. Nerukh // Journal of Molecular Liquids. — 2009. — Т. 145, № 3. — С. 139—144. — DOI: 0.1016/j.molliq.2008.06.012 (IF 1,44).

37. *Nerukh, D.* 21-residue peptide's dynamics at and between elementary structural transitions / D. Nerukh, M. Taiji // *Journal of Molecular Liquids*. — 2009. — T. 147, № 1/2. — C. 124—127. — DOI: 10.1016/j.molliq.2008.10.015 (IF 3,52).
38. *Nerukh, D.* Molecular phase space transport in water: Non-stationary random walk model / D. Nerukh, V. Ryabov, M. Taiji // *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*. — 2009. — T. 388, № 22. — C. 4719—4726. — DOI: 10.1016/j.physa.2009.07.041 (IF 1,55).
39. *Nerukh, D.* Molecular phase space transport in water: Non-stationary random walk model / D. Nerukh, V. Ryabov, M. Taiji // *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*. — 2009. — T. 388, № 22. — C. 4719—4726. — DOI: 10.1016/j.physa.2009.07.041 (IF 1,55).
40. *Jensen, C. H.* Sensitivity of peptide conformational dynamics on clustering of a classical molecular dynamics trajectory / C. H. Jensen, D. Nerukh, R. C. Glen // *The Journal of Chemical Physics*. — 2008. — T. 128, № 11. — C. 115107. — DOI: 10.1063/1.2838980 (IF 3,15).
41. *Jensen, C. H.* Controlling protein molecular dynamics: How to accelerate folding while preserving the native state / C. H. Jensen, D. Nerukh, R. C. Glen // *The Journal of Chemical Physics*. — 2008. — T. 129, № 22. — C. 225102. — DOI: 10.1063/1.3025888 (IF 3,15).
42. *Nerukh, D.* Computational mechanics reveals nanosecond time correlations in molecular dynamics of liquid systems / D. Nerukh // *Chemical Physics Letters*. — 2008. — T. 457, № 4—6. — C. 439—443. — DOI: 10.1016/j.cplett.2008.04.043 (IF 2,16).
43. *Nerukh, D.* Complex Temporal Patterns in Molecular Dynamics: a Direct Measure of the Phase Space Exploration by the Trajectory at Macroscopic Time Scales / D. Nerukh, V. Ryabov, R. C. Glen // *Phys. Rev. E*. — 2008. — T. 77. — C. 036225. — DOI: 10.1103/PhysRevE.77.036225 (IF 2,56).
44. *Luzanov, A.* Simple One-electron Invariants of Molecular Chirality / A. Luzanov, D. Nerukh // *Journal of Mathematical Chemistry*. — 2007. — T. 41, № 4. — C. 417—435. — DOI: 10.1007/s10910-006-9087-8 (IF 1,25).
45. *Karvounis, G.* Water network dynamics at the critical moment of a peptide's beta-turn formation: A molecular dynamics study / G. Karvounis, D. Nerukh, R. C. Glen // *The Journal of Chemical Physics*. — 2004. — T. 121, № 10. — C. 4925—4935. — DOI: 10.1063/1.1780152 (IF 3,04).
46. *Nerukh, D.* Quantifying the complexity of chaos in multibasin multidimensional dynamics of molecular systems / D. Nerukh, G. Karvounis, R. Glen // *Complexity*. — 2004. — T. 10, вып. 2, № 2. — C. 40—46. — DOI: 10.1002/cplx.20055 (IF 1,17).
47. *Nerukh, D.* Complexity of classical dynamics of molecular systems. I. Methodology / D. Nerukh, G. Karvounis, R. C. Glen // *The Journal of Chemical Physics*. — 2002. — T. 117, № 21. — C. 9611—9617. — DOI: 10.1063/1.1518010 (IF 3,08).

48. *Nerukh, D.* Complexity of classical dynamics of molecular systems. II. Finite statistical complexity of a water–Na⁺ system / D. Nerukh, G. Karvounis, R. C. Glen // *The Journal of Chemical Physics*. — 2002. — Т. 117, № 21. — С. 9618–9622. — DOI: 10.1063/1.1518011 (IF 3,08).
49. *Tarasova, E.* Molecular dynamics study of the role of ions in maintaining virus capsid stability / E. Tarasova, V. Farafonov, D. Nerukh // *Ensemble*. — 2019. — Т. 21, № 1. — С. 50–54. — DOI: <https://doi.org/10.11436/mssj.21.50>.
50. *Atamas, N.* Water dynamics and stability of major blood proteins at pre-denaturation stage / N. Atamas, V. Bardik, O. Grishina [и др.] // *Atti della Accademia Peloritana dei Pericolanti – Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali*. — 2019. — Т. 97, S2. — A16. — DOI: 10.1478/AAPP.97S2A16.
51. *Farafonov, V. S.* MS2 bacteriophage capsid studied using all-atom molecular dynamics / V. S. Farafonov, D. Nerukh // *Interface Focus*. — 2019. — Т. 9, № 3. — С. 20180081. — DOI: 10.1098/rsfs.2018.0081 (IF 2,58).
52. *Zhuravlova, Z. Y.* On stress state of the PCV2 virus / Z. Y. Zhuravlova, D. A. Nerukh, V. V. Reut [и др.] // *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv Series: Physics & Mathematics*. — 2017. — Т. 3. — С. 59–61.
53. *Zhuravlova, Z.* Investigation of idealized virus capsid model with the dynamic elasticity apparatus / Z. Zhuravlova, D. Nerukh, V. Reut [и др.] // *Journal of Mathematical Sciences*. — 2017. — Т. 60, № 2. — С. 92–104.
54. *Korotkin, I.* Two-phase flow analogy as an effective boundary condition for modelling liquids at atomistic resolution / I. Korotkin, D. Nerukh, E. Tarasova [и др.] // *Journal of Computational Science*. — 2016. — Т. 17. — С. 446–456. — DOI: 10.1016/j.jocs.2016.03.012 (IF 1,67).
55. *Ryabov, V.* Statistical complexity of low and high dimensional systems / V. Ryabov, D. Nerukh // *Journal of Atomic, Molecular, and Optical Physics*. — 2012. — Т. 2012. — С. 589651. — DOI: doi:10.1155/2012/589651.
56. *Nerukh, D.* Computational Mechanics of Molecular Systems / D. Nerukh, V. Ryabov // *Computational Mechanics Research Trends* / под ред. H. P. Berger. — Nova Science Publishers, 2010. — С. 219–247. — (Computer Science, Technology and Applications).
57. *Nerukh, D.* Why are MD simulated protein folding times wrong? / D. Nerukh // *Advances in Computational Biology*. Т. 680 / под ред. H. R. Arabnia. — Springer, 2010. — (Advances in Experimental Medicine and Biology).

58. *Nerukh, D.* Dynamic Complexity of Chaotic Transitions in High-Dimensional Classical Dynamics: Leu-Enkephalin Folding / D. Nerukh, G. Karvounis, R. C. Glen // Computational Life Sciences II. Т. 4216 / под ред. M. R. Berthold, R. C. Glen, I. Fischer. — Springer Berlin Heidelberg, 2006. — С. 129—140. — (Lecture Notes in Computer Science). — DOI: 10.1007/11875741_13.
59. *Luzanov, A.* Complexity and chirality indices for molecular informatics: differential geometry approach / A. Luzanov, D. Nerukh // Functional materials. — 2005. — Т. 12, № 1. — С. 55—64.

Список сокращений и условных обозначений

МД – Молекулярная Динамика

LL-FH – флуктуационная гидродинамика Ландау-Лифшица

НС – уравнения гидродинамики Навье-Стокса

FH – флуктуационная гидродинамика

МВ – модель воды Мерседес-Бенц

VACF – корреляционная функция скорости

MS2 – бактериофаг MS2

PCV2 – вирус PCV2

EOS – уравнение состояния

RDF – радиальная функция распределения

RMSD – среднеквадратичное отклонение

RMSF – среднеквадратичные флуктуации

Нерух Дмитрий Александрович (Великобритания)

Сложная динамика больших биомолекулярных систем в водных растворах

Настоящая диссертация посвящена теоретическому и компьютерному исследованию больших молекулярных систем в жидких растворах. Целью исследования являлось моделирование и изучение биохимических и биофизических свойств таких биомолекулярных объектов, как вирусы, белки и процессы взаимодействия их с водной средой и малыми молекулами, имеющими биологическое значение, например, кандидатами в лекарственные препараты. Была разработана оригинальная методология, позволяющая моделировать подобные объекты одновременно на нескольких временных и пространственных масштабах. Методология совмещает в себе атомистическое и гидродинамическое описание среды и позволяет моделировать биологический объект с атомистическим разрешением, в то же время описывая водный раствор, используя значительно более экономное гидродинамическое описание. Это позволило произвести моделирование целых вирусов, таких как MS2 и PCV2, в реалистичном водном окружении. Также получены биохимические характеристики процессов ассоциации малых лигандов с несколькими белками, при этом значения полученных величин количественно совпали с экспериментально измеренными значениями.

Nerukh Dmitry (United Kingdom)

Complex dynamics of large biomolecular systems in aqueous solutions

The thesis is devoted to theoretical and computational investigation of large molecular systems in liquid solutions. The goal of the investigation was obtaining biochemical and biophysical properties of such biomolecular objects as viruses, proteins, and processes of their interaction with aqueous environment and small molecules having biological importance, for example, drug candidates. An original methodology was developed that allows modelling such object at several temporal and spatial scales simultaneously. The methodology combines atomistic and hydrodynamic description of the medium and allows modelling the biological object at atomistic resolution, at the same time representing the aqueous solution using much more economical hydrodynamic description. This allowed to perform modelling of entire viruses, such as MS2 and PCV2, in realistic aqueous environment. Also, biochemical characteristics of association processes of small ligands with several proteins were obtained and quantitative match with experimentally measured values was achieved.

Нерух Дмитрий Александрович

Сложная динамика больших биомолекулярных систем в водных растворах

Автореф. дис. на соискание ученой степени д. б. н.

Подписано в печать ____ . ____ . ____ . Заказ № _____

Формат 60×90/16. Усл. печ. л. 1. Тираж 100 экз.

Типография _____