

Колесников Роман Сергеевич, студент кафедры ИУ4-КФ «Программное обеспечение, информационные технологии», КФ МГТУ им. Н.Э. Баумана,

Мьо Тху Чжо, студент кафедры ИУ4-КФ «Программное обеспечение, информационные технологии», КФ МГТУ им. Н.Э. Баумана,

Ткаченко Анастасия Владимировна, студент кафедры ИУ4-КФ «Программное обеспечение, информационные технологии», КФ МГТУ им. Н.Э. Баумана,

Рыбкин Сергей Владимирович, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры ИУ4-КФ «Программное обеспечение, информационные технологии», КФ МГТУ им. Н.Э. Баумана

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ПЛАВЛЕНИЯ РНК С ПОМОЩЬЮ МОДЕЛИРОВАНИЯ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

Аннотация: В данном исследовании применяются имитационные подходы к исследованию микроскопических деталей во время процесса плавления РНК. В исследовании настраивается температура, концентрация ионов, а также приостанавливается прогресс и увеличивается масштаб, для наблюдения за детализированным изменением структуры. Для генерации кривой плавления выполняется зависимое от концентрации ионов концентрация крупнозернистого MD и сравнивается с экспериментальными данными Crothers, также выполняется атомистическое моделирование MD с эмпирическим силовым полем, например CHARMM и AMBER, для проверки определенных деталей, которые доступны только с разрешением моделирования.

Ключевые слова: белок, РНК, моделирование молекулярной динамики, процесс свертки.

Abstract: In this study, simulations are used to study microscopic details during the melting process of RNA. The study adjusts the temperature, the concentration of ions, and also stops the progress and increases the scale to monitor the detailed structure changes. To generate a melting curve, a concentration of coarse MD depends on the concentration of ions and is compared with the experimental data of Crothers, also an atomistic simulation of MD with an empirical force field, for example CHARMM and AMBER, is carried out to check certain parts that are available only with modeling permission.

Keywords: protein, RNA, molecular dynamics simulation, folding, Go-Type, TIS.

Введение

Были созданы модели тРНК для проведения термодинамическое моделирование и установлена смоделированная кривая плавления экспериментальными данными [1] и предсказаны возможные пути их сгибания

Было проведено моделирование методами молекулярной динамики (МД) с различными параметрами для получения траекторий разных видов тРНК и сравнения с экспериментальными данными.

В дополнение к экспериментам и симуляции крупнозернистого TIS-модели было выполнено моделирование атомарного эмпирического силового поля для всех разработанных моделей РНК.

В статье рассматривается использование МД-моделирования для исследования процесса складывания тРНК. Оценено влияние параметров моделирования на процесс складывания. Данные МД-моделирования сравнивались с экспериментальными данными из базы данных Crothers.

Модельная структура

В исследовании Crothers et al была измерены денатурирующие кривые *E.coh* tRNA^{Phe}, *E.coh* tRNA^{Tyr} и *E.coh* tRNA^{TMet}. Симуляция требует собственных структур этих тРНК. Нативная структура *E.coh* tRNA^{TMet} (PDB:

2FMT) и дрожжей tRNA^{Phe} (PDB: 1EHZ можно найти в PDB, тогда как нативные структуры *E.coh* tRNA^{Tyr} and *E.coh* tRNA^{Phe} должны быть смоделированы.

Был использован метод генерации отсутствующей структуры из известных структур [2]. Во-первых, нужно сравнить последовательности и структуры известных тРНК.

тРНК являются относительно малыми молекулами даже в семействе РНК. Их типичная длина составляет около 76 нуклеотидов. Их RMSD были вычислены с помощью программы VMD (Visual Molecular Dynamics) [2] и помещены в таблицу 1.

	tRNA ^{Phe}	tRNA ^{fMet}	tRNA ^{Tyr}	tRNA ^{Cys}
tRNA ^{Phe}	100.0	58.1	56.9	67.2
tRNA ^{fMet}	58.1	100.0	58.7	73.1
tRNA ^{Tyr}	56.9	58.7	100.0	58.3
tRNA ^{Cys}	67.2	73.1	58.3	100.0

Таблица 1 – Процент сходства тРНК.

Тем не менее, все они принимают вторичную структуру формы клевералюста и третичную структуру формы L.

Теперь можно использовать структуру известных тРНК в качестве шаблона и наследовать последовательность неизвестных тРНК. Программное обеспечение, используемое для потоковой передачи, - VMD [3]. Используются две молекулы с одинаковой третичной структурой, но с разными последовательностями. Были использованы структура дрожжей tRNA^{Phe} и последовательность of *E.coli* tRNA^{Phe} для генерации модели *E.coli* tRNA^{Phe} и использована структура дрожжей tRNA^{Phe}, и последовательность *E.coli* tRNA^{Tyr} для генерации модели *E.coli* tRNA^{Tyr}

Для tRNA^{Phe}, tRNA^{Tyr} и tRNA^{fMet}, было проведено термодинамическое моделирование и установлена смоделированная кривая плавления экспериментальными данными Янга и Кротера [4] и предсказаны возможные

пути их сгибания. Для tRNA^{Cys}, был использован *E.coli* tRNA^{Cys} (PDB: 1U0B) и были получены те же самые выводы.

Настройка параметров

Хотя траектория координат может обеспечить полное знание нашей симуляции, она слишком избыточна, чтобы показать большую картину. Поэтому необходимо выбрать правильный параметр порядка, чтобы указать статус системы. Выберем долю нативных контактов Q = качестве параметра порядка. Q равно 1, представляет собой нативную структуру, а меньшая денатурация может использоваться для сравнения с экспериментальной денатурирующей кривой, в которой используется фракция, расплавленная как параметр порядка. Здесь a - фиктивный параметр для фиксации асимптотики, когда Q близок к нулю. Физический смысл может быть свойством решения или фактором поглощения при обнаружении сигналов спектра [4].

Для отдельной основы / петли тРНК также был определен параметр Q , поэтому можно исследовать устойчивость каждой вторичной области. Распределение Q -композиции дает меру для вычисления свободной энергии каждого стебля / петли, которая используется для отображения возможных путей сгибания в моделировании.

Моделирование атомных эмпирических силовых полей с использованием AMBER и CHARMM

В дополнение к экспериментам и симуляции крупнозернистого TIS-модели было выполнено моделирование атомарного эмпирического силового поля для всех вышеперечисленных тРНК, i.e., tRNA^{Phe}, tRNA^{Tyr}, tRNA^{fMet} и tRNA^{Cys}. Используются два метода: программный пакет NAMD с силовым полем CHARMM27 и AMBER s99b0. Основы шаблона тРНК были заменены на базы моделируемых тРНК, используя программу MutateNA.pl из инструментария MMTSB. Таким образом, мы приобрели атомистические координаты необходимых молекул тРНК.

Для каждой тРНК использовались 5 наборов траекторий 30 нс. На этапе установки молекула тРНК центрируется в кубической ячейке с растворителем. Молекулы воды были смоделированы с помощью модели воды TIP3P, и никакая молекула воды не находилась в пределах 1.6Å от головного атома тРНК (С, О, N, Р и т. Д.). Размер ящика для растворителя определяется таким образом, чтобы поддерживать, по меньшей мере, 10Ås-растворимый буфер, окружающий молекулу тРНК. Ионы натрия и хлорида должным образом добавляются в растворитель при общей концентрации ионов в соответствии с экспериментальной средой Crothers. Значения концентрации ионов показаны в таблице 2.

tRNA	tRNA ^{Phe}	tRNA ^{Met}	tRNA ^{Tyr}	tRNA ^{Cys}
Концентрация	0.005	0.005	0.02	0.02

Таблица 2 – значения концентрации ионов.

Моделирование было проведено с периодическими граничными условиями и обработали электростатическое взаимодействие с методом Ewald с мешалкой частиц.

Для каждой траектории система была уравновешена на 2000 шагов (около 1 нс), чтобы расслабиться до минимума энергии. Позже температура постепенно увеличивалась до целевой температуры в течение 50 нс. Температура мишени соответствует температурам плавления, наблюдаемым в экспериментах Кротера. Затем был выполнен прогон моделирования производства при заданной температуре в течение 30 нс. Было собрано 5 таких траекторий и всего 150 нс для каждой тРНК.

Хотя временной масштаб недостаточен для наблюдения за полным свертыванием, можно провести прямые сравнения с крупнозернистыми MD-моделированиями, проанализировав их эквивалентные траектории. Средние расстояния между центрами базовых пар выбираются для сравнения с расстояниями между базой и базой в моделированных затухающих симуляциях модели TIS, которые имеют эквивалентную шкалу времени в 100 нс [5; 6]. Были сравнены расстояния между базой и базой с базовыми стабилизирующими

свободными энергиями по правилам Тернера [7]. Правила Тернера используются для определения предыдущих гамильтоновых базисных терминов TIS-модели и, как предполагается, вносят большой вклад в то, что они характеризуют региональное складчатое поведение различных тРНК.

Заключение

Мы создали четыре крупнозернистых молекулы тРНК для моделирования MD. Три из них, $tRNA^{Phe}$, $tRNA^{Tyr}$ и $tRNA^{TMet}$ были изучены Crothers и сотрудниками. Среди них $tRNA^{TMet}$ имеет разрешенную структуру, тогда как $tRNA^{Phe}$ и $tRNA^{Tyr}$ имеют одинаковую структуру дрожжей $tRNA^{TMet}$. Эти тРНК были выбраны потому, что 1) структура $tRNA^{TMet}$ была экспериментально разрешена и может быть непосредственно сравнена с экспериментами без моделирования, и 2) структуры $tRNA^{Phe}$ и $tRNA^{Tyr}$ неизвестны, но их можно смоделировать с использованием дрожжей $tRNA^{Phe}$ в качестве структурной матрицы с различными последовательностями. В последнем случае можно подтвердить этот подход к моделированию, проведя прямые сравнения с экспериментами.

Библиографический список:

1. Фадеев С. И., Лихошвай В. А., Штокало Д. Н., Королев В. К. Об исследовании математических моделей матричного синтеза нерегулярных полимеров ДНК, РНК и белков // Сибирские электронные математические известия. 2010. Т. 7. С. 467-475.
2. Samuel Coulbourn Flores, Michael Sherman , Christopher M. Bruns. Fast Flexible Modeling of RNA Structure Using Internal Coordinates // IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics, 2011, Vol.8 , №5 , P. 1247 – 1257.
3. Богачева Е. Н., Богачев А. Н., Дмитриев И. Б. Построение моделей пространственной структуры белков по данным тритиевой планиграфии // Биофизика. 2011. Т. 56. № 6. С. 1024-1037.

4. Vojtěch Mlýnský, Giovanni Bussi. Exploring RNA structure and dynamics through enhanced sampling simulations // *Current Opinion in Structural Biology*, 2018, Vol. 49, P. 63-71.

5. Yongkweon Jeon, Eesuk Jung, Hyeyoung Min, Eui-Young Chung, Sungroh Yoon. GPU-based acceleration of an RNA tertiary structure prediction algorithm // *Computers in Biology and Medicine*, 2013, Vol. 43, №8, P. 1011-1022.

6. Мьо Тху Чжо, Бацева Д. А., Гуркина Е. Д., Белов Ю. С. Физико-биологические особенности структуры РНК в молекулярно-динамическом моделировании // *Актуальные вопросы науки*. 2018, № 39. С. 216-220.

7. Белов Ю. С., Маслов Е. В. Организация параллелизма в задачах молекулярной динамики // *Электронный журнал: наука, техника и образование*. 2017. №1 (10). С. 38-43. [Электронный ресурс]. - Режим доступа: URL: <http://nto-journal.ru/uploads/articles/b708792ca25bce3ed136b9cbe62eb8f7.pdf> (дата обращения 22.04.2019).