

ПОСТРОЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ ТЕЛОМЕРАЗЫ ЧЕЛОВЕКА

Н. М. Тев

Белорусский государственный университет, г. Минск;

tev.forwork@gmail.com;

науч. рук. – А. М. Андрианов, д-р хим. наук, проф.

Теломеры – это концевые некодирующие участки ДНК, выполняющие защитную функцию и не допускающие деградации и слияния концов хромосом. В процессе деления клетки ДНК-полимераза не способна обеспечить полную репликацию концов хромосом, поэтому при каждом делении длина теломер сокращается. В конечном итоге длина теломер становится меньше некоторой определенной критической величины, что приводит к старению клетки и её гибели.

Для поддержания длины теломер служит специальный фермент – теломераза. На сегодняшний день не существует точной модели пространственной структуры теломеразы человека. При этом задача построения подобной модели имеет большое значение в связи с тем, что данный фермент является перспективной мишенью для разработки противоопухолевых препаратов.

В настоящей работе проведено гомологичное моделирование пространственной структуры каталитического фрагмента (TERT) теломеразы человека, осуществляющего обратную транскрипцию. В качестве исходных данных для гомологичного моделирования была использована пространственная структура теломеразы красного мучного жука *Tribolium castaneum*. Построена и проанализирована молекулярно-динамическая траектория, моделирующая поведение данной структуры во времени. На основе молекулярно-динамической траектории проведена дополнительная оптимизация модели с использованием методов квантовой химии.

Полученная в результате работы модель пространственной структуры теломеразы может быть использована в других исследованиях как исходная точка для дальнейшего анализа, а также с целью поиска ингибиторов теломеразы, как потенциальных лекарственных препаратов с широким спектром противоопухолевого действия.

Ключевые слова: рак, противоопухолевые препараты, теломераза, гомологичное моделирование, молекулярная динамика, квантовая химия.

ПОСТРОЕНИЕ МОДЕЛИ ТЕЛОМЕРАЗЫ ПО ГОМОЛОГИИ

Мутационный механизм молекулярной эволюции приводит к появлению семейств родственных белков, имеющих похожие аминокислотные последовательности и трехмерные структуры. Такие белки называются гомологичными. На этом факте основан один из теоретических подходов к моделированию пространственной структуры белков – моделирование

по гомологии [1]. В рамках данного подхода строится выравнивание аминокислотных последовательностей моделируемого белка и родственного белка-шаблона, а затем с помощью построенного выравнивания последовательность моделируемого белка просто переносится на пространственную структуру шаблона.

В качестве белков-шаблонов использовалась структура каталитической субъединицы теломеразы мучного жука *Tribolium castaneum* (код *pdb*: 5c9g) и единственный экспериментально разрешенный фрагмент теломеразы человека – домен СТЕ (код *pdb*: 5ugw). Аминокислотные последовательности каталитических субъединиц у жука и человека значительно различаются (подобие составляет всего 22,2%), поэтому при осуществлении автоматического гомологичного моделирования с помощью веб-сервиса SWISS-MODEL [2] использовали шаблон СТЕ-домен теломеразы человека. Остальные аминокислотные остатки заменялись вручную на соответствующие аминокислоты теломеразы человека в молекулярном редакторе «USCF Chimera». Для осуществления подобной замены было использовано выравнивание, полученное ранее в другой работе по исследованию теломеразы человека [3]. Аминокислотные остатки ТЕРТ жука, не имеющие своих аналогов в структуре теломеразы человека, и наоборот, исключались из целевой полипептидной цепи.

В результате была получена структура, полностью повторяющая пространственное строение каталитической субъединицы *Tribolium castaneum*, однако с аминокислотной последовательностью, максимально приближенной к последовательности теломеразы человека.

МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

Белки и их комплексы допускают множество конформаций, с которыми связаны их биологические функции. Для всестороннего анализа конформационных переходов были разработаны методы молекулярной динамики. Основная идея, лежащая в основе этих методов – предсказание поведения каждого отдельного атома системы как функции от времени. Для моделирования динамики системы создаются условия, в которых модель белка помещается в растворитель (обычно в роли растворителя выступает вода). После этого на основе силовых полей рассчитываются скорости и направления движения атомов системы, и атомы сдвигаются в рассчитанных направлениях в течение очень короткого промежутка времени (порядка 10-15 пс) [4]. Затем те же действия повторяются уже с учетом нового положения атомов. Совокупность координат атомов системы на каждом шаге молекулярной динамики формирует так называемую траекторию системы, непосредственно описывающую поведение системы на

заданном временном промежутке. Состояние системы на отдельном шаге называется фреймом траектории.

Для моделирования молекулярной динамики в данной работе использовался программный пакет AMBER. С его помощью был выполнен расчет топологии системы, описывающей типы атомов, связи между ними и силовые поля. После расчета топологии была проведена начальная подготовка системы. Данный этап включает в себя построение ячейки с растворителем и ионами, куда помещается моделируемая структура, минимизацию энергии молекулы, нагрев системы, стабилизацию плотности растворителя и уравнивание системы в заданных условиях. Результатом подготовки является начальная конформация системы, которая представляет собой стартовую точку для полноценного моделирования молекулярной динамики.

С помощью средств пакета AMBER была получена траектория, моделирующая поведение построенной ранее модели теломеразы на временном промежутке длиной 200нс. С целью оценки стабильности пространственного строения модели был построен график зависимости среднеквадратичного отклонения (RMSD) от времени относительно исходного состояния структуры (рис. 1). Из него видно, что среднеквадратичное отклонение на протяжении всей траектории не превышает 7Å , что говорит о стабильности пространственной структуры модели.

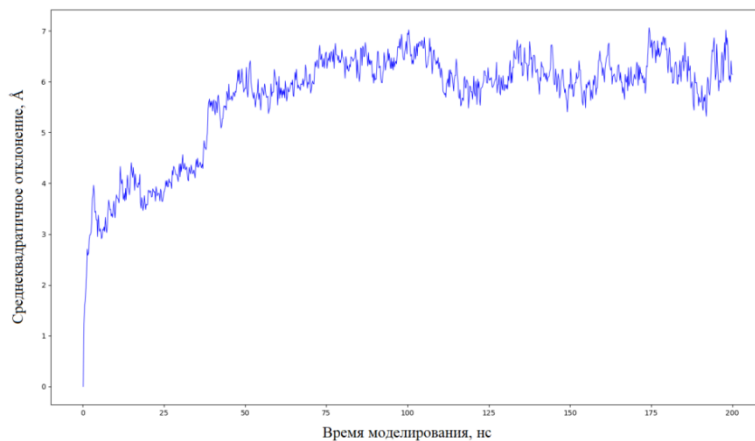


Рис. 1. Зависимость среднеквадратичного отклонения (RMSD) от времени относительно исходного состояния структуры

ОПТИМИЗАЦИЯ МОДЕЛИ МЕТОДАМИ КВАНТОВОЙ ХИМИИ

График зависимости потенциальной энергии молекулы от ее геометрических параметров представляет собой некоторую поверхность в многомерном пространстве. Конформации, соответствующие локальным энерге-

тическим минимумам на этой поверхности называются конформерами. Такие конформации представляют особый интерес для исследования, потому что являются наиболее стабильными состояниями молекулы.

Полученная в результате молекулярно-динамического моделирования траектория может содержать одновременно несколько конформаций молекулы, лежащих в областях, соответствующих различным локальным энергетическим минимумам и поэтому является хорошей основой для поиска конформеров. Для того чтобы выделить наиболее характерные конформации белка с целью их дальнейшей оптимизации, все фреймы траектории были разделены на 30 групп с помощью метода k-средних (k-means). Подобная кластеризация предполагает, что в каждой группе конформации в большей мере схожи друг с другом, чем с конформациями из других групп. Для каждой группы был выбран наиболее типичный ее представитель, в результате чего было получено 30 конформаций, соответствующих различным вариантам пространственной структуры теломеразы.

С целью получения оптимальных устойчивых состояний полученные конформации были подвергнуты процедуре минимизации энергии. Для этого были использованы методы квантовой химии, позволяющие достигнуть очень точности в решении подобных задач. В частности, для проведения квантово-химических расчетов использовался функционал пакета МОРАС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итоговой моделью пространственной структуры каталитической субъединицы теломеразы человека, полученной в данной работе, является конформация, которая по результатам оптимизации показала лучшее значение потенциальной энергии. Данная модель может быть использована для дальнейших структурных исследований каталитической субъединицы теломеразы человека, а также для поиска ингибиторов теломеразы человека, как потенциальных лекарственных препаратов с широким спектром противоопухолевого действия.

Библиографические ссылки

1. Хельтве Х.-Д. Молекулярное моделирование: теория и практика. Москва: БИНОМ, 2013.
2. Waterhouse A., Bertoni M., Bienert S. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes // *Nucleic Acids Res.* 2018. Т. 46. С. 296–303.
3. Nguyen T.H.D. Cryo-EM structure of substrate-bound human telomerase holoenzyme // *Nature.* 2018. Т. 557. С. 190–195.
4. Singh, D.B. *Computer-Aided Drug Design.* / Singapore: Springer, 2020.