

## АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ Arp2/3-КОМПЛЕКСА С ИНАКТИВАТОРОМ АРПИНОМ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

© 2017 г. А.В. Попинако\*, М.Ю. Антонов\*\*, А.С. Чемерис\*\*\*,  
К.В. Шайган\*\*\*\*, О.С. Соколова\*\*\*\*

\*Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН,  
119071, Москва, Ленинский просп., 33/2

\*\*Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, 677980, Якутск, ул. Белинского, 58

\*\*\*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1/12

\*\*\*\*Институт химической физики им. Н.Н. Семенова, 119991, Москва, ул. Косыгина, 4

E-mail: sokolova@mail.bio.msu.ru

Поступила в редакцию 05.06.17 г.

Arp2/3-комплекс является одним из главных регуляторов актинового цитоскелета и центральной молекулярной машиной, формирующей разветвленные актиновые филаменты. В работе изучено взаимодействие Arp2/3-комплекса и его инактиватора арпина и выявлены аминокислотные остатки, ответственные за образование комплексов. Расчет свободной энергии связывания арпина с Arp2/3-комплексом произведен методом зонтичного сэмплирования. Показано, что константа диссоциации комплекса Arp2/3-арпин в среднем выше, чем константа диссоциации для комплексов Arp2/3 с другими инактиваторами. Выявлены два сайта связывания арпина на поверхности Arp2/3-комплекса с разной аффинностью. Обсуждается механизм ингибирования комплекса Arp2/3 арпином.

*Ключевые слова:* Arp2/3-комплекс, арпин, ингибирование, молекулярное моделирование.

Способность клеток к миграции является неотъемлемой частью таких важнейших физиологических процессов, как репарация, эмбриональное развитие, иммунный ответ. Нарушения в миграции клеток приводят к развитию патологических процессов в организме. За миграцию клеток отвечают тонкие мембранные выступы на лидирующем конце клетки – ламеллоподии, содержащие разветвленную сеть актиновых филаментов.

Arp2/3-комплекс является одним из главных регуляторов актинового цитоскелета и центральной молекулярной машиной, формирующей разветвленные актиновые филаменты. В присутствии АТФ, активаторов Arp2/3-комплекса и пула мономеров актина Arp2/3-комплекс формирует так называемый «узел разветвления», инициируя рост дочернего актинового филамента под углом 70° к материнскому. Дочерний филамент содержит острый (липкий) конец для присоединения новых мономеров актина и дальнейшей элонгации. Известно, что в цитоплазме Arp2/3-комплекс естественным путем флуктуирует между открытым (неактивным) и закрытым (активным) конформационными состояниями [1]. При активации Arp2/3-

комплекса субъединицы Arp2 и Arp3 сближаются, и так как эти субъединицы являются актин-подобными, они создают платформу для присоединения мономеров актина в растущем дочернем филаменте. Активаторы Arp2/3-комплекса, такие как WASP (Wiskott-Aldrich syndrome protein) и WAVE (WASP-family verprolin-homologous protein), на своем С-конце имеют VCA-домен, состоящий из трех мотивов: V – верпролин-подобный мотив, С – центральный (кофилин-подобный) мотив и А – кислотный мотив. VCA-домен отвечает за связывание с Arp2/3-комплексом и способствует сближению субъединиц Arp2 и Arp3 [2]. Ранее предполагалось, что стехиометрия взаимодействия Arp2/3-комплекса с активатором составляет 1 : 1. В 2014 г. вышла статья, в которой авторы, используя биохимический подход и FRET-микроскопию (FRET – Фёрстеровский резонансный перенос энергии), показали возможность взаимодействия двух VCA-доменов с одним Arp2/3-комплексом. Авторы также измерили расстояние между отдельными мотивами VCA-домена и предложили молекулярную модель Arp2/3-комплекса в активной конформации [2].

Разветвление актиновых филаментов является сложным процессом, в регуляции которого участвует множество белков. Помимо позитивной регуляции, Arp2/3-комплекс также подвержен негативной регуляции белками-инактиваторами, такими как GMF (glia maturation factor) [3] и коронин [4], которые переводят Arp2/3-комплекс в открытое (неактивное) состояние [5].

В 2013 г. впервые в ламеллоподиях путем биоинформатического анализа по гомологии с активаторами Arp2/3-комплекса был обнаружен инактиватор Arp2/3-комплекса – арпин [6]. Арпин является небольшим (25 кДа) белком, на С-конце которого присутствует только А-мотив и нет С- и V-мотивов. С помощью биохимических методов было показано, что сверхэкспрессия арпина приводит к снижению количества разветвленных актиновых филаментов, а при подавлении арпина подвижные клетки перемещаются более направленно. В 2016 г. была опубликована структурная модель арпина, основанная на данных малоуглового рентгеновского рассеяния (PDB ID 4Z68) [7]. Согласно этой модели, С-конец арпина является подвижным и неструктурированным; также авторы показали, что один сайт связывания арпина с Arp2/3-комплексом расположен между субъединицами Arp2/3-комплекса Arp2 и ARPC1 [7]. С помощью электронной микроскопии макромолекул нами был ранее определен второй сайт связывания Arp2/3-комплекса с арпином, расположенный на Arp3 субъединице Arp2/3-комплекса [5,8].

Исследование взаимодействия арпина с Arp2/3-комплексом и выявление аминокислотных остатков, участвующих в их связывании в двух сайтах, являлось задачей данного исследования. Для этого были использованы методы молекулярного моделирования.

## МЕТОДЫ

**Моделирование взаимодействия арпина с Arp2/3-комплексом в двух сайтах связывания.** Процедуру поиска структурных шаблонов С-концевого фрагмента арпина (UniProtID: Q7Z6K5) проводили с помощью BLAST [9]. На основании результатов данного поиска в качестве шаблонов для построения модели были отобраны структуры 4Z68\_E [7] и 1T84\_A [10] (последовательность EIREQGDAEDE). Необходимое для моделирования по гомологии выравнивание аминокислотных последовательностей арпина и VCA-домена (белка WASP) проводили с помощью программы T-COFFEE [11] (рис. 1а). На основе данного выравнивания

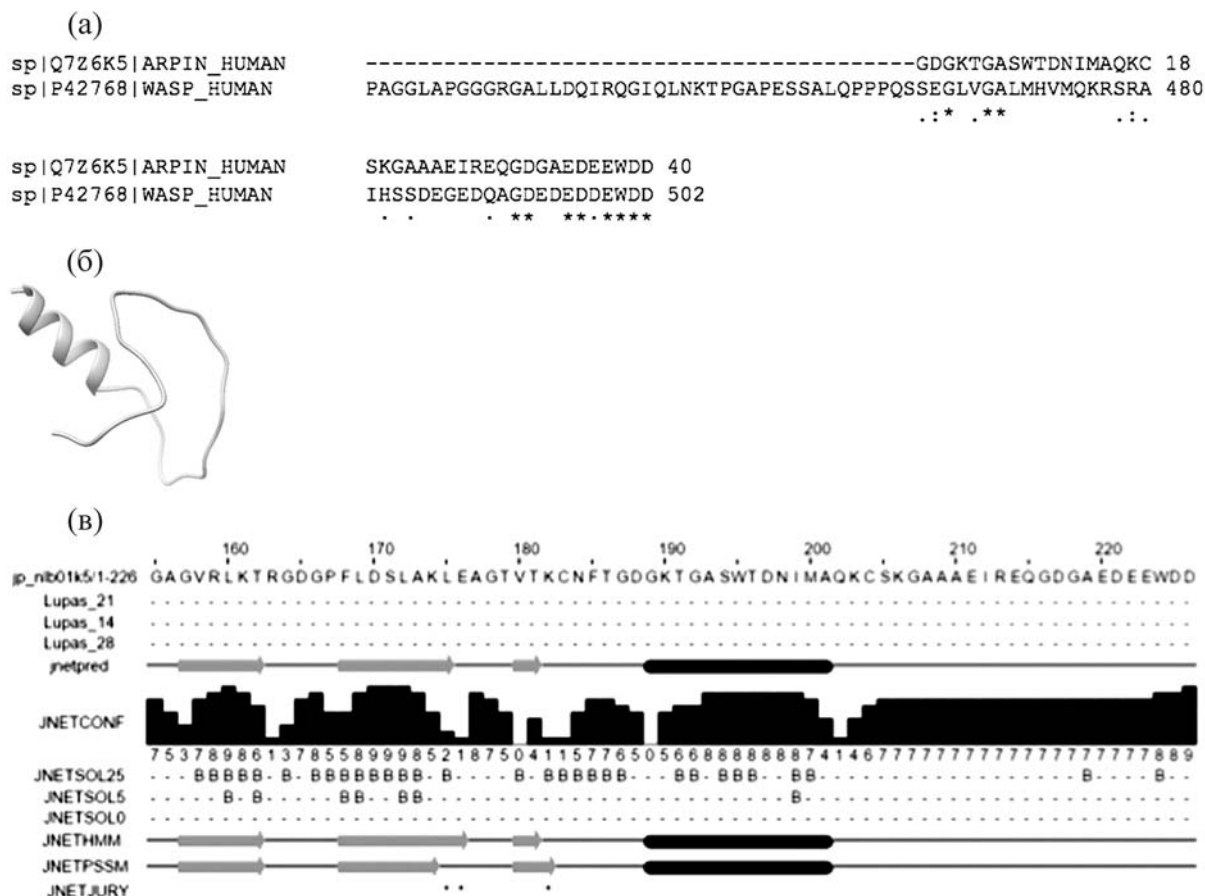
проводили построение модели структуры арпина (рис. 1б) с использованием программы MODELLE [12]. Модели были ранжированы в соответствии со значениями moldpdf и DOPE scores [12], в результате была выбрана оптимальная модель с высоким рейтингом. Результат моделирования вторичной структуры арпина совпал с предсказанным расположением спирали GDGKTGASWTDN в программе JPred [13].

Расчитанная модель арпина была докирована в два сайта связывания, идентифицированные нами ранее методом просвечивающей электронной микроскопии [5], с помощью программ HADDOCK [14] и UCSF Chimera, с учетом предсказанного расположения VCA-домена активаторов Arp2/3-комплекса [15] (рис. 2).

**Молекулярная динамика.** Для изучения особенностей взаимодействия Arp2/3-комплекса с инактиватором был проведен расчет и анализ траекторий молекулярной динамики комплекса с арпином в двух сайтах связывания (для расчетов использовали полноатомные модели Arp2/3-комплекса с арпином в двух сайтах связывания). Первая система состояла из Arp2, ARPC1-субъединиц, арпина, ионов и водного окружения (тип воды SPC216). Вторая система состояла из Arp2, Arp3, ARPC2-субъединиц, арпина, ионов и водного окружения (тип воды SPC216).

Для проведения расчетов применяли программный пакет Gromacs 4 [16], силовое поле OPLS-AA [17]. Для расчетов использовали прямоугольные расчетные ячейки. Размер ячейки подбирали таким образом, чтобы наименьшее расстояние от белка до границы ячейки составило не менее 1 нм. Расчетная длина траектории составила 15 нс (1 нс для релаксации), шаг интегрирования – 1 фс. Расчеты проводили в периодической ячейке при использовании термостата Берендсена (поддерживаемая температура 300 К). Для учета ван-дер-ваальсовых и кулоновских взаимодействий использовали радиус обрезания  $R_{vdw} = 18 \text{ \AA}$ . Все расчеты проводили с использованием вычислительных ресурсов суперкомпьютерного комплекса МГУ имени М.В. Ломоносова [18] и суперкомпьютера «Ариан Кузьмин» СВФУ имени М.К. Аммосова. Для визуализации использовали программы UCSF Chimera [19]. Различные типы контактов в молекулах были рассчитаны с использованием программы Protein Interactions Calculator (PIC) server [20].

**Расчет свободной энергии связывания.** Для расчета свободной энергии связывания арпина с Arp2/3-комплексом была выбрана модель Arp2/3-комплекса и арпина в сайте связывания



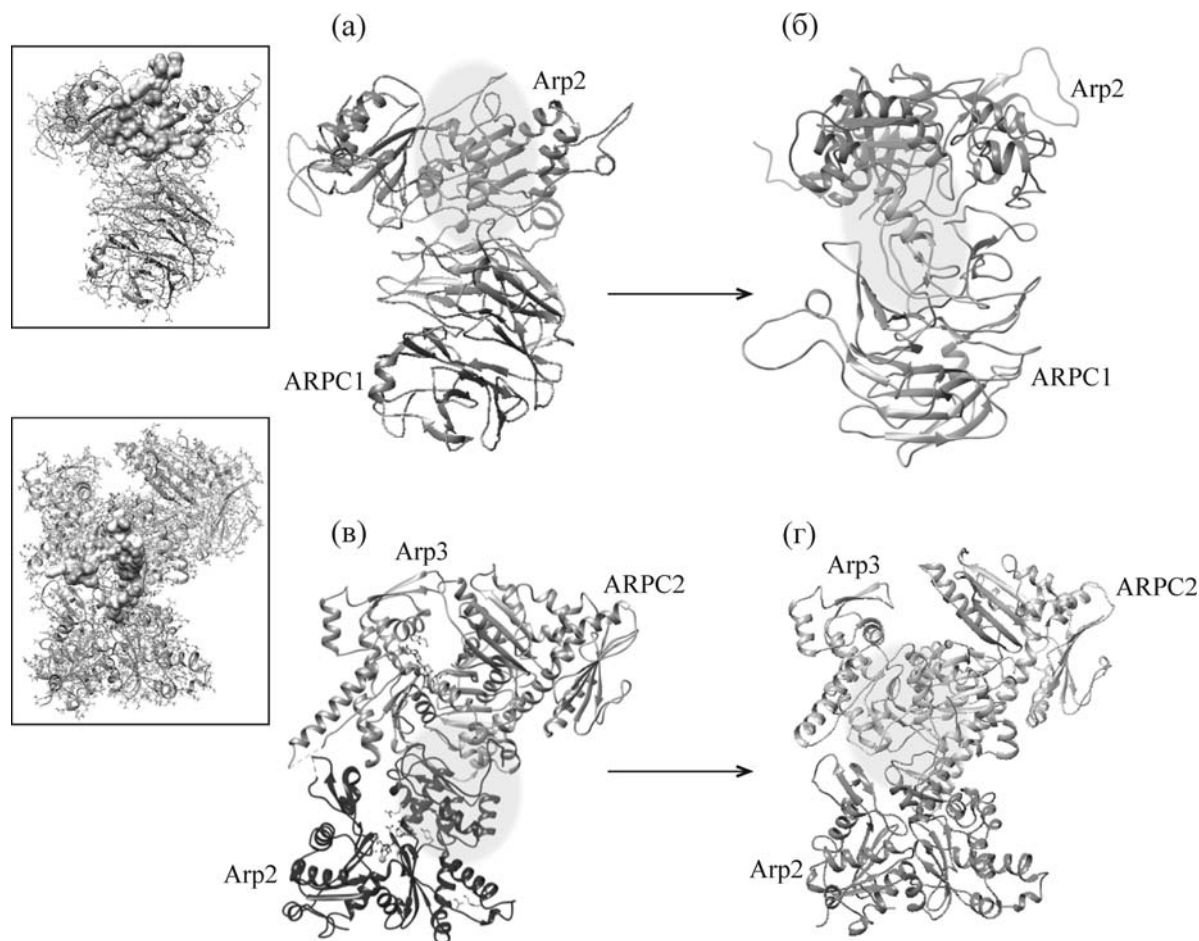
**Рис. 1.** (а) – Выравнивание аминокислотных последовательностей арпина. (б) – Модель С-концевого фрагмента арпина. Спираль GDGKTGASWTDN выделена контуром. (в) – Предсказание вторичной структуры арпина в программе JPred [13].

Arp3: выделены взаимодействующие с арпином Arp2- и ARPC1-субъединицы. Комплекс был помещен в ячейку размером 22,1 × 11,6 × 10,1 нм, ячейка была заполнена водой (тип модели воды – SPC216). Электронейтральность раствора была достигнута за счет добавления противоионов. Расчет молекулярной динамики системы проводили в изобарно-изотермических условиях, температуру поддерживали равной 300 К, давление оставалось постоянным и равным 1 бар. Для расчетов использовали силовое поле GROMOS 53a6. Траектория, соответствующая удалению арпина от Arp2/3-комплекса на 4 нм (по координате реакции), определила стартовые конфигурации, необходимые для расчета потенциала средней силы (всего – 73 конфигурации). Было показано, что через 800 пс на расстоянии ~4 нм (812 фреймов) и далее отсутствуют взаимодействия между арпином и Arp2/3-комплексом, так как на данном фрагменте траектории расстояние между центрами масс арпина и Arp2/3-комплекса меняется прямо пропорционально времени. Далее проводили молекулярно-динамический расчет для каждой

точки конформационного пространства арпина относительно Arp2/3-комплекса (73 расчета) вдоль координаты реакции. Длины траекторий составили 10 нс, общее время расчетов траекторий молекулярной динамики составило 2 мкс. Расчет потенциала средней силы и энергии связывания осуществляли с помощью метода взвешенного анализа гистограмм (рис. 3). Гистограммы конфигураций выборки для расчетов методом зонтичного сэмплирования демонстрируют перекрытие между соседними конфигурациями более 5 нм. Таким образом, данный метод позволяет получить достоверные результаты.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение процессов инактивации Arp2/3-комплекса методами компьютерного моделирования в данной работе базировалось на опубликованных ранее структурных данных о межбелковых взаимодействиях в комплексе Arp3-субъединицы и С-концевого фрагмента VCA-домена (данные получены методом рентгенов-



**Рис. 2.** Моделирование взаимодействий в комплексе Arp2/3–арпин. Субъединицы Arp2/3-комплекса подписаны, арпин выделен серыми кружками. (а) – Модель арпина в ARPC1-сайте Arp2/3-комплекса до динамики. (б) – Модель арпина в Arp3-сайте Arp2/3-комплекса до динамики. (в, г) – Результаты расчета в программе HADDOCK.

ской кристаллографии) [21]; о взаимодействиях в комплексе ARPC1-субъединицы и С-концевого фрагмента VCA-домена (данные получены методом ядерного магнитного резонанса) [22] и о трехмерной структуре открытого (ингибированного) Arp2/3-комплекса с двумя арпинами (данные получены методом просвечивающей электронной микроскопии) [5].

Для построения моделей использовали метод моделирования по гомологии. Молекулярная модель комплекса Arp2/3, взаимодействующего с арпином, строилась согласно полученным нами ранее данным просвечивающей электронной микроскопии о том, что арпин, подобно VCA-доменам активаторов, также имеет два сайта связывания с Arp2/3-комплексом [5]. Идентифицированные сайты располагаются между ARPC1- и Arp2-субъединицами комплекса (далее обозначен как ARPC1-сайт) и между Arp3- и ARPC3-субъединицами (далее обозначен как Arp3-сайт).

**Анализ взаимодействия Arp2/3-комплекса с арпином в ARPC1-сайте.** Анализ поверхности контакта Arp2/3-комплекса и арпина (площадь поверхности контакта между Arp2/3-комплексом и арпином составила  $\sim 1000 \text{ \AA}^2$ ) в гидрофобно-гидрофильном представлении выявил наличие гидрофобного интерфейса между арпином и Arp2-субъединицей, сформированного остатками Trp38(арпин) и Tyr222, Tyr225(Arp2) (рис. 2а).

Гидрофобные взаимодействия дополняются водородными связями и солевыми мостиками между арпином и Arp2/3-комплексом (Asp2(арпин)-Lys339(Arp2), Glu25(арпин)-Lys138(ARPC1), Asp31(арпин)-Lys322, Arg343, Lys341(Arp2), Glu34(арпин)-Arg343(Arp2), Arg94(ARPC1), Asp35(Arp2)-His51(ARPC1), Asp35(арпин)-Arg94(ARPC1), Glu37(арпин)-Arg94(ARPC1).

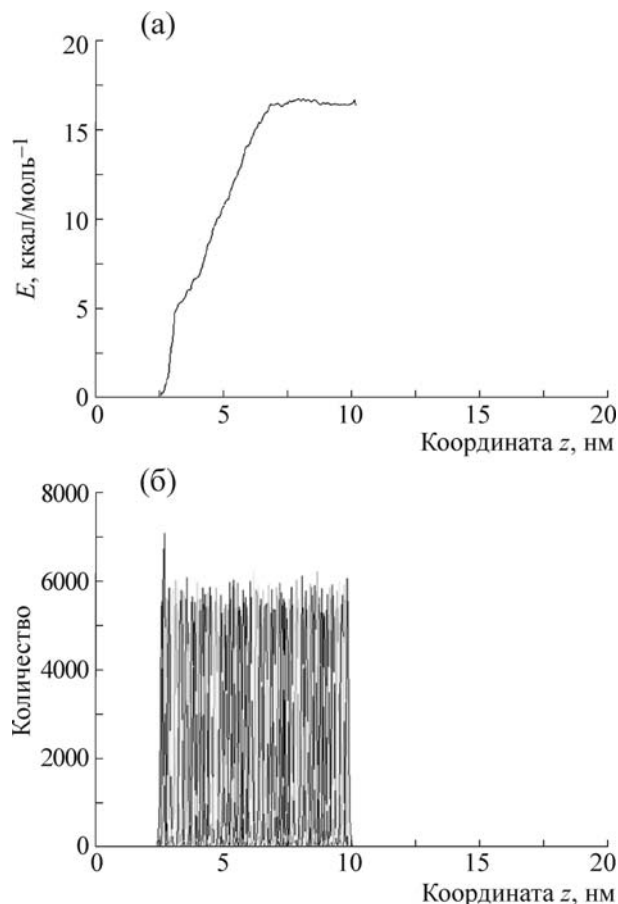
Анализ траектории молекулярной динамики Arp2/3-комплекса и арпина в ARPC1-сайте выявил появление новых гидрофобно-гидрофобных взаимодействий (рис. 4а): Ala23(арпин)-

Val119(ARPC1) и водородных связей Asp31(арпин)-Arg74(ARPC1), Glu34(арпин)-His51(ARPC1), Asp31(арпин)-Arg94(ARPC1), Glu34(арпин)-Arg94(ARPC1), Glu37(арпин)-Arg74(ARPC1), Glu37(арпин)-Arg343(Arp2), Asp40(арпин)-Lys322(Arp2). Наиболее прочной оказалась связь Glu25(арпин)-Lys138(ARPC1). Lys138 субъединицы ARPC1 и ближайшие к нему остатки образуют положительно заряженную поверхность Lys135-His136-Lys138-Lys139 (лизинный мотив). Данный мотив может являться мишенью для связывания отрицательно заряженных доменов (известно, что арпин отрицательно заряжен). Подобные лизинные мотивы широко распространены в природе, играют важную роль в белковой сигнализации, привлечении положительно заряженных ионов и межбелковых взаимодействиях [23–26].

**Анализ взаимодействия Arp2/3-комплекса с арпином в Arp3-сайте.** Площадь поверхности контакта между Arp2/3-комплексом и арпином в Arp3-сайте составляет ~528 Å<sup>2</sup> между арпином и Arp3-субъединицей и 490 Å<sup>2</sup> между арпином и Arp2-субъединицей. Анализ поверхности контакта Arp2/3-комплекса и арпина в гидрофобно-гидрофильном представлении выявил наличие гидрофобного интерфейса, сформированного следующими аминокислотными остатками: Ala23(арпин), Trp38(арпин), Ile78(Arp3), Pro314(Arp2).

Данные гидрофобные взаимодействия дополняются водородными связями. Атомарная модель Arp2/3-комплекса с арпином в Arp3-сайте, полученная методом докинга (рис. 2в), сформирована шестью водородными связями между арпином и субъединицей Arp3 и восемью водородными связями между арпином и субъединицей Arp2, а также солевыми мостиками: Arg27(арпин)-Asp83(Arp3), Arg27(арпин)-Asp84(Arp3), Glu28(арпин)-Arg80(Arp3), Glu28(арпин)-Asp84(Arp3), Asp31(арпин)-Arg312(Arp2), Asp31(арпин)-Glu69(Arp3), Glu34(арпин)-Arg312(Arp2), Glu34(арпин)-Asp310(Arp2), Asp35(арпин)-Asp310(Arp3), Asp35(арпин)-Arg80(Arp2), Glu36(арпин)-Asp310(Arp3), Glu37(арпин)-Asp310(Arp3), Glu37(арпин)-Arg313(Arp2), Asp40(арпин)-Arg313(Arp3), Asp40(арпин)-Lys317(Arp3).

Анализ траекторий молекулярной динамики Arp2/3-комплекса в Arp3-сайте выявил появление нового гидрофобного контакта между Trp38(арпин) и Val311(Arp3). Также увеличилось число водородных связей между Arp2/3-комплексом и арпином. Новые водородные связи образовались между Glu34(арпин) и Arg80(Arp2). Появились новые водородные связи между Arp3-субъединицей и арпином:



**Рис. 3.** Результаты расчета свободной энергии связывания в комплексе Arp2/3-арпин: (а) – зависимость потенциала средней силы от расстояния между центрами масс арпина в ARPC1-сайте и Arp2/3-комплекса; (б) – гистограмма конфигураций выборки для расчета методом взвешенного анализа гистограмм результатов зонтичного сэмплинга.

Asp39(арпин)-Lys317(Arp3), Asp31(арпин)-Arg317(Arp3) (рис. 2г, 4б).

**Оценка свободной энергии.** Расчет свободной энергии связывания арпина с Arp2/3-комплексом проводили методом зонтичного сэмплинга [27]. Данный метод позволяет вычислить свободную энергию исходя из значений потенциала средней силы. Потенциал средней силы рассчитывается для серии конформаций, полученных в результате молекулярной динамики (рис. 3).

Свободная энергия ( $\Delta G$ ) взаимодействия арпина и других активаторов/инактиваторов Arp2/3-комплекса была оценена с помощью программы PRODIGY [28] при 36°C (таблица). Связь арпина с Arp2/3-комплексом оказалась очень прочной. Рассчитанные нами константы связывания А-домена арпина с Arp2/3 в 8–43 раза выше, чем константа связывания VCA-

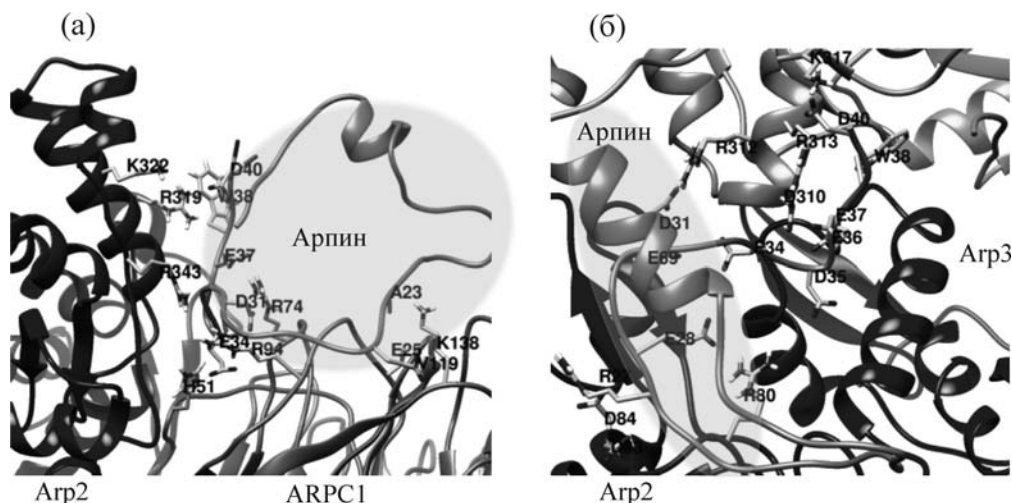


Рис. 4. Сайты связывания аргина: слева ARPC1-сайт, справа Arp3-сайт. Субъединицы указаны.

Свободная энергия связывания в комплексе Arp2/3 с лигандами

Arp2/3-GMF		Arp2/3-VCA	Arp2/3-арпин	
ARPC1-сайт связывания	Arp3-сайт связывания	ARPC1-сайт связывания [5]	ARPC1-сайт связывания	Arp3-сайт связывания
$\Delta G = -5,8$ ккал/моль $K_d = 5,8$ мкМ	$\Delta G = -5,4$ ккал/моль $K_d = 1,1$ мкМ	$K_d = 0,88$ мкМ	$\Delta G = -7,3$ ккал/моль $K_d = 6,1$ мкМ	$\Delta G = -10,5$ ккал/моль $K_d = 3,3$ мкМ

домена (0,88 мкМоль [22]). Константа диссоциации комплекса Arp2/3-арпин в среднем была выше, чем комплексов Arp2/3 с другими ингибиторами. Интересно, что константа диссоциации комплекса Arp2/3-арпин с аргинином в Arp3-сайте оказалась значительно выше, чем с аргинином в ARPC1-сайте.

Таким образом, два сайта связывания аргина отличаются константами диссоциации, что подтверждает гипотезу о наличии наряду с высокоаффинным низкоаффинного сайта связывания [5]. Более прочное, чем у VCA-домена, связывание аргина объясняет предположенный ранее механизм ингибирования комплекса Arp2/3, основанный на конкурентном вытеснении VCA-домена активатора из сайта связывания. Прочное связывание с Arp2/3-комплексом позволяет аргину эффективно ингибировать ветвление и рост дочернего актинового филламента.

В заключение отметим, что прочность взаимодействия Arp2/3-комплекса и аргина в двух сайтах определяется наличием и числом гидрофобных контактов и водородных связей. В ARPC1-сайте связывание происходит за счет образования гидрофобных контактов и нескольких водородных связей. Во взаимодействии Arp2/3-комплекса с аргинином в Arp3-сайте

большое значение имеют водородные связи, формирующие сеть взаимодействий, фиксирующих аргин.

Молекулярно-динамические расчеты и расчет свободной энергии взаимодействия Arp2/3-комплекса с аргинином проводили при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-14-00234). Моделирование взаимодействия аргина с Arp2/3-комплексом в двух сайтах связывания проводили при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 16-34-60252). Расчеты проводили с использованием вычислительных ресурсов суперкомпьютерного комплекса МГУ имени М.В. Ломоносова и суперкомпьютера «Ариан Кузьмин» СВФУ имени М.К. Аммосова.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A. A. Rodal, O. Sokolova, D. B. Robins, et al., *Nat. Struct. Mol. Biol.* **12**, 26 (2005). DOI:10.1038/nsmb870.
2. R. Gorelik, I. Dang, and A. Gautreau, *Médecine/sciences* **30**, 248 (2014). DOI:10.1051/medsci/20143003010.
3. C. A. Ydenberg, S. B. Padrick, M. O. Sweeney, et al., *Curr. Biol.* **23**, 1037 (2013). DOI:10.1016/j.cub.2013.04.058
4. M. Gandhi and B. L. Goode, *Subcell. Biochem.* **48**, 72 (2008). DOI:10.1007/978-0-387-09595-0\_7.

5. O. S. Sokolova, A. Chemeris, S. Guo, et al., *J. Mol. Biol.* **429**, 237 (2017). DOI:10.1016/j.jmb.2016.11.030.
6. I. Dang, R. Gorelik, C. Sousa-Blin, et al., *Nature* **503**, 281 (2013). DOI:10.1038/nature12611.
7. S. Fetics, A. Thureau, V. Campanacci, et al., *Structure* **24**, 252 (2016). DOI:10.1016/j.str.2015.12.001.
8. S. B. Padrick, L. K. Doolittle, C. A. Brautigam, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, E472 (2011). DOI:10.1073/pnas.1100236108.
9. S. F. Altschul, W. Gish, W. Miller, et al., *J. Mol. Biol.* **215**, 403 (1990). DOI:10.1016/S0022-2836(05)80360-2.
10. J. R. Peterson, L. C. Bickford, D. Morgan, et al., *Nat. Struct. Mol. Biol.* **11**, 747 (2004). DOI:10.1038/nsmb796.
11. C. Notredame, D. G. Higgins, and J. Heringa, *J. Mol. Biol.* **302**, 205 (2000). DOI:10.1006/jmbi.2000.4042.
12. A. Fiser and A. Sali, *Methods Enzymol.* **374**, 461 (2003). DOI:10.1016/S0076-6879(03)74020-8.
13. A. Drozdetskiy, C. Cole, J. Procter, and G. J. Barton, *Nucl. Acids Res.* **43**, W389 (2015). DOI:10.1093/nar/gkv332.
14. D. Spiliotopoulos, P. L. Kastritis, A. S. J. Melquiond, et al., *Front. Mol. Biosci. Frontiers* **3**, 46 (2016). DOI:10.3389/fmolb.2016.00046.
15. M. Boczkowska, G. Rebowski, D. J. Kast, and R. Dominguez, *Nat. Commun.* **5**, 3308 (2014). DOI:10.1038/ncomms4308.
16. S. Pronk, Sz. Páll, R. Schulz, et al., *Bioinformatics* **29**, 845 (2013). DOI:10.1093/bioinformatics/btt055.
17. G. A. Kaminski, *J. Phys. Chem. B* **109**, 5884 (2005). DOI:10.1021/jp050156.
18. V. Sadovnichy, A. Tikhonravov, V. Voevodin, and V. Opanasenko, in: *Contemporary High Performance Computing: From Petascale toward Exascale* (Chapman & Hall/CRC Press, Boca Raton, USA, 2013), pp. 283–307.
19. E. F. Pettersen, T. D. Goddard, C. C. Huang, et al., *J. Comput. Chem.* **25**, 1605 (2004). DOI:10.1002/jcc.20084.
20. K. G. Tina, R. Bhadra, and N. Srinivasan, *Nucl. Acids Res.* **35**, 473 (2007). DOI:10.1093/nar/gkm423.
21. S.-C. Ti, C. T. Jurgenson, B. J. Nolen, and T. D. Pollard, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, E463 (2011). DOI:10.1073/pnas.1100125108.
22. A. E. Kelly, H. Kranitz, V. Dutsch, and R. D. Mullins, *J. Biol. Chem.* **281**, 10589 (2006). DOI:10.1074/jbc.M507470200.
23. V. O. Kravchuk, O. V. Savvitskiy, K. O. Odynets, et al., *J. Biomol. Struct. Dyn.* **35**, 2759 (2017). DOI:10.1080/07391102.2016.1235512.
24. А. В. Попинако, Т. В. Тихонова, М. Ю. Антонов и др., *Биофизика* **62**, 284 (2017).
25. A. Grizel, A. Popinako, M. A. Kasimova, et al., *J. Neuroimmune Pharmacol.* **9**, 727 (2014). DOI:10.1007/s11481-014-9565-x.
26. A.-Q. Sun, Y. Luo, D. S. Backos, et al., *Mol. Pharmacol.* **83**, 1078 (2013). DOI:10.1124/mol.113.084772.
27. R. Friedman, E. Nachliel, and M. Gutman, *Biophys. J.* **89**, 768 (2005). DOI:10.1529/biophysj.105.058917.
28. L. C. Xue, J. P. Rodrigues, P. L. Kastritis, et al., *Bioinformatics*, btw514 (2016). DOI:10.1093/bioinformatics/btw514.

## Analysis of Interactions of the Arp2/3 Complex with an Inhibitor, Arpin by the Method of Molecular Dynamics Simulation

A.V. Popinako\*, M.Yu. Antonov\*\*, A.S. Chemeris\*\*\*,  
K.V. Shaitan\*\*\*\* \*\*\*\*\*, and O.S. Sokolova\*\*\*

\*Federal Research Centre «Fundamentals of Biotechnology», Russian Academy of Sciences,  
Leninsky prosp. 33/2, Moscow, 119071 Russia

\*\*Amnosov North-Eastern Federal University, ul. Belinskogo 58, Yakutsk, 677980 Republic of Sakha (Yakutia), Russia

\*\*\*Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/12, Moscow, 119991 Russia

\*\*\*\*Semenov Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina 4, Moscow, 119991 Russia

The Arp2/3 complex is one of the main regulators of the actin cytoskeleton and a basic molecular machine that nucleates branched actin filaments. In this work, we studied the interaction of the Arp2/3 complex with the inhibitor, arpin, and revealed the amino acid residues responsible for complex formation. Free energy calculation for arpin binding to Arp2/3 complex has been performed by using umbrella sampling. It has been shown that a dissociation constant of the Arp2/3-arpin complex is on average higher than that of Arp2/3 complexes with other inhibitors. Two binding sites for arpin on the surface of the Arp2/3 complex with different affinities were identified. The mechanism of inhibition of the Arp2/3 complex by arpin is discussed.

*Keywords:* Arp2/3 complex, arpin, inhibition, molecular modeling