

УДК: 577.3, 544.35

Метод псевдосредних функций в теории RISM. Температурная зависимость гидратации пептида окситоцина

Д.А. Тихонов*, Е.В. Соболев**

*Институт математических проблем биологии, Российская академия наук,
Пуццо, Московская область, 142290, Россия*

Аннотация. Выполнены молекулярно-динамические расчеты пептида окситоцина в диапазоне температур от 280 до 340 К в различных окружениях, включая явный водный растворитель. По полученным геометрическим конфигурациям пептида вычисляли энергию Гиббса, решая уравнения RISM для псевдосредних корреляционных функций, и сравнивали различные функционалы энергии Гиббса или избыточного химического потенциала. В приближении гауссовых флуктуаций и в теории парциальных волн энергия Гиббса не зависит от температуры. Расчеты по формуле Сингера–Чандлера или ее модификациям, учитывающим отталкивательные поправки, указывают на линейную зависимость энергии Гиббса от температуры. Анализ показывает, что температурная зависимость обусловлена членом, пропорциональным квадрату полной корреляционной функции.

Ключевые слова: RISM, псевдосредние корреляционные функции, термодинамика, температурная зависимость, интегральные уравнения теории жидкостей.

ВВЕДЕНИЕ

В статистической теории, в частности, в теории интегральных уравнений физики жидкостей, учтены равновесные флуктуации. В уравнения входит больцмановский множитель kT , что означает равновесие системы с тепловым резервуаром при заданной температуре. Однако для растворенных макромолекул могут существовать значительные флуктуации, связанные с изменением геометрии самой макромолекулы на временах, больших в сравнении с характерными временами движений молекул растворителя. Поскольку теория полагает геометрию молекулы заданной, учесть такие флуктуации лишь в рамках самой теории не представляется возможным. Но теория может проследить изменения корреляций и термодинамики в зависимости от изменений геометрии растворенной молекулы. Остается получить извне такие геометрические флуктуации. Естественным образом они могут быть рассчитаны с помощью имитационного моделирования.

Решая уравнения RISM [1] для каждой заданной геометрии, мы получаем атом-атомные корреляционные функции распределения растворителя вокруг растворенной молекулы, и, следовательно, любые термодинамические характеристики, включая оценки энергии Гиббса. Громадным преимуществом теории в сравнении с численным экспериментом является то, что можно получить всю информацию о распределении и

* dmitry.tikhonov@gmail.com

** egor@impb.psn.ru

термодинамике на каждом шаге моделирования. В имитационном моделировании для этого требуется выполнить расчет достаточно длинной траектории и накопить информацию об атом-атомных расстояниях в системе. Если же система претерпевает некоторые короткоживущие неравновесные изменения, то в моделировании нет возможности выделить отличия в корреляциях разных состояний из-за малой статистики неравновесной флуктуации. Оценка энергии Гиббса характеризуется большей на порядок вычислительной сложностью, так как для получения одной оценки необходимо рассчитать множество равновесных траекторий.

Часто требуется весьма существенная статистика для того, чтобы усреднить все возможные флуктуации геометрии молекулы, тем самым верно определив ее состояние в термодинамическом пределе. Расчеты методом RISM для каждой конфигурации из выборки достаточного объема требуют громоздких вычислительных затрат. Предложенные в работе [2] уравнения для псевдосредних функций требуют решить систему интегральных уравнений только один раз, чтобы получить равновесное распределение растворителя вокруг подвижной макромолекулы. В рамках этого метода уравнения RISM для бесконечно разбавленного раствора решаются с матрицей внутримолекулярных корреляций растворенной молекулы, усредненной по всем геометрическим конфигурациям, полученным методами имитационного моделирования. Физический смысл такого усреднения состоит в том, что в качестве внутримолекулярных корреляционных функций принимаются их оценки по конечной выборке, а именно накопленные в численном эксперименте гистограммы распределений межатомных расстояний. Другими словами, задается распределение геометрий молекулы. Такое совместное использование теории интегральных уравнений и методов молекулярного моделирования с одной стороны учитывает температурные флуктуации, а с другой стороны позволяет легко получить энергии Гиббса для растворов макромолекул.

Можно провести аналогию предложенного подхода с методом полимер-RISM [3], где усреднение проводится в рамках априорных предположений о гауссовом распределении атомов полимерной цепочки в пространстве. Поскольку все атомы в полимерной цепи неразличимы, это позволяет свести систему нелинейных уравнений для корреляционных функций к единственному уравнению, которое называется PRISM. Предлагаемый нами подход оставляет детальное описание атом-атомных взаимодействий. Однако каждое из них усредняется, исходя из распределения атом-атомных расстояний. Результирующее уравнение имеет лучшее свойство сходимости за счет того, что усредненные внутримолекулярные функции затухают значительно быстрее.

В этой работе мы применили уравнения RISM для псевдосредних корреляционных функций, чтобы исследовать температурную зависимость энергии Гиббса гидратации пептида окситоцина и сравнить по энергии конденсированное и газовое состояние при разных температурах. Задача определения зависимости некоторого термодинамического потенциала от температуры весьма интересна, поскольку позволяет изучать в перспективе процесс плавления и сворачивания белков. Такая задача является крайне актуальной в молекулярной биологии. Однако мы ограничимся лишь апробацией нового метода на небольшом объекте со стабилизированной ss-связью геометрий.

Кроме того, в теории RISM существует несколько выражений для избыточного химического потенциала, полученных с учетом различных соображений, призванных точнее описать статистическую систему. Мы сравнили качественное поведение функционалов с целью определить те, которые дают хорошие результаты для биологических молекул.

В предыдущей работе [2] мы показали, что разница средних корреляционных функций и средней термодинамики незначительно отличается от псевдосредних величин. Однако этот вывод был сделан для единственного расчета при температуре 300 К. В этой работе мы провели исследование зависимости отклонения средних от псевдосредних величин с ростом температуры, которое является важной методической задачей для установления границ применимости метода псевдосредних.

МЕТОДОЛОГИЯ

1. Уравнения RISM для псевдосредних корреляционных функций

Уравнение для псевдосредних корреляционных функций [2] представляет полные атом-атомные корреляционные функции $\langle \hat{h} \rangle_{i\alpha}(r)$, описывающие среднее по времени распределение атома α молекул растворителя ($\alpha = 1 \dots M$) вокруг атома i подвижной растворенной молекулы ($i = 1 \dots N$) в виде суммы непосредственного взаимодействия атомов i и α , отражаемого прямой корреляционной функцией $\langle \hat{c} \rangle_{i\alpha}(r)$, и опосредованного остальными атомами системы непрямого взаимодействия, отражаемого не прямой корреляционной функцией $\langle \hat{\gamma} \rangle_{i\alpha}(r) = \langle \hat{h} \rangle_{i\alpha}(r) - \langle \hat{c} \rangle_{i\alpha}(r)$:

$$\langle \hat{h} \rangle^{uv} = \langle \hat{w} \rangle^u \langle \hat{c} \rangle^{uv} (\hat{w}^v - \rho \hat{h}^{vv}), \quad (1)$$

где

$$\langle \hat{h} \rangle_{i\alpha}^{uv} = \langle \hat{h} \rangle_{i\alpha} = \frac{4\pi}{k} \int_0^\infty r dr \sin(kr) \langle h \rangle_{i\alpha}(r),$$

$$\langle \hat{c} \rangle_{i\alpha}^{uv} = \langle \hat{c} \rangle_{i\alpha} = \frac{4\pi}{k} \int_0^\infty r dr \sin(kr) \langle c \rangle_{i\alpha}(r).$$

Элементы матрицы $\langle \hat{w} \rangle^u$ являются фурье-образами функций распределения межатомных расстояний внутри молекулы:

$$\langle \hat{w} \rangle_{ij}^v = \delta_{ij} + (1 - \delta_{ij}) \int_0^\infty P_{ij}(l) \frac{\sin(kl)}{kl} dl, \quad (2)$$

где $P_{ij}(l)$ — функции плотности вероятности обнаружить атомы i и j на расстоянии l друг от друга, а δ_{ij} — символ Кронекера. В расчетах в качестве функций $P_{ij}(l)$ используется гистограмма распределения межатомных расстояний, которая получена по равновесному участку молекулярно-динамической траектории.

Выражение в скобках в уравнении (1) — это статическая восприимчивость растворителя. Оно включает в себя матрицу внутримолекулярных корреляционных функций, задающих жесткие связи между атомами в молекуле растворителя \hat{w}^v , плотность растворителя ρ и матрицу полных корреляционных функций чистого растворителя \hat{h}^{vv} . Диагональные элементы статической восприимчивости равны статическому структурному фактору. Это выражение является константой и может быть либо предварительно рассчитано методом RISM, либо взято из экспериментальных данных.

Размерность матрицы $\langle \hat{w} \rangle^u$ равна числу атомов молекулы раствора N , и размерность матрицы \hat{w}^v — числу атомов молекулы растворителя M . Матрицы корреляционных функций, соответственно, прямоугольные $N \times M$.

Отметим, что в случае $P_{ij}(l) = \delta(l - l_{ij})$, где l_{ij} — межатомные расстояния внутри молекулы, уравнения для псевдосредних функций эквивалентны обычным уравнениям RISM в пределе бесконечного растворения [4], которые описывают распределение растворителя вокруг мгновенной геометрии растворенной молекулы. Пусть \bar{h} и \bar{c} — решения обычных уравнений, усредненные по некоторому набору мгновенных геометрий. Будем называть их истинными средними или просто средними корреляционными функциями. В работе [2] показано, что разница между псевдосредними и истинными средними полными корреляционными функциями выражается формулой

$$\Delta = \langle \hat{w} \rangle^u \bar{c} (\hat{w}^v - \rho \hat{h}^{vv}) - \bar{h},$$

т. е. является невязкой уравнения для псевдосредних (1), если в него подставить средние корреляционные функции.

Корреляционные функции в теории жидкостей связаны диаграммным разложением, которое в приложениях теории аппроксимируют конечным выражением, называемым уравнением замыкания. В метод RISM уравнение замыкания приходит без изменений из теории простых жидкостей. В этой работе мы использовали гиперцепное замыкание (HNC) [5]

$$\langle c \rangle_{i\alpha} = \exp(-\beta u_{i\alpha} + \langle \gamma \rangle_{i\alpha}) - 1 - \langle \gamma \rangle_{i\alpha} \quad (3)$$

и частично линеаризованное гиперцепное замыкание (PLHNC) [6]

$$\langle c \rangle_{i\alpha} = \exp(-\beta u_{i\alpha}) F(\langle \gamma \rangle_{i\alpha}) - 1 - \langle \gamma \rangle_{i\alpha}, \quad (4)$$

где $u_{i\alpha}(r)$ — парные потенциалы взаимодействия атома i молекулы раствора и атома α молекулы растворителя, $\beta = 1/kT$ — обратная температура,

$$F(\langle \gamma \rangle_{i\alpha}) = H(-\langle h \rangle_{i\alpha}) (\exp(\langle \gamma \rangle_{i\alpha}) - 1 - \langle \gamma \rangle_{i\alpha}) + 1 + \langle \gamma \rangle_{i\alpha},$$

и H — функция Хевисайда:

$$H(x) = \begin{cases} 0, & \text{если } x < 0, \\ 1, & \text{если } x \geq 0. \end{cases}$$

Уравнения (1) отличаются от обычных уравнений RISM только значениями матрицы $\langle \hat{w} \rangle^u$, которая является постоянным параметром. Следовательно, обе системы можно решить одной и той же численной схемой. Мы применили схему, описанную в работах [7, 8].

2. Термодинамические функционалы

Для сравнения различных состояний растворенной молекулы по энергии, необходимо найти энергию Гиббса ΔG , которая есть сумма избыточного химического потенциала $\Delta\mu$ и молекулярно-механической энергии E_{MM} :

$$\Delta G = E_{MM} + \Delta\mu. \quad (5)$$

Избыточный химический потенциал $\Delta\mu$ представляет собой работу по внедрению одной частицы в среду. Путь внедрения частицы в среду имитируется ослаблением потенциалов взаимодействия с помощью масштабирующего параметра λ :

$$\Delta\mu = 4\pi \frac{\rho}{2\beta} \sum_{i\alpha} \int_0^1 d\lambda \int_0^\infty dr r^2 g_{i\alpha}(r, \lambda) \frac{\partial u(r, \lambda)}{\partial \lambda}, \quad (6)$$

где $g_{i\alpha}(r, \lambda) = h_{i\alpha}(r, \lambda) + 1$ — атом-атомные радиальные функции распределения атома α молекул растворителя вокруг атома i растворенной молекулы, которые являются решениями уравнений RISM для атом-атомных потенциалов взаимодействия $u(r, \lambda)$,

ослабленных параметром λ . В этом разделе будем обозначать корреляционные функции, не делая различий между средними, псевдосредними и обычными функциями, и будем подразумевать, что термодинамические функционалы могут быть рассчитаны по любым из них.

В ряде случаев интегрирование (6) по λ можно выполнить аналитически. Так, в теории Гауссовых флуктуаций плотности (GF) было получено выражение [9]:

$$\Delta\mu^{GF} = 4\pi \frac{\rho}{2\beta} \sum_{i\alpha} \int (-2c_{i\alpha}(r) - h_{i\alpha}(r)c_{i\alpha}(r))r^2 dr. \quad (7)$$

Выражение избыточного химического потенциала Сингера–Чандлера (SC) [10–12] будет иметь различный вид для замыканий HNC (8) и PLHNC (9):

$$\Delta\mu^{SC} = \Delta\mu^{GF} + 4\pi \frac{\rho}{2\beta} \sum_{i\alpha} \int h_{i\alpha}^2(r)r^2 dr, \quad (8)$$

$$\Delta\mu^{SC} = \Delta\mu^{GF} + 4\pi \frac{\rho}{2\beta} \sum_{i\alpha} h_{i\alpha}^2(r)H(-h_{i\alpha}(r))r^2 dr. \quad (9)$$

Одно из выражений избыточного химического потенциала, недавно полученное в методе парциальных волн (PW), имеет вид:

$$\Delta\mu^{PW} = \Delta\mu^{GF} + \frac{\rho^2}{2\beta(2\pi)^3} \sum_{i\alpha} \int 4\pi k^2 \hat{h}_{i\alpha}(k) \hat{\zeta}_{i\alpha}(k) dk, \quad (10)$$

где $\hat{\zeta}_{i\alpha}$ — элементы матрицы \mathbf{Z} :

$$\mathbf{Z} = \{ \hat{\zeta}_{i\alpha}(k) \} = \hat{\mathbf{c}}^{i\nu} (\hat{\mathbf{w}}^\nu + \rho \hat{\mathbf{h}}^{\nu\nu}) \hat{\mathbf{c}}^{\nu\nu}.$$

Пояснения к этому выражению можно найти в оригинальных работах [13, 14].

Функционалы (7) и (10) будем обозначать GF и PW, соответственно. А функционалы (8) и (9) — SC.

Чтобы скорректировать энтропийную составляющую энергии, в работе [15] предложено внести в уравнение замыкания отталкивательную поправку. Так, гиперцепное уравнение с поправкой (HNC/RBC) будет иметь вид:

$$\langle c \rangle_{i\alpha} = \exp(-\beta u_{i\alpha} + b_{i\alpha} + \langle \gamma \rangle_{i\alpha}) - 1 - \langle \gamma \rangle_{i\alpha}, \quad (11)$$

а частично линейризованное гиперцепное уравнение (PLHNC/RBC), соответственно:

$$\langle c \rangle_{i\alpha} = \exp(-\beta u_{i\alpha} + b_{i\alpha}) F(\langle \gamma \rangle_{i\alpha}) - 1 - \langle \gamma \rangle_{i\alpha}. \quad (12)$$

Поправка $b_{i\alpha}$ задается выражением:

$$\exp(b_{i\alpha}) = \prod_{\mu \neq \alpha} [\omega_{\mu\alpha} * \exp(-\beta u_{i\mu}^{RBC})],$$

где * обозначает свертку в координатном пространстве. В качестве отталкивательного потенциала $u_{i\mu}^{RBC}$ может быть выбран либо отталкивательный член r^{-12} потенциала Леннарда–Джонса:

$$u_{i\mu}^{r^{-12}}(r) = 4\epsilon_{i\mu} \left(\frac{\sigma_{i\mu}}{r} \right)^{12}, \quad (13)$$

либо отталкивательная часть потенциала Вика–Чандлера–Андерсона (WCA):

$$u_{i\mu}^{WCA}(r) = 4\epsilon_{i\mu} \left[\left(\frac{\sigma_{i\mu}}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{i\mu}}{r} \right)^6 + \frac{1}{4} \right] H(2^{1/6} \sigma_{i\mu} - r). \quad (14)$$

Для уравнений RISM с отталкивательной поправкой невозможно получить выражения избыточного химического потенциала в явном виде, но можно численно проинтегрировать (6), решив систему уравнений (1) и (11) или (1) и (12) для набора

значений λ от 0 до 1. Численное интегрирование для учета поправку с потенциалами (13) или (14) будем обозначать INT(12) или INT(WCA), соответственно.

Для приближенной оценки избыточного химического потенциала в методе отталкивательной поправки можно воспользоваться термодинамической теорией возмущений (TPT) [15]:

$$\Delta\mu^{TPT} = \Delta\mu^{SC} + 4\pi \frac{\rho}{2\beta} \sum_{i\alpha} \int (h_{i\alpha}(r)+1)(\exp(b_{i\alpha}(r))-1)r^2 dr \quad (15)$$

Оценки по теории возмущений (15), учитывающие поправку с потенциалами (13) или (14), будем обозначать TPT(12) или TPT(WCA), соответственно.

ДЕТАЛИ ВЫЧИСЛЕНИЙ

С помощью программного пакета AMBER 9 [16, 17] были получены 183 молекулярно-динамические траектории пептида окситоцина при температуре от 280 до 340 К с шагом 1 К. Имитационное моделирование проводили в трех окружениях пептида: (А) в вакууме, (В) в явном водном окружении, (С) в неявном водном окружении по методу MM/GBSA [18]. В расчетах использовали силовое поле Корнелла [19] и модель воды TIP3P [20]. Шаг интегрирования был равен 200 фс. Начальную конфигурацию пептида сначала минимизировали по энергии, затем медленно разогревали до заданной температуры, и рассчитывали равновесный участок для дальнейшего анализа. Длины равновесных траекторий были одинаковыми при разных температурах, но разными для разных окружений пептида. Для пептида в вакууме вычислены траектории длиной 15 нс (75000 точек), в случае неявного моделирования водного окружения по методу MM/GBSA — траектории длиной 11 нс (55000 точек) и для пептида в явном водным окружении — траектории длиной 1.25 нс (6250 точек).

По первым 1250 точкам каждой траектории были вычислены средние термодинамических величины. Для этого уравнения RISM в замыкании PLHNC были решены в каждой точке, и вычислены мгновенные термодинамические величины в этих точках. Уравнения решали на сетке с шагом 0.056 Å, плотность воды выбирали равной 0.03334 Å⁻³. Температуру и параметры потенциалов задавали такими же, как и в молекулярно-динамическом моделировании. Средние по траектории величины были рассчитаны для каждой температуры по их мгновенным значениям и были использованы для проверки псевдосредних величин.

Псевдосредние функции для целей сравнения со средними вычислялись также по первым 1250 точкам каждой траектории. Во всех остальных случаях в расчетах использовалась вся длина траекторий.

Среднюю матрицу внутримолекулярных корреляций (2) рассчитывали при каждой температуре и для всех окружений, с параметром упаковки $\xi = 0.01$ [2]. Средние уравнения RISM (1) в замыкании PLHNC (4) решали с теми же параметрами сетки, потенциалов и в том же термодинамическом состоянии, что и уравнения RISM в замыкании PLHNC для мгновенных геометрий молекулы. Термодинамическое интегрирование (6) уравнений с отталкивательной поправкой (1) и (12) выполняли с адаптивным шагом по λ , точность интегрирования проверяли путем пересчета с дробным шагом.

Чтобы проверить зависимость результатов от вида замыкания, расчеты для явного водного окружения были повторены в замыкании HNC (3), и выполнено интегрирование (6) системы уравнений (1) и (11) для учета отталкивательной поправки в замыкании HNC.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Вначале покажем, что средние величины могут быть оценены решением уравнений на псевдосредние функции. Для этого сравним температурные зависимости псевдосредних и средних функций и соответствующих термодинамических функционалов. Средние функции $\bar{h}_{i\alpha}(r, T)$ и их дисперсия $D[h_{i\alpha}(r, T)]$ получены по первым 1250 точкам траектории движения при температуре T :

$$\bar{h}_{i\alpha}(r, T) = \frac{1}{L} \sum_{l=1}^L h_{i\alpha}(r, T, l\Delta t),$$

$$D[h_{i\alpha}(r, T)] = \frac{1}{L-1} \sum_{l=1}^L (h_{i\alpha}(r, T, l\Delta t) - \bar{h}_{i\alpha}(r, T))^2,$$

где $h_{i\alpha}(r, t, T)$ — полная корреляционная функция в момент времени t при температуре T , Δt — шаг по времени молекулярно-динамического интегрирования, L — длина участка траектории, взятого для усреднения.

Средние значения термодинамических функционалов вычислены путем усреднения мгновенных значений функционалов при температуре T :

$$\Delta\bar{\mu}(T) = \frac{1}{L} \sum_{l=1}^L \Delta\mu(T, l\Delta t),$$

где $\Delta\mu(T, t)$ — избыточный химический потенциал в момент времени t при температуре T .

Псевдосредние функции и соответствующие термодинамические величины для целей сравнения со средними вычислены по тем же участкам траекторий.

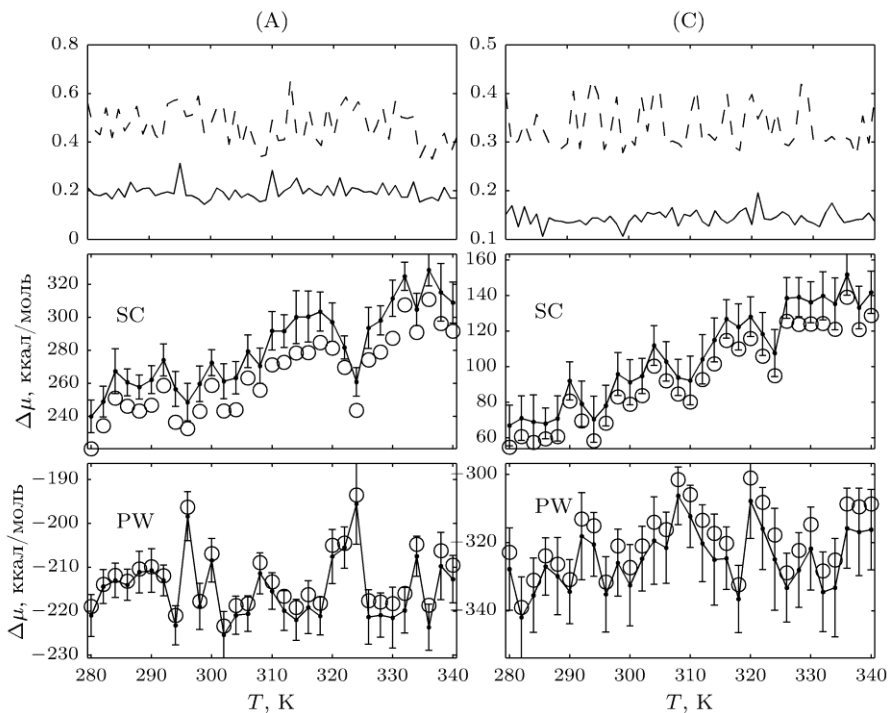


Рис. 1. Сравнение псевдосредних и средних функций и соответствующих им термодинамических величин. На верхних графиках: сплошная линия — максимальная разница псевдосредних и средних функций Δ_M , пунктирная линия — максимальная дисперсия D_M . На остальных графиках: \circ — избыточный химический потенциал, вычисленный по псевдосредним корреляционным функциям; сплошная линия — средний избыточный химический потенциал.

Таблица 1. Наклон температурных зависимостей по первым 1250 точкам траектории для избыточного химического потенциала. Сравнение средних (первая строка) и псевдосредних (вторая строка) величин. В скобках указана стандартная ошибка

Траектория	SC	RBC1	RBC2	GF	PW
A	1.220 (0.073)	0.511 (0.084)	0.675 (0.078)	-0.078 (0.041)	0.021 (0.035)
	1.429 (0.013)	0.711 (0.009)	0.880 (0.010)	-0.012 (0.007)	0.101 (0.007)
B	1.256 (0.077)	0.505 (0.085)	0.674 (0.081)	-0.078 (0.066)	0.023 (0.061)
	1.213 (0.012)	0.464 (0.008)	0.636 (0.009)	-0.064 (0.007)	0.041 (0.007)
C	1.279 (0.087)	0.512 (0.097)	0.691 (0.092)	0.114 (0.086)	0.189 (0.079)
	1.363 (0.013)	0.632 (0.009)	0.798 (0.010)	0.278 (0.008)	0.340 (0.008)

Сверху на рис. 1 приведены температурные зависимости максимального отклонения псевдосредних полных корреляционных функций от средних функций ΔM и максимальной дисперсии функций DM :

$$\Delta_M(T) = \max_{r,i,\alpha} (\langle h \rangle_{i\alpha}(r) - \bar{h}_{i\alpha}(r)),$$

$$D_M(T) = \max_{r,i,\alpha} (D[h_{i\alpha}(r,T)]).$$

В случае траекторий, полученных при условии неявного моделирования водного окружения методом MM/GBSA (C), отклонение псевдосредних функций от средних существенно меньше дисперсии средних функций. Это же справедливо для явного учета водного растворителя (B), поэтому рисунок мы не приводим. В случае пептида в вакууме псевдосредние отклоняются от средних сильнее, однако, также в пределах дисперсии среднего. Все расчеты были выполнены в замыкании PLHNC. Для проверки влияния замыкания был выполнен расчет в замыкании HNC для явного учета воды. Отклонения псевдосредних функций от средних оказались несколько больше, но качественно картина не изменилась.

Сравнение термодинамики показывает симбатное поведение температурной зависимости псевдосредних и средних значений избыточного химического потенциала. На рис. 1 приведены данные для выражений SC (средние графики) и PW (нижние графики). Разница между средними и псевдосредними величинами находится в пределах статистической погрешности. Только в случае вакуумного окружения эта разница немного превышает статистическую погрешность. Отметим, что разница носит скорее систематический, чем случайный характер. В случае применения формулы SC псевдосредние значения систематически ниже средних. То же самое наблюдается для формул с отталкивательной поправкой. Для формулы GF псевдосредние величины систематически выше средних, такой же характер имеют отличия для формулы PW. В целом картина отличий псевдосредних и средних одинакова для всех окружений пептида. Таким образом, температурная зависимость может изучаться при помощи метода псевдосредних.

Перейдем к содержательному анализу зависимости избыточного химического потенциала от температуры. Разные методы расчета избыточного химического потенциала приводят к зависимостям с принципиально отличающимся поведением. Так, в случае функционалов GF и PW, по-видимому, зависимости от температуры нет, в то время как остальные функционалы демонстрирует линейную зависимость от температуры. В табл. 1 сравниваются оценки наклона температурных зависимостей избыточного химического потенциала, полученные с помощью линейной регрессии. В верхней строке каждой ячейки приведены оценки по средним величинам, а в нижней — оценки по псевдосредним. В скобках указана стандартная ошибка определения коэффициентов, вычисленная по методу Йорка с учетом погрешности анализируемых данных [21]. Поскольку оценки по средним величинам содержат информацию о стандартном отклонении в каждой точке зависимости, то погрешность в определении

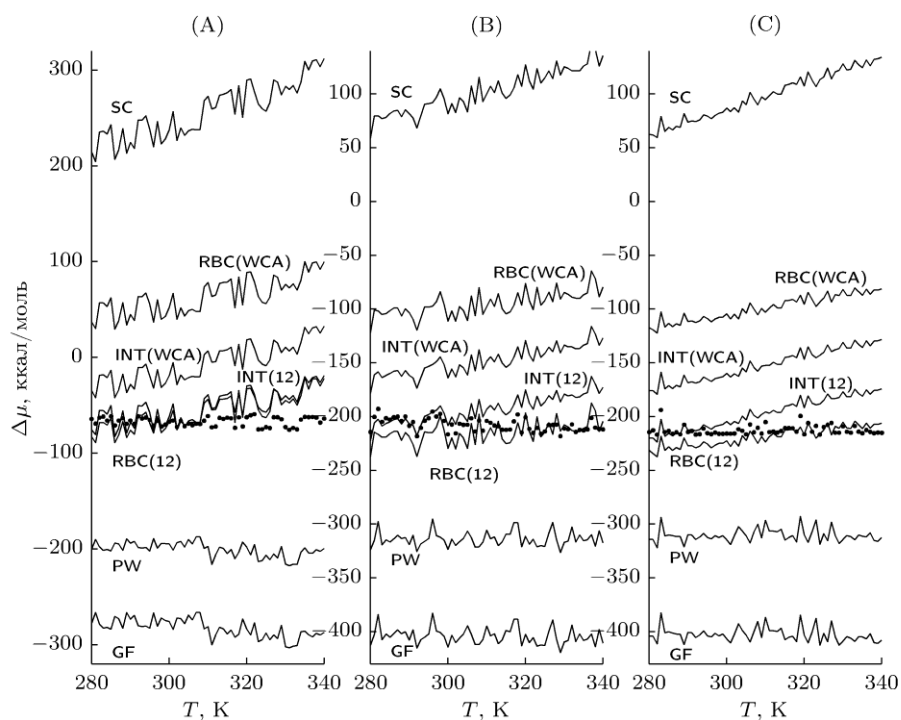


Рис. 2. Температурная зависимость избыточного химического потенциала, вычисленного по псевдосредним корреляционным функциям. Точками показаны оценки избыточного химического потенциала по методу GBSA.

коэффициента в этом случае более адекватна. Видно, что линейные коэффициенты для зависимостей, вычисленных по функционалам GF и PW, равны нулю с точностью до погрешности. Везде, кроме зависимостей химического потенциала пептида в явном водном окружении, вычисленных по выражениям SC, RBC(12) и RBC(WCA), оценки линейного коэффициента по псевдосредним выше, чем по мгновенным значениям. Однако общая тенденция поведения линейного коэффициента сохраняется. Самый высокий коэффициент для оценок по SC, для функционалов с отталкивательными поправками RBC(12) и RBC(WCA) он меньше, а для оценок по выражениям GF и PW — близок к нулю.

Температурная зависимость избыточного химического потенциала пептида в трех окружениях изображена на рис. 2. Данные рассчитывали с помощью различных функционалов избыточного химического потенциала по псевдосредним функциям. Для расчетов использовалась вся длина траекторий. В качестве контроля использованы температурные зависимости средних по траектории значений избыточного химического потенциала $\Delta\mu^{GBSA}$ и энергии Гиббса ΔG^{GBSA} , оцененные часто применяемым в теоретической молекулярной биологии и фармацевтике обобщенным методом Борна (GBSA) [18]. Поскольку метод является феноменологическим и параметризован именно для расчетов малых пептидов, можно считать его некоторым эталоном.

Для пептида во всех окружениях наименьшей по энергии является оценка по формуле GF. Остальные выражения увеличивают значение химического потенциала. Второй по величине является оценка по функционалу PW. Как мы уже отмечали, эти формулы похожи также тем, что оценки по ним не зависят от температуры. Из рисунка видно, что также от температуры не зависит оценка по методу GBSA.

Регрессионный анализ зависимостей на рис. 2 показал, что линейные коэффициенты для оценок по формулам GF и PW близки к нулю, либо немного меньше нуля. То же самое справедливо и для оценок по методу GBSA. Все остальные функционалы дают положительный линейный коэффициент. Данные приведены в табл. 2. Отметим, что

Таблица 2. Наклон зависимости избыточного химического потенциала сольватации от температуры. В скобках указана стандартная ошибка

	А. Вакуум	В. Явное окружение	С. Окружение ММ/GBSA
SC	1.709 (0.015)	1.111 (0.011)	1.239 (0.012)
GF	-0.425 (0.008)	-0.089 (0.007)	-0.082 (0.007)
PW	-0.258 (0.008)	0.021 (0.007)	0.012 (0.007)
RBC(12)	0.902 (0.010)	0.333 (0.008)	0.455 (0.008)
RBC(WCA)	1.090 (0.012)	0.527 (0.008)	0.641 (0.009)
INT(12)	1.062 (0.011)	0.664 (0.009)	0.804 (0.009)
INT(WCA)	1.154 (0.012)	0.689 (0.009)	0.830 (0.010)
GBSA	0.010 (0.038)	-0.175 (0.065)	0.037 (0.078)

данные для большей статистики находятся в качественном соответствии с данными в табл. 1 для коротких временных рядов.

Легко заметить, что температурная зависимость избыточного химического потенциала проявляется только в тех случаях, когда в выражениях присутствует член, пропорциональный h^2 . Этот член связывают с энтропийным вкладом в энергию Гиббса. Различия в температурном поведении, по-видимому, связаны с различным учетом энтропийного вклада. Остается добавить, что в методе парциальных волн этот вклад недооценен, поскольку явной температурной зависимости мы не наблюдаем.

Рассмотрим энергию Гиббса, которая есть сумма молекулярно-механической энергии и избыточного химического потенциала сольватации (5). Молекулярно-механическая энергия линейно зависит от температуры во всех трех случаях.

Коэффициент линейной регрессии зависимости для пептида в вакууме равен 0.468 ± 0.076 , в явном водном окружении — 0.507 ± 0.090 , и в окружении по методу GBSA — 0.319 ± 0.092 . Зависимость энергии Гиббса от температуры приведена на рис. 3. Для всех трех окружений и всех способов оценки энергия Гиббса линейно растет с ростом температуры. Мы выполнили регрессионный анализ этих зависимостей, коэффициенты линейной регрессии приведены в табл. 3.

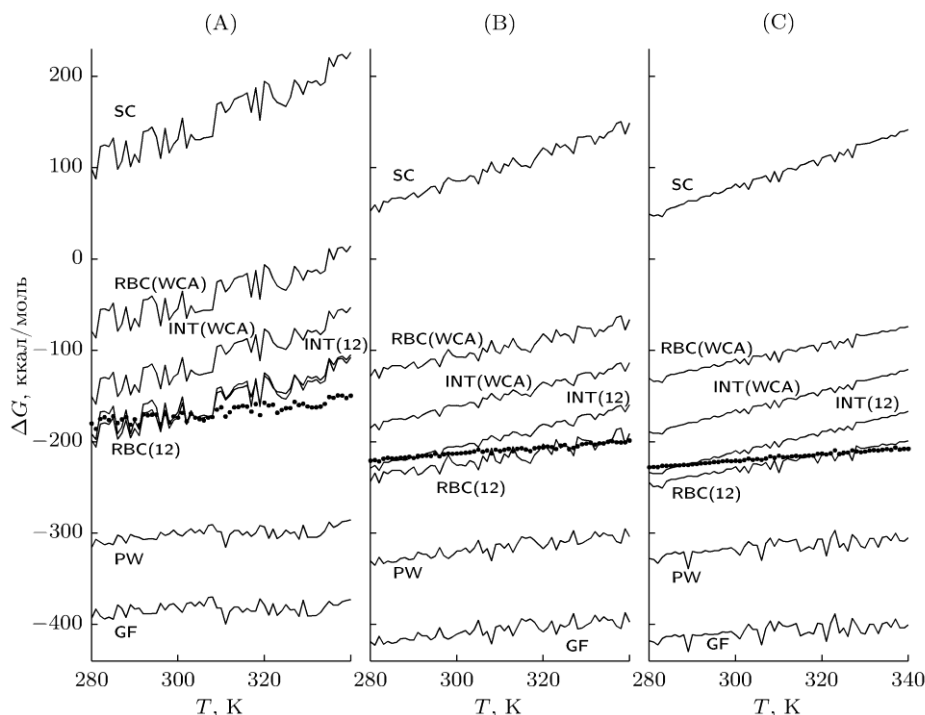


Рис. 3. Температурная зависимость энергии Гиббса, вычисленной по псевдосредним корреляционным функциям. Точками показаны оценки энергии Гиббса по методу ММ/GBSA.

Таблица 3. Зависимость энергии Гиббса от температуры. Коэффициенты линейной регрессии и стандартная ошибка их определения

	А. Вакуум		В. Явное окружение		С. Окружение MM/GBSA	
	a	b	a	b	a	b
SC	-430.15 (23.83)	1.896 (0.077)	-365.37 (28.19)	1.503 (0.092)	-386.83 (28.83)	1.551 (0.093)
GF	-419.92 (23.43)	0.120 (0.076)	-539.46 (27.99)	0.429 (0.091)	-489.86 (28.61)	0.268 (0.093)
PW	-378.70 (23.44)	0.252 (0.076)	-477.69 (28.00)	0.521 (0.091)	-422.56 (28.62)	0.349 (0.093)
RBC(12)	-495.07 (23.57)	1.106 (0.076)	-446.87 (28.02)	0.743 (0.091)	-462.97 (28.66)	0.775 (0.093)
RBC(WCA)	-433.65 (23.62)	1.284 (0.077)	-383.64 (28.05)	0.925 (0.091)	-400.09 (28.69)	0.958 (0.093)
INT(12)	-581.37 (23.64)	1.376 (0.077)	-536.53 (28.09)	1.102 (0.091)	-548.43 (28.72)	1.121 (0.093)
INT(WCA)	-547.69 (23.66)	1.426 (0.077)	-496.19 (28.09)	1.117 (0.091)	-511.44 (28.73)	1.146 (0.093)
GBSA	-318.95 (11.64)	0.489 (0.038)	-314.50 (20.07)	0.338 (0.065)	-327.24 (23.96)	0.355 (0.078)

По коэффициентам линейной регрессии мы построили разницы энергии Гиббса пептида между конденсированным окружением и вакуумным состоянием. Графики приведены на рис. 4. Видно, что во всей исследуемой области температур энергия Гиббса вакуумного состояния пептида оказывается выше, чем пептида в водном окружении. Причем для случая явного водного окружения (В) картина качественно не отличается от картины с неявным окружением, учитываемым по методу GBSA (С).

Правда для случая (С) разница энергий оказывается больше. Это означает, что неявное водное окружение дает более стабильное состояние пептида, чем в случае с явным окружением.

Важно отметить, что методы GF и PW дают правильное значение разности энергий, в отличие от наших предыдущих работ [2, 22], где эта разность оценивалась по малой статистике и в одной точке по температуре. Тем не менее, зависимость от температуры разности энергий для этих методов обратная по отношению к зависимостям, найденным всеми остальными методами, включая феноменологический метод GBSA. С ростом температуры разность между конденсированным и вакуумным состоянием для GF и PW уменьшается, тогда как для всех остальных оценок она становится больше.

Отметим также, что разности энергий, рассчитанные по приближенным формулам RBC(12) и RBC(WCA), учитывающим отталкивательную поправку по теории возмущений, приблизительно совпадают с оценками по функционалу SC. А оценки

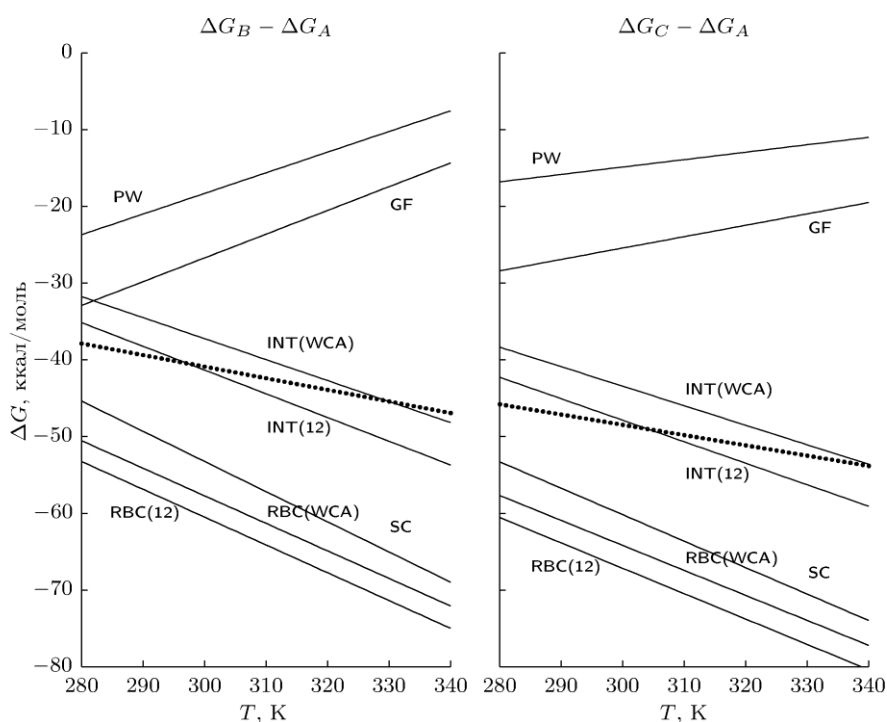


Рис. 4. Энергия Гиббса относительно состояния в вакууме. Линии регрессии.

избыточного химического потенциала с учетом отталкивательных поправок INT(12) и INT(WCA), полученные численным термодинамическим интегрированием, лежат существенно выше и пересекают линию оценки по методу GBSA. Поскольку метод GBSA параметризован именно для малых пептидов, и поэтому взят нами в качестве контроля, близость с ним оценок энергии Гиббса с учетом отталкивательных поправок может свидетельствовать в пользу такой коррекции. Однако для правильного учета поправок необходимо выполнять численное термодинамическое интегрирование, а приближений по теории возмущений явно недостаточно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе проведен анализ зависимости энергии Гиббса от температуры для пептида окситоцина в различных окружениях. Несмотря на небольшой размер пептида и фиксирующую ss-связь, требуется весьма значительная статистика для того, чтобы добиться достоверных повторяемых результатов. Это связано с тем, что пептид в вакууме подвижен и испытывает значительные флуктуации геометрии, которые сильно меняют его способность акцептировать водное окружение, если бы оно было. По этой причине базовая линия, а именно энергия Гиббса пептида в вакууме, — величина, которая весьма трудно поддается оценке. Это хорошо видно по приведенным кривым энергии Гиббса и избыточного химического потенциала. При малой статистике оценки энергии Гиббса могут существенно отличаться от достоверных данных. Это подтверждает сравнение результатов, вычисленных с помощью формул PW и GF по наборам точек траекторий разного объема. Обработка длинных траекторий, содержащих достаточную статистику, требует значительных вычислительных затрат. Таким образом, единственным способом оценить энергию Гиббса макромолекул в рамках метода RISM в теории жидкостей является метод псевдосредних.

Также был рассмотрен практически весь спектр функционалов для энергии Гиббса, существующих в теории интегральных уравнений. Выражения по-разному учитывают энтропийный вклад в энергию Гиббса, который, как считается, зависит от квадрата полной корреляционной функции. Различные температурные зависимости означают различное соотношение энтальпийной и энтропийной частей энергии Гиббса. Анализ также выявил интересный факт, что не учитывающая энтропию феноменологическая теория MM/GBSA указывает на увеличение разности между состояниями пептида с ростом температуры, однако, с наименьшей скоростью.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (проект № 10-07-00112-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Chandler D., Andersen H.C. Optimized cluster expansions for classical fluids. II. Theory of molecular liquids. *Journal of Chemical Physics*. 1972. V. 57. P. 1930–1937.
2. Тихонов Д.А., Соболев Е.В. Усредненный по молекулярным траекториям метод интегральных уравнений в приближении RISM. *Математическая биология и биоинформатика*. 2010. Т. 5. № 2. С. 188-201. URL: [www.matbio.org/downloads/Tikhonov2010\(5_188\).pdf](http://www.matbio.org/downloads/Tikhonov2010(5_188).pdf) (дата обращения 17.12.2010).
3. Schweizer K.S., Curro J.G. Integral-equation theory of the structure of polymer melts. *Physical Review Letters*. 1987. V. 58. № 3. P. 246–249.
4. Hirata F., Rossky P.J., Pettitt B.M. The interionic potential of mean force in a molecular polar solvent from an extended RISM equation. *Journal of Chemical Physics*. 1983. V. 78. № 6. P. 4133–4144.
5. van Leeuwen J.M.J., Groeneveld J., de Boer J. New method for the calculation of the pair correlation function. *I. Physica*. 1959. V. 25. № 7–12. P. 792 – 808.

6. Kovalenko A., Hirata F. Self-consistent description of a metal-water interface by the Kohn–Sham density functional theory and the three-dimensional reference interaction site model. *Journal of Chemical Physics*. 1999. Vol. 110. № 20. P. 10095–10112.
7. Tikhonov D.A., Polozov R.V., Timoshenko E.G. et al. Hydration of a B-DNA fragment in the method of atom-atom correlation functions with the reference interaction site model approximation. *The Journal of Chemical Physics*. 1998. V. 109. P. 1528–1539.
8. Соболев Е.В., Тихонов Д.А. Применение метода RISM для оценки свободной энергии связывания 4',6-диамидино-2-фенилиндола в малом желобе ДНК по молекулярно-динамической траектории. *Математическая биология и биоинформатика*. 2010. Т. 5. № 2. С. 98–113. URL: [http://www.matbio.org/downloads/Sobolev2010\(5_98\).pdf](http://www.matbio.org/downloads/Sobolev2010(5_98).pdf) (дата обращения 15.12.2010).
9. Chandler D., Singh Y., Richardson D.M. Excess electrons in simple fluids. I. General equilibrium theory for classical hard sphere solvents. *Journal of Chemical Physics*. 1984. V. 81. № 4. P. 1975–1982.
10. Singer S.J., Chandler D. Free energy functions in the extended RISM approximation. *Molecular Physics*. 1985. V. 55. P. 621–625.
11. Morita T., Hiroike K. A new approach to the theory of classical fluids. I. *Progress of Theor. Phys.* 1960. V. 23. P. 1003–1027.
12. Zichi D.A., Rossky P.J. Molecular conformational equilibria in liquids. *The Journal of Chemical Physics*. 1986. V. 84. № 3. P. 1712–1723.
13. Ten-no S. Free energy of solvation for the reference interaction site model: Critical comparison of expressions. *Journal of Chemical Physics*. 2001. V. 115. P. 3724–3731.
14. Ten-no S., Iwata S. On the connection between the reference interaction site model integral equation theory and the partial wave expansion of the molecular Ornstein–Zernike equation. *Journal of Chemical Physics*. 1999. V. 111. P. 4865–4868.
15. Kovalenko A., Hirata F. Hydration free energy of hydrophobic solutes studied by a reference interaction site model with a repulsive bridge correction and a thermodynamic perturbation method. *Journal of Chemical Physics*. 2000. V. 113. P. 2793–2805.
16. Pearlman D.A., Case D.A., Caldwell J.W. et al. AMBER, a package of computer programs for applying molecular mechanics, normal mode analysis, molecular dynamics and free energy calculations to simulate the structural and energetic properties of molecules. *Computational Physics Communications*. 1995. V. 91. P. 1–41.
17. Case D.A., Darden T.A., Cheatham T.E. et al. *AMBER 9*. San Francisco: University of California, 2006.
18. Onufriev A., Bashford D., Case D.A. Modification of the Generalized Born Model Suitable for Macromolecules. *Journal of Physical Chemistry B*. 2000. V. 104. № 15. P. 3712–3720.
19. Cornell W.D., Cieplak P., Bayly C.I. et al. A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins and Nucleic Acids. *Journal of the American Chemical Society*. 1995. V. 117. P. 5179–5197.
20. Jorgensen W.L., Chandrasekhar J., Madura J.D. et al. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *Journal of Chemical Physics*. 1983. V. 79. № 2. P. 926–935.
21. York D., Evensen N.M., Mart'inez M.L., Delgado J.D.B. Unified equations for the slope, intercept, and standard errors of the best straight line. *American Journal of Physics*. 2004. V. 72. № 3. P. 367–375.
22. Тихонов Д.А., Соболев Е.В. Оценки энергии Гиббса гидратации по молекулярно-динамическим траекториям методом интегральных уравнений теории жидкостей в приближении RISM. *Журнал физической химии*. 2011. Т. 85. № 3. (в печати).

Материал поступил в редакцию 01.12.2010, опубликован 17.12.2010.