

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИНАМИКА САМООРГАНИЗАЦИИ И РЕОЛОГИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ СУПЕРСПИРАЛЬНОЙ СТРУКТУРЫ ПРОТОФИБРИЛЛЫ ВОЛОКНА ПАУТИНЫ

© 2015 г. К.В. Шайтан, И.А. Оршанский

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы

E-mail: shaytan49@yandex.ru

Поступила в редакцию 15.05.15 г.

Предложена динамическая модель формирования протофибриллы нановолокна паутины. Показано, что стопка параллельных поли-L-аланиновых β -нитей достаточной длины самоорганизуется в устойчивую правую суперспираль. Методами численного эксперимента изучены реологические свойства и дано нелинейное обобщение модели Зинера для описания реологии суперспирали.

Ключевые слова: паутина, структура протофибриллы, молекулярная динамика.

В последние годы значительно возрос интерес к нановолокнам белковой природы, в частности паутины, который связан как с уникальными прочностными характеристиками данного волокна, так и с практически полной его биосовместимостью [1,2]. Создание искусственных волокон паутины с использованием рекомбинантных белков спидроинов обещает серьезные прорывы в ряде направлений биомедицины и техники [3]. Однако до сих пор остается много неясного в механизме формирования паутинного волокна и влияния аминокислотного состава спидроинов на его уникальные механические свойства [4,5]. В аминокислотной последовательности спидроинов представлены достаточно протяженные полиаланиновые участки, которые чередуются с участками, богатыми глицином. Последние, как считается, формируют клубковые структуры, ответственные за эластичность волокон. Что касается протяженных полиаланиновых участков, то их роль требует более детального рассмотрения. Ранее, в работах Уинклера и др. [1] было показано, что белок паутинного волокна находится преимущественно в конформации β -листа. В данной конформации отдельные его молекулы формируют длинные паутинные волокна. Ниже исследуются процессы самоорганизации в стопке полиаланиновых пептидов, моделирующих соответствующие участки спидроина. Учитывая, что паутина является достаточно новым объектом для материаловедения, представляет интерес динамика растяжения образующихся структур и сравнение получаемых реологических характеристик модели протово-

локна паутины с данными для хорошо известных объектов, например резины. С другой стороны, молекулярная динамика самоорганизации макромолекулярных структур представляет и самостоятельный интерес [6]. Так, недавно было обнаружено, что имеются некоторые геометрические закономерности в виде соотношения между длиной химической связи в мономерных звеньях и их ван-дер-ваальсовым размером, которые приводят к возможности формирования спиральных укладок определенного типа, подобных укладкам в биополимерных структурах [7]. С этой точки зрения, формирование суперспиральных элементов из фрагментов спиралей может оказаться вполне естественным способом самоорганизации полипептидных структур в направлении формирования прочных волокон.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для молекулярно-динамических расчетов использовали программный пакет Gromacs 3.3 [8], силовое поле OPLS-AA [9]. Для равномерного распределения энергии по степеням свободы [10,11] в качестве термостата применялась стохастическая динамика [12]. В экспериментах по растяжению пептидного комплекса к пептидам прикладывалась внешняя сила величиной от 1 до 100 ккал/(моль·Å). Длина траектории во всех экспериментах составляла 10 нс, радиус обрезания для ван-дер-ваальсового и кулоновского взаимодействий составлял 20 Å.

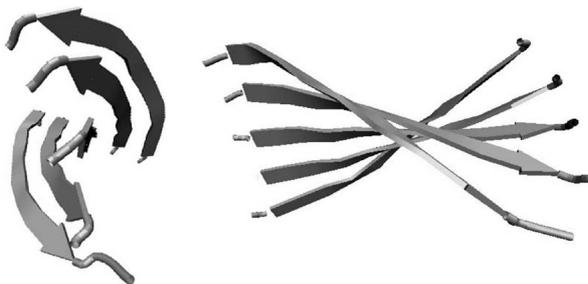


Рис. 1. Спиральная структура, сформированная комплексом из пяти полиаланиновых β -нитей длиной в 12 аминокислотных остатков.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Молекулярная динамика пептидных комплексов. Полноатомным динамическим моделированием было показано, что стопки, состоящие минимум из пяти параллельных полиаланиновых β -нитей, обеспечивают формирование достаточного числа водородных связей между молекулами, что способствует стабилизации структуры. При этом надмолекулярные комплексы формируют устойчивую правую суперспираль (рис. 1.), которая явно выражена на пептидах длиной более восьми аминокислотных остатков.

При конденсации параллельных β -нитей происходит стабилизация структуры, причем β -нити образуют правую суперспираль. Формирование именно правой суперспирали обусловлено тем, что в состав белков входят L-аминокислоты. Отметим, что в случае использования при моделировании структур D-аминокислот происходит формирование левой суперспирали.

Выраженность суперспиральной структуры зависит от длины пептидов. Вероятно, поли(A)-элементы в молекуле белка паутиного волокна являются основой, формирующей протоволокно подобно нитям каната с жесткой спиральной структурой.

Растяжение пептидного комплекса. Изучение жесткости вторичной структуры с помощью приложенной внешней силы позволяет характеризовать поведение системы вблизи локального минимума на поверхности потенциальной энергии. Применение больших значений силы позволяет оценить поведение системы на склонах гиперповерхности потенциальной энергии, ведущих в локальный минимум (аналогичный прием был использован в работе [7]).

Для оценки эластичности структуры использовали суперспиральные комплексы, прошедшие релаксацию в течение 10 нс. У пептидов

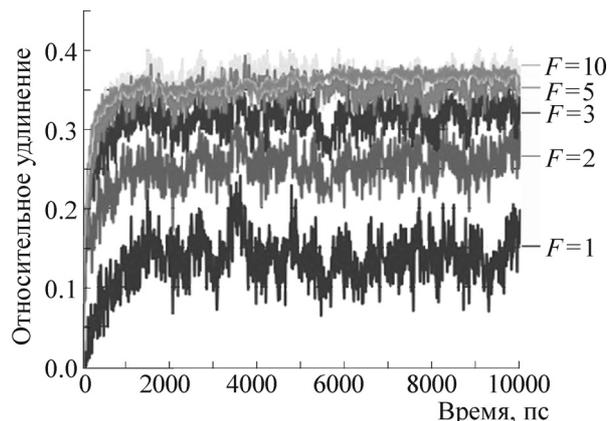


Рис. 2. Динамика относительного удлинения суперспирали под действием приложенных внешних сил (в ккал/моль·Å).

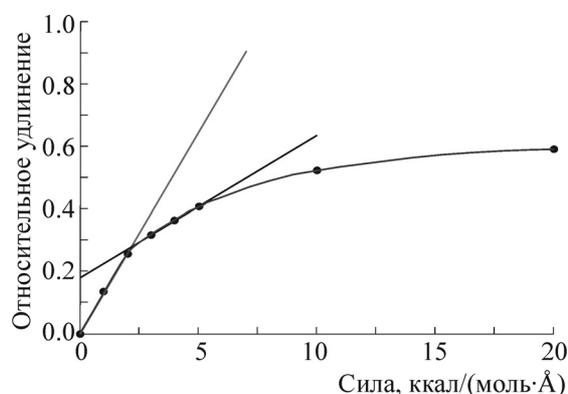


Рис. 3. Зависимости относительного удлинения от приложенной силы. Показаны также линейные аппроксимации на первом и втором участках.

фиксировали N-конец, а к С-концу прикладывали силу вдоль оси пептида, т.е. проводили численные эксперименты по растяжению суперспирали под действием различных сил (рис. 2) и определяли величины относительного удлинения (рис. 3).

Изучение зависимости относительного удлинения от приложенной силы позволяет выделить три линейных участка растяжения суперспирали: на интервалах сил от 0 до 2 ккал/(моль·Å), от 3 до 5 ккал/(моль·Å) и выше 50 ккал/(моль·Å).

Наличие нескольких линейных участков с существенно разным наклоном соответствует различным этапам растяжения надмолекулярного комплекса.

Изучение структуры комплексов, получаемых в результате действия сил различной величины, показывает, что под действием сил от 0 до 2 ккал/(моль·Å) (первый линейный участок)

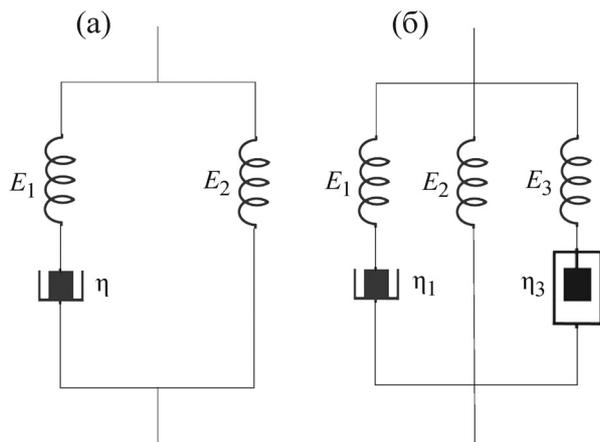


Рис. 4. Реологические модели для вязкоупругих материалов: (а) – модель Зинера, (б) – уточненная реологическая модель протофибриллы с дополнительным упругим и нелинейным вязкоупругим элементом, ограничивающим ход «поршня».

правая суперспираль надмолекулярного комплекса начинает постепенно раскручиваться. При силе выше 3 ккал/(моль·А) структура комплекса уже соответствует β-листу и упругость не связана с деформацией суперспирали. Таким образом, на начальной стадии растяжения эластичность надмолекулярного комплекса обеспечивается упругостью суперспиральной структуры.

Под действием силы от 3 до 5 ккал/(моль·А) стопка пептидов сохраняет конформацию β-листа. В этом диапазоне жесткость структуры обеспечивают водородные связи между отдельными молекулами.

При воздействии больших сил деформируется вторичная структура комплекса и его геометрические параметры более не соответствуют β-листу. При этом на эластичность структуры влияет деформация валентных углов и растяжения валентных связей.

Полученный при этом эффективный коэффициент жесткости (110 Н/м) по порядку величины близок к коэффициентам жесткости валентных углов.

Коэффициенты жесткости могут быть пересчитаны в эффективный модуль Юнга. Следует иметь в виду, что динамика растяжения изучаемого фрагмента протолокна паутины (рис. 2) лишь очень грубо соответствует стандартной модели линейного тела (модели Зинера [13], рис. 4а):

$$\varepsilon = \varepsilon_0 + (\varepsilon_\infty - \varepsilon_0)(1 - e^{-t/\tau}),$$

где

$$\varepsilon_0 = \frac{\sigma_0}{E1 + E2}, \quad \varepsilon_\infty - \varepsilon_0 = \frac{\sigma_0 \cdot E1}{(E1 + E2) \cdot E2},$$

$$\tau = \left(\frac{\eta \cdot (E1 + E2)}{E1 \cdot E2} \right).$$

Фрагмент протолокна характеризуется сильно нелинейной упругостью и нелинейной внутренней вязкостью (таблица). Нелинейность особенно сильно проявляется при низкой и очень высокой нагрузках. Так, при действии силы ~1 ккал/(моль·А) (что соответствует напряжению порядка 25 атм) упругий элемент, связанный с вязким элементом в модели на рис. 4а, оказывается практически нерастяжимым ($E1 \gg E2$). Эффективная вязкость также оказывается заметно выше, чем при больших нагрузках. При больших нагрузках растормаживаются степени свободы в вязкоупругом элементе Максвелла (рис. 4а). При этом эффективный модуль Юнга меняется в диапазоне от ~18 МПа до примерно удвоенных значений при увеличении нагрузки в пять раз. Примерно та же тенденция прослеживается и для упругости, характеризуемой модулем $E2$ (рис. 4а). Эффективная внутренняя вязкость остается в

Коэффициенты модели Зинера для полиаланиновой суперспирали (из пяти β-нитей) при различных значениях внешней силы

Сила, ккал, (моль·А)	ε_0	ε_∞	$E1$, ГПа	$E2$, ГПа	τ , пс	η , Па·с
1	0	0,14	∞	0,018	474,21	0,009
2	0,14	0,26	0,017	0,19	527,51	0,005
3	0,14	0,31	0,030	0,024	305,89	0,004
4	0,19	0,37	0,026	0,027	334,55	0,004
5	0,19	0,41	0,036	0,031	287,97	0,005
10	0,31	0,52	0,033	0,049	243,57	0,005
100	0,54	0,75	0,131	0,337	121,19	0,011

этом диапазоне нагрузок примерно постоянной, порядка 5 сантипуаз, что примерно в пять раз выше вязкости воды. При сильном увеличении нагрузки (в 100 раз) наблюдается резкий скачок эффективного модуля Юнга и эффективной внутренней вязкости протофибриллы. Это обусловлено тем, что при деформациях порядка 50% и выше ресурс деформации за счет относительно мягких конформационных степеней свободы оказывается исчерпанным и мы переходим к режиму деформации исключительно валентных углов и валентных связей. На рис. 4б приведена уточненная реологическая модель протофибриллы. Добавленный вязкоупругий элемент отличается тем, что его упругость значительно выше, а вязкость значительно ниже, чем у обсужденного ранее элемента Максвелла. Но ход «поршня» в этом вязком элементе ограничен определенным диапазоном деформаций. При приближении к порогу вязкость резко возрастает, делая невозможной дальнейшую релаксацию.

Учитывая картину структурных изменений при растяжении фрагмента протоволокна паутины, можно, по-видимому, классифицировать основные вязкоупругие элементы на рис. 4б следующим образом. Упругий элемент *E2* соответствует суперспирали. Упругий элемент *E1* является эквивалентом водородных связей вторичной структуры. Внутренняя вязкость обусловлена преодолением барьеров при переходе между конформационными подсостояниями при деформации вторичной структуры (β -слоя). Упругий элемент *E3* может быть сопоставлен деформации валентных углов и связей. Сопряженный *E3* нелинейный вязкостный элемент, по-видимому, можно воспринимать как релаксацию валентных углов и связей (эффективная вязкость для низкоамплитудных колебаний (менее 0,1 Å) весьма мала [14]). Нелинейность связана с ограничением хода «поршня» и соответствует исчерпанию возможностей деформации протофибриллы за счет коллективной подстройки торсионных и валентных углов β -нитей.

Отметим, что полученные выше значения упругости фрагмента протоволокна несколько ниже величины для каркасной нити паутинового волокна (2 ГПа), приводимой в ряде работ на основании косвенных данных. Различие, возможно, связано с макроскопическими эффектами, которые отсутствуют на более элементарном уровне. Отметим, что величина модуля Юнга, полученная в численных экспериментах для фрагмента протофибриллы, превосходит типичные значения для резины (~0,01 ГПа) и при небольших деформациях на порядок мень-

ше значений для глобулярных белков (~1 ГПа), имеющих объемную «прошивку» водородными связями.

ВЫВОДЫ

Полиаланиновые комплексы, формируя стопки параллельных β -нитей, имеют тенденцию к формированию правой суперспирали. Стабилизация суперспирали в молекулярно-динамическом эксперименте происходит при количестве нитей не менее пяти и длине каждой β -нити не менее восьми остатков.

Растяжение суперспирали происходит в три этапа. На первом этапе определяющую роль играет суперспиральная структура, далее происходит деформация водородных связей вторичной структуры, а затем – деформация валентных углов и связей.

Вязкоупругие свойства суперспирали не укладываются в рамки модели линейного вязкоупругого тела (модели Зинера). Необходимыми элементами усложнения реологической модели являются введение зависимости упругости и вязкости максвелловского элемента от напряжения и удлинения, а также введение нового элемента с большой жесткостью и пороговым возрастанием внутренней вязкости от очень низких до очень больших значений при удлинении фибриллы выше критического значения.

Значения модуля Юнга суперспирального фрагмента протофибриллы при небольших нагрузках и небольших удлинениях немного выше, чем у резины. При увеличении нагрузки и удлинения модуль Юнга быстро возрастает, приближаясь при удлинениях порядка 75% к значениям, типичным для упругих тел.

Продемонстрированная в работе тенденция к формированию суперспиралей для фрагментов пептидной последовательности спидроина может являться достаточно общим этапом при самоорганизации волокон пептидной природы

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 14-50-00029.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. S. Winkler, S. Szela, P. Avtges, et al., Int. J. Biol. Macromol. **24**, 265 (1999).
2. V. G. Bogush, O. S. Sokolova, L. I. Davydova, et al., J. Neuroimmune. Pharmacol. **4**, 17 (2009).
3. A. Lazaris, S. Arcidiacono, Y. Huang, et al., Science **295**, 472 (2002).
4. T. Scheibel, Microb. Cell Fact. **3**, 14 (2004).

5. J. D. van Beek, S. Hess, F. Vollrath, and B. H. Meier, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **99**, 10266 (2002).
6. К. В. Шайтан, Хим. физика **33**, 53 (2014).
7. К. В. Шайтан и И. В. Федик, Биофизика **60**, 421 (2015).
8. S. D. Van Der, E. Lindahl, B. Hess, et al., J. Comput. Chem. **26**, 1701 (2005).
9. W. L. Jorgensen, D. S. Maxwell, and J. Tirado-Rives, J. Am. Chem. Soc. **118**, 11225 (1996).
10. V. L. Golo and K. V. Shaitan, Biofizika **47**, 611 (2002).
11. V. L. Golo, V. N. Salnikov, and K. V. Shaitan, Phys. Rev E. Stat. Nonlin. Soft. Matter Phys. **70**, 046130 (2004).
12. P. Attard, J. Chem Phys. **130**, 194113 (2009).
13. D. R. Bland, *The theory of linear viscoelasticity* (Pergamon Press, Oxford, 1960).
14. К. В. Шайтан и С. С. Сарайкин, Биофизика **45**, 407 (2000).

Molecular Dynamics of Self-assembling and Rheology of Superhelical Structure of Protofiber of Spider Web

K.V. Shaitan and I.A. Orshanskiy

Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1, Moscow, 119991 Russia

In this study we suggested a dynamics simulation for the formation of protofiber of spider web nanofiber. It was shown that a bundle of parallel polyalanine β -strands of sufficient length is arranged through self-assembly into a stable right-handed super helix. By numerical analysis we investigated the rheological properties and provided in nonlinear regime a generalization of the model of Singer for description of the rheological behaviour of super helix.

Key words: spider web, structure of protofiber, molecular dynamics