

## **Сборка дифенилаланиновой пептидной нанотрубки методом молекулярной динамики**

**Лихачев И.В.\* , Быстров В.С., Филиппов С.В.**

*Институт математических проблем биологии РАН – филиал ИПМ им. М.В. Келдыша  
РАН, Пуццино, Россия*

**Аннотация.** В работе развивается подход к моделированию процессов самосборки сложных молекулярных наноструктур методами молекулярной динамики с помощью молекулярно-динамического манипулятора. Ранее этот подход был рассмотрен на примере сборки фенилаланиновой спиральной нанотрубки из линейного набора цепочек молекул фенилаланина (F) различной хиральности: левых L-F и правых D-F. Теперь нами разработан алгоритм молекулярно-динамической самосборки спиральных структур типа пептидных нанотрубок из молекул дифенилаланина (FF) различной хиральности L-FF и D-FF. Процесс самосборки цепочек дипептидов в спиральные структуры нанотрубок представляет собой имитацию прикладывания определенных силовых воздействий к имеющейся начальной линейной структуре с целью получения конечной структуры того же химического состава, но с иной спиральной геометрией. В качестве основного программного обеспечения использован программный комплекс моделирования молекулярной динамики PUMA-CUDA. Используя этот инструмент, можно исследовать процесс формирования спиральных структур из линейной последовательности любых аминокислот. Был выполнен сравнительный анализ структур нанотрубок, полученных при сборке методами молекулярной динамики и при их экспериментальной самосборке, с применением метода визуально-дифференциального анализа. Установлено, что полученные данные соответствуют закону смены знака хиральности молекулярных спиральных структур при усложнении их иерархического уровня организации.

**Ключевые слова:** *метод молекулярной динамики, МД-манипулятор, управляемая молекулярная динамика, самосборка наноструктур, дифенилаланин, хиральность, визуально-дифференциальный анализ.*

### **1. ВВЕДЕНИЕ**

Самосборка аминокислот и пептидов в сложные и высокосимметричные молекулярные наноструктуры (сферы, слои или ленты, нанокристаллы, нанотрубки и т.п.) находятся последнее время в центре внимания многих исследователей [1–6], так как это имеет фундаментальное значение для изучения принципов самоорганизации структур биомолекулярных живых систем, а также прикладное значение в нанотехнологии и нанобиомедицине.

Одним из характерных и уже достаточно хорошо изученных примеров таких объектов, образующих спиральные трубчатые наноструктуры, являются дифенилаланиновые (FF) пептидные нанотрубки (PNT) [6–17]. Их самосборка, особенности и свойства изучались как экспериментально [8–11, 17], так и теоретически, включая методы рентгеноструктурного анализа [16], а также методы компьютерного моделирования [7, 12–15]. Было показано, что нанотрубки демонстрируют

---

\* ilya\_lihachev@mail.ru

принципиальные различия по своим хиральным свойствам: самособранные нанотрубки из дипептидов левой хиральности L-FF формировались в спиральные нанотрубки с хиральностью правого типа D (с правым винтом спирали), а из дипептидов правой хиральности D-FF формировались нанотрубки левой хиральности L (с левым винтом спирали). Это соответствует установленной ранее закономерности по смене типа хиральности при переходе на более высокий уровень иерархической организации биомакромолекулярных структур [18].

Сборка дифенилаланиновых нанотрубок – это сложный процесс, который требует определенных знаний и навыков, оборудования и условий. Дифенилаланиновые нанотрубки (FF-PNT) – это наноструктуры, состоящие из молекул дифенилаланина, которые образуют особую трубчатую спиральную структуру.

Спиральная симметрия FF-PNT порождает в них значительную внутреннюю поляризацию [7, 12–15, 17] и наделяет их уникальным сочетанием механических [17, 19], электронных [12, 13, 20] и оптических [21–24] свойств, а также сильного пьезоэлектрического эффекта [7, 14, 25–27] и фотоэлектронных свойств [28, 29], полезных для различных применений. Ниже перечислены пять основных возможных применения дифенилаланиновых нанотрубок.

*Электроника и оптика.* Дифенилаланиновые нанотрубки обладают высокими электрическими и оптическими свойствами. Они могут быть использованы для создания электронных и оптических устройств, таких как транзисторы, светодиоды, лазеры и солнечные батареи. Дифенилаланиновые нанотрубки могут быть использованы для улучшения скорости и производительности электронных устройств.

*Биомедицина.* Дифенилаланиновые нанотрубки имеют большой потенциал для применения в биомедицине. Они могут быть использованы для создания биодатчиков для детекции заболеваний, а также для адресной доставки лекарственных препаратов в организм больного.

*Катализ.* Дифенилаланиновые нанотрубки представляют собой отличный катализатор. Они могут использоваться в промышленном производстве для ускорения химических реакций, таких как окисление и гидрирование, что поможет уменьшить издержки и улучшить качество продукции.

*Энергетика.* Дифенилаланиновые нанотрубки могут быть использованы в качестве электродов и катализаторов для создания электрохимических устройств, таких как аккумуляторы и топливные элементы. Дифенилаланиновые нанотрубки могут способствовать повышению эффективности энергетических устройств и снижению затрат на энергию.

*Нанoeлектроника.* Они могут быть использованы для создания нанoeлектронных микросхем, включая процессоры и память. Дифенилаланиновые нанотрубки могут улучшить производительность таких устройств и уменьшить их размеры.

Помимо лорогостоящих экспериментальных исследований, для изучения структуры и свойств нанотрубок применяют методы компьютерного моделирования. Развитие и создание новых компьютерных технологий, включая применение методов молекулярного моделирования и молекулярной динамики (МД), является перспективным направлением исследований таких сложных биомакромолекулярных наноструктур, как пептидные нанотрубки. Применение математического аппарата МД открывает возможности для изучения фундаментальных процессов самоорганизации и самосборки молекулярных структур и их фундаментальных свойств.

Ранее, мы уже рассматривали применение методов компьютерного моделирования к исследованию пептидных нанотрубок разной хиральности [7, 12–15, 28, 29]. С применением методов МД было рассмотрено формирование спиральной структуры пептидной нанотрубки на основе фенилаланина (F) [30, 31]. Известно, что из молекул этой аминокислоты формируются нанотрубки F-PNT [32, 33], а также образуются

дипептиды – дифенилаланины (FF), которые, в свою очередь, самособираются в пептидные дифенилаланиновые нанотрубки) [7–16, 19, 21–29, 34].

В данной работе рассматривается развитие метода МД, в виде молекулярно-динамического манипулятора (МД-манипулятора), позволяющего проводить эффективную сборку молекулярных структур с учетом хиральности исходных молекулярных компонентов. Для самосборки дифенилаланиновой нанотрубки нами используется метод управляемой молекулярной динамики. Под управляемой МД тут понимается включение дополнительных внешних сил, приводящих линейную структуру к спиралевидной конформации. При этом в алгоритме нигде заранее не прописано, какая структура получится в итоге: левозакрученная или правозакрученная. Подобный подход был использован нами в работах [30, 31].

Аналогично описанному моделированию самоорганизации набора из 48 молекул фенилаланина  $F_{48}$  в спиральную трубчатую структуру [30, 31], мы доработали алгоритм и провели самосборку дифенилаланиновой нанотрубки из подготовленного линейного набора молекул дифенилаланина  $FF_n$  при помощи МД-манипулятора из пакета моделирования молекулярной динамики PUMA-CUDA [35, 36]. В качестве исходных наборов использовались дипептиды различной хиральности L-FF и D-FF. Из дипептидов L-FF (левой хиральности) при такой самосборке формируются преимущественно нанотрубки с хиральностью правого типа (или с правым винтом, D), а из D-FF формируются нанотрубки с левым винтом спирали. Это показано также результатами статистической обработки многократно проведенных МД прогонов. Эти результаты подтверждены сравнением экспериментальных наноструктур FF-PNT, восстановленных по рентгеновским данным, и полученных нами модельных наноструктур с помощью развитых нами ранее методов визуально-дифференциального анализа (ВДА) биомолекулярных наноструктур [37, 38].

## 2. ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ

### 2.1. Методика проведения численных МД экспериментов

#### 2.1.1. Используемые программные средства

В качестве программы моделирования молекулярной динамики здесь, как и ранее в работах [30,31], использован программный комплекс PUMA-CUDA, на основе программного комплекса PUMA [35,36], разработанного в лаборатории молекулярной динамики ИМПБ РАН, способный выполнять расчеты в параллельном режиме как на персональных компьютерах, в том числе с графическими ускорителями, так и на высокопроизводительных гетерогенных вычислительных кластерах. В качестве основного силового поля было выбрано AMBER-99 [39]. Программа PUMA-CUDA поддерживает задание произвольного дополнительного (внешнего силового) воздействия. В программу добавлена возможность создания дополнительных силовых воздействий в виде гуковских пружин, обладающих заданной жесткостью и номинальной длиной. Работа проводится в интерактивном режиме. Возможность интерактивного управления и внесения изменений в программный комплекс делает из программы моделирования молекулярной динамики – молекулярный МД-конструктор [40]. Для анализа результатов применяется также программный пакет TAMM (анализатор траекторий молекулярной динамики) [41, 42]. Таким образом, здесь используются две программы на персональном компьютере: PUMA-CUDA проводит непосредственно само моделирование, а дополнительная программа TAMM (анализатор траекторий молекулярной динамики) подсоединяется к PUMA-CUDA по клиент-серверной технологии и визуализирует текущее состояние системы в режиме реального времени. В таком режиме легко и удобно задавать различные силовые воздействия (изменять, например, жесткость пружин) и получать, каким образом результаты этого воздействия на всю систему.

После подбора параметров и длительностей внешнего силового воздействия моделирование было повторено в 32 независимых реализациях МД прогонов. Под независимой реализацией вычислительного эксперимента подразумевается интегрирование уравнений движения систем с одними и теми же начальными координатами, но используя различную последовательность для датчика случайных чисел при имитации виртуальной столкновительной среды термостата, используемого в МД расчетах.

## 2.2. Методика силовой МД самосборки молекулярной структуры

### 2.2.1. Начальная структура

Сборка нанотрубки осуществляется из мономеров FF, представляющих собой пару молекул фенилаланина F, соединённых пептидной связью и расположенных (приблизительно) перпендикулярно друг относительно друга. Между парами F в линейной цепочке из ряда дипептидов FF нет валентных связей.

В качестве основы берётся готовый \*.pdb-файл из 24 молекул дифенилаланина, расположенных линейно в ряд –  $\text{poly}(\text{FF})_{24}$ . Такой набор молекул можно приготовить с помощью молекулярного конструктора химических структур, например, используя программу HyperChem [43] или PyMol [44]. К молекулам F добавлялись недостающие один атом кислорода и два атома водорода – в результате получали структуру дифенилаланина левой хиральности L-FF в цвитерионной форме. Далее эту структуру размножали 24 раза, повторяя ее через 10 Å (рис. 1). Аналогично была построена структура  $\text{poly}(\text{D-FF})_{24}$  на основе молекул фенилаланина F правой хиральности.

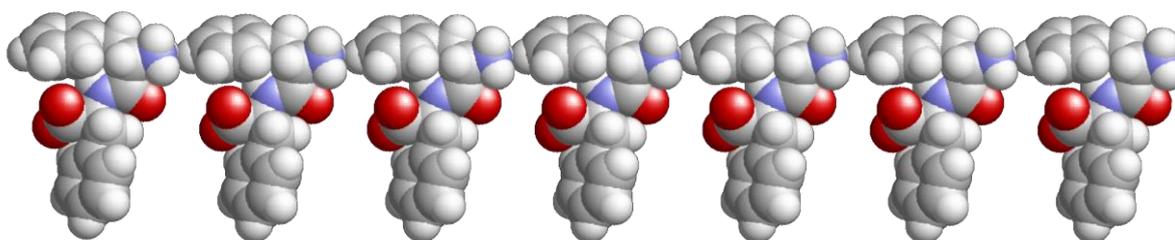


Рис. 1. Исходная линейная структура  $\text{poly}(\text{L-FF})_{48}$ . Показан фрагмент из 7 дипептидов.

В данном МД моделировании используются цепочки из 24 молекул FF (L-FF/ D-FF), то есть всего  $43 \times 24 = 1032$  атома (молекула дифенилаланина имеет 43 атома – одну молекулу воды  $\text{H}_2\text{O}$  и два набора по 20 атомов фенилаланина). При МД самосборке требуется получить спираль из 6 молекул FF на один виток спирали, т.е.  $6 \times 43 = 258$  атомов это число атомов в одном витке. Всего образуется четыре витка по шесть молекул FF из 1032 атомов (для обоих типов хиральности). Для предотвращения перемещений молекулы в пространстве фиксируется первый атом (PUMA-CUDA позволяет фиксировать координаты необходимых номеров атомов). В силовое поле добавляем два типа пружин аналогично тому, как это описано в [30, 31].

### 2.2.2. Процесс самосборки спирали

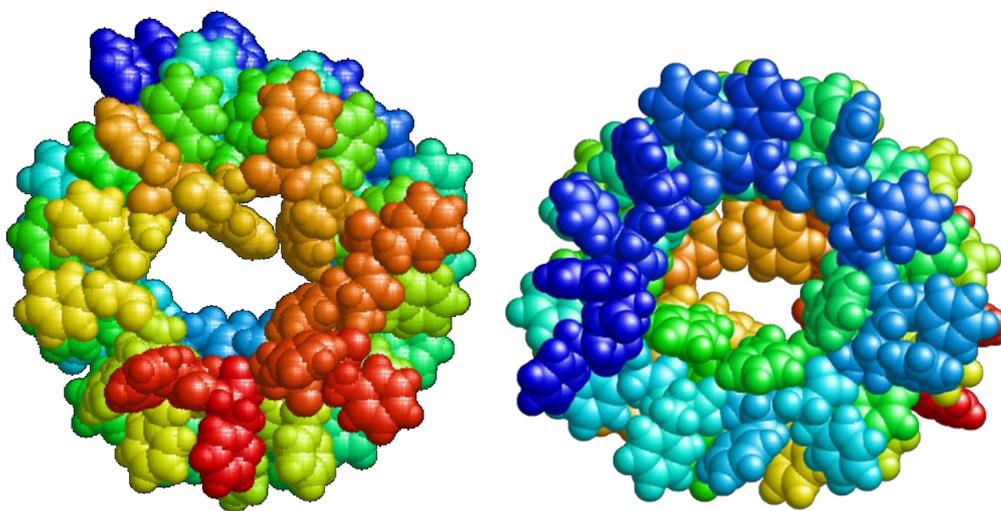
В качестве программы моделирования молекулярной динамики используется программный комплекс PUMA-CUDA, который был доработан так, чтобы можно было создавать дополнительные силовые воздействия на молекулу. Процесс можно охарактеризовать как управляемая молекулярная динамика, это и есть МД-манипулятор. В данном случае для самосборки дифенилаланиновой нанотрубки выбраны следующие дополнительные силовые воздействия: 1) пружины, дублирующие контакты  $\text{NO}_3$  и  $\text{CO}_2$  групп, 2) растяжки (пружины) на внутренний диаметр, 3) растяжки (пружины) на

внешний диаметр (отдельные для четных и нечетных аминокислот), 4) растяжки на шаг спирали.

Конкретные значения длин пружин в покое не имеют значения. Они нужны для того, чтобы направить систему в требуемое положение, а не для обеспечения строгой структуры. Внутренние растяжки берутся чуть меньше (на 2 Å) желаемых, а наружные – чуть больше. Константа гукской пружины варьируется от 0.0001 пН/Å до 10 пН/Å.

Для сборки спирали из фенилаланинов F, мы в предыдущей работе постепенно увеличивали жесткость пружины, и после 90 пс моделирования линейная структура преобразовалась в нанотрубку [30, 31]. После этого добавляли пружины, обеспечивающие дополнительную диаметральную растяжку аминокислотных остатков (сила применяется к концевому атому водорода). Это было необходимо для получения четкой структуры, чтобы все остатки были расположены на внешней стороне спирали [30].

В данном эксперименте удалось запустить релаксацию, без дополнительных силовых воздействий. За 30 пс эксперимента сами собой образовались связи между CO<sub>2</sub> и NH<sub>3</sub> группами, то есть началась самопроизвольная сборка. Затем постепенно образовались спиральные структуры разной хиральности в зависимости от исходной хиральности набора молекул дипептидов (рис. 2).



**Рис. 2.** Конечные результаты самосборки и образования спиралевидной формы: слева – левозакрученная хиральная L-форма на основе правых молекул (D-FF)<sub>24</sub>; справа – правозакрученная хиральная D-форма на основе левых молекул (L-FF)<sub>24</sub>. Вид в проекции вдоль оси нанотрубки в изображении RasMol – pdb file.

Таким образом, в результате МД-моделирования, имея мономеры различной исходной хиральности, при одинаковых внешних воздействиях в процессе самосборки методом МД-манипулятора с определённой и достаточно большой долей вероятности мы получаем правые спиральные нанотрубки (D-FF-PNT) из L-мономеров (L-FF) и левые спиральные нанотрубки (L-FF-PNT) из D-мономеров (D-FF).

### 2.3. Статистика МД сборки нанотрубок

Для сбора статистики вычислительный эксперимент повторялся многократно для каждого типа хиральности (L и D). В итоге было проведено 32 независимые реализации сборок дифенилаланиновых нанотрубок с одними и теми же начальными координатами системы.

Параметры силовых воздействий во всех МД-экспериментах были одинаковыми, включая силу и длительность воздействий. Менялась лишь последовательность датчика

случайных чисел, который используется столкновительным МД-термостатом при разыгрывании случайных столкновений с виртуальными частицами. Результаты приведены в таблице 1 и обсуждаются ниже в разделе 3.

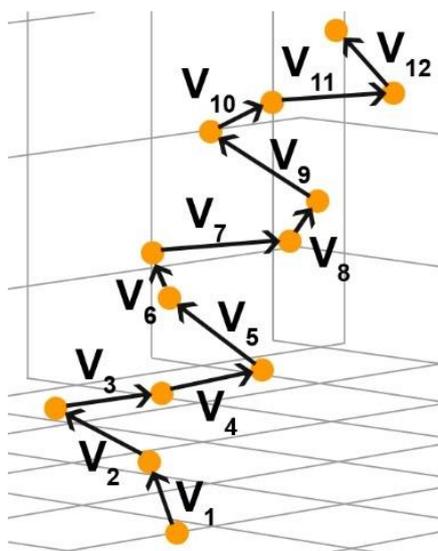
## 2.4. Расчет и определение хиральности

Для определения хиральности структуры был использован алгоритм, основанный на смешанном произведении векторов, предложенный в работах [18, 45].

В качестве опорных векторов выступали векторы, соединяющие  $C_{\alpha}$ -атомы системы. По трём векторам находилось их смешанное произведение:

$$([\mathbf{V}_1, \mathbf{V}_2], \mathbf{V}_3) = (y_1 z_2 - y_2 z_1) x_3 + (z_1 x_2 - z_2 x_1) y_3 + (x_1 y_2 - x_2 y_1) z_3 \quad (1)$$

где  $\mathbf{V}_1, \mathbf{V}_2, \mathbf{V}_3$  – векторы, соединяющие пары  $C_{\alpha}$ -атомов.



**Рис. 3.** Схема определения векторов спиральной структуры по опорным  $C_{\alpha}$ -атомам для расчета хиральности по смешанному векторному произведению.

Далее находилась сумма всех таких произведений для последовательно расположенных троек векторов, соединяющих пары смежных  $C_{\alpha}$ -атомов системы:

$$X_{\text{total}} = \sum_{i=1}^{n-2} ([\mathbf{V}_i, \mathbf{V}_{i+1}] \mathbf{V}_{i+2}) \quad (2)$$

Если эта сумма положительна, то спираль является правозакрученной и ее хиральность D. Если отрицательна, то спираль является левозакрученной и ее хиральность L.

Для удобства оценки значения хиральности спиральных структур была введена также нормированная величина значения хиральности [45]:

$$X_{\text{norm}} = \sum_{i=1}^{n-2} \frac{([\mathbf{V}_i, \mathbf{V}_{i+1}] \mathbf{V}_{i+2})}{C_i} \quad (3)$$

где нормировочный множитель рассчитывается как  $C_i = \left( \frac{1}{3} \sum_{j=0}^2 |\mathbf{V}_{i+j}| \right)^k$ , где  $k = 5$ .

Результаты расчета хиральности этим методом для полученных спиральных структур приведены в таблице 1. Анализ и сравнение результатов даны в разделе 3.

## 2.5. Методы анализа и оценки достоверности полученных МД-структур

В качестве одного из методов оценки достоверности получаемых результатов был использован визуально-дифференциальный анализ (ВДА) [37, 38] проекционных гипсометрических карт поверхностей [46] для построенных методом МД и экспериментальных дифенилаланиновых нанотрубок.

Из всего набора структур, полученных в ходе численных МД-экспериментов, были отобраны две структуры (по одной для каждой хиральности D и L), конфигурация которых визуально оказалась наиболее близкой к конфигурации экспериментальных D- и L-нанотрубок [15, 37].

Для получения согласованных гипсометрических карт отобранные MD-структуры были выровнены относительно экспериментальных с соответствующей хиральностью в программе PyMol [44] командой *pair\_fit*. Выравнивание выполнялось по атомам азота  $\alpha$ -аминогруппы, составляющей пептидную связь. Эти атомы менее подвижны и составляют своеобразный остов нанотрубки.

Выравнивание МД-структуры, полученной из D-FF мономеров, выполнялось по четырём парам атомов, расположенным в углах секущего прямоугольника, лежащего на вертикальной оси и диаметре каждой из двух нанотрубок – экспериментальной и МД. Среднеквадратичное отклонение позиций атомов (RMSD) при этом составило 2.8 Å.

Выравнивание МД-структуры, полученной из L-FF мономеров, выполнялось по 21 паре атомов, расположенных на поверхности условного цилиндра экспериментальной и МД нанотрубок. RMSD при этом составило 2.92 Å.

Для четырёх подготовленных таким образом структур были построены трёхмерные молекулярные модели [47–49] в среде свободного 3D-редактора Blender [50] и были получены проекционные гипсометрические карты внешних и внутренних поверхностей нанотрубок: экспериментальных и МД, с хиральностью D и L.

К «топографическому виду» карты были приведены с помощью свободной программы для обработки цифровых изображений G'MIC [51] командой *topographic\_map 30,15*.

## 3. ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основные результаты МД сборки дифенилаланиновых нанотрубок, полученных из L- и D-мономеров, в сериях по 32 реализации каждая, приведены в таблице 1.

В результате численных экспериментов получались и смешанные случаи, когда часть структуры была левозакрученной, а часть – правозакрученной. При построении таблицы 1 проводилась экспертная оценка, по результатам которой проводилось распознавание таких структур – закрученных наполовину в левую сторону, а наполовину в правую (этому соответствуют значения чисел 0.5 в соответствующих столбцах).

Результаты, полученные по алгоритмам расчета хиральности согласно формулам (1) и (2), распознавали такие структуры однозначно. Поэтому есть небольшое расхождение при распознавании структур человеком и алгоритмом.

Как показывает опыт проведения подобных вычислительных экспериментов методами МД при большом числе реализаций не из всех мономеров хиральности D получают левозакрученные спирали, а из L-мономеров получают правые. Список полученных спиралей приведён в таблице 1. Краткие выводы по полученным результатам статистики и расчетам хиральности по формулам (1)–(3) приведены под таблицей 1.

Согласно статистике сборки, из L-мономеров линейной структуры с вероятностью порядка 80 % можно получит правозакрученные нанотрубки, а из D-мономеров примерно с той же вероятностью – правозакрученные.

Таблица 1. Статистика полученной хиральности (значение и знак) собранных спиральных структур FF

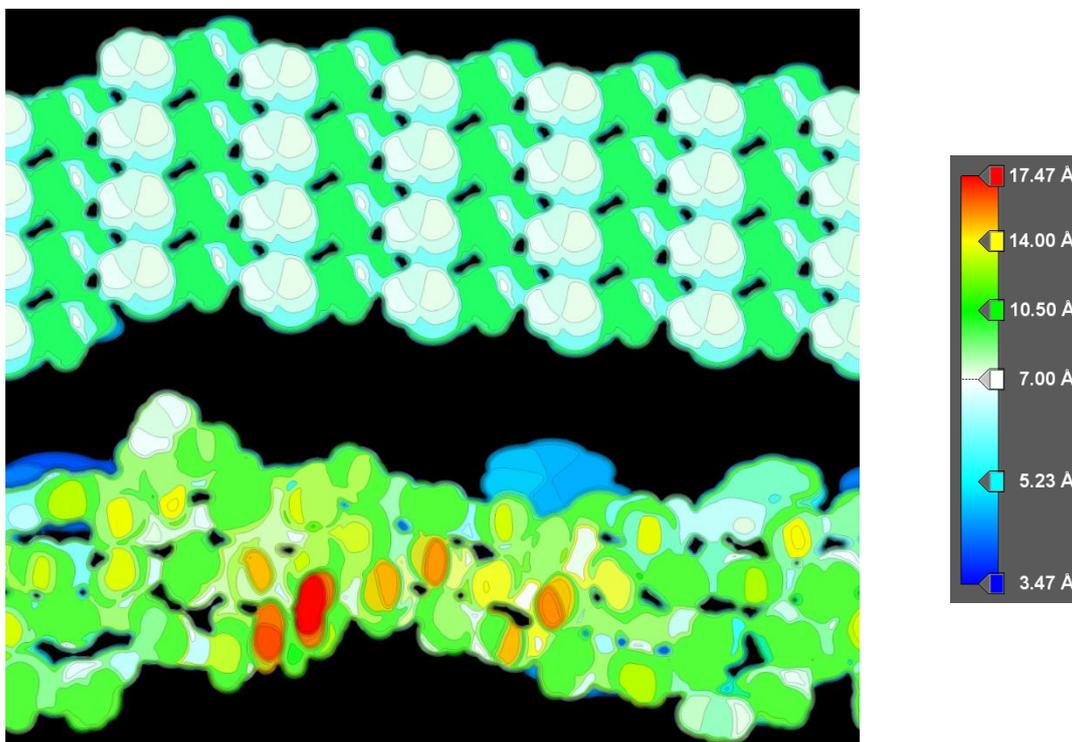
Номер реализации	L-мономер			D-мономер		
	Кол-во левых спиралей	Кол-во правых спиралей	Значение согласно алгоритму	Кол-во левых спиралей	Кол-во правых спиралей	Значение согласно алгоритму
1		1	- 0.006	0.8	0.2	- 0.046
2		1	0.033	1		- 0.098
3		1	0.009	0.2	0.8	- 0.031
4		1	0.043	0.8	0.2	- 0.045
5		1	0.005	1		- 0.001
6	0.5	0.5	- 0.032	0.5	0.5	- 0.007
7		1	0.018	1		- 0.030
8	1		- 0.027		1	- 0.031
9	1		- 0.038	1		- 0.023
10	0.5	0.5	0.042	1		- 0.002
11	1		0.008	0.5	0.5	0.050
12		1	0.016	1		- 0.027
13	0.5	0.5	0.062	0.5	0.5	0.004
14		1	0.001	0.5	0.5	0.003
15		1	0.039	0.5	0.5	0.018
16		1	0.031	1		- 0.003
17	0.5	0.5	0.040	<b>1</b>		<b>0.004</b>
18		1	0.003	0.5	0.5	- 0.028
19		1	- 0.004	1		- 0.043
20	0.5	0.5	0.015	0.8	0.2	- 0.063
21		1	0.073	0.5	0.5	0.003
22		1	0.050	0.2	0.8	- 0.054
23		1	0.059	0.5	0.5	- 0.030
24		1	0.054	0.5	0.5	- 0.029
25		1	0.048	1		- 0.022
26		1	0.015	1		- 0.011
27	0.5	0.5	0.044	0.5	0.5	- 0.039
28	0.5	0.5	0.086	0.5	0.5	0.012
29	0.5	0.5	0.003	0.8	0.2	- 0.012
30		1	- 0.021	0.5	0.5	- 0.011
31		1	0.043	0.5	0.5	- 0.007
32		1	0.034	0.8	0.2	- 0.016
<b>Итого согласно экспертному мнению</b>	7 (22 %)	25 (78 %)		21.9 (68 %)	10.1 (32 %)	
<b>Итого согласно алгоритму</b>	6 (19 %)	26 (81 %)		25 (78 %)	7 (22 %)	

Вычислительные эксперименты всегда ограничены главным ресурсом – процессорным временем. В настоящей работе показан сам принцип сборки молекулярных структур при помощи управляемой молекулярной динамики. Мы знаем, какие структуры должны получиться на выходе. И, действуя по определению спирали,

постепенно увеличиваем внешние силовые воздействия, приводя линейный мономер к нужному спиральному виду.

### 3.1. Результаты сравнительного визуально-дифференциального анализа

Визуально-дифференциальный анализ как внешних (рис. 4, 5), так и внутренних (рис. 6, 7) поверхностей собранных в вычислительном эксперименте структур подтверждает геометрическое подобие МД-структур соответствующим им структурам, полученным в ходе натурального эксперимента [11, 16, 17, 37].



**Рис. 4.** Параллельное представление гипсометрических карт внешней поверхности самосборных нанотрубок с хиральностью D, полученных в ходе натурального (вверху) и численного (внизу) экспериментов.

Главным образом в том, что направление витков спирали у D-FF нанотрубок, полученных МД-расчётами соответствует направлению витков спирали у D-FF нанотрубки, полученной в ходе натурального эксперимента.

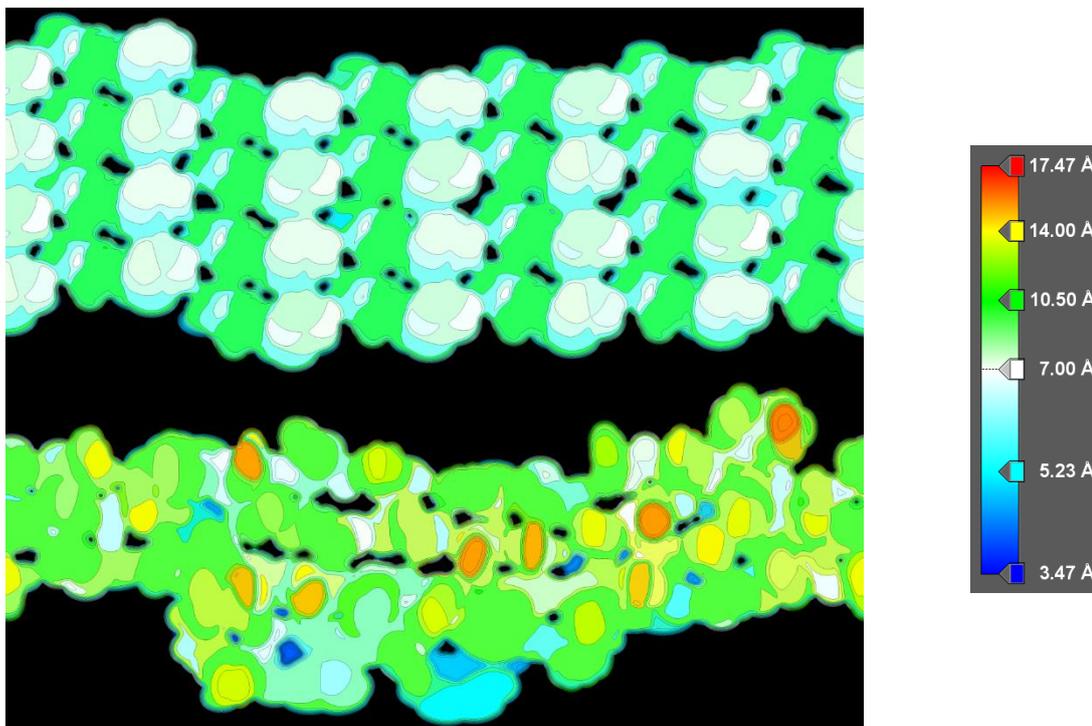
Аналогично и для L-FF нанотрубок: направление витков спирали, полученной в ходе МД-расчётов, совпадает с направлением витков у экспериментальной L-FF нанотрубки.

Кроме того, на всех без исключения картах отчётливо виден ряд закономерностей.

В частности, диапазон значений «высот» и «глубин» у всех МД-структур заметно шире такового у экспериментальных нанотрубок. Например, толщина слоя экспериментальных нанотрубок составляет 7.1 Å для D-FF и 7.7 Å для L-FF, что согласуется с полученными ранее результатами [37], а толщина молекулярного слоя у самосборных МД-нанотрубок составляет 14 Å для D-FF и 12 Å для L-FF.

Однако на гипсометрических картах видно, что такие значения не повсеместны и обусловлены лишь «выбросами» отдельных ароматических колец дифенилаланиновых мономеров вовне (рисунки 4 и 5) или внутрь канала нанотрубки (рисунки 6 и 7).

Таким образом, более показательными являются усреднённые значения расстояний (радиусов) от каждого атома нанотрубки до её оси (табл. 2).



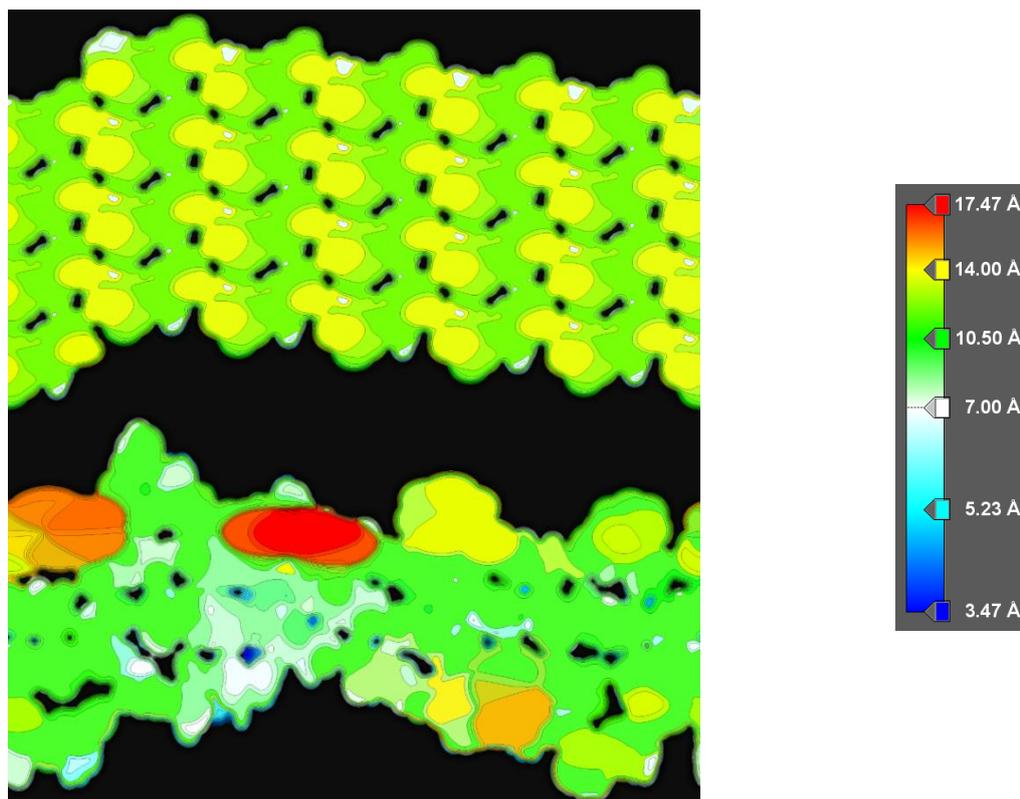
**Рис. 5.** Параллельное представление гипсометрических карт внешней поверхности самосборных нанотрубок с хиральностью L, полученных в ходе натурального (вверху) и численного (внизу) экспериментов.

Из таблицы 2 видно, что, хотя диаметр самосборных МД-нанотрубок заметно больше (на  $\sim 3.5$  Å) такового у экспериментальных нанотрубок, различий между молекулярно-динамическими D- и L-структурами по данному показателю практически нет.

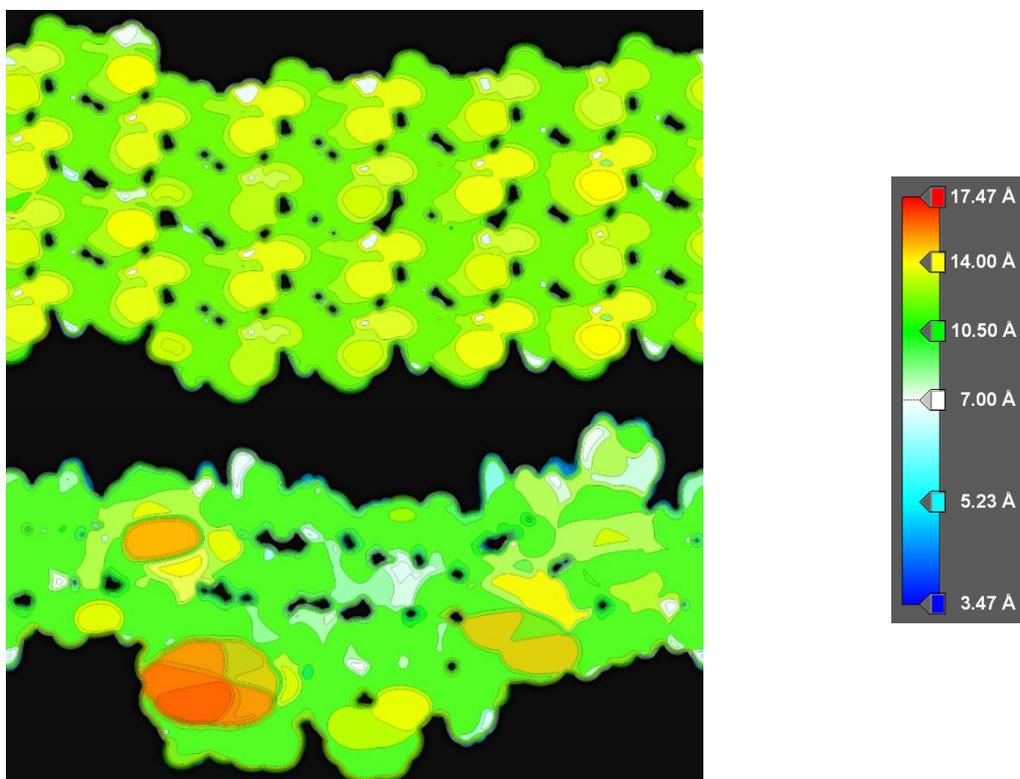
Можно отметить, что, например, в работе [17] было показано, что нанотрубки на основе L-FF и D-FF, выращенные одновременно и в одинаковых экспериментальных условиях, обладают разными кристаллографическими пространственными группами, имеют различия в размерах и демонстрируют разную кинетику роста. Так, нанотрубки на основе D-FF оказались толще и короче трубок на основе L-FF, но это уже пучок нанотрубок в работе [17]. Тогда как для отдельных нанотрубок характерны более короткие расстояния между витками D-FF нанотрубок в направлении оси  $a$  (в кристаллографических структурах нанотрубок) по сравнению с витками для нанотрубок L-FF: порядка  $a \sim 23.8$  Å для D-FF и  $a \sim 24.8$  Å для L-FF (в полученных там экспериментальных случаях) [7, 17].

**Таблица 2.** Среднее значение расстояний (Å) от каждого атома PNT до её оси

Вид нанотрубки	Среднее расстояние до оси
Экспериментальная D-FF NT	9.08
Экспериментальная L-FF NT	9.17
Молекулярно-динамическая D-FF NT	10.89
Молекулярно-динамическая L-FF NT	10.87



**Рис. 6.** Параллельное представление гипсометрических карт внутренней поверхности каналов самосборных нанотрубок с хиральностью D, полученных в ходе натурального (вверху) и численного (внизу) экспериментов.



**Рис. 7.** Параллельное представление гипсометрических карт внутренней поверхности каналов самосборных нанотрубок с хиральностью L, полученных в ходе натурального (вверху) и численного (внизу) экспериментов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в данной работе впервые показана принципиальная возможность самосборки дифенилаланиновых пептидных нанотрубок FF PNT методами молекулярной динамики с помощью подхода МД-манипулятора. Причем важно, что из дипептидов левой хиральности L-FF формируются преимущественно нанотрубки правой хиральности D, а из дипептидов D-FF – спиральные нанотрубки левой хиральности L. Это соответствует закономерности по смене хиральности при иерархическом усложнении биомолекулярных структур.

Полученные результаты подтверждены также статистическим анализом данных по проведенным МД прогонам (вычислительным экспериментам), расчетами индекса хиральности на основе метода смешанного векторно-скалярного произведения векторов, построенных по  $C_{\alpha}$ -атомам дипептидов, а также сравнением и визуально-дифференциальным анализом полученных спиральных МД-структур разной хиральности с экспериментально самособранными дифенилаланиновыми пептидными нанотрубками.

Конечно, в полученных результатах МД-самосборки наблюдается определенный разброс полученных данных и некоторые МД-прогоны приводят к не вполне корректным структурам.

Но эти результаты являются следствием вполне очевидного статистического характера данного подхода, когда в каждом индивидуальном МД-прогоне генерируется свой случайный набор взаимодействий в столкновительном термостате, используемом в данном МД методе.

Это все приводит также и к формированию не вполне упорядоченной структуры нанотрубок, отличающейся от структур нанотрубок, полученных в экспериментальных условиях их самосборки. Отметим, что эту их разницу хорошо выявляет ВДА метод, который показал тут свою эффективность.

Отметим также, что в данном МД подходе моделируется как бы упрощенная среда, у которой формируются данные спиральные нанотрубки, с помощью имитации ее воздействий применяемыми параметрами «гуковских пружин» (продольных и поперечных). Тем не менее, важно, что при одинаковых условиях на основе исходных дипептидов одной хиральности, формируются спиральные нанотрубки другой хиральности, соответствующей установленной закономерности смены типа хиральности. Это фундаментально важный принцип – и он тут показан методами МД самосборки.

В дальнейшей работе по этому направлению, конечно, можно повысить точность такой самосборки, улучшить вводимые параметры, а также увеличить вычислительные мощности. Можно также провести такую самосборку и в более адекватной среде, заполненной большим количеством молекул воды, Но это уже другая и более сложная работа, связанная с дальнейшим развитием и применением методов МД в самосборке сложных биомолекулярных структур.

Авторы выражают благодарность Н.К. Балабаеву за предложения по методике проведения численных экспериментов.

Вычисления проведены с помощью гибридного суперкомпьютера К-60, установленного в Центре коллективного пользования ИПМ им. М.В. Келдыша РАН.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nepal D., Kang S., Adstedt K.M., Kanhaiya K., Bockstaller M.R., Brinson L.C., Buehler M.J., Coveney P.V., Dayal K., El-Awady J.A. et al. Hierarchically structured bioinspired nanocomposites: 1. *Nat. Mater.* 2023. V. 22. № 1. P. 18–35. doi: [10.1038/s41563-022-01384-1](https://doi.org/10.1038/s41563-022-01384-1)

2. Pachahara S.K., Subbalakshmi C., Nagaraj R. Formation of Nanostructures by Peptides. *Curr Protein Pept Sci.* 2017. V. 18. № 9. P. 920–938. doi: [10.2174/1389203717666160724210122](https://doi.org/10.2174/1389203717666160724210122)
3. Makam P., Gazit E. Minimalistic peptide supramolecular co-assembly: expanding the conformational space for nanotechnology. *Chem. Soc. Rev.* 2018. V. 47. № 10. P. 3406–3420. doi: [10.1039/C7CS00827A](https://doi.org/10.1039/C7CS00827A)
4. Yuan C., Ji W., Xing R., Li J., Gazit E., Yan X. Hierarchically oriented organization in supramolecular peptide crystals. *Nature Reviews Chemistry.* 2019. V. 3. № 10. P. 567–588. doi: [10.1038/s41570-019-0129-8](https://doi.org/10.1038/s41570-019-0129-8)
5. Raymond D.M., Nilsson B.L. Multicomponent peptide assemblies. *Chem. Soc. Rev.* 2018. V. 47. № 10. P. 3659–3720. [10.1039/C8CS00115D](https://doi.org/10.1039/C8CS00115D)
6. Scanlon S., Aggeli A. Self-assembling peptide nanotubes. *Nano Today.* 2008. V. 3. № 3. P. 22–30. doi: [10.1016/S1748-0132\(08\)70041-0](https://doi.org/10.1016/S1748-0132(08)70041-0)
7. Bystrov V.S., Zelenovskiy P.S., Nuraeva A.S., Kopyl S., Zhulyabina O.A., Tverdislov V.A. Chiral peculiar properties of self-organization of diphenylalanine peptide nanotubes: Modeling of structure and properties. *Mathematical Biology and Bioinformatics.* 2019. Vol. 14. № 1. P. 94–125. doi: [10.17537/2019.14.94](https://doi.org/10.17537/2019.14.94)
8. Kol N., Adler-Abramovich L., Barlam D., Shneck R.Z., Gazit E., Rousso I. Self-Assembled Peptide Nanotubes Are Uniquely Rigid Bioinspired Supramolecular Structures. *Nano Lett.* 2005. V. 5. № 7. P. 1343–1346. [10.1021/nl0505896](https://doi.org/10.1021/nl0505896)
9. Shklovsky J., Beker P., Amdursky N., Gazit E., Rosenman G. Bioinspired peptide nanotubes: Deposition technology and physical properties. *Materials Science and Engineering: B.* 2010. V. 169. № 1. P. 62–66. doi: [10.1016/j.mseb.2009.12.040](https://doi.org/10.1016/j.mseb.2009.12.040)
10. Reches M., Gazit E. Controlled patterning of aligned self-assembled peptide nanotubes: 3. *Nature Nanotech.* 2006. V. 1. № 3. P. 195–200. doi: [10.1038/nnano.2006.139](https://doi.org/10.1038/nnano.2006.139)
11. Görbitz C.H. Nanotube formation by hydrophobic dipeptides. *Chemistry.* 2001. V. 7. № 23. P. 5153–5159. doi: [10.1002/1521-3765\(20011203\)7:23<5153::aid-chem5153>3.0.co;2-n](https://doi.org/10.1002/1521-3765(20011203)7:23<5153::aid-chem5153>3.0.co;2-n)
12. Bystrov V.S., Paramonova E., Bdikin I., Kopyl S., Heredia A., Pullar R.C., Kholkin A.L. BioFerroelectricity: Diphenylalanine Peptide Nanotubes Computational Modeling and Ferroelectric Properties at the Nanoscale. *Ferroelectrics.* 2012. V. 440. P. 3–24. doi: [10.1080/00150193.2012.741923](https://doi.org/10.1080/00150193.2012.741923)
13. Bystrov V., Sidorova A., Lutsenko A., Shpigun D., Malyshko E., Nuraeva A., Zelenovskiy P., Kopyl S., Kholkin A. Modeling of Self-Assembled Peptide Nanotubes and Determination of Their Chirality Sign Based on Dipole Moment Calculations: 9. *Nanomaterials.* 2021. V. 11. № 9. P. 2415. doi: [10.3390/nano11092415](https://doi.org/10.3390/nano11092415)
14. Bystrov V., Coutinho J., Zelenovskiy P., Nuraeva A., Kopyl S., Zhulyabina O., Tverdislov V. Structures and Properties of the Self-Assembling Diphenylalanine Peptide Nanotubes Containing Water Molecules: Modeling and Data Analysis: 10. *Nanomaterials.* 2020. Vol. 10. № 10. P. 1999. doi: [10.3390/nano10101999](https://doi.org/10.3390/nano10101999)
15. Bystrov V.S., Filippov S.V. Molecular modelling and computational studies of peptide diphenylalanine nanotubes, containing waters: structural and interactions analysis. *J. Mol. Model.* 2022. V. 28. № 4. P. 81. doi: [10.1007/s00894-022-05074-2](https://doi.org/10.1007/s00894-022-05074-2)
16. CCDC. URL: <https://www.ccdc.cam.ac.uk/> (accessed: 30.06.2023).
17. Zelenovskiy P.S., Nuraeva A.S., Kopyl S., Arkhipov S.G., Vasilev S.G., Bystrov V.S., Gruzdev D.A., Waliczek M., Svitlyk V., Shur V.Y., Mafra L., Kholkin A.L. Chirality-Dependent Growth of Self-Assembled Diphenylalanine Microtubes. *Crystal Growth and Design.* 2019. V. 19. № 11. P. 6414–6421. doi: [10.1021/acs.cgd.9b00884](https://doi.org/10.1021/acs.cgd.9b00884)
18. Tverdislov V.A. Chirality as a primary switch of hierarchical levels in molecular biological systems. *Biophysics.* 2013. V. 58. № 1. P. 128–132. doi: <https://doi.org/10.1134/S0006350913010156>

19. Zelenovskiy P., Kornev I., Vasilev S., Kholkin A. On the origin of the great rigidity of self-assembled diphenylalanine nanotubes. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2016. V. 18. № 43. P. 29681–29685. doi: [10.1039/C6CP04337B](https://doi.org/10.1039/C6CP04337B)
20. Tao K., Makam P., Aizen R., Gazit E. Self-assembling peptide semiconductors. *Science*. 2017. V. 358. № 6365. P. 9756. doi: [10.1126/science.aam9756](https://doi.org/10.1126/science.aam9756)
21. Amdursky N., Molotskii M., Aronov D., Adler-Abramovich L., Gazit E., Rosenman G. Blue Luminescence Based on Quantum Confinement at Peptide Nanotubes. *Nano Lett.* 2009. V. 9. № 9. P. 3111–3115. doi: [10.1021/nl9008265](https://doi.org/10.1021/nl9008265)
22. Gan Z., Wu X., Zhu X., Shen J. Light-Induced Ferroelectricity in Bioinspired Self-Assembled Diphenylalanine Nanotubes/Microtubes. *Angewandte Chemie International Edition*. 2013. V. 52. № 7. P. 2055–2059. doi: [10.1002/anie.201207992](https://doi.org/10.1002/anie.201207992)
23. Gan Z., Wu X., Zhang J., Zhu X., Chu P.K. In situ thermal imaging and absolute temperature monitoring by luminescent diphenylalanine nanotubes. *Biomacromolecules*. 2013. V. 14. № 6. P. 2112–2116. doi: [10.1021/bm400562c](https://doi.org/10.1021/bm400562c)
24. Nikitin T., Kopyl S., Shur V.Ya., Kopelevich Y.V., Kholkin A.L. Low-temperature photoluminescence in self-assembled diphenylalanine microtubes. *Physics Letters A*. 2016. V. 380. № 18. P. 1658–1662. doi: [10.1016/j.physleta.2016.02.043](https://doi.org/10.1016/j.physleta.2016.02.043)
25. Nguyen V., Zhu R., Jenkins K., Yang R. Self-assembly of diphenylalanine peptide with controlled polarization for power generation: 1. *Nat. Commun.* 2016. V. 7. № 1. P. 13566. doi: [10.1038/ncomms13566](https://doi.org/10.1038/ncomms13566)
26. Jenkins K., Kelly S., Nguyen V., Wu Y., Yang R. Piezoelectric diphenylalanine peptide for greatly improved flexible nanogenerators. *Nano Energy*. 2018. V. 51. P. 317–323. doi: [10.1016/j.nanoen.2018.06.061](https://doi.org/10.1016/j.nanoen.2018.06.061)
27. Vasilev S., Zelenovskiy P., Vasileva D., Slautina A., Shur V., Kholkin A. Piezoelectric properties of diphenylalanine microtubes prepared from the solution. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*. 2016. V. 93. doi: [10.1016/j.jpcs.2016.02.002](https://doi.org/10.1016/j.jpcs.2016.02.002)
28. Bystrov V.S. Photoferroelectricity in di-phenylalanine peptide nanotubes. *Computational Condensed Matter*. 2018. V. 14. doi: [10.1016/j.cocom.2017.11.007](https://doi.org/10.1016/j.cocom.2017.11.007)
29. Bystrov V., Paramonova E., Zelenovskii P., Kopyl S., Shen H., Lin T., Fridkin V. Photoelectronic Properties of Chiral Self-Assembled Diphenylalanine Nanotubes: A Computational Study: 2. *Symmetry*. 2023. V. 15. № 2. P. 504. doi: [10.3390/sym15020504](https://doi.org/10.3390/sym15020504)
30. Likhachev I.V., Bystrov V.S. Assembly of a Phenylalanine Nanotube by the use of Molecular Dynamics Manipulator. *Math. Biol. Bioinf.* 2021. V. 16. № 2. P. 244–255. doi: [10.17537/2021.16.244](https://doi.org/10.17537/2021.16.244)
31. Likhachev I., Balabaev N., Bystrov V., Paramonova E., Avakyan L., Bulina N. Molecular Dynamics Simulation of the Thermal Behavior of Hydroxyapatite: 23. *Nanomaterials*. 2022. V. 12. № 23. P. 4244. doi: [10.3390/nano12234244](https://doi.org/10.3390/nano12234244)
32. German H.W., Uyaver S., Hansmann U.H.E. Self-Assembly of Phenylalanine-Based Molecules. *J. Phys. Chem. A*. 2015. V. 119. № 9. P. 1609–1615. doi: [10.1021/jp5077388](https://doi.org/10.1021/jp5077388)
33. Adler-Abramovich L., Vaks L., Carny O., Trudler D., Magno A., Caflisch A., Frenkel D., Gazit E. Phenylalanine assembly into toxic fibrils suggests amyloid etiology in phenylketonuria: 8. *Nat. Chem. Biol.* 2012. V. 8. № 8. P. 701–706. doi: [10.1038/nchembio.1002](https://doi.org/10.1038/nchembio.1002)
34. Новосибирский государственный университет: исследовательский портал. URL: <https://research.nsu.ru/ru/publications/chirality-dependent-growth-of-self-assembled-diphenylalanine-micr> (accessed: 30.06.2023).
35. Lemak A.S., Balabaev N.K. A comparison between collisional dynamics and brownian dynamics: 4. *Molecular Simulation*. 1995. V. 15. № 4. doi: [10.1080/08927029508022336](https://doi.org/10.1080/08927029508022336)
36. Lemak A.S., Balabaev N.K. Molecular dynamics simulation of a polymer chain in solution by collisional dynamics method: 15. *Journal of Computational Chemistry*. 1996. V. 17. № 15. doi: [10.1002/\(SICI\)1096-987X\(19961130\)17:15<1685::AID-IJCC1>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(19961130)17:15<1685::AID-IJCC1>3.0.CO;2-L)

37. Филиппов С.В., Быстров В.С. Визуально-дифференциальный анализ структурных особенностей внутренних полостей двух хиральных форм дифенилаланиновых нанотрубок. *Биофизика*. 2020. V. 65. № 3. doi: [10.31857/S0006302920030035](https://doi.org/10.31857/S0006302920030035)
38. Филиппов С.В., Полозов Р.В., Сивожелезов В.С. Визуализация пространственных структур (био)макромолекул в виде подобных гипсометрическим карт. *Препринты ИПМ им. М.В.Келдыша*. 2019. № 61. P. 1–14. URL: <https://library.keldysh.ru/preprint.asp?id=2019-61> (дата обращения: 30.06.2023).
39. Wang J.M., Cieplak P., Kollman P. How Well Does a Restrained Electrostatic Potential (RESP) Model Perform in Calculating Conformational Energies of Organic and Biological Molecules? *J. Comput. Chem.* 1999. V. 21. P. 1049. doi: [10.1002/1096-987X\(200009\)21:12<1049::AID-JCC3>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/1096-987X(200009)21:12<1049::AID-JCC3>3.0.CO;2-F)
40. Glyakina A.V., Likhachev I.V., Balabaev N.K., Galzitskaya O.V. Comparative mechanical unfolding studies of spectrin domains R15, R16 and R17. *J. Struct. Biol.* 2018. V. 201. № 2. P. 162–170. doi: [10.1016/j.jsb.2017.12.003](https://doi.org/10.1016/j.jsb.2017.12.003)
41. Likhachev I.V., Balabaev N.K. Trajectory Analyzer of Molecular Dynamics. *Math. Biol. Bioinf.* 2007. V. 2. № 1. P. 120–129. doi: [10.17537/2007.2.120](https://doi.org/10.17537/2007.2.120)
42. Likhachev I.V., Balabaev N.K., Galzitskaya O.V. Available Instruments for Analyzing Molecular Dynamics Trajectories. *Open Biochem J.* 2016. V. 10. P. 1–11. doi: [10.2174/1874091X01610010001](https://doi.org/10.2174/1874091X01610010001)
43. *HyperChem*. URL: <http://www.hypercubeusa.com/?tabid=360> (accessed: 30.06.2023).
44. *PyMOL by Schrödinger*. URL: <https://pymol.org/2/> (accessed: 10.04.2023).
45. Tverdislov V.A., Sidorova A.E., Bagrova O.E., Belova E.V., Bystrov V.S., Levashova N.T., Lutsenko A.O., Semenova E.V., Shpigun D.K. Chirality As a Symmetric Basis of Self-Organization of Biomacromolecules. *Biophysics*. 2022. V. 67. № 5. P. 673–691. doi: [10.1134/S0006350922050190](https://doi.org/10.1134/S0006350922050190)
46. Филиппов С.В., Полозов Р.В., Сивожелезов В.С. Визуализация пространственных структур (био)макромолекул: построение «гипсометрических» карт. В: *Информационные технологии и математическое моделирование (ИТММ-2019): Материалы XVIII Международной конференции имени А.Ф. Терпугова (26–30 июня 2019 г.)*. Ч. 1. Томск: Изд-во НТЛ, 2019. С. 163–168.
47. Filippov S.V. Blender software platform as an environment for modeling objects and processes of science disciplines. *KIAM Prepr.* 2018. № 230. P. 1–42. doi: [10.20948/prepr-2018-230](https://doi.org/10.20948/prepr-2018-230)
48. Филиппов С.В. Методы работы с динамическими молекулярными моделями, построенными в среде открытого 3D редактора Blender. В: *Доклады Международной конференции “Математическая биология и биоинформатика”*. Под ред. В.Д. Лахно. ИМПБ РАН. 2018. Том 7. С. e43.1–e43.5. doi: [10.17537/icmbb18.62](https://doi.org/10.17537/icmbb18.62)
49. Filippov S.V. Method for the identification of atoms of macromolecules visualized in 3D-editors. *KIAM Prepr.* 2019. № 97. P. 1–10. doi: [10.20948/prepr-2019-97](https://doi.org/10.20948/prepr-2019-97)
50. *Blender 3.6 LTS: Simulation Nodes, better UV Packing, performance improvements, and much more!* URL: <https://www.blender.org/> (accessed: 30.06.2023).
51. *G’MIC - GREYC’s Magic for Image Computing: A Full-Featured Open-Source Framework for Image Processing*. URL: <https://gmic.eu/> (accessed: 30.06.2023).

Рукопись поступила в редакцию 12.04.2023, переработанный вариант поступил 19.06.2023.  
Дата опубликования 30.06.2023.

## **Assembly of a Diphenylalanine Peptide Nanotube by Molecular Dynamics Methods**

**Likhachev I.V., Bystrov V.S., Filippov S.V.**

*The Institute of Mathematical Problems of Biology RAS – the Branch of Keldysh Institute of Applied Mathematics of Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia*

The paper develops an approach to modeling the processes of self-assembly of complex molecular nanostructures by molecular dynamics methods using a molecular dynamics manipulator. Previously, this approach was considered using the example of assembling a phenylalanine helical nanotube from a linear set of chains of phenylalanine (F) molecules of different chirality: left-handed L-F and right-handed D-F chirality L-FF and D-FF. The process of self-assembly of dipeptide chains into helical structures of nanotubes is an imitation of applying certain forces to the existing initial linear structure in order to obtain the final structure of the same chemical composition, but with a different helical geometry. The PUMA-CUDA molecular dynamics simulation software package was used as the main software. Using this tool, one can investigate the formation of helical structures from a linear sequence of any amino acids. A comparative analysis of the structures of nanotubes obtained by assembling by molecular dynamics methods and by their experimental self-assembly was performed using the method of visual differential analysis. It has been established that the obtained data correspond to the law of the sign change of chirality of molecular helical structures with the complication of their hierarchical level of organization.

**Key words:** *molecular dynamics method, MD manipulator, steered molecular dynamics, self-assembly of nanostructures, diphenylalanine, chirality, visual differential analysis.*