

Анализ электростатического взаимодействия димерных комплексов. I. Метод подбора ингибиторов к производным белка APP

© Т.В. Кошлан,¹ К.Г. Куликов²

¹ Санкт-Петербургский государственный университет,
199034 Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
195251 Санкт-Петербург, Россия
e-mail: kulikov.kirill.g@gmail.com

Поступило в Редакцию 27 декабря 2019 г.

В окончательной редакции 27 декабря 2019 г.

Принято к публикации 24 января 2020 г.

Представлен оригинальный метод, позволяющий получить качественную оценку способности амилоидных пептидов образовывать высокомолекулярные структуры, решать проблему стабильности амилоидных димерных комплексов при помощи введенных величин: логарифм числа обусловленности матрицы потенциальной энергии попарного электростатического взаимодействия между аминокислотными остатками и дифференциальной энтропии для случая многомерного нормального распределения, что позволило определить образование структур более высокого порядка: олигомеров, протофибрилл, фибрилл по мере достижения состояния стабильности. Таким образом, основным направлением в блокировании формирования амилоидов при образовании ими высокомолекулярных структур является обеспечение достижения амилоидами стабильного состояния на уровне димерных комплексов.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера, амилоиды, ключевые аминокислотные остатки, дифференциальная энтропия, число обусловленности.

DOI: 10.21883/JTF.2020.07.49459.427-19

Введение

Болезнь Альцгеймера (БА) является прогрессирующим необратимым неврологическим расстройством с выраженной атрофией коры головного мозга и потерей кортикальных и подкорковых нейронов, которая патологически характеризуется скоплением амилоидных бляшек и многочисленных нейрофибриллярных клубков [1].

Главными характеристиками БА, позволяющими поставить диагноз под микроскопическим исследованием, являются сенильные бляшки и сети нейрофибрилл. Наблюдается прогрессирующая и впоследствии массовая гибель нейронов и реактивный глиоз в местах образования сенильных бляшек [2].

Сенильные бляшки представляют собой фокальные сферические скопления расширенных и извитых отростков нейронов, расположенных обычно вокруг амилоидного центра. Амилоидный центр содержит патологический белок. Главный компонент амилоидного центра сенильных бляшек — белок $A\beta$, производное более крупной молекулы — APP. Аминокислотные последовательности двух основных разновидностей белка $A\beta$, обозначаемых $A\beta_{40}$ и $A\beta_{42}$, имеют одинаковый N-концевой участок и отличаются на 2 аминокислотных остатка в C-концевом участке. Другие белки, присутствующие в сенильных бляшках, малочисленны [2].

Перейдем к более подробному рассмотрению амилоидов. Было обнаружено, что $A\beta$ -амилоид состоит из более чем 40 аминокислот, связанных вместе, сенильные

бляшки представляют собой отвердевшую агрегацию $A\beta$ -амилоида.

В 1987 г. группа во главе с Jie Kang et al. в Германии идентифицировала белок-предшественник амилоида (APP) [3]. Было обнаружено, что APP присутствует в клетках головного мозга, а $A\beta$ -амилоид представляет собой фрагмент APP, расщепляемый ферментами. Они также обнаружили, что APP был трансмембранным белком. Более того, было обнаружено, что ген APP находится на 21 хромосоме [3]. Эта идентификация APP привела к появлению амилоидной гипотезы [4–6].

Патологический процесс может быть объяснен амилоидопатией. $A\beta$ является высоко когезивным белком с молекулярной массой приблизительно 4000 кДа, формирует старческие бляшки и цереброваскулярные амилоиды. APP представляет собой трансмембранный белок типа I и расщепляется A -секретазой, β -секретазой и γ -секретазой.

Однако $A\beta$ образуется поэтапным расщеплением β -секретазой и γ -секретазой. При этом продуцируется два основных молекулярных вида $A\beta$: $A\beta_{40}$, который имеет 40 аминокислотных остатков, и высоко когезивный $A\beta_{42}$, который на два аминокислотных остатка длиннее и откладывается на ранней стадии, образует сенильные бляшки, которые являются характерными патологическими изменениями. При этом $A\beta$ либо откладывается в межклеточном пространстве церебральной паренхимы с образованием сенильных бляшек или откладывается на стенке мозга и образует амилоидную ангиопатию [3].

Церебральная амилоидная ангиопатия связана с отложением β -амилоида в мозговых сосудах. Часто встречается в пожилом возрасте, она может вызвать спонтанное внутримозговое кровоизлияние, вносит вклад в развитие когнитивных нарушений, способствует возникновению геморрагических осложнений антитромботической и тромболитической терапий [4].

Разработанный в настоящей работе метод позволит анализировать вклад каждого аминокислотного остатка $A\beta_{(1-40)}$ и $A\beta_{(1-42)}$ в стабильность димерных комплексов и их склонности вступать в биохимические реакции до образования олигомеров, фибрилл, амилоидов.

Предполагается, что образования структур более высокого порядка (олигомеров, протофибрилл, фибрилл, амилоидов) происходит по причине недостаточной стабильности димеров с учетом $A\beta$ -пептидов и таким образом наращивание структуры будет происходить до достижения максимального уровня стабильности биохимическим комплекса.

В настоящей работе будет оцениваться стабильность димерных комплексов посредством создания градуировочной шкалы, которая будет характеризовать величину стабильности образованных димеров при участии $A\beta$ -пептидов с различными миссенс мутациями.

В качестве критериев, определяющих стабильность димерного комплекса, мы будем использовать:

1. Мету изменения энтропии (ΔH).
2. Число обусловленности матрицы, элементы которой являются потенциальные энергии электростатического взаимодействия между попарно взятыми аминокислотными остатками белков. В данной физической постановке задачи оно будет характеризовать степень устойчивости конфигурации биологического комплекса. При этом для выбора более устойчивого биохимического соединения между белками мы выбираем матрицу потенциальной энергии электростатического взаимодействия с **наименьшим** значением $\lg(\text{cond}(w))$ [8–10].

Настоящая работа состоит из несколько частей. Первая часть работы посвящена выводу формулы вычисления дифференциальной энтропии для случая нормального распределения и определение ее меры изменения. Во второй части работы представлены результаты численных расчетов. В заключении приведены основные выводы.

1. Дифференциальная энтропия для многомерного нормального распределения

Предположим, что случайный вектор $\mathbf{Y} = (Y_1, Y_2, \dots, Y_m)$ имеет многомерное нормальное распределение с плотностью распределения

$$f_{\mathbf{Y}}(\mathbf{x}) = \frac{1}{(2\pi)^{\frac{m}{2}} |\Sigma|^{\frac{1}{2}}} \exp \left[-\frac{1}{2} (\mathbf{x} - \mathbf{a})^T \Sigma^{-1} (\mathbf{x} - \mathbf{a}) \right], \quad (1)$$

и ковариационной матрицей

$$\Sigma = [\sigma_{Y_i, Y_j}]_{m \times m} = \begin{pmatrix} \sigma_{Y_1}^2 & \text{cov}(Y_1, Y_2) & \dots & \text{cov}(Y_1, Y_m) \\ \text{cov}(Y_2, Y_1) & \sigma_{Y_2}^2 & \dots & \text{cov}(Y_2, Y_m) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \text{cov}(Y_m, Y_1) & \text{cov}(Y_m, Y_2) & \dots & \sigma_{Y_m}^2 \end{pmatrix}, \quad (2)$$

где $|\Sigma|$ — определитель матрицы Σ , $\mathbf{a} = (a_1, a_2, \dots, a_m)^T$ — вектор математических ожиданий, $\sigma_{Y_i}^2$ — дисперсия, $i = \overline{1, m}$.

Теорема. Пусть Σ — ковариационная матрица случайного нормально распределенного вектора \mathbf{Y} , определенная выражением (2). Тогда энтропия вектора \mathbf{Y} есть

$$H(\mathbf{Y}) = \frac{1}{2} \ln [(2\pi e)^m |\Sigma|]. \quad (3)$$

Доказательство данной теоремы приведено в [11].

Вычисление дифференциальной энтропии по формуле (3) представляет собой достаточно сложную вычислительную задачу, так как при ее подсчете необходимо знать ковариации между всеми компонентами, составляющими случайный вектор (Y_1, Y_2, \dots, Y_m) . Однако существует возможность преодоления указанной трудности с помощью ортогонального преобразования.

Возможность ортогонального преобразования базируется на симметричности и положительной знакоопределенности матрицы Σ , которое означает, что для любого ненулевого вектора \mathbf{u} матричное произведение вида

$$\mathbf{u} \Sigma \mathbf{u}^T \geq 0. \quad (4)$$

Рассмотрим выражение

$$\Sigma = \mathbf{M} [(\mathbf{Y} - \mathbf{a})^T (\mathbf{Y} - \mathbf{a})]. \quad (5)$$

Подставим (5) в (4), тогда получим

$$\begin{aligned} \mathbf{u} \Sigma \mathbf{u}^T &= \mathbf{u} [\mathbf{M} [(\mathbf{Y} - \mathbf{a})^T (\mathbf{Y} - \mathbf{a})]] \mathbf{u}^T \\ &= \mathbf{M} [\mathbf{u} (\mathbf{Y} - \mathbf{a})^T (\mathbf{Y} - \mathbf{a}) \mathbf{u}^T] = \mathbf{M} [(\mathbf{u} (\mathbf{Y} - \mathbf{a})^T)^2] \geq 0, \end{aligned}$$

где \mathbf{M} — начальный момент первого порядка.

Как известно ортогонализация симметричной и знакоопределенной матрицы означает существование матрицы ортогонального преобразования \mathbf{Q} , такой, что матричное произведение $\mathbf{Q} \Sigma \mathbf{Q}^T$ дает диагональную матрицу вида

$$\Lambda = \begin{pmatrix} \lambda_1 & \dots & 0 & \dots & 0 \\ 0 & \dots & \lambda_2 & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \\ 0 & \dots & 0 & \dots & \lambda_m \end{pmatrix},$$

где λ_i — собственные числа, $i = \overline{1, m}$.

Для определителя матрицы Λ справедливо соотношение:

$$|\Lambda| = \lambda_1 \lambda_2 \dots \lambda_m.$$

Перенчень миссенс мутаций и склонность к агрегированию пептида с данными мутациями

N мутации	Склонность к агрегированию
K16N(LYS16ASN))	У гетерозиготных особей — токсичен [14]. У гомозиготных — особей не токсичен
A21G(ALA21GLY)	Низкая склонность к агрегированию [15–17]
E22G(GLU22GLY)	Образуют фибриллы с повышенной скоростью [18]
E22K(GLU22LYS)	Усиленная агрегация олигомеров [19,20]
E22Q(GLU22GLN) E22G(GLU22GLY)	Обширный амилоид L34V(LEU34VAL)) демонстрировал лаг-фазу, сравнимую с фазой wt- $A\beta_{40}$, демонстрирующей увеличение сложных структур только после трехдневной инкубации при 37°С и физиологических концентрациях соли. Однако образование олигомеров высокого массового порядка, по-видимому, происходит немного быстрее, чем для пептида wt, достигая промежуточных уровней между $A\beta_{40}$ и E22Q(GLU22GLN). После 24 h инкубации при физиологической концентрации соли wt- $A\beta_{40}$ и L34V(LEU34VAL) в основном проявляли небольшие глобулярные структуры, которые обычно предшествуют образованию протофибрилл, тогда как E22Q(GLU22GLN) демонстрировал обильные протофибриллярные компоненты [21]
G38S(GLY38SER)	Нет амилоида [22,23]

Таким образом, ортогональное преобразование исходной матрицы Σ позволяет значительно снизить вычислительную сложность задачи.

Для нахождения собственных чисел матрицы Σ может использоваться SVD (сингулярное) разложение.

Определим меру изменения энтропии (ΔH) для рассматриваемых пептидов с мутациями и пептида дикого типа с учетом выражения (3) изменение энтропии будет иметь вид

$$\Delta H = \frac{1}{2} \ln [(2\pi e)^m |\Sigma|_m] - \frac{1}{2} \ln [(2\pi e)^n |\Sigma|_n]$$

$$= \ln \left[\frac{(2\pi e)^m |\Sigma|_m}{(2\pi e)^n |\Sigma|_n} \right], \quad (6)$$

где $|\Sigma|_m$ — определитель ковариационной матрицы $\Sigma_{m \times m}$ (пептидов с мутациями) m -го порядка, которая определена выражением (2), и $|\Sigma|_n$ — определитель ковариационной матрицы $\Sigma_{n \times n}$ (пептида дикого типа) n -го порядка, которая также определена выражением (2).

Отметим, что энтропия — это мера неупорядоченности молекулярной системы. При этом беспорядочным состояниям отвечает большое значение энтропии, а упорядоченным — малое значение энтропии.

Таким образом, если процесс идет в направлении увеличения неупорядоченности системы, то величина $\Delta H > 0$, определенная выражением (6), показывает, что степень упорядоченности уменьшается относительно пептида дикого типа, если же $\Delta H < 0$, то в этом случае степень упорядоченности увеличивается относительно пептида дикого типа.

2. Результаты численных расчетов

В разд. 2 будут приведены численные результаты, полученные в ходе выполнения и обоснования новой

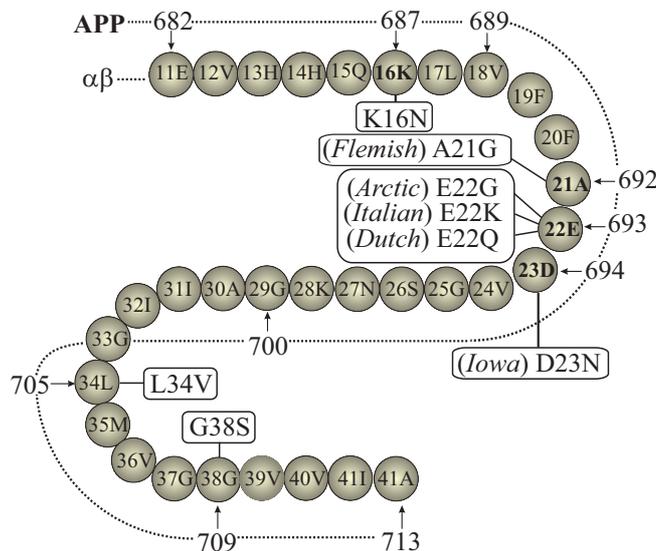


Рис. 1. Аминокислотная последовательность $A\beta_{(11-42)}$ пептида с указанием миссенс мутаций. Также приведена нумерация а.а. пептида, а также нумерация а.а. относительно белка предшественника APP.

биофизической концепции образования амилоидными пептидами структур более высокого порядка (олигомеров, протофибрилл, фибрилл, амилоидов).

Поскольку представленный в настоящей работе метод касается нового понимания в устойчивости пептидных амилоидов, приведем участок такого амилоидного пептида $A\beta_{(11-42)}$, который отвечает длине аминокислотной последовательности трехмерной структуры из базы PDB: 2MXU [5]. На рис. 1 приведена аминокислотная последовательность $A\beta_{(11-42)}$ -пептида с указанием миссенс мутаций (см. таблицу), которые влекут за собой различные биологические и патофизиологические эффекты в человеческом организме [23].

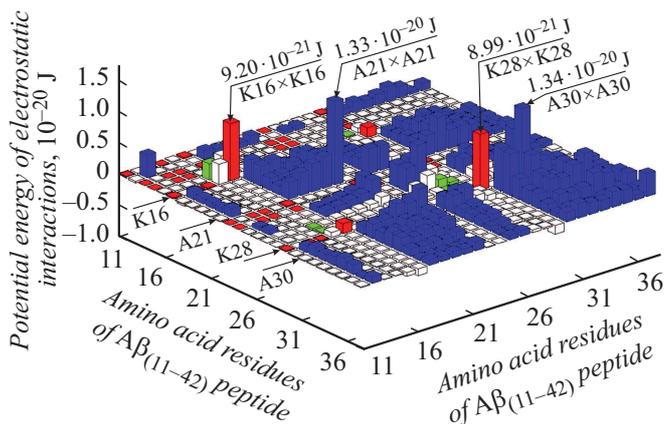


Рис. 2. Трехмерная карта потенциальной энергии электростатического взаимодействия $[wtA\beta]_2$ с указанием максимальных положительных значений.

Авторы статьи воспользовались известной трехмерной структурой из базы PDB:2MXU [12]. Из всего множества приведенных в ней пептидов было оставлено только две полипептидные цепи амилоидных пептидов. Далее была рассчитана потенциальная энергия электростатического взаимодействия между аминокислотными остатками двух амилоидных пептидов с учетом трехмерной структуры, и получена матрица потенциальной энергии электростатического взаимодействия между двумя амилоидными пептидами $wtA\beta_{(11-42)}$, построена трехмерная карта потенциальной энергии электростатического взаимодействия (рис. 2). При этом область С-конца с учетом аминокислотных остатков I41 (ILE41) и A42 (ALA42) будет рассмотрена отдельно.

3. Описание карт потенциальной энергии электростатического взаимодействия

На представленном рис. 2 видно в основном положительную область значений потенциальной энергии электростатического взаимодействия двух одинаковых амилоидных пептидов $wtA\beta_{(11-42)}$, трехмерная структура которых бралась из PDB-базы [12].

Стрелками на рисунке обозначены максимальные значения потенциальной энергии электростатического взаимодействия амилоидных пептидов в положительной области. Эти максимальные значения в основном приходятся на диагональные элементы матрицы: K16 (LYS16) со стороны первого амилоидного пептида и K16 (LYS16) со стороны второго амилоидного пептида и соответственно A21 (ALA21) со стороны I-го $wtA\beta_{(11-42)}$ и A21 (ALA21) со стороны II-го $wtA\beta_{(11-42)}$ пептида, K28 (LYS28) со стороны I-го $wtA\beta_{(11-42)}$ и K28 (LYS28) со стороны II-го $wtA\beta_{(11-42)}$ пептида, A30 (ALA30) со стороны I-го $wtA\beta_{(11-42)}$ и A30 (ALA30) со стороны II-го $wtA\beta_{(11-42)}$ пептида.

Взаимодействия A42 (ALA42) со стороны I-го $wtA\beta_{(11-42)}$ и A42 (ALA42) со стороны II-го $wtA\beta_{(11-42)}$ пептида будут рассмотрены отдельно, поскольку физические параметры взаимодействия двух $wtA\beta_{(11-42)}$ имеют некоторые отличия от физических параметров взаимодействия двух $wtA\beta_{(11-40)}$ за счет наличия двух последних аминокислотных остатков I41 (ILE41) и A42 (ALA42) со стороны С-конца амилоидных пептидов [13].

Все дальнейшие расчеты, которые будут касаться взаимодействия амилоидных пептидов, содержащие с 11-го по 42-й аминокислотный остаток (а.а.) и будут обозначаться „ $A\beta$ “ с указанием мутации „mut“ и порядкового номера а.а. (см. таблицу) или с указанием дикой формы амилоидного пептида „wt“, в котором отсутствуют замены и мутации аминокислотных остатков. Перечень мутаций приведен в таблице.

Перейдем к рассмотрению графика взаимодействия двух мутантных форм амилоидных пептидов $mutA\beta_{(K16N)}$.

На рис. 3 представлено трехмерное представление потенциальной энергии при взаимодействии двух $mutA\beta_{(K16N)}$. Стрелкой указан бар, отвечающий мутациям в двух амилоидных пептидах и соответствующая им энергия взаимодействия.

При взаимодействии амилоидных пептидов дикой формы взаимодействие K16 (LYS16) I-го $wtA\beta$ и K16 (LYS16) II-го $wtA\beta$ -пептида соответствовало величине потенциальной энергии $9.2 \cdot 10^{-21}$ J. При замере K16 (LYS16) на N16 (ASN16) происходит существенное снижение величины потенциальной энергии взаимодействия до $2.19 \cdot 10^{-22}$ J. График изменения величины потенциальной энергии при взаимодействии K16N (LYS16ASN) со всеми остальными а.а. второго пептида приведен на рис. 4.

Рассмотрим результаты взаимодействия двух мутантных форм амилоидных белков $mutA\beta_{(A21G)}$. Трехмерная

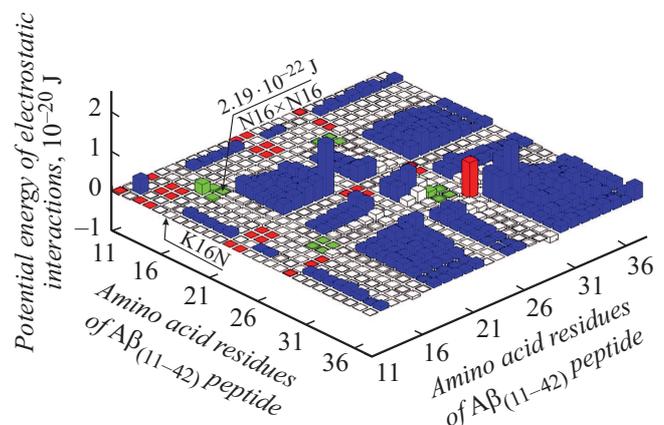


Рис. 3. Трехмерная карта потенциальной энергии электростатического взаимодействия двух мутантных форм $mutA\beta_{(K16N)}$. На карте указан столбец, отвечающий величине взаимодействия двух а.а. мутантных пептидов N16 (ASN16) и N16 (ASN16).

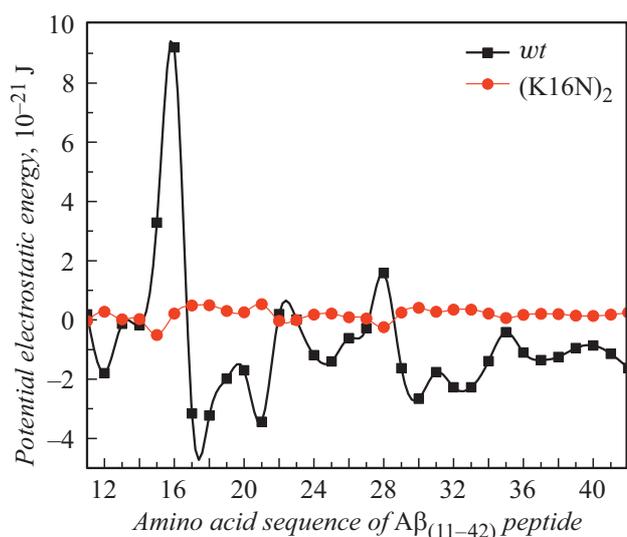


Рис. 4. Кривые потенциальной энергии электростатического взаимодействия а.а. K16(LYS16) со всеми остальными а.а. второго пептида $w_t A\beta$ (квадратики) и потенциальная энергия попарного электростатического взаимодействия между а.а. N16(ASN16) со всеми остальными а.а. второго пептида $mut A\beta_{(K16N)}$ (кружечки).

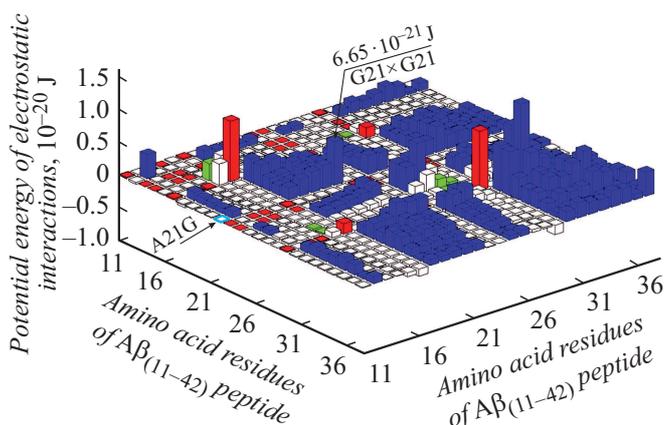


Рис. 5. Трехмерная карта величины потенциальной энергии электростатического взаимодействия двух мутантных форм $mut A\beta_{(A21G)}$. На карте обозначен столбец, отвечающий величине взаимодействия двух а.а. G21(GLY21) и G21(GLY21).

карта потенциальной энергии электростатического взаимодействия представлена на рис. 5.

При взаимодействии амилоидных пептидов дикой формы, взаимодействие A21(ALA21) I-го $w_t A\beta$ и A21(ALA21) II-го $w_t A\beta$ -пептида соответствовало величине потенциальной энергии $1.33 \cdot 10^{-20}$ J. При замене A21(ALA21) на G21(GLY21) происходит существенное снижение величины потенциальной энергии взаимодействия до $6.65 \cdot 10^{-21}$ J. График изменения величины потенциальной энергии взаимодействия A21G(ALA21GLY) со всеми остальными а.а. второго пептида приведен на рис. 6.

Для получения более наглядного представления об изменении величины потенциальной энергии при миссенс мутациях в амилоидных пептидах, приведем кривые изменения потенциальной энергии взаимодействия а.а. пептида $w_t A\beta$ и а.а. пептида $mut A\beta$, указанного в таблице, при взаимодействии с остальными а.а. таких же амилоидных пептидов (рис. 4).

На рис. 4 приведены кривые потенциальной энергии при взаимодействии K16(LYS16) (а.а. пептида дикого типа) и N16(ASN16) (а.а. пептида с миссенс мутацией) со всеми остальными а.а. полипептидной цепи.

Кривая взаимодействия $[w_t A\beta]_2$ характеризуется гораздо большими флуктуациями значений потенциальной энергии электростатического взаимодействия по сравнению с кривой $[mut A\beta_{(K16N)}]_2$. Таким образом, при замене K16(LYS16) на N16(ASN16) происходит существенное уменьшение значений потенциальной энергии.

На рис. 6 приведены кривые потенциальной энергии электростатического взаимодействия A21(ALA21) и G21(GLY21) со всеми остальными а.а. полипептидной цепи второго пептида при образовании $[mut A\beta_{(A21G)}]_2$ (кружечки) и при образовании $[w_t A\beta]_2$ (квадратики). Данные кривые практически повторяют друг друга, кривая взаимодействия пептидов дикого типа имеет несколько большие значения энергии по сравнению с кривой взаимодействия двух мутантных форм.

На рис. 7 приведены кривые изменения потенциальной энергии при взаимодействии E22(GLU22) и G22(GLY22) с а.а. полипептидной цепи второго пептида при образовании $[mut A\beta_{(E22G)}]_2$ (кружечки) и при образовании $[w_t A\beta]_2$ (квадратики). При этом кривая взаимодействия мутантных пептидов демонстрирует гораздо больший

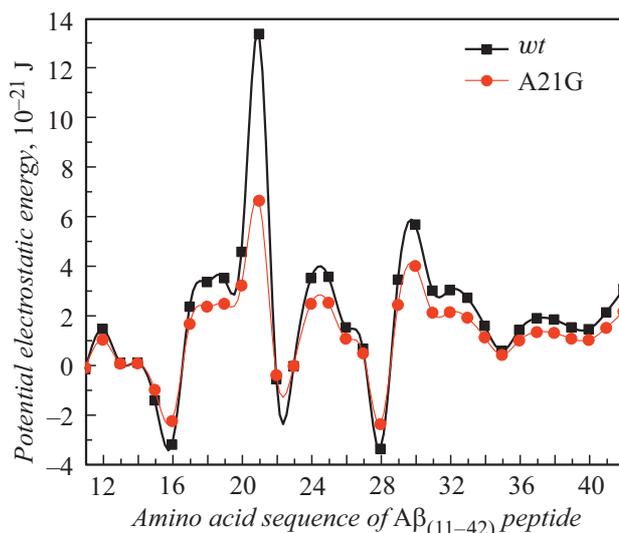


Рис. 6. Кривые потенциальной энергии электростатического взаимодействия а.а. A21(ALA21) со всеми остальными а.а. второго пептида $w_t A\beta$ (квадратики) и потенциальная энергия попарного электростатического взаимодействия между а.а. G21(GLY21) со всеми остальными а.а. второго пептида $mut A\beta_{(A21G)}$ (кружечки).

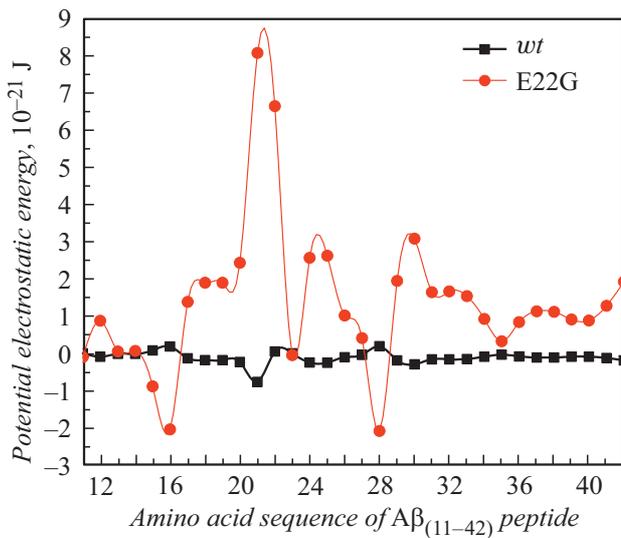


Рис. 7. Кривые потенциальной энергии электростатического взаимодействия а.а. E22(GLU22) со всеми остальными а.а. второго пептида $wtA\beta$ (квадратики) и потенциальная энергия попарного электростатического взаимодействия между а.а. G22(GLY22) со всеми остальными а.а. второго пептида $mutA\beta_{(E22G)}$ (кружечки).

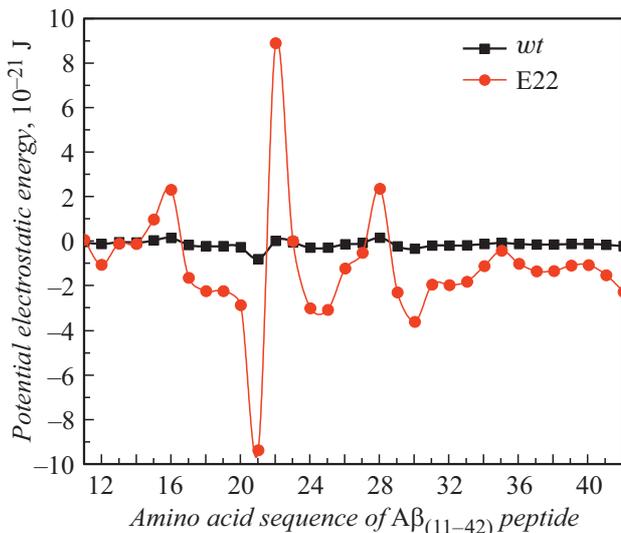


Рис. 8. Кривые потенциальной энергии электростатического взаимодействия а.а. E22(GLU22) со всеми остальными а.а. второго пептида $wtA\beta$ (квадратики) и потенциальная энергия попарного электростатического взаимодействия между а.а. K22(LYS22) со всеми остальными а.а. второго пептида $mutA\beta_{(E22K)}$ (кружечки).

разброс значений, чем кривая, полученная для кривых взаимодействия пептидов дикого типа.

На рис. 8 приведены кривые изменения потенциальной энергии при взаимодействии E22(GLU22) и K22(LYS22) с а.а. полипептидной цепи второго пептида при образовании $[wtA\beta_{(E22K)}]_2$ (квадратики) и при образовании $[mutA\beta_{(E22K)}]_2$ (кружечки).

Для численной оценки изменения диапазона потенциальной энергии электростатического взаимодействия воспользуемся понятием разности дифференциальной энтропии между взаимодействующими мутантными формами пептидов и взаимодействующими пептидами дикого типа (см. выражение (6)). При этом величина изменения энтропии будет определяться между двумя димерами.

На рис. 9 приведены значения разности дифференциальной энтропии между взаимодействиями мутантных форм амилоидных пептидов и взаимодействием амилоидных пептидов дикого типа.

Анализ расчетных данных позволяет сделать вывод, что миссенс мутации в двух взаимодействующих пептидах, в случаях E22K(GLU22LYS), E22G(GLU22GLY), K16N(LYS16ASN) приводит к тому, что степень упорядоченности уменьшается. Миссенс мутации в двух амилоидных пептидах, в случаях A21G(ALA21GLY), G38S(GLY38SER), наоборот, способствует упорядочиванию системы димера.

Также был проведен анализ стабильности димерных комплексов с учетом пептидов $A\beta$ дикого типа и с учетом пептидов с миссенс мутациями.

Ранее была получена матрица потенциальной энергии между амилоидными пептидами без мутаций и с учетом мутаций, приведенных в таблице.

Графическое представление величины устойчивости биологического комплекса приведено на рис. 10. При этом на графиках указаны наименования мутаций и

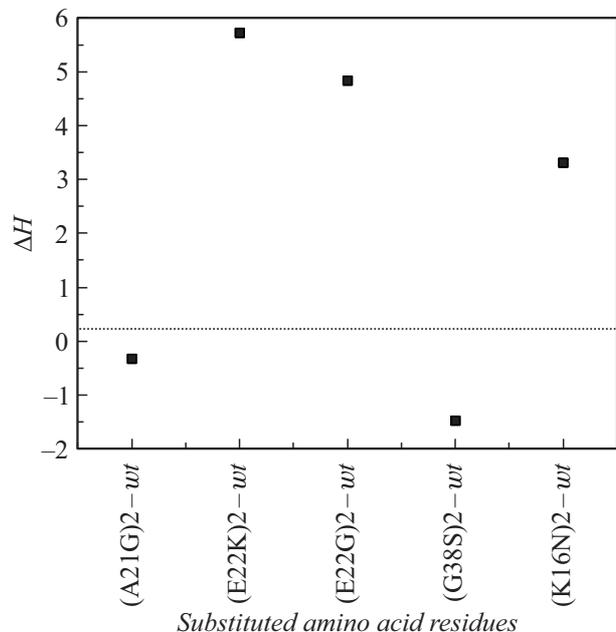


Рис. 9. График изменения энтропии при переходе системы от взаимодействия мутантных форм к взаимодействию диких форм амилоидных пептидов. При этом величина изменения энтропии (ΔH) безразмерная. Горизонтальная линия на графике определяет границу изменения энтропии: область отрицательных значений от области положительных значений.

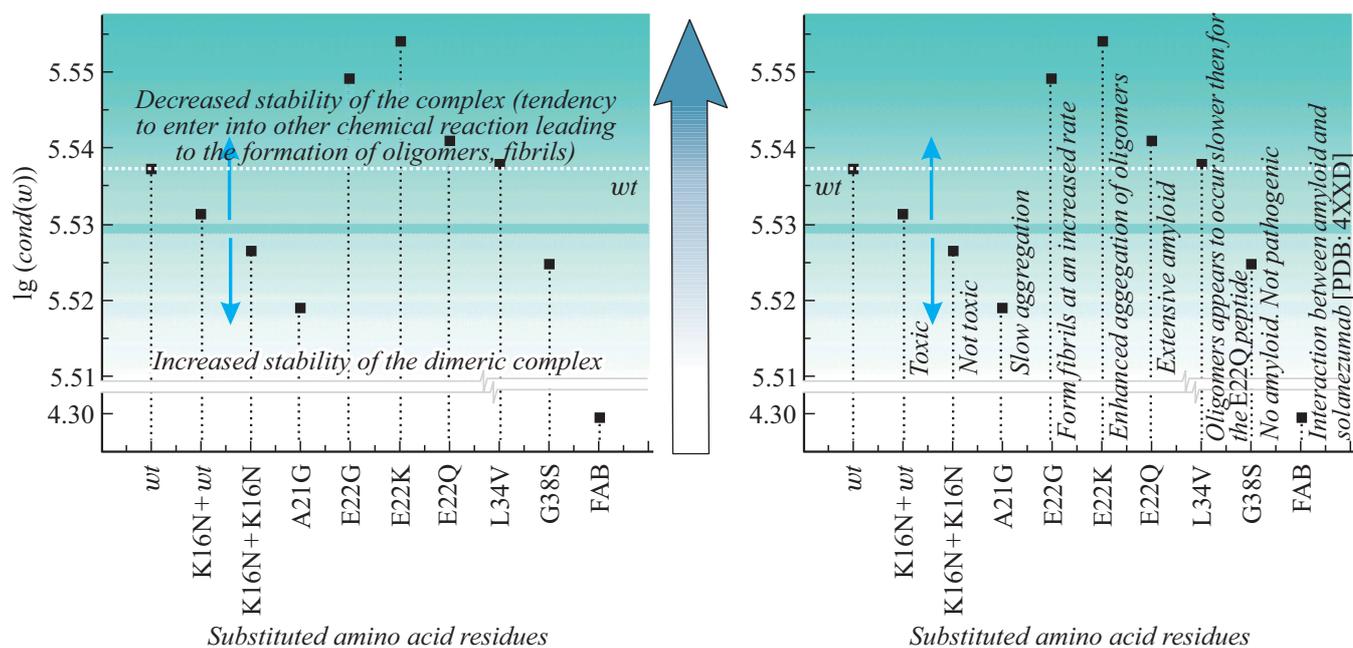


Рис. 10. График численных значений критерия стабильности ($\lg(\text{cond}(w))$), полученных при взаимодействии диких форм $w_t A\beta$ и при взаимодействии мутантных форм пептидов $m_{mut} A\beta$ из таблицы.

характер образования структур более высокого порядка. Большой стрелкой между графиками указано направление значений, характерных для образования более высокомолекулярных форм: олигомеры, протофибриллы, фибриллы. На уровне 5.53 проведена толстая черта, которая условно отделяет структуры, склонные образовывать более высокомолекулярные формы (область выше черты), и область значений, которые характеризуют пониженную склонность к образованию молекулярно „тяжелых“ структур по причине увеличения устойчивости димерных комплексов (область ниже черты). Обозначение на графике „FAB“ отвечает величине стабильности при взаимодействии участка соланезумаба (solanezumab) с амилоидным пептидом, структура в базе PDB: 4XXD [12].

На основании экспериментальных данных о миссен мутациях и их биологическом эффекте, мы ввели разделительную черту на уровне 5.53, которая будет отделять мутации в пептидах, ведущие к усиленному формированию структур более высокого порядка от мутаций в пептидах $A\beta$, обладающие пониженной способностью к образованию высокомолекулярных структур. Двумя пороговыми значениями при выборе величины 5.53 являлись взаимодействия пептидов дикого типа $A\beta$, значение величины которых $\lg(\text{cond}(w))$ составило 5.5372 и взаимодействия двух мутантных форм пептида $A\beta$ K16N(LYS16ASN), димерная форма которых не влечет за собой токсичных последствий для организма человека. В этом случае значение величины $\lg(\text{cond}(w))$ составило 5.5264. Пунктирной линией на графиках обозначено значение, полученное при взаимодействии пептидов $[w_t A\beta]_2$. Две вертикальные стрелки от линии на

уровне 5.53 указывают направление в области значений, характеризующих более низкую степень стабильности димерных комплексов (стрелка вверх) и более высокой степенью стабильности димерных комплексов (стрелка вниз). Данная градация значений получена и апробирована для трехмерного комплекса из базы PDB: 2MXU [12].

Для других трехмерных структур, таких как 5KKX, сохраняется характер распределения димеров $A\beta$ по уровням устойчивости.

Выводы

В настоящей работе был впервые предложен новый метод, дающий объяснение формированию амилоидных высокомолекулярных структур с точки зрения устойчивости амилоидных комплексов, была приведена численная градация для трехмерной структуры из PDB-базы по степени устойчивости амилоидных димеров. Была введена величина со значением равным 5.53, определяющая устойчивость биоконплекса. При этом она условно разделяла димеры с пониженной и повышенной склонностью образовывать высокомолекулярные структуры.

Величина 5.53 была найдена на основании сопоставления с экспериментальными данными по мутациям в амилоидных пептидах, их физиологических и биофизических характеристиках, способности выступать во все новые биохимические реакции.

Были получены потенциальные энергии электростатического взаимодействия между полипептидными цепями амилоидных пептидов $A\beta_{(11-42)}$, построены трехмерные карты распределения потенциальной энергии, выявлены пиковые значения в положительной области значений.

Так же следует отметить, что разработанный в работе метод дает хорошее приближение, если замены а.а. не вносят существенных изменений в структуру комплекса. Таким образом, в работе предложен новый взгляд на проблему формирования амилоидов, что позволит по-новому подойти к проблеме антиамилоидной терапии, основанной на понимании стабильности амилоидных комплексов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] *Nasica-Labouze J., Nguyen P.H., Sterpone F., Berthoumieu O., Buchete N.V., Cotù S., De Simone A., Doig A.J., Faller P., Garcia A., Laio A., Li M.S., Melchionna S., Mousseau N., Mu Y., Paravastu A., Pasquali S., Rosenman D., Strodel B., Tarus B., Viles J.H., Zhang T., Wang C., Derreumaux P.* // Chem. Rev. 2015. Vol. 115. N 9. P. 3518–3563.
- [2] *Кумар Винай, Аббас Абуль К., Нельсон Фаусто, Джон К. Астер.* Основы патологии заболеваний по Роббинсу и Котрану в 3-х томах. Т. 3. М.: Логосфера, 2016. 500 с.
- [3] *Kang J., Lemaire H.G., Unterbeck A., Salbaum J.M., Masters C.L., Grzeschik K.H., Multhaup G., Beyreuther K., Muller-Hill B.* // Nature. 1987. Vol. 325. N 6106. P. 733–736.
- [4] *Glennner G.G., Wong C.W.* // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1984. Vol. 120. N 3. P. 885–890.
- [5] *Hardy J., Allsop D.* // Trends. Pharmacol. Sci. 1991. Vol. 12. N 10. P. 383–388.
- [6] *Selkoe D., Hardy J.* // EMBO Mol. Med. 2016. Vol. 8. N 6. P. 595–608.
- [7] *Кулеш А.А., Дробаха В.Е., Шестаков В.В.* // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2018. Т. 10. № 3. С. 4–11.
- [8] *Koshlan T.V., Kulikov K.G.* Mathematical Modeling of Protein Complexes. Springer-Nature, 2018. 367 p.
- [9] *Кошлан Т.В., Куликов К.Г.* // ЖТФ. 2018. Т. 88. Вып. 8. С. 1137–1149.
- [10] *Кошлан Т.В., Куликов К.Г.* // ЖТФ. 2018. Т. 88. Вып. 8. С. 1150–1159.
- [11] *Тырсин А.Н., Соколова И.С.* // Мат. модел. 2012. Т. 24. № 1. С. 88–102.
- [12] *Protein data bank*—URL:<https://www.rcsb.org/>(дата обращения 6.12.2019).
- [13] *Tian Qiu, Qian Liu, Yong-Xiang Chen, Yu-Fen Zhao, Yan-Mei Li* // Special Issue: 13th Chinese International Peptide Symposium. 2015. Vol. 21. N 7. P. 522–529.
- [14] *Kaden D., Harmeier A., Weise C., Munter L.M., Althoff V., Rost B.R., Hildebrand P.W., Schmitz D., Schaefer M., Lurz R., Skodda S., Yamamoto R., Arlt S., Finckh U., Multhaup G.* // EMBO Mol. Med. 2012. Vol. 4. N 7. P. 647–659.
- [15] *Murakami K., Irie K., Morimoto A., Ohigashi H., Shindo M., Nagao M., Shimizu T., Shirasawa T.* // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2002. Vol. 294. N 1. P. 5–10.
- [16] *Meinhardt J., Tartaglia G.G., Pawar A., Christopeit T., Hortschansky P., Schroeckh V., Dobson C.M., Vendruscolo M., Fandrich M.* // Protein Sci. 2007. Vol. 16. N 6. P. 1214–1222.
- [17] *Huet A., Derreumaux P.* // Biophys. J. 2006. Vol. 91. N 10. P. 3829–3840.
- [18] *Nilsberth C., Westlind-Danielsson A., Eckman C.B., Condron M.M., Axelman K., Forsell C., Stenh C., Luthman J., Teplow D.B., Younkin S.G., Naslund J., Lannfelt L.* // Nat. Neurosci. 2001. Vol. 4. N 9. P. 887–893.
- [19] *Owen M.C., Gnut D., Gao M., Wörmldnder S.K.T.S., Jarvet J., Gröslund A., Winter R., Ebbinghaus S., Strodel B.* // Chem. Soc. Rev. 2019. Vol. 48. N 14. P. 3946–3996.
- [20] *Yang X., Meisl G., Frohm B., Thulin E., Knowles T.P.J., Linse S.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2018. Vol. 115. N 26. P. E5849–E5858.
- [21] *Fossati S., Cam J., Meyerson J., Mezhericher E., Romero I.A., Couraud P.O., Weksler B.B., Ghiso J., Rostagno A.* // FASEB J. 2010. Vol. 24. N 1. P. 229–241.
- [22] *Schulte E.C., Fukumori A., Mollenhauer B., Hor H., Arzberger T., Pernecky R., Kurz A.* // Eur. J. Hum Genet. 2015. Vol. 23. N 10. P. 1328–1333.
- [23] *APP/ALZFORUM*—URL:<https://www.alzforum.org/mutations/app> (дата обращения 6.12.2019)