

УДК 577.114, 544.165

ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРА КОНФОРМАЦИОННЫХ СОСТОЯНИЙ ОЛИГОСАХАРИДНЫХ СУБСТРАТОВ НЕЙРАМИНИДАЗ ПАТОГЕНОВ МЕТОДАМИ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Е.М. Кирилин, В.К. Швядас*

(отдел биокинетики, НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова; *e-mail: vytas@belozersky.msu.ru)

При комплексном использовании методов молекулярного моделирования и статистической обработки данных проведен анализ спектра конформационных состояний олигосахаридных фрагментов гликановых рецепторов человека LSTa (α -D-Neu5Ac-(2-3)- β -D-Gal-(1-3)- β -D-GlcNAc-(1-3)- β -D-Gal(1-4)-D-Glc) и LSTc (α -D-Neu5Ac-(2-6)- β -D-Gal-(1-3)- β -D-GlcNAc-(1-3)- β -D-Gal(1-4)-D-Glc) в водном растворе, определены основные и минорные структуры, а также выделены наиболее значимые топологии. Для кольца сиалового остатка каждого из пентасахаридов построена и проанализирована поверхность свободной энергии конформационных переходов, определен перечень наиболее вероятных в растворе искаженных структур, отличных от основного состояния лодки 1C_4 . Полученные результаты хорошо согласуются с данными экспериментального изучения с использованием спектроскопии ядерного магнитного резонанса и рентгеноструктурной кристаллографии.

Ключевые слова: конформации сиалогликанов, молекулярное моделирование, метадинамика.

Внимание современных биомедицинских исследований в области инфекционных заболеваний в значительной степени фокусируется на изучении взаимодействия ферментов, а также гликан-связывающих белков с углеводами [1, 2]. Особый интерес представляют сиалированные гликаны, несущие на терминальном конце олигосахаридной части N-ацетил-нейраминовую (сиаловую) кислоту и являющиеся факторами узнавания при развитии инфекций, вызванных такими широко распространенными возбудителями как бактерия *Streptococcus pneumoniae* [3, 4] или вирус гриппа [5]. Так, при изучении взаимодействия олигосахаридных фрагментов клеточной стенки слизистой оболочки верхних дыхательных путей человека с гемагглютинином вируса гриппа было обнаружено, что конформационные состояния и динамика углевода играют определяющую роль при его связывании с белком [6]. Показано, что знания о динамике и спектре основных конформационных состояниях гликановых рецепторов человека могут дать мощный толчок для понимания взаимодействия патоген-хозяин. Пентасахариды

LSTa(α -D-Neu5Ac-(2-3)- β -D-Gal-(1-3)- β -D-GlcNAc-(1-3)- β -D-Gal(1-4)-D-Glc),
LSTc(α -D-Neu5Ac-(2-6)- β -D-Gal-(1-3)- β -D-GlcNAc-(1-3)- β -D-Gal(1-4)-D-Glc)

широко используются в лабораторной практике в качестве аналогов гликановых рецепторов человека. С одной стороны, они содержат достаточное число звеньев для описания взаимодействия рецептора с поверхностью гликан-связывающего белка или фермента, с другой – обеспечивают специфичность узнавания благодаря типу гликозидной связи между N-ацетил-нейраминовой кислотой и галактозой. Следует обратить внимание на две ключевые особенности структур подобных олигосахаридов: 1) способность образовывать ряд стабилизированных топологий, которые могут распознаваться соответствующими системами патогена; 2) энергетическую предрасположенность кольца остатка сиаловой кислоты к искажению в активных центрах ферментов (например, бактериальных и вирусных нейраминидаз), когда основная для водных растворов конформация кресла претерпевает переход в одно из возможных плоскостных состояний. При изучении этих особенностей возникает ряд проблем, основная из которых заключается в необходимости определения структурных кластеров для большого числа переменных, описывающих конформацию, в автоматическом режиме. Подобный подход в совокупности с расширенными методами молекулярной динамики для более полного семплирования конформаци-

онного пространства может позволить установить широкий спектр конформационных состояний. Решение этой задачи стало целью настоящей работы.

Экспериментальная часть

Молекулярное моделирование. Подготовку субстратов осуществляли с помощью программы leap пакета AmberTools [7]. Для каждого пентасакхарида была создана система, включающая растворитель TIP3P, с расстоянием от стенок куба до молекулы субстрата не менее 15 Å. Условия, приближенные к физиологическим, создавали, помещая в систему ионы Cl⁻ и Na⁺ (до достижения 0,1 М концентрации). Суммарный заряд системы сводили к нулю при добавлении дополнительных ионов.

Для каждой системы проводили минимизацию энергии (2500 шагов), последующий нагрев до 300 К в течение 60 пс, снятие ограничений с тяжелых атомов в течение 290 пс и релаксацию в течение 5 нс в NPT-ансамбле с постепенным доведением плотности до постоянного значения 1,04 г/см³. Стандартные симуляции субстратов в растворе осуществляли в программе Amber14 [7] при температуре 300 К, шаге интегрирования 2 фс в условиях NVT-ансамбля. Температуру системы регулировали с помощью термостата Лангевина. Продолжительность каждой траектории составляла 1 мкс, кадры динамики сохраняли каждые 10 пс.

Метод ускоренной молекулярной динамики (МД) был проведен посредством встроенных функций программы Amber14 с использованием параметров, идентичных вышеуказанным, а также заданием следующих специфических значений порогов и параметров:

$$\begin{aligned} \text{EthreshD} &= 13,42; \\ \alpha\text{D} &= 3,2; \\ \text{EthreshP} &= -20203,56; \\ \alpha\text{P} &= 602,24. \end{aligned}$$

Расчет метадинамики (модификация well-tempered) выполняли на базе пакета Amber12, модифицированном PLUMED (версия 1.3) [8]. Расчет поверхности свободной энергии проводили на базе переменных q_x и q_y (см. описание ниже). Высота и ширина добавочных Гауссовских потенциалов была определена начальными значениями 0,35 и 0,065 соответственно. Новые потенциалы добавляли через каждые 300 шагов динамики при шаге интегрирования 1 фс. Температура симуляции составляла 300 К, параметр Bias Factor 8.

Дигедральные углы гликозидных связей. Дигедральные углы гликозидных связей определя-

ли, начиная с терминального остатка сиаловой кислоты, следующим образом: ϕ_1 и ψ_1 (в случае пентасакхарида LSTc характеризовался третий угол ω_1), ϕ_2 и ψ_2 , ϕ_3 и ψ_3 , ϕ_4 и ψ_4 . Для LSTa углы ϕ_1 и ψ_1 определяли по атомам C1–C2–O3–C3 и C2–C3–O3–C2, а для LSTc углы ϕ_1 , ψ_1 и ω_1 – по атомам C1–C2–O6–C6, C2–O6–C6–C5 и O6–C6–C5–O соответственно. Углы ϕ_i и ψ_i остальных гликозидных связей были определены как O–C1–O4'–C4' и C1–O4'–C4'–C3 для числа связей 1 – >4 и O–C1–O3'–C3' и C1–O3'–C3'–C2' для числа связей 1 – >3 (апострофом обозначен невозстанавливающий конец гликозидной связи).

Параметры Кремера–Попла. Циклические формы молекул сахаров способны принимать различные конформации (кресла, лодки, псевдолодки и др.). Существует система из трех параметров в сферических координатах, позволяющая однозначно описать конформацию кольца [9]:

угол θ (тета) определяет экваториальное/полюсное положение сахара на координатной сфере (значения $\theta = 0^\circ$ и $\theta = 180^\circ$ соответствуют двум полюсным конформациям (конформации кресла), $\theta = 90^\circ$ соответствует экваториальным конформациям (различным лодкам и псевдолодкам), промежуточные значения θ соответствуют полукреслам);

угол ϕ (фи) определяет тип искривления кольца для неполюсных конформаций, различаясь у разных типов лодок, псевдолодок и полукресел;

параметр Q определяет количественную меру искривления кольца от теоретической плоской конформации.

Использование трех переменных одновременно существенно увеличивает расчет энергетической диаграммы, при этом отсутствует возможность наглядной интерпретации. Интерес представляет только одна из полусфер, так как инвертированных состояний для нейраминидаз не обнаружено. Поэтому конформации циклических молекул сахаров были описаны с использованием диаграммы Штоддарда (Stoddard) – проекции полусферы на плоскость, выраженную через параметры Кремера–Попла (θ , ϕ , Q) и описываемую двумя переменными q_x и q_y :

$$\begin{aligned} q_x &= Q \sin(\theta) \sin(\phi), \\ q_y &= Q \sin(\theta) \cos(\phi) [10]. \end{aligned}$$

Методы кластеризации. Кластеризацию цельной структуры субстрата проводили на базе значений дигедральных углов между углеводными мономерами с использованием приведенной ниже модификации.

Отображение фазового пространства углов u_i – в общем случае L -мерного бокса P_c :

$$P_c = \{u \in R^L; 0 \leq u_i < 2\pi\}, 1 \leq i < L,$$

посредством преобразования получим:

$$P_c(u) = \left(\frac{1}{\sqrt{L}} \cos u_1, \frac{1}{\sqrt{L}} \sin u_1, \dots \right. \\ \left. \dots \frac{1}{\sqrt{L}} \cos u_1, \frac{1}{\sqrt{L}} \sin u_1 \right).$$

Продукт отображения – тор T_e (L -мерная поверхность на единичной сфере S^{2L-1}). Отображение представляет собой локальную изометрию с сохранением меры расстояний [11].

Преобразованные переменные использовали для кластеризации с помощью Байесовского непараметрического метода, имплементированного в программе `dpMMlowVar` [12]. Оптимизацию углового параметра для данного метода проводили в пределах $[-0,6; -0,3]$ с шагом 0,01 на основании оценочной функции силуэт. При визуализации результатов кластеризации использовали метод главных компонент для трансформированных значений углов с выделением первых трех главных компонент.

Результаты и их обсуждение

Поиск стабилизированных конформаций пентасахаридов LSTa и LSTc. Молекулярная динамика хорошо зарекомендовала себя как универсальный метод определения структур соединений, а также семплирования конформационного пространства. Однако для получения достоверных результатов требуется значительное время симуляции, что стало возможным в последнее время благодаря вычислениям на графических ускорителях (возможности суперкомпьютеров «Ломоносов-1» и «Ломоносов-2»), а также экстенсивному анализу полученного массива данных. Применение дополнительных разновидностей молекулярной динамики, наподобие ускоренной молекулярной динамики (*Accelerated Molecular Dynamics*) [13], и метадинамики (*metadynamics*) [14] позволяет удостовериться в полноте полученных данных, а также значительно расширить пространство семплирования. Классический расчет траектории молекулярной динамики для LSTa и LSTc проводили в течение 1 мкс с периодом сохранения конформеров 10 пс, что обеспечило тщательное семплирование – время симуляции значительно превышало время корреляции ~400 пс любого из пентасахаридов, вычисленное из экспериментов двумерной спектроскопии ядерного магнитного резонанса [15].

Значения дигедральных углов гликозидных связей LSTa и LSTc в ходе симуляции были извлечены, преобразованы (как описано в экспериментальной части) и использованы для поиска кластеров стабилизированных структур – топологий. Обнаруженные топологии пентасахаридов LSTa и LSTc, а также соответствующие характеристические значения дигедральных углов приведены в табл. 1, 2. При поиске дополнительных кластеров структур, проведенном аналогичным образом методом ускоренной молекулярной динамики, новых топологий пентасахаридов не обнаружено.

Характеристические отличия выявленных основных топологий LSTa и LSTc (90% и более всех конформаций, в табл. 1, 2 выделены жирным шрифтом) отражают значения дигедральных углов (φ_1 и ψ_1) первой гликозидной связи между остатками нейраминовой кислоты и галактозы, дигедрала ω_1 (уникального для LSTc), образованного за счет дополнительной связи C5–C6 галактозы, а также угла ψ_2 второй гликозидной связи, тогда как значения $\varphi_2, \varphi_3, \varphi_4$ и ψ_4 среди топологий каждого из соединений существенно не различаются (за исключением некоторых минорных топологий). Следует отметить, что несмотря на значительное время семплирования, полная количественная сходимость по соотношению конформеров не достигается; запуск параллельных симуляций показывает, что сходимость соотношения топологий достигается только для наиболее населенных кластеров LSTa (но не LSTc), а размеры минорных кластеров обоих соединений варьируют ввиду значительных барьеров перехода между топологиями, однако качественная картина устойчивых кластеров среди параллельных симуляций одинакова. Проблему сходимости преобладающей структуры LSTc, как будет показано ниже, удастся решить при помощи метадинамики.

Преобладающая часть стабилизированных состояний LSTa характеризуется топологиями 1–4 (рис. 1). Наиболее представленная топология 1 (59,9%) реализуется через характеристические значения $\varphi_1 = -69^\circ$ и $\psi_1 = -127^\circ$, при этом значения $\varphi_2, \varphi_3, \varphi_4$ и ψ_4 одинаковы для всех основных топологий. Это хорошо согласуется с экспериментальными результатами предыдущих исследований [15, 16] по изучению спектра ядерного магнитного резонанса как по наблюдаемым значениям NOE для расстояния между атомом $N3_{ax}$ сиаловой кислоты и атомом $N3$ галактозы, так и значениям констант взаимодействия $^3J_{CH}$. Следует отметить, что согласовать значения этих констант с результатами моделирования ранее не удавалось. В настоящей работе наблюдаемым значениям NOE

Таблица 1

Основные стабилизированные топологии LSTa, определенные в ходе молекулярной динамики. Для различных топологий приведены характеристические значения дигедральных углов гликозидных связей между мономерами сахаров. Для поля соотношений в скобках указана представленность основных кластеров в независимом запуске симуляции молекулярной динамики (только основные топологии)

Топология	φ_1	ψ_1	φ_2	ψ_2	φ_3	ψ_3	φ_4	ψ_4	Соотношение, %
1	-69,1	-127,6	-73,3	-110,3	-79,7	-126,3	-74,8	117,6	59,9(79,4)
2	-64,6	-118,0	-87,0	65,7	-79,9	-124,7	-74,5	117,3	16,2(16,7)
3	-103,7	-166,5	-80,3	65,6	-80,9	-123,9	-75,0	118,1	11,6(1,5)
4	-179,9	-146,3	-75,4	-115,8	-81,8	-129,4	-75,4	116,5	10,7(2)
5	-77,4	-145,4	-74,0	-118,8	-79,3	48,8	-73,2	118,5	1,5

Таблица 2

Основные стабилизированные топологии LSTc, определенные в ходе молекулярной динамики. Для различных топологий приведены характеристические значения дигедральных углов гликозидных связей между мономерами сахаров. Для поля соотношений в скобках указана представленность основных кластеров в независимом запуске симуляции молекулярной динамики (только основные топологии).

Топология	φ_1	ψ_1	ω_1	φ_2	ψ_2	φ_3	ψ_3	φ_4	ψ_4	Соотношение, %
1	-64,9	164,7	178,5	-73,1	118,8	-80,3	-127,5	-75,1	117,3	34,8(39,2)
2	-62,3	-162,3	75,5	-74,6	115,4	-78,9	-124,8	-74,4	118,4	24,1(40,1)
3	-64,5	-95,8	170,5	-73,2	119,1	-80,6	-129,7	-74,9	117,7	14,0(12)
4	180,0	144,7	-179,1	-70,8	121,0	-80,5	-126,3	-77,6	115,9	5,6(4,7)
5	-179,9	138,5	-70,9	-85,7	108,9	-80,4	-130,8	-73,2	119,4	5,1
6	-64,2	-166,0	-83,7	-74,7	-53,2	-80,6	-129,5	-75,7	118,8	3,4
7	178,8	-156,4	74,5	-77,3	109,3	-81,0	-129,3	-71,6	121,0	3,1
8	-72,3	-166,1	56,7	-67,9	-51,6	-76,3	-105,4	-75,1	118,2	3,1
9	-174,9	-158,3	77,9	-64,8	-46,9	-73,4	-113,0	-75,4	119,0	3,1
10	-65,0	-158,4	-64,5	-86,3	111,9	-81,3	-129,6	-72,7	118,3	2,0
11	177,6	86,3	53,6	-63,6	-43,0	-74,0	-109,3	-73,3	119,8	1,8

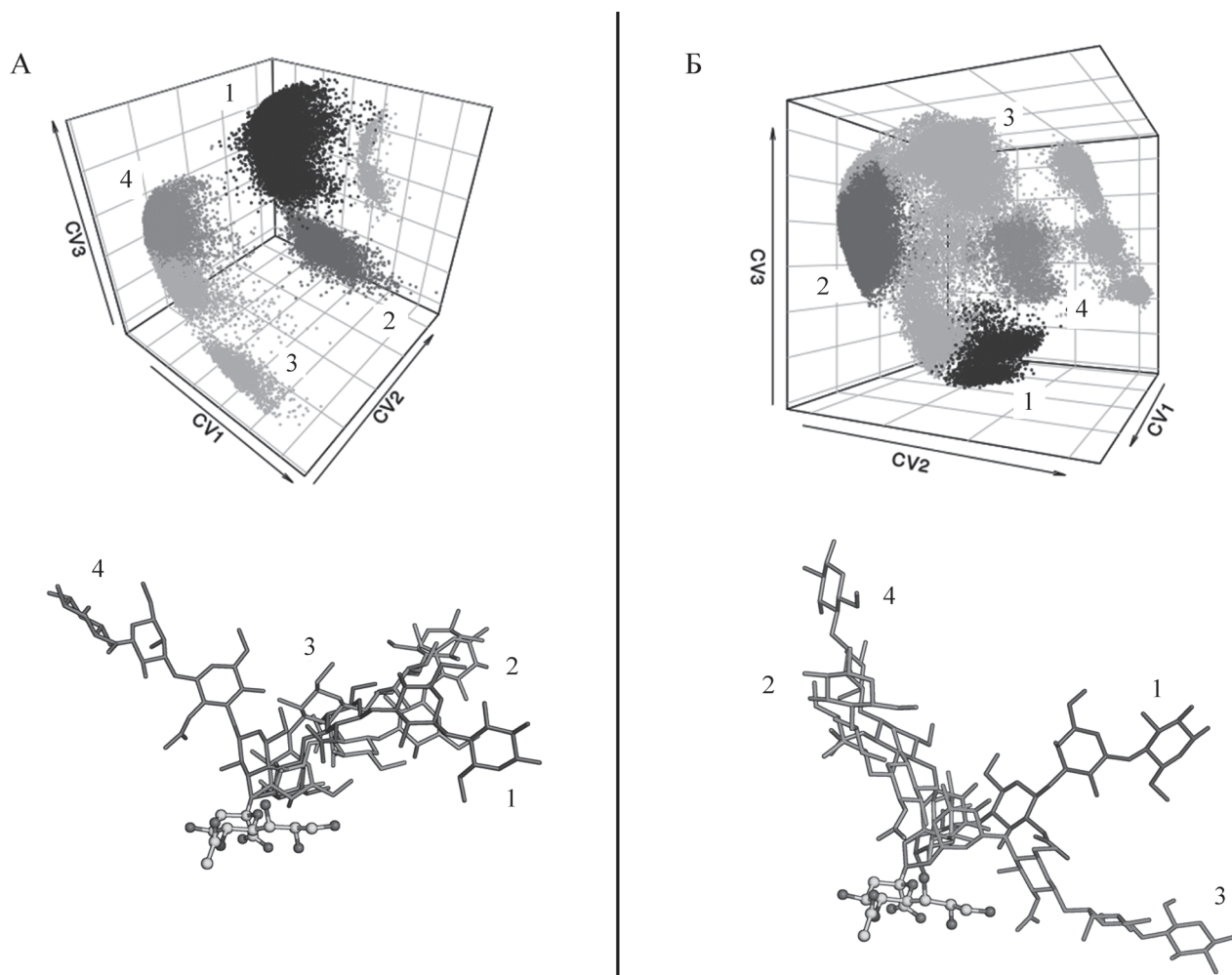


Рис. 1. Семплирование конформационного пространства LSTa (A) и LSTc (Б) с последующей кластеризацией и определением стабилизированных топологий структуры. Изображения вверху получены с помощью выделения трех главных принципиальных компонент в пространстве диэдральных углов гликозидных связей (подробно описаны в Экспериментальной части). Топологии (кластеры) обозначены цифрами. Структуры олигосахаридов наложены друг на друга через остаток сиаловой кислоты, обозначенный посредством шаростержневой модели

(расстояния между атомом H3_{ax} сиаловой кислоты и атомом H3 галактозы, атомом H8 сиаловой кислоты и атомом H4 галактозы) [16, 17] соответствует минорная топология 4 ($\varphi_1 = -179^\circ$ и $\psi_1 = -146^\circ$). Альтернативные топологии 2 и 3 сформированы изменением диэдрала ψ_2 до 65° , но различаются между собой по значениям φ_1 и ψ_1 .

Основные стабилизированные состояния LSTc представлены топологиями 1–4 (рис. 1), характеризующимися собственными наборами значений углов φ_1, ψ_1 и ω_1 и схожими значениями диэдралов $\varphi_2, \psi_2, \varphi_3, \psi_3, \varphi_4$ и ψ_4 . В зависимости от запуска наиболее представленным кластером структур была либо топология 1, либо топология 2, что свидетельствует о недостатке времени симуляции для сходимости результатов по соотношению. Ключевым элементом топологий 1 и 2 является угол ω_1 со значениями $178,5$ и $75,5^\circ$ соответствен-

но. Проведенные ранее работы по исследованию спектра ядерного магнитного резонанса [16] пентасахарид LSTc показали преобладание структур (не менее 70% [18]) со значением ω_1 , близким к 70° ввиду специфической величины константы взаимодействия протонов ${}^3J_{\text{H5}, \text{H6}} = 10$ Гц. При этом значение этой константы характеризует не только топологию 2, но и любую другую топологию со схожим значением ω_1 , в сумме обеспечивая данный сигнал.

Для выяснения преобладающего кластера структур дополнительно был проведен расчет метадинамики структуры LSTc относительно диэдрала ω_1 при условиях ограничений на остальные диэдральные углы для сохранения их значений, специфических только для топологий 1 и 2. На рис. 2 показана восстановленная поверхность свободной энергии вращения угла ω_1 : глобально-

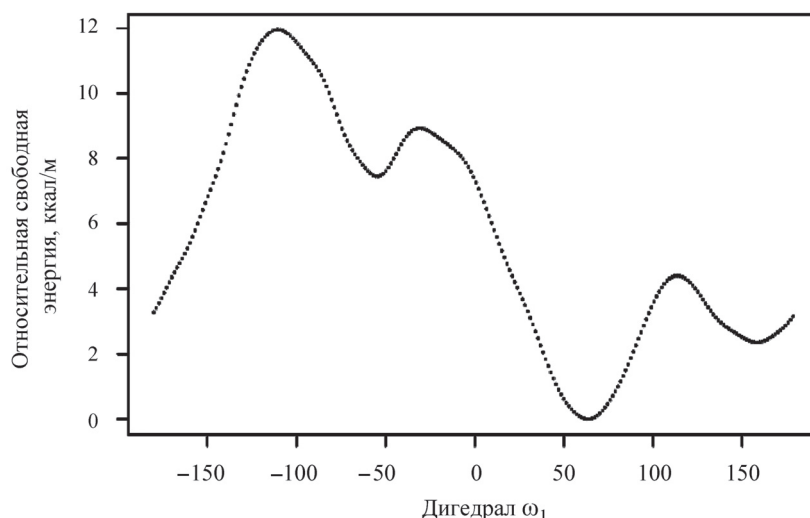


Рис. 2. Поверхность свободной энергии LSTc относительно дигедрального угла ω_1 при условиях ограничений на дигедральные углы ϕ_1, ψ_1 для сохранения их специфических значений, характерных топологиям 1 и 2

му минимуму энергии соответствует значение $\omega_1 = 63^\circ$, т.е. топология 2, тогда как топология 1 реализуется на 2,5 ккал/м выше по энергии через барьер в 4,5 ккал/моль. На основании вышесказанного мы считаем целесообразным при рассмотрении спектра конформаций LSTc использовать не только двумерные карты распределения ϕ_1/ψ_1 [15, 16], но и учитывать топологии по значению дигедрального угла ω_1 . Топология 3 образуется за счет специфического значения $\psi_1 = -95^\circ$ ($\phi_1 = -64,5^\circ$ и $\omega_1 = 170,5^\circ$). Присутствие минорной топологии 4 ($\phi_1 = 180^\circ, \psi_1 = 144,7^\circ$ и $\omega_1 = -179,1$) подтверждается наличием в NOE-эксперименте [16] характерного сигнала между протонами H6(R), H5 галактозы и протоном H3_{ax} сиаловой кислоты. Более того, молекулярное моделирование связывания гемагглютинирина вируса гриппа с LSTc [19] показало присутствие стабильной конформации пентасахарида в белок-субстратных комплексах, близкой по структуре к топологии 4. При этом можно предположить, что ввиду слабого взаимодействия прямое узнавание гемагглютиниринами стабилизированных структур олигосахаридов происходит без сильных изменений конформации последних.

Исследование поверхности свободной энергии конформационных изменений кольца остатка сиаловой кислоты. Методом метадинамики остатка сиаловой кислоты в составе пентасахаридов LSTa и LSTc в водном растворе восстановлена поверхность энергии конформационной изменчивости кольца сиаловой кислоты

относительно декартовых координат q_x и q_y . Как показано для других сахаров [20], не все энергетические минимумы могут однозначно соответствовать идеализированным конформациям, более того, для многих канонических конформаций (${}^3S_1, B_{25}, {}^1S_5, {}^{14}B$) минимумов энергии не обнаружено. Для LSTa и LSTc поверхности энергии схожи по структуре (рис. 3). Наиболее устойчивым состоянием сиаловой кислоты в растворе для обоих пентасахаридов является базовое состояние кресла 1C_4 (глобальный минимум – исходная точка отсчета 0 ккал/м), что соответствует основным показателям констант протон-протонного взаимодействия ${}^3J_{H-H}$ экспериментов ядерного магнитного резонанса и показателям межпротонного расстояния H3–H5 ядерной спектроскопии с эффектом Оверхаузера [15]. Ближайшим по энергии альтернативным состоянием терминального остатка является область структур $B_{14}-{}^5S_1-{}^{25}B-{}^2S_0$ с центральным минимумом в области 5S_1 . Примечательно, что в одной из работ [21] для ферментов семейства сиалидаз стабилизированная структура 5S_1 предложена в качестве основной в реакционноспособном комплексе фермента с субстратом. Для структур LSTa и LSTc это состояние оценивается в 4,0 и 3,5 ккал/моль соответственно, а минимальная величина барьера при переходе из основного состояния через область ${}^5E-{}^5H_4-E_4-{}^3H_4$ составляет 9,0 и 7,5 ккал/моль. Для обоих соединений значительно стабилизирована область ${}^0S_2-{}^3H_2$ (6,0–6,5 ккал/моль).

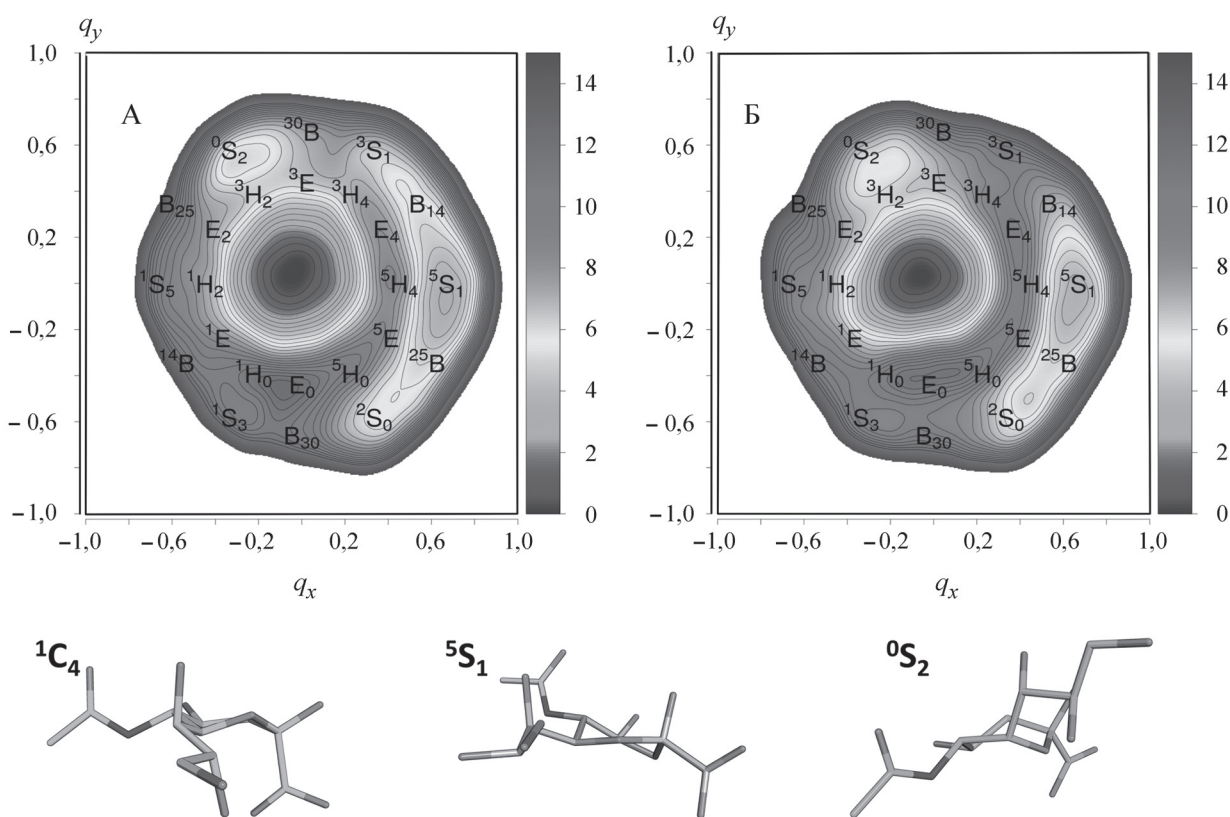


Рис. 3. Поверхности свободной энергии конформационных переходов сиаловой кислоты в водном растворе в составе LSTa (А) и LSTc (Б). Базовая конформация 1C4 (0 ккал/моль) не показана и соответствует координатам (0,0). Внизу показаны конформации сиалового кольца, соответствующие обнаруженным минимумам энергии

Таким образом, при использовании комплексного подхода в результате объединения методов молекулярного моделирования и статистической обработки данных проведен анализ спектра конформационных состояний олигосахаридных фрагментов гликановых рецепторов человека. Определены основные и минорные структурные состояния пентасахаридов, вклад которых чрезвычайно важен при изучении процессов узнавания в живых системах, включая взаимодействие патоген-хозяин. Помимо основ-

ных, у углеводов обнаружены другие наиболее вероятные минорные топологии, а для кольца сиалового остатка определен спектр структур, которые могут участвовать в реакции гидролиза гликозидных связей. В дальнейшем мы предполагаем использовать полученные данные при исследовании процессов распознавания и расщепления гликозидных связей в гликановых рецепторах клеточной стенки слизистой оболочки верхних и нижних дыхательных путей человека вирусными и бактериальными патогенами.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 15-14-00069) с использованием оборудования Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова [22].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Geissner A., Seeberger P.H. // *Annual Review of Analytical Chemistry*. 2016. Vol. 9. С. 223.
2. Agre P., Bertozzi C., Bissell M., Campbell K.P., Cummings R.D., Desai U.R., Ginsburg D. // *Journal of clinical investigation*. 2016. Vol. 126. N 2. С. 405.
3. Domenech M., Garcia E., Moscoso M. // *Microbial biotechnology*. 2012. Vol. 5. N 4. С. 455.
4. Manco S., Hernon F., Yesilkaya H., Paton J.C., Andrew P.W., Kadioglu A. // *Infection and immunity*. 2006. Vol. 74. N 7. С. 4014.
5. Smith D.F., Cummings R.D. // *Current opinion in virology*. 2014. Vol. 7. С. 79.
6. Chandrasekaran A., Srinivasan A., Raman, R., Viswanathan K., Raguram S., Tumpey T.M., Sa-

- sisekharan R.* // Nature biotechnology. 2008. Vol. 26. N 1. C. 107.
7. *Case D.A., Berryman J.T., Betz R.M., Cerutti D.S., Cheatham T.E., Darden T.A., Duke R.E., Giese T.J., Smith W., Swails J., Walker R.C., Wang J., Wolf R.M., Wu X., York D.M., Kollman P.A.* AMBER 2015. San Francisco, 2015.
 8. *Bonomi M., Branduardi D., Bussi G., Camilloni C., Provasi D., Raiteri P., Parrinello M.* // Computer Physics Communications. 2009. Vol. 180. N 10. C. 1961.
 9. *Cremer D., Pople J. A.* // Journal of the American Chemical Society. 1975. Vol. 97. N 6. C. 1354.
 10. *Iglesias-Fernández J., Raich L., Ardèvol A., Rovira C.* // Chemical Science. 2015. Vol. 6. N 2. C. 1167.
 11. *Costa S.I., Torezzan C., Campello A., Vaishampayan V.A.* // Information Theory and Applications Workshop (ITA), 2013. IEEE, 2013. C. 1.
 12. *Straub J., Campbell T., How J.P., Fisher J.W.* // Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR), 2015 IEEE Conference on. IEEE, 2015. C. 334.
 13. *Pierce L.C., Salomon-Ferrer R., Augusto F. de Oliveira C., McCammon J.A., Walker R.C.* // Journal of Chemical Theory and Computation. 2012. Augusto F. de Oliveira C. Vol. 8. N 9. C. 2997.
 14. *Laio A., Parrinello M.* // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2002. Vol. 99. N 20. C. 12562.
 15. *Sasaki G.L., Elli S., Rudd T.R., Macchi E., Yates E.A., Naggi A., Guerrini M.* // Biochemistry. 2013. Vol. 52. N 41. C. 7217.
 16. *Sabesan S., Bock K., Paulson J.C.* // Carbohydrate research. 1991. Vol. 218. C. 27.
 17. *Poppe L., Dabrowski J., Lieth C.W., Numata M., Ogawa T.* // FEBS Journal. 1989. Vol. 180. N 2. C. 337.
 18. *Ohrui H., Nishida Y., Itoh H., Meguro H.* // Journal of Organic Chemistry. 1991. Vol. 56. N 5. C. 1726.
 19. *Xu D., Newhouse E.I., Amaro R.E., Pao H.C., Cheng L.S., Markwick P.R., Arzberger P.W.* // Journal of molecular biology. 2009. Vol. 387. N 2. C. 465.
 20. *Thompson A.J., Dabin J., Iglesias-Fernández J., Ardèvol A., Dinev Z., Williams S. J., Smith D.K.* // Angewandte Chemie International Edition. 2012. Vol. 51. N 44. C. 10997.
 21. *Chan J., Lu A., Bennet A.J.* // Journal of the American Chemical Society. 2011. Vol. 133. N 9. C. 2989.
 22. *Sadovnichy V., Tikhonravov A., Voevodin V., Opanasenko V.* "Lomonosov": Supercomputing at Moscow State University. In Contemporary High Performance Computing: From Petascale toward Exascale. 2013, Boca Raton, USA. P. 283.

Поступила в редакцию 23.11.17

STUDY OF THE CONFORMATIONAL VARIETY OF THE OLIGOSACCHARIDE SUBSTRATES OF NEURAMINIDASES FROM PATHOGENS USING MOLECULAR MODELING

E.M. Kirilin, V.K. Švedas*

(Department of biokinetics, Belozersky Institute Of Physicochemical Biology, Lomonosov Moscow State University; *e-mail: vyta@belozersky.msu.ru)

Analysis of the conformational variety of the oligosaccharide fragments of the human glycan receptors LSTa (α -D-Neu5Ac-(2-3)- β -D-Gal-(1-3)- β -D-GlcNAc-(1-3)- β -D-Gal(1-4)-D-Glc) and LSTc (α -D-Neu5Ac-(2-6)- β -D-Gal-(1-3)- β -D-GlcNAc-(1-3)- β -D-Gal(1-4)-D-Glc) in aqueous solution has been performed with the comprehensive use of molecular modeling and statistical data processing followed by determination of major and minor stabilized conformers and selection of relevant topologies. The sialic acid ring conformational free energy landscape for both pentasaccharides has been reconstructed and analyzed giving a specification of the most probable distorted ring conformations of the basic chair 1C_4 structure. The obtained results are in a good agreement with experimental data generated by nuclear magnetic resonance spectroscopy and x-ray crystallography.

Key words: sialoglycans conformations, molecular modeling, metadynamics.

Сведения об авторах: *Кирилин Евгений Михайлович* – мл. науч. сотр. отдела биокинетики НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова (kirilin@belozersky.msu.ru); *Шведас Вутаутас Юозапас-Каятоно* – профессор факультета биоинженерии и биоинформатики МГУ имени М.В. Ломоносова, глав. науч. сотр. отдела биокинетики НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова, докт. хим. наук (vyta@belozersky.msu.ru).