

МОДЕЛИРОВАНИЕ МУТАНТНЫХ ГОМО- И ГЕТЕРОДИМЕРОВ P32T ИНОЗИНТРИФОСФАТ ПИРОФОСФОГИДРОЛАЗЫ ЧЕЛОВЕКА hITPA

© 2015 г. Э.Б. Душанов, Х.Т. Холмуродов, Н.А. Колтовая

Объединенный институт ядерных исследований, 141980, Дубна Московской области, ул. Жолио-Кюри, 6

E-mail: koltovaya@jinr.ru

Поступила в редакцию 17.12.14 г.

После доработки 17.04.15 г.

Для выявления конформационных изменений, обуславливающих инактивирующее действие мутации P32T, рассмотрена структура трех форм димера инозинтрифосфат пирофосфогидролазы человека hITPA. Проведен анализ наносекундной молекулярной динамики, вычислены значения среднеквадратичных отклонений атомов у гомодимеров дикого и мутантного типов, а также гетеродимера. В результате моделирования в течение 3 нс у мутантных протомеров наблюдали более сильные смещения атомов. В процессе моделирования наибольшим изменениям подверглись: петля между $\alpha 2$ и $\beta 2$ (аминокислотные остатки 28–33, область локализации мутации P32T), петля между $\beta 5$ и $\beta 6$ и С-концевые аминокислотные остатки. Петля между $\alpha 2$ и $\beta 2$ имела две конформации, характеризующиеся разным положением боковой группы Phe31. Расстояние между Cys33(C α) и Phe31(C γ) для протомеров дикого и мутантного типа составляло ~9,0 и 5,5 Å соответственно. Эти конформации стабильно поддерживались.

Ключевые слова: МД-моделирование, инозинтрифосфат пирофосфатаза, мутантные гомо- и гетеродимерная P32T формы фермента.

В физиологических условиях нуклеотиды подвергаются химическим модификациям. Основной тип химических модификаций пуринов – это дезаминирование пуриновых оснований. Дезаминирование аденина по С6 или гуанина по С2 приводит к образованию гипоксантина или ксантина соответственно. Гипоксантин в составе нуклеотида, т.е. гипоксантинрибозид, называется инозином. Неканонические нуклеотиды могут накапливаться в пуле нуклеотидов и включаться в ДНК и РНК, приводя к изменению генетической информации и структуры нуклеиновых кислот. Живые организмы имеют специфические ферменты (нуклеозидтрифосфат пирофосфогидролазы) для гидролиза таких неканонических нуклеозидтрифосфатов до нуклеозид монофосфатов и пирофосфата и таким образом выводят их из метаболических процессов.

Нуклеозидтрифосфат пирофосфогидролаза консервативна и у разных организмов имеет схожую структуру. Фермент человека инозинтрифосфат пирофосфатаза (hITPA – human Ino-

sine Triphosphate Pyrophosphatase) представляет собой гомодимер (аминокислотный остаток 194) объемом 68,00 × 75,29 × 110,79 Å (рис. 1а). Протомер состоит из центральной платформы β -слоя и двух глобулярных кулачков (рис. 1в): нижний кулачок – $\alpha_1\beta_1\alpha_2\beta_2\alpha_3$, верхний кулачок – $\alpha_4\alpha_5\beta_4\beta_5\alpha_6$. Каждый протомер имеет независимый активный центр с участком связывания иона Mg²⁺ и субстрата инозинтрифосфата, расположенный между кулачками. Комплекс фосфатазы формируется за счет водородных связей верхних кулачков каждого протомера. У человека достаточно широко распространена мутация hITPA-P32T, наличие которой может влиять на чувствительность пациентов к лекарственным препаратам [1]. Мутация располагается в нижнем кулачке. Механизм инактивирующего действия мутации неизвестен. Выдвинуто две гипотезы: согласно первой изменения затрагивают взаимодействие верхних кулачков протомеров и влияют на формирование димера [2], согласно второй – изменения в нижнем кулачке в мутантной петле приводят к оголению гидрофобного участка и протеосомозависимой деградации полипептидной цепи [3]. Используя метод молекулярной динамики (МД), мы смоделировали конформацию трех форм

Сокращения: hITPA (human Inosine Triphosphate Pyrophosphatase) – инозинтрифосфат пирофосфатаза человека, МД – молекулярная динамика.

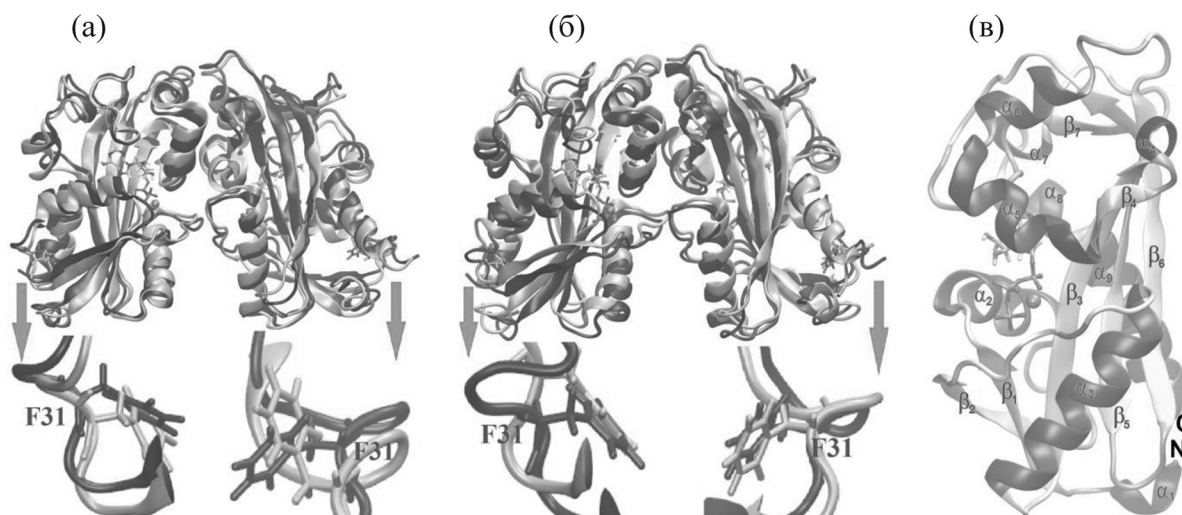


Рис. 1. Суперпозиция кристаллической (темный цвет) и равновесной (светлый цвет) структур гомодимера дикого типа hITP-P32 (а) и мутантного гомодимера hITP-P32T (б) после моделирования в течение 3 нс. Отдельно изображен фрагмент, содержащий мутантную петлю. (в) – Приведены обозначения α -спиралей и β -листов.

фермента (дикого типа, мутантного гомо- и гетеродимерного) и провели анализ структурных изменений, вызванных этой мутацией. В данной статье рассмотрено поведение трех белковых комплексов в процессе моделирования. В следующей статье будет проведен сравнительный анализ конечных структур моделирования этих белковых комплексов между собой и с кристаллическими структурами дикого и мутантного типа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для МД-расчетов использовали модуль SANDER программного пакета AMBER [4] для специализированного компьютера MDGRAPE-2 [5]. Начальную геометрию комплекса для гомодимера дикого типа задали согласно кристаллической решетке, полученной с помощью рентгеноструктурного анализа (PDB code 2J4E) (Brookhaven Protein Data Bank <http://www.pdb.org>). В молекуле выделили два протомера, левый и правый. Для получения начальной структуры мутантного гетеродимера в правом протомере осуществили замену P32T. При замене P32T в обоих протомерах получили начальную структуру мутантного гомодимера. Таким образом, моделирование осуществлялось с тремя независимыми комплексами: гомодимер дикого типа, мутантный гетеродимер и мутантный гомодимер.

Компьютерное МД-моделирование включало в себя три последовательных этапа [6]. На первом этапе осуществляли молекулярно-механическое вычисление минимума энергии кри-

сталлического состояния белка с окружающим водным раствором. Сольватацию системы проводили при помощи модели TIP3P воды в заданном сферическом объеме [7]. Для расчета длин связей, включающих только атомы водорода, использовали стандартный метод SHAKE [8]. Второй этап моделирования – нагревание системы с минимальным значением энергии от кристаллического состояния при $T = 0$ К до физиологических температур $T = 300$ К. При этом поиск структуры комплекса, которая отвечала бы минимуму энергии при $T = 300$ К, производили при очень медленном увеличении температуры, с шагом около 25 К. Третий этап – непосредственно сам процесс МД-вычисления: после доведения системы до энергетически минимизированных состояний при $T = 300$ К ($t = 0$ нс) температуру системы поддерживали постоянной (300 К) в течение 3 миллионов шагов с помощью алгоритма Берендсена со временем релаксации термостата 0,2 пс [9]. Шаг интегрирования ньютоновских уравнений движения равнялся 1 фс, а общее время моделирования составило 3 нс.

Были вычислены все атомно-молекулярные взаимодействия и траектории всех атомов. При моделировании hITP-P32 применили метод атомно-силового поля Корнелла [10]. Энергетическое состояние системы, или общий потенциал взаимодействия, соответствовал равновесному положению системы, в котором силы притяжения уравновешивались силами отталкивания [6]. Учитывали различные типы взаимодействий, стабилизирующих структуру белка:

Значения среднего $RMSD^{C\alpha,Cz}$ и $RMSD^{C\alpha}$ моделированных вариантов hTPA

Форма	Гомодимер дикого типа	Мутантный гетеродимер	Мутантный гомодимер
Значения среднего $RMSD^{C\alpha,Cz}$			
D	1,63 ± 0,26 (0,70–2,14)*	1,75 ± 0,26 (0,61–2,09)	1,65 ± 0,36 (0,55–2,33)
L	1,65 ± 0,27 (0,69–2,23)	1,70 ± 0,21 (0,69–2,19)	1,53 ± 0,38 (0,55–2,44)
R	1,62 ± 0,27 (0,72–2,10)	1,78 ± 0,37 (0,53–2,33)	1,75 ± 0,37 (0,55–2,36)
Значения среднего $RMSD^{C\alpha}$			
D	1,70 ± 0,26 (0,72–2,21)	1,82 ± 0,26 (0,65–2,18)	1,88 ± 0,38 (0,58–2,47)
L	1,70 ± 0,27 (0,69–2,33)	1,74 ± 0,21 (0,76–2,21)	1,65 ± 0,37 (0,59–2,47)
R	1,69 ± 0,28 (0,76–2,17)	1,87 ± 0,37 (0,54–2,38)	2,07 ± 0,42 (0,58–2,63)
D-**	1,53 ± 0,26 (0,67–2,02)	1,57 ± 0,25 (0,55–1,93)	1,52 ± 0,34 (0,54–2,18)
L-	1,61 ± 0,29 (0,64–2,24)	1,52 ± 0,20 (0,60–2,02)	1,46 ± 0,36 (0,52–2,37)
R-	1,45 ± 0,24 (0,70–1,90)	1,60 ± 0,37 (0,49–2,17)	1,57 ± 0,35 (0,55–2,19)

Примечания. D – димер, L – левый протомер, R – правый протомер. *В скобках приведены максимальные и минимальные значения $RMSD$. **Знак «-» указывает, что при вычислении $RMSD^{C\alpha}$ были исключены аминокислотные остатки 1–5, 27–34, и 124–129 и 182–185.

$$U(r) = \sum K_r(r - r_{eq})^2 + \sum K_\theta(\theta - \theta_{eq})^2 + \\ + \sum K_\phi(1 + \cos[n\phi - \gamma])/2 + \\ + \sum (A_{ij}/r_{ij}^{12} - B_{ij}/r_{ij}^6) + \sum q_i q_j / \epsilon r_{ij}$$

где $\sum K_r(r - r_{eq})^2$ – потенциал внутримолекулярных (валентных) связей; $\sum K_\theta(\theta - \theta_{eq})^2$ – потенциал угловых связей (вращений); $\sum K_\phi(1 + \cos[n\phi - \gamma])/2$ – потенциал диэдральных (торсионных) вращений; $\sum (A_{ij}/r_{ij}^{12} - B_{ij}/r_{ij}^6)$ – потенциал невалентных (ван-дер-ваальсовых) взаимодействий; $\sum q_i q_j / \epsilon r_{ij}$ – электростатический потенциал.

Результаты моделирования и трехмерные изображения белкового комплекса hTPA анализировали с помощью программных пакетов RasMol [11] и MOLMOL [12], а также пакета Visual Molecular Dynamics (VMD) [13].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для моделирования структуры мутантных форм белка (гомо- и гетеродимера) использовали кристаллическую структуру полного фермента с разрешением 2,8 Å (PDB accession code 2J4E) [2]. В состав белка помимо двух протомеров входили кофактор Mg^{2+} (два иона) и субстрат инозинтрифосфат (две молекулы). В живой клетке на третичную структуру белка огромное влияние оказывают взаимодействие полипептидной цепи с растворителем (водой) и температура. После сольватации проводили нагревание до 300 К и динамическое модели-

рование в течение 3 нс. На рис. 1 приведены наложения на исходную кристаллическую структуру димера дикого типа двух моделированных равновесных (3 нс) гомодимерных форм дикого типа (рис. 1а) и мутантного типа (рис. 1б). Видно, что в целом структуры совпадают.

Для характеристики основной полипептидной цепи мы рассмотрели атомы C_α , C, N. Отметим, что лежат они в одной плоскости и вращение вокруг пептидной связи CO–NH обычно сильно заторможено. При рассмотрении основной полипептидной цепи динамические модели фермента приняли равновесное состояние спустя ~0,6 нс [14]. При этом к концу моделирования наибольшие смещения $RMSD^{C\alpha,C,N}$ наблюдались у гетеродимера и меньшие – у мутантного гомодимера. Элементы вторичной структуры образуют довольно жесткий каркас, валентные колебания которого характеризуются временами 10^{-13} с и амплитудами смещения атомов до ~0,1 Å [15]. Каркас окружен значительно более подвижными боковыми группами с характерными временами микрореконформационных смещений порядка десятков наносекунд и менее и амплитудой смещения атомов ~1 Å. Для димера дикого типа наблюдались выраженные конформационные флуктуации с амплитудой ~0,5 Å и временем релаксации ~1 нс. У мутантных димеров флуктуационные движения смазаны, возрастание смещений монотонное. Через 3 нс среднеквадратичное отклонение $RMSD^{C\alpha,C,N}$ димера дикого типа и гетеродимера составляли 1,5 Å, а у мутантного гомодимера – 1,25 Å.

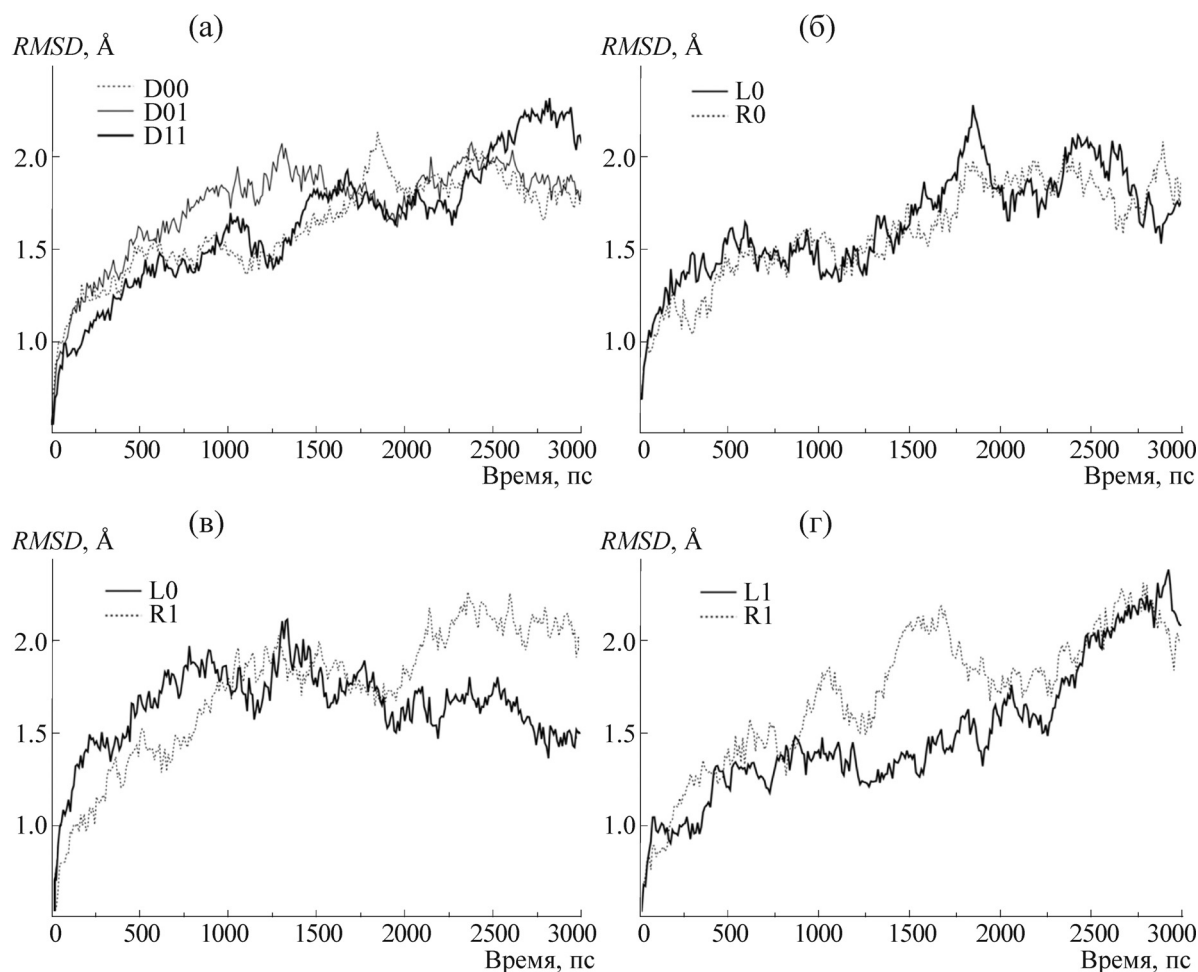


Рис. 2. Значения среднеквадратичных отклонений атомов $RMSD^{C\alpha,Cz}$ -димеров и отдельных протомеров фосфатазы hTPA. (а) – Динамика $RMSD^{C\alpha,Cz}$ -димеров фосфатазы. D00 – гомодимер дикого типа, D01 – мутантный гетеродимер, D11 – мутантный гомодимер. (б) – Динамика $RMSD^{C\alpha,Cz}$ -протомеров фосфатазы дикого типа. (в) – Динамика $RMSD^{C\alpha,Cz}$ -протомеров мутантной гетеродимерной фосфатазы. (г) – Динамика $RMSD^{C\alpha,Cz}$ -протомеров мутантной гомодимерной фосфатазы. L0, R0 – левый и правый протомеры дикого типа, L1, R1 – мутантные левый и правый протомеры.

Для оценки конформационных изменений белков, помимо атомов остова полипептидной цепи C_{α} , мы включили в рассмотрение также атомы C_{γ} , расположенные на концах боковых групп самых крупных ароматических аминокислотных остатков Phe (11×1), Tyr (6×1), Trp (2×2) и гуанидиновой группы Arg (8×1). Здесь в скобках указано количество соответствующих аминокислотных остатков в протомере, помноженное на число C_{γ} в остатке, т.е. Phe (11×1) означает, что в протомере присутствует 11 молекул фенилаланиновой аминокислоты, имеющей один атом C_{γ} . Как видно из таблицы, в результате сольватации и нагревания смещения $RMSD^{C\alpha,Cz}$ в начальной точке динамического моделирования составили 0,70, 0,61 и 0,55 Å для фермента дикого типа, мутантных гетеро- и гомодимеров соответственно. До 0,6 нс на-

блюдали равномерный рост $RMSD^{C\alpha,Cz}$ с характерной узкой шириной отклонений 0,1–0,15 Å, а после 0,6 нс, по-видимому, молекулы достигли равновесного состояния (рис. 2а). Далее вплоть до 3 нс наблюдали быстрые колебания ($< 0,2$ Å), а также конформационные флуктуации с временем релаксации 1 нс и амплитудой ~ 1 Å для всех трех типов молекул (рис. 2). При этом средние значения $RMSD^{C\alpha,Cz}$ составили для них 1,6, 1,7 и 1,6 Å соответственно. Таким образом, поведение $RMSD$ в целом схоже как при вычислении смещений остова полипептидной цепи ($RMSD^{C\alpha,C,N}$), так и при дополнительном рассмотрении боковых групп ($RMSD^{C\alpha,Cz}$), значения которых возросли на $\sim 0,1$ – $0,2$ Å.

Поскольку структура протомеров в димере может отличаться, например у гетеродимера,

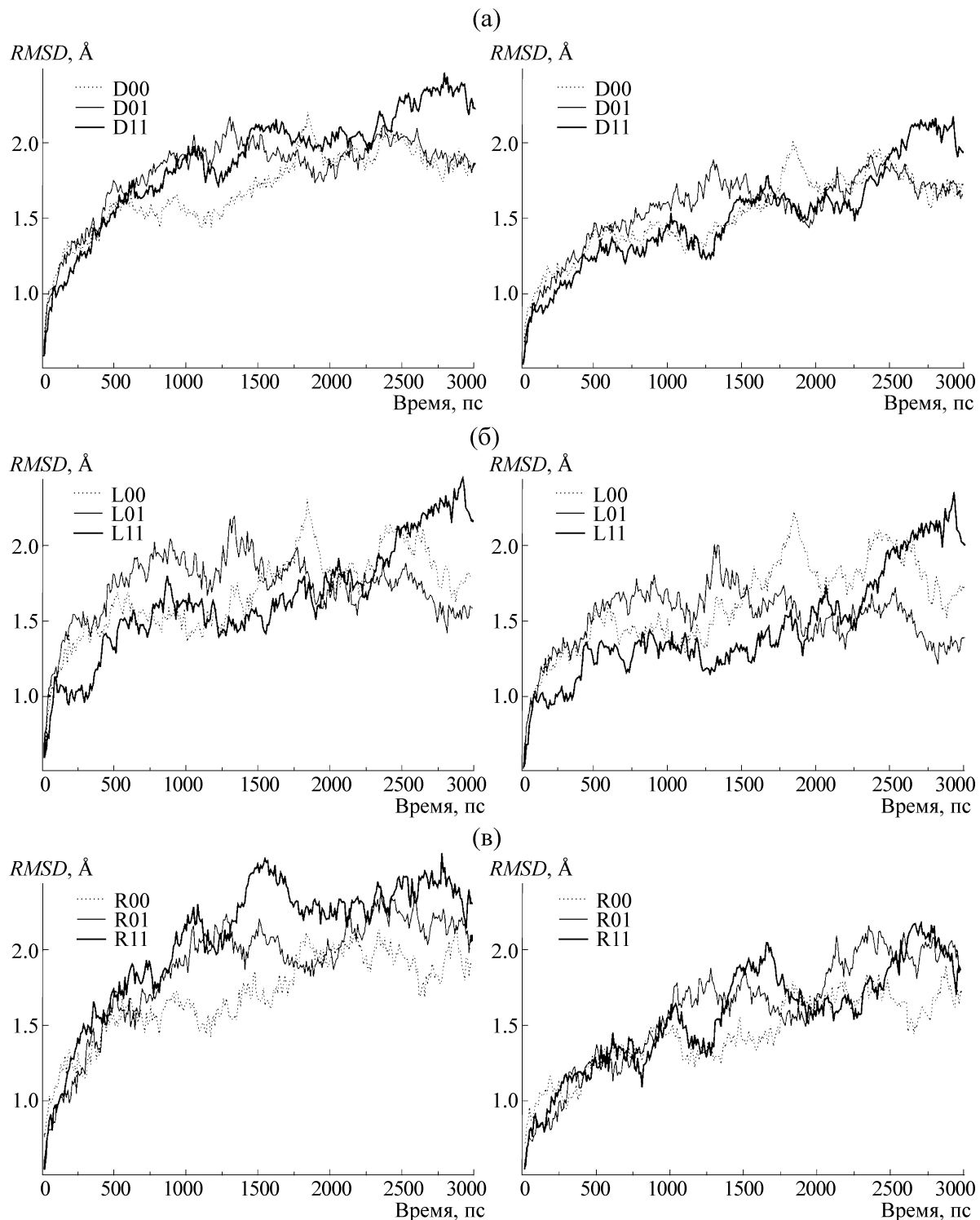


Рис. 3. Среднеквадратичные отклонения $RMSD^{C\alpha}$ -димеров (а), левых (б) и правых (в) протомеров. Приведены значения с учетом всех аминокислот (слева) и без учета аминокислотных остатков 1–5, 27–34, и 124–129 и 182–185 (справа). 00 – гомодимер дикого типа, 01 – мутантный гетеродимер и 11 – мутантный гомодимер.

мы вычислили $RMSD^{C\alpha,Cz}$ для отдельных протомеров. Динамика $RMSD^{C\alpha,Cz}$ левого и правого протомеров гомодимера дикого типа фактически совпала, наблюдались синхронные

флуктуационные движения (рис. 2б). В течение моделирования смещение левого протомера на 0,10–0,15 Å превышало смещение правого протомера, средние значения $RMSD^{C\alpha,Cz}$ составили

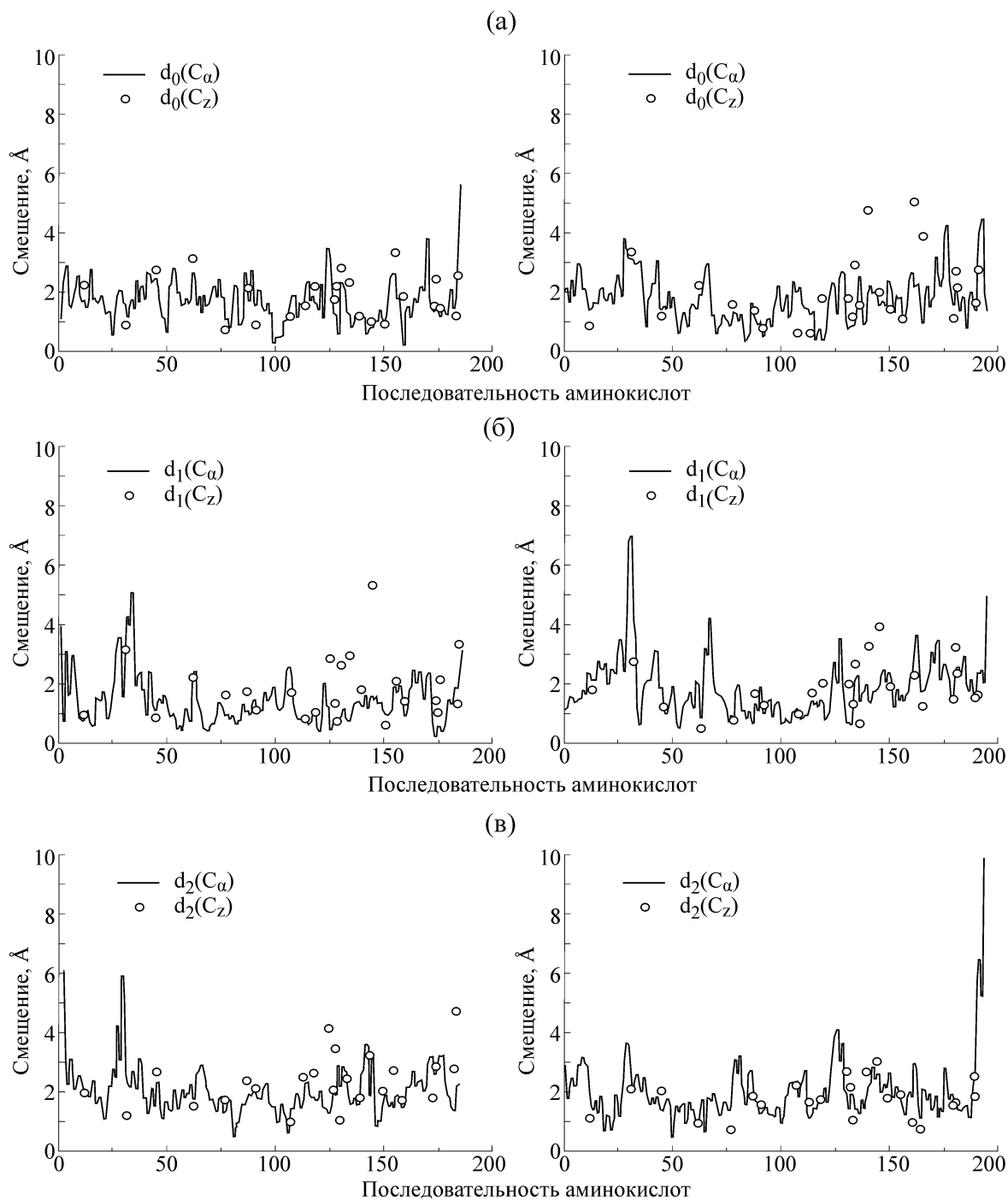


Рис. 4. Смещение атомов C_{α} основной полипептидной цепи левого (слева) и правого (справа) протомеров гомодимера дикого типа P32/P32 (а), мутантного гетеродимера P32/T32 (б) и мутантного гомодимера T32/T32 (в) в 3 не-равновесной конформации по сравнению с исходной кристаллической формой.

соответственно 1,65 и 1,62 Å (см. таблицу). В случае мутантных гетеродимера (правый протомер содержит мутацию P32T) и гомодимера (рис. 2в,г), мы наблюдали несинхронизированные флуктуационные движения, при этом $RMSD^{C_{\alpha}, C_Z}$ левого и правого протомера состав-

ляли ~1,5 Å. Таким образом, при рассмотрении отдельных протомеров также выявились флуктуационные движения, причем синхронные для протомеров дикого типа и разбалансированные для мутантных форм димера. В результате все мутантные протомеры (из мутантного гомоди-

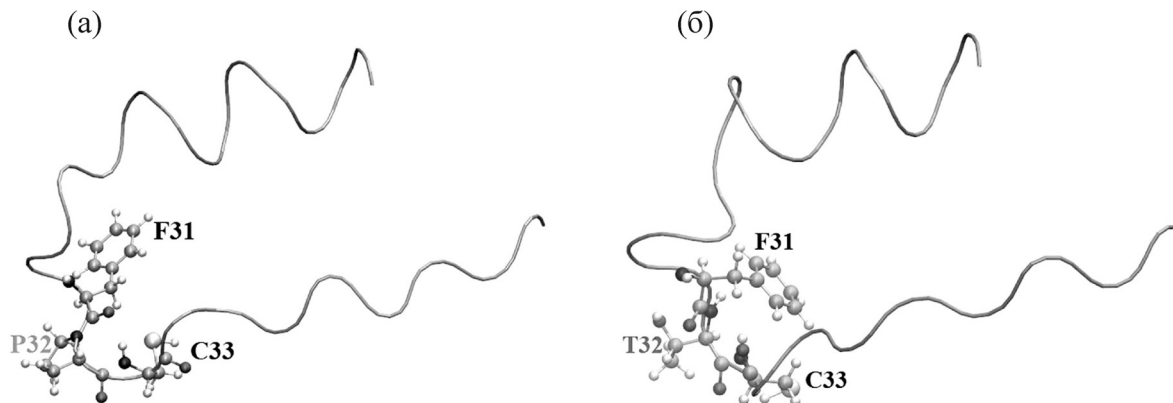


Рис. 5. Две конформации фрагмента протомера (аминокислотные остатки 20–40): (а) – левый протимер димера дикого типа; (б) – левый мутантный протимер мутантного гомодимера. Мутация Т32 оказывает влияние на конформацию соседних аминокислотных остатков F31 и С33.

мера и гетеродимера) похожи (среднее $RMSD^{C\alpha, C\beta}$ за весь период моделирования $1,78 \pm 0,37$; $1,53 \pm 0,38$; $1,75 \pm 0,37$ Å), так же как и немутантные протимеры ($1,65 \pm 0,27$; $1,62 \pm 0,27$; $1,70 \pm 0,21$ Å) из мутантного гетеродимера и гомодимера дикого типа. Та же картина наблюдается при рассмотрении конечных $RMSD^{C\alpha, C\beta}$ для мутантных (2,0, 2,0, 2,0 Å) и диких (1,75, 1,75, 1,5 Å) протимеров по результатам моделирования в течение 3 нс.

Рассмотрение средних смещений отдельно для атома C_α (рис. 3) привело к некоторому повышению значений $RMSD^{C\alpha}$ (таблица). Так, для гомодимера дикого типа среднее значение $RMSD$ составляло 1,7 Å, а для мутантных гетеро- и гомодимеров 1,8 и 1,9 Å соответственно. Причем в мутантных протимерах средние смещения атомов также выше (см. таблицу).

Анализ смещений атомов C_α и C_β вдоль полипептидной цепи в равновесной конформации в течение 3 нс по сравнению с кристаллической конформацией (рис. 4) выявил три области сильных смещений: петля между $\alpha 2$ и $\beta 2$ (область локализации мутации), петля между $\beta 5$ и $\beta 6$ и С-концевые аминокислотные остатки. У гомодимера дикого типа смещения C_α произошли более или менее равномерно, если не учитывать С-конец правого протимера. Для атомов C_α смещения, превышающие 4 Å, наблюдали в области петли между $\alpha 2$ и $\beta 2$ у обоих протимеров гетеродимера и левого протимера мутантного гомодимера и на концах белковых молекул. Для атомов C_β смещения, превышающие 4 Å, наблюдались в области петли между $\alpha 5$ и $\beta 6$ для протимеров дикого типа и одного из протимеров мутантного гомодимера. При исключении из вычислений $RMSD^{C\alpha}$ аминокислотных остатков (1–5, 27–34, и 124–129

и 182–185), имеющих наибольшие отклонения, средние значения понизились, но несущественно (см. таблицу и рис. 3).

Из рис. 1 видно, что структура петли, в которой локализована мутация, подверглась сильному изменению. Гидрофобный остаток Phe31, локализованный в петле между вторичными элементами структуры $\alpha 2$ и $\beta 2$, имел две конформации: «схлопнутую» (С) и «развернутую» (Р), отличающиеся положением боковой группы фенилаланина (рис. 5). У дикого типа наблюдается комбинация конформаций протимеров СР, у гетерозиготы – РС, у гомозиготного мутанта – СС. Причем исходно в кристалле в обеих субъединицах Phe31 находился в С-конформации (рис. 1).

Для характеристики событий, происходящих в петле при компьютерном моделировании, для каждой субъединицы отдельно мы оценили положение окружающих мутацию аминокислотных остатков, а именно расстояние между атомом C_α соседнего аминокислотного остатка Cys33 и углеродными атомами C_α и C_β остатка Phe31. Как видно из рис. 6, расстояние между C_α не изменилось для всех протимеров и составило $\sim 5,5$ Å, а в исходной кристаллической форме оно равнялось 5,1 Å.

Однако боковая группа остатка Phe31 в правом протимере дикого типа развернулась вскоре после начала моделирования (~ 250 пс), и расстояние Phe31(C_α)–Cys33(C_β) увеличилось почти в два раза – до ~ 9 Å – и поддерживалось стабильным на протяжении всего процесса моделирования. В протимере дикого типа (левый) у гетеродимера также наблюдали изменение положения боковой группы Phe31, которое, по-видимому, произошло в процессе сольватации и к моменту $t = 0$ нс приняло стабильное положение. Затем на протяжении всего этапа

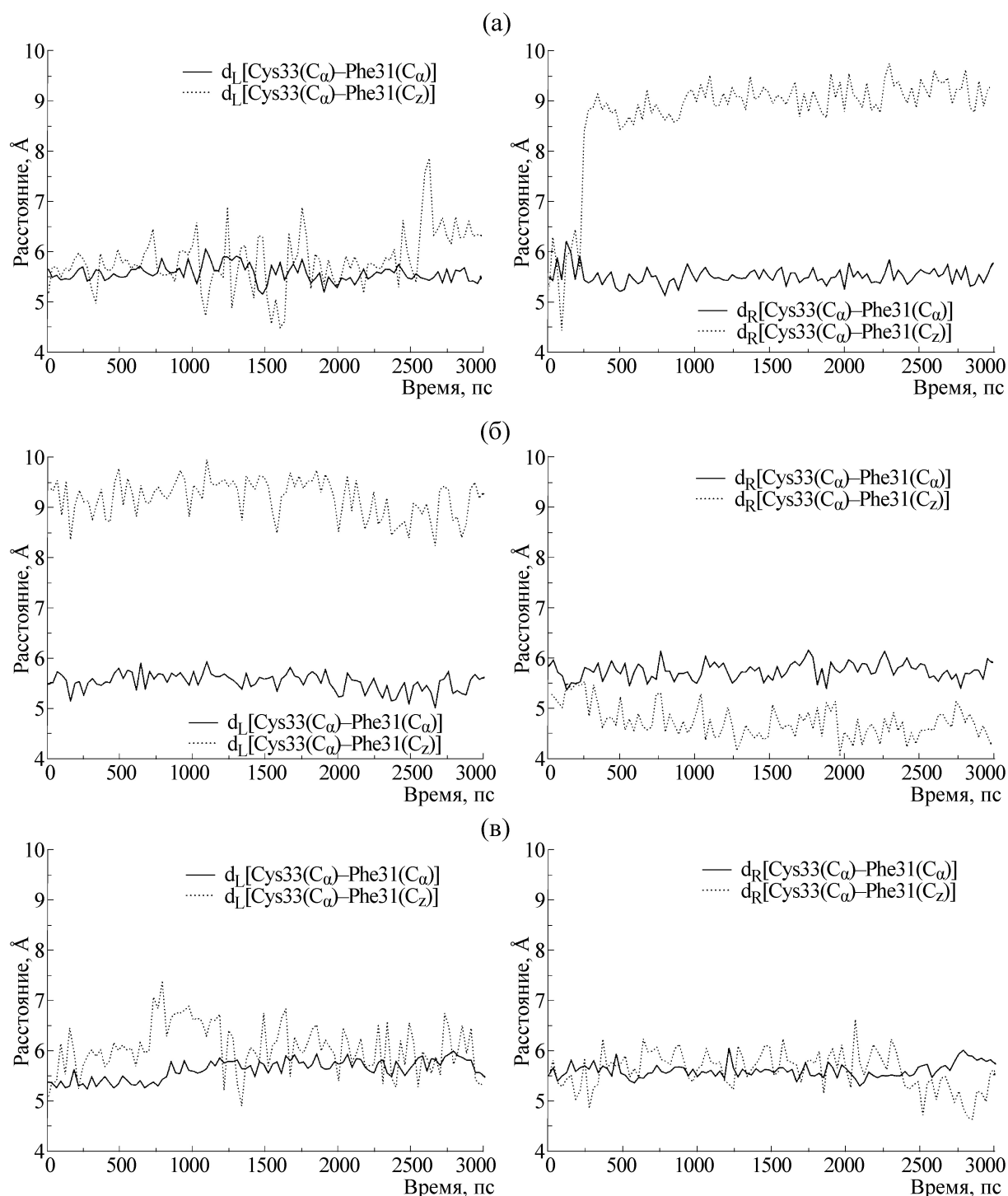


Рис. 6. Расстояния между атомами Cys33(C α)–Phe31(C α , C γ) левого (слева) и правого (справа) протомеров гомодимера дикого типа (P32/P32) (а), мутантного гетеродимера (P32/T32) (б) и мутантного гомодимера (T32/T32) (в).

моделирования до 3 нс расстояние ~ 9 Å между Phe31 (C α) и Cys33 (C γ) сохранялось. Однако в левом протомере димера дикого типа расстояние было крайне нестабильно и менялось в диапазоне 4,5–8,0 Å (рис. 6). Можно предпо-

ложить, что в левом протомере дикого типа положение Phe31 пока не успело проскочить через флуктуирующую щель и принять равновесную конформацию.

В протомерах мутантного типа расстояние до боковой группы Phe31 менялось мало и составило $\sim 5,5$ Å. Хотя в мутантном протомере у гетеродимера расстояние все-таки несколько меньше (~ 1 Å), а левый протомер гомодимера был нестабилен и расстояние сильно менялось, доходя до $7,5$ Å. Полученные данные подтверждают подвижность боковой группы Phe31.

ОБСУЖДЕНИЕ

Показано, что в течение моделирования (3 нс) димер дикого типа флуктуировал скоординированно, наблюдались 1 нс волны. При этом среднее смещение остова полипептидной цепи $RMSD^{C\alpha}$ составило $1,7$ Å. Протомеры в мутантных димерах флуктуировали нескоординированно, и средние смещения составили 2 Å. Включение в рассмотрение боковых групп крупных аминокислотных остатков ($RMSD^{C\alpha, C\beta}$) не повлияло на величину смещения атомов. Анализ смещений отдельных аминокислотных остатков выявил три области сильных изменений в процессе моделирования: петля между $\alpha 2$ и $\beta 2$ (область локализации мутации), петля между структурами $\beta 5$ и $\beta 6$ и С-концевые аминокислотные остатки. Однако исключение этих аминокислотных остатков не привело к резкому снижению $RMSD^{C\alpha, C\beta}$. Сильные отклонения отдельных аминокислотных остатков, по-видимому, теряются на фоне конформационного движения белковой молекулы. Таким образом, вычисление $RMSD$ для всего димера не является информативным при рассмотрении мутационных изменений конформации белка.

В результате компьютерного моделирования нами рассмотрены три белковых комплекса, которые можно рассматривать как совокупность из шести протомеров (три дикого типа и три мутантных). Поскольку протомеры в белковом комплексе взаимодействуют только в небольшой области в верхнем кулачке, а мы рассматриваем мутацию в нижнем кулачке, максимально удаленную от верхнего кулачка, то с некоторой долей условности можно считать протомеры независимо смоделированными. Количественный анализ параметров петли подтверждает правомерность такой условности. Более детальный анализ петли между вторичными элементами $\alpha 2$ и $\beta 2$, в которой локализована

мутация Phe31-Pro32Thr-Cys33, выявил скачкообразное изменение расстояния между Cys33($C\alpha$) и Phe31($C\beta$) в протомерах дикого типа, никак не обнаруживаемое при вычислении $RMSD^{C\alpha, C\beta}$. Можно выделить две стабильные конформации, разные для протомеров дикого и мутантного типов. В дальнейшем для характеристики стабильных положений требуются вычисления торсионных углов, необходим также анализ других различающихся областей белковых молекул.

Авторы выражают признательность директору Лаборатории радиационной биологии профессору Е.А. Красавину за поддержку работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. J. Bierau, M. Lindhout, and J. A. Bakker, *Pharmacogenomics* **8**, 1221 (2007).
2. P. Stenmark, P. Kursula, S. Flodin, et al., *J. Biol. Chem.* **282**, 3182 (2007).
3. P. D. Simone, L. R. Struble, A. Kellezi, et al., *J. Struct. Biol.* **182**, 197 (2013).
4. D. C. Case, T. E. Cheatham III, T. Darden, et al., *J. Comp. Chem.* **26**, 1668 (2005).
5. R. Susukita, T. Ebisuzaki, B. G. Elmegreen, et al., *Comput. Phys. Commun.* **155**, 115 (2003).
6. Kh. T. Kholmurodov, *PEPAN Lett.* **6**, 87 (2005).
7. W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, and J. D. Madura, *J. Chem. Phys.* **79**, 926 (1983).
8. J. P. Ryckaert, G. Ciccotti, and H. J. C. Berendsen, *J. Comput. Phys.* **23**, 327 (1997).
9. H. J. C. Berendsen, J. P. M. Postma, W. F. van Gunsteren, et al., *J. Chem. Phys.* **81**, 3684 (1984).
10. W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **117**, 5179 (1995).
11. R. A. Sayle and E. J. Milner-White, *Trends Biochem. Sci.* **20**, 374 (1995).
12. R. Koradi, M. Billeter, and K. Wuthrich, *J. Mol. Graphics* **4**, 51 (1996).
13. W. Humphrey, A. Dalke, and K. Schulten, *J. Molec. Graphics.* **14**, 33 (1996).
14. Э. Душанов, Х. Холмуродов и Н. Колтовая, в сб. *Материалы III Международной научной Интернет-конференции «Математическое и компьютерное моделирование в биологии и химии»* (Казань, 2014), сс. 51–56. http://www.paxgrid.ru/conference/new_conf_pages.php?proceedings&c=chembiomod2014.
15. К. В. Шайтан, *Сорос. образов. журн.* **5**, 8 (1999).

Simulation of Mutant P32T Homo- and Heterodimers of Human Inosine Triphosphate Pyrophosphatase hITPA

E.B. Dushanov, Kh.T. Kholmurodov, and N.A. Koltovaya

Joint Institute for Nuclear Research, ul. Joliot-Curie 6, Dubna, Moscow Region, 141980 Russia

The structure of three forms of a dimeric enzyme, human inosine triphosphate pyrophosphatase, is considered to identify the enzyme conformation changes causing the inactivation effect of a P32T mutation. Analysis of a nanosecond molecular dynamics is performed; the mean square deviations of the atoms between the wild-type and mutant homodimers, and also the heterodimer are calculated. A 3 ns modeling shows a greater displacement of atoms in mutant protomers. During molecular dynamics simulation, the strongest changes are observed in the loop between $\alpha 2$ and $\beta 2$ (amino acid residues 28–33, an area of the P32T mutation), the loop between $\beta 5$ and $\beta 6$, and the C-terminal amino acid residues. The loop between $\alpha 2$ and $\beta 2$ has two conformations characterized by different positions of the Phe31 aromatic group. The distance between Cys33 (C_α) and Phe31 (C_2) for wild-type and mutant protomers was ~ 9 and 5.5 Å, respectively. These conformations were kept constant.

Key words: molecular dynamics simulation, inosine triphosphate pyrophosphatase, mutant homo- and heterodimeric P32T enzymes