

# A fel- és legombolyodás molekuladinamikai szimulációi

1. Mi a molekuladinamika?
2. Modern módszerek a molekuladinamikában
3. Peptidek vizsgálata MD-vel
4. Fehérjék natív szerkezetének MD szimulációi
5. A legombolyodás MD szimulációi
6. A felgombolyodás MD szimulációi

## Mi a molekuladinamika?

### A potenciálisenergia-felület

- Born–Oppenheimer–közelítés: az elektronok mozgása sokkal gyorsabb az atommagokénál, ezért a Schrödinger–egyenlet két külön egyenletre esik szét. Az első az elektronokra vonatkozó Schrödinger–egyenlet, amely paraméteresen függ az atommagok  $R$  pozícióitól. Ennek megoldása adja az  $E(R)$  *potenciálisenergia-függvényt*, amely csak az atommagok pozícióitól függ. A második egyenlet az atommagok mozgását írja le ezen az  $E(R)$  potenciálfelületen.
- Az  $E(R)$  potenciálfüggvényt *empirikus energiafüggvénnyel* helyettesíthetjük (a Schrödinger–egyenlet megoldása helyett)
- Az atommagok nehezek, a rájuk vonatkozó Schrödinger–egyenlet helyett használhatjuk a Newton–féle mozgásegyenletet:

$$-(dE/dR) = m(d^2R/dt^2)$$

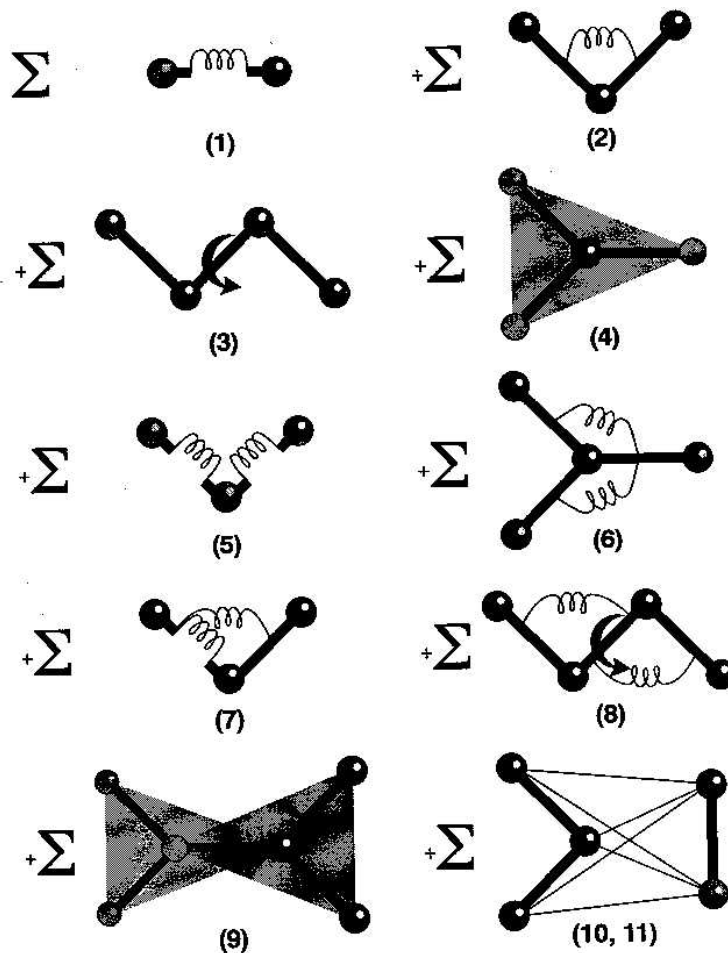
Ez a **molekuladinamika**, röviden **MD**.

### A forcefield

- A forcefield az empirikus energiafüggvény matematikai alakja. Egy tipikus forcefield:

$$\begin{aligned} E_{\text{pot}} = & \sum_b D_b [1 - e^{-\alpha(b-b_0)}] + \sum_{\theta} H_{\theta} (\theta - \theta_0)^2 + \sum_{\phi} H_{\phi} [1 + s \cos(n\phi)] \\ & (1) \qquad (2) \qquad (3) \\ & + \sum_{\chi} H_{\chi} \chi^2 + \sum_b \sum_{b'} F_{bb'} (b - b_0) (b' - b'_0) + \sum_{\theta} \sum_{\theta'} F_{\theta\theta'} (\theta - \theta_0) (\theta' - \theta'_0) \\ & (4) \qquad (5) \qquad (6) \\ & + \sum_b \sum_{\theta} F_{b\theta} (b - b_0) (\theta - \theta_0) + \sum_{\phi} F_{\phi\theta\theta'} \cos\phi (\theta - \theta_0) (\theta' - \theta'_0) + \sum_{\chi} \sum_{\chi'} F_{\chi\chi'} \chi\chi' \\ & (7) \qquad (8) \qquad (9) \\ & + \sum \epsilon [(r^*/r)^{12} - 2(r^*/r)^6] + \sum q_i q_j / \epsilon r_{ij} \\ & (10) \qquad (11) \end{aligned}$$

Az egyes tagok jelentése:



- ◆ 1. kötések nyújtása (Morse–potenciál vagy egyszerű harmonikus potenciál)
- ◆ 2. kötesszögek változtatása
- ◆ 3. torziós szögek változtatása
- ◆ *out-of-plane* kölcsönhatások (atom kitérése sík csoportból)
- ◆ 5–9. kereszttagok (csatolások az 1–4. effektusok között)
- ◆ 10. Van der Waals
- ◆ 11. Coulomb
- A képletben szereplő *paraméterek* értékét empirikus adatok (pl. kristályszerkezet, rácsdinamika, röntgenadatok, sűrűség, párolgáshő, stb.) alapján illesztik, néha *ab initio* kvantumkémiai számítások eredményeit is felhasználják.
- Az empirikus adatok miatt a forcefield implicit módon magában foglalja a relativisztikus és kvantummechanikai effektusokat is.
- Ismertebb forcefieldek fehérjékhez: AMBER, CHARMM, ECEPP, GROMOS, CVFF

## A párkölcsönhatások problémája

- A párkölcsönhatások száma négyzetesen nő a rendszer méretével, ez nagyon megnöveli az energiafüggvény kiértékeléséhez szükséges időt.
- Megoldás: *cutoff* (határtávolság) alkalmazása: a cutoffnál (10–20 angström) messzebb lévő párok kölcsönhatását nem vesszük figyelembe
- Problémák: cutoff sokféle hibát okoz
- Nem hirtelen levágás, hanem fokozatos lecsengetés javít valamit.
- Elektrosztatikus kölcsönhatások energiája  $1/r$ -es, vagyis csak lassan csökken. Megoldások:
  - ◆ **Töltéscsoportok** bevezetése. Egymáshoz közeli, kb. zérus össztöltésű csoportokat jelölünk ki. Ha bármelyik atom belül van a cutoffon, akkor már a többit is figyelembe vesszük.
  - ◆ **Cell Multipole Method**: a rendszert kockákra bontjuk és az ezekben lévő atomok potenciálját multipól sorfejtéssel közelítjük. Nincs cutoff, távoli kockák potenciálja is számít.
  - ◆ **Ewald-összegzés**: (a potenciál egy részét a reciprok rácson számítja ki)

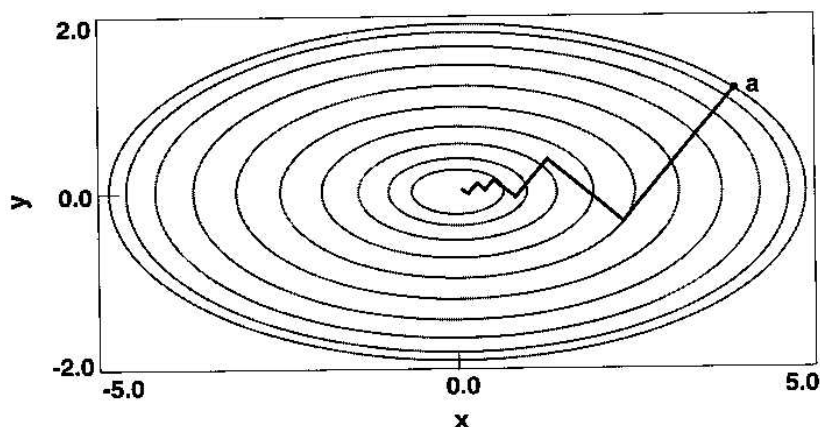
## Az oldószer modellezése

- **Explicit:** vízmolekulákkal körül vesszük a vizsgált molekulát (néhány réteg vagy egy feltöltött doboz (periodikus határfeltétellel))
- **Implicit:** a potenciált módosítjuk, pl. távolságfüggő dielektromos állandó, kétféle dielektromos állandó (a fehérje belsejére, ill. a rajta kívül lévő térre), stb.

## Eljárások

### Energiaminimalizálás

- **Cél:** a potenciálfelület minimumainak megkeresése (ezek körül fluktuál a konformáció). Modellszerkezetek optimalizálására is jó.
- **Legmeredekebb esés** módszere: mindig az energiafelület deriváltjának irányába lépünk.



Az energiaminimumtól távol jól konvergál, hozzá közel rosszul.

- **Konjugált gradiensek** módszere: a lépésirányt az előző lépések deriváltjainak felhasználásával korrigáljuk. Az  $i+1$ . ponthoz vezető lépés irányvektora:

$$\mathbf{h}_{i+1} = \mathbf{g}_{i+1} + k\mathbf{h}_i,$$

ahol  $\mathbf{g}_{i+1}$  a gradiens az  $i+1$ . pontban,  $k$  pedig egy állandó, aminek az értéke a Polak–Ribiere módszerben  $k = (\mathbf{g}_{i+1} \cdot \mathbf{g}_i) / (\mathbf{g}_i \cdot \mathbf{g}_i)$ , a Fletcher–Reeves–módszerben  $k = ((\mathbf{g}_{i+1} - \mathbf{g}_i) \cdot \mathbf{g}_{i+1}) / (\mathbf{g}_i \cdot \mathbf{g}_i)$ . Tehát a gradiens mindig ortogonális az előző gradiensekre, az irányok pedig konjugáltak az előző irányokra. Ez a módszer nagy rendszereknél és a minimumok közelében is gyorsan konvergál.

- **Newton–Raphson–módszerek:** a potenciálfüggvény második deriváltját, azaz görbületét is felhasználják. Ha a felület kvadratikusan függvény lenne, ez egy lépésben a minimumba vezetne. A második deriváltak mátrixának kiszámítása időigényes, a mátrix helyigényes, ezért a módszer csak kis molekuláknál használható, ráadásul a minimumtól távol instabil (divergálhat).

### Molekuladinamika

- **Cél:** a rendszer dinamikájának feltárása, konformációs mozgások szimulálása
- **$dt$  lépésköz:** 1–2 femtoszekundum
- **Verlet–féle bakugrás** módszere: a  $t$  időpontban mérhető erőből ( $\mathbf{f}(t)$ ) kiszámítjuk a gyorsulást ( $\mathbf{a}(t)$ ), ezzel pedig a  $t - (1/2)dt$  időpontbeli sebességből a  $t + (1/2)dt$  időpontbeli sebességet ( $\mathbf{v}(t + (1/2)dt) = \mathbf{v}(t - (1/2)dt) + dt\mathbf{a}(t)$ ). A sebesség felhasználásával az  $\mathbf{r}(t)$   $t$  időpontbeli helyvektorból kapjuk a  $t + dt$  időpontbeli helyvektort:  $\mathbf{r}(t + dt) = \mathbf{r}(t) + dt\mathbf{v}(t + (1/2)dt)$ . *Bakugrás–módszer, mert a sebesség mindig fél lépésközre jár a pozíciótól. (Ez a hátránya.)*
- **Verlet–féle sebességi módszer:** nincs elcsúszás, a  $t + dt$  időpontbeli pozíció:  $\mathbf{r}(t + dt) = \mathbf{r}(t) + dt\mathbf{v}(t) + (1/2)dt^2\mathbf{a}(t)$
- A Verlet–módszerek a legkedvezőbbek, mert lépésenként csak 1 energiaszámítást igényelnek, nem memóriaigényesek, nagy lépésközt tesznek lehetővé.

## A hőmérséklet beállítása

- A kezdeti sebességeket az adott hőmérsékletnek megfelelően véletlenszerűen generáljuk Maxwell–Boltzmann eloszlás szerint
- A rendszer hőmérséklete bármely pillanatban a kinetikus energiából számítható:  $T = 2K/(N_f k_B T)$ , ahol  $K = \text{szumma } (1/2)mv^2$  a kinetikus energia,  $N_f$  a szabadsági fokok száma,  $k_B$  a Boltzmann-állandó
- **Direkt sebességskalázás:** a sebességek közvetlen beállítása a célhőmérsékletre bármikor, amikor eltér attól, egy tényezővel való beszorzás révén. Dinamika kezdeti szakaszában szokásos.
- **Hőtartályhoz csatolás (Berendsen–módszer):** Bevezetjük a tau relaxációs időt, ez a hőmérséklet kiegyenlítődének relaxációs ideje. Az atomi sebességeket a következő tényezővel skálázzuk:  $[1 + (dt/\tau)(T_{\text{pillanatnyi}} - T_{\text{cél}})]^{1/2}$ . Jó közelítéssel állandó hőmérsékletre jellemző statisztikai sokasághoz (kanonikus sokasághoz) vezet.
- **Újabb módszerek:** Nosé–Hoover termosztát (kanonikus sokaságot ad), Andersen–módszer (sebességek véletlenszerű újraelosztása)

## A nyomás beállítása

- **"Nyomástartályhoz" csatolás (Berendsen–módszer):** hasonló a hőtartályos Berendsen–módszerhez, de nem a sebességeket, hanem az atomi koordinátákat skálázzuk

## Kényszerek alkalmazása

- Kötéshosszak és kötőszögek állandó értéken tartásával a lépésköz növelhető 2–10 fs-ra
- Többféle algoritmus, jósági sorrendben: SHAKE, RATTLE, LINCS (legjobb)

---

# Modern módszerek a molekuladinamikában

## Többszörös lépésköz (multiple time step)

- Hosszútávú kölcsönhatások lassabban változnak → nem szükséges minden lépésben újraszámolni őket
- Kétféle lépésköz: a hosszútávú kölcsönhatásokra egy nagyobb, a rövidtávúakra egy kisebb
- Többféle megvalósítás, a nagyobb lépésköz 4–48 fs között változik
- Még nem kiforrott, különféle problémák vannak
- A jövőben a szükséges gépidő akár egy nagyságrenddel is csökkenhet e módszer révén

---

## Esszenciális dinamika (Berendsen)

A fehérjemolekulák belső mozgásainak típusai

A mozgás típusa	Térbeli kiterjedés (angström)	Amplitúdó (angström)	Jellemző időskála
Kötések rezgései	2–5	0,01–0,1	10–100 fs
Globuláris régiók rugalmas deformációi	10–20	0,05–0,5	1–10 ps
Felszíni oldalláncok rotációja	5–10	5–10	10–100 ps
Eltemetett csoportok torziós rezgései	5–10	0,5	10 ps – 1 ns
Globuláris domének relatív mozgásai	10–20	1–5	10 ps – 100 ns
Belső oldalláncok rotációja	5	5	100 mikrosec – 1 s
Allostérikus átmenetek	5–40	1–5	10 mikrosec – 1 s
Lokális legombolyodás	5–10	5–10	10 mikrosec – 10 s

- A molekuláris mozgások egy része csupán gyors, harmonikus rezgőmozgás, ami voltaképpen érdektelen
- Az esszenciális dinamika módszere:
  - ◆ Végzünk egy pár száz pikoszekundumos normál molekuladinamikát
  - ◆ A dinamika eredményéből kiszámítjuk az ún. elmozdulási korrelációs mátrixot (a koordináták második momentumainak mátrixa, az egyes atompárok mozgásának korrelációját adja meg), s ezt átlagoljuk a futtatott dinamikára ( $\langle u_i u_j \rangle$ ).
  - ◆ A mátrix sajátvektorai a koordináták lineáris kombinációi, az ún. kollektív koordináták
  - ◆ A mátrix sajátértékei az egyes kollektív koordináták mentén vett átlagos fluktuációk mértékei
  - ◆ Ált. a 10 legnagyobb sajátérték (és a hozzájuk tartozó sajátvektorok) a fehérje összes lényeges, nagy amplitúdójú mozgásait leírja
  - ◆ Ezután szimulációt végzünk csak ezen *esszenciális* koordinátákra; a többi koordinátával csak harmonikus rezgőmozgást végeztetünk
- Vizsgálatok szerint a módszer jelentősen megnöveli a konformációs térnek az adott idő alatt szimulációval felderíthető részének méretét

## A molekuladinamika korlátjai

- A számítógépek jelenlegi teljesítőképessége mellett a szimulálható időtartam korlátozott. Fehérjemolekulán az eddigi rekord 1 mikroszekundum szimulációja (1 hónapig tartott egy 256 processzoros szuperszámítógépen). Korszerű módszerekkel ez még növelhető kb. egy nagyságrenddel
- A klasszikus mechanikai modell nem alkalmas kémiai események szimulálására (pl. ionizáció, protontranszfer, stb.)

## Mire használható a molekuladinamika?

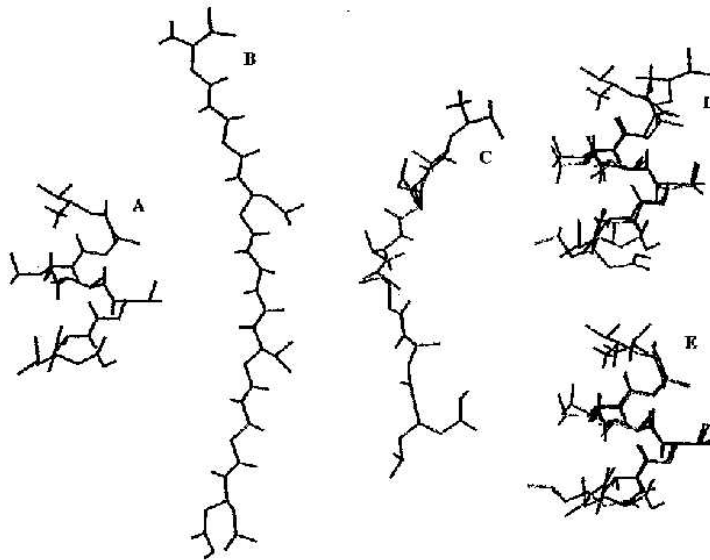
- **Szerkezetfinomítás:** még tökéletlen minőségű modellszerkezetek finomíthatóak vele
- **Szerkezetjólás:** mutáns fehérje szerkezete jóslható (kicseréljük az oldalláncot, majd molekuladinamikával relaxáljuk a szerkezetet).
- **Dokkolás:** ligandum v. szubsztrát kötődési helyének megtalálása egy fehérje felszínén (kevésbé megbízhatóan)
- **Fehérjemolekulák fontos funkcionális mozgásainak feltérképezése:** pl. domének relatív mozgásai enzimmkatalízis során, stb. (kevésbé megbízhatóan)
- **Fehérjemolekulák le- és felgombolyodásának szimulációi:** a mechanizmus felderítése céljából

## Peptidek vizsgálata MD-vel

### Egy hétagú béta-peptid

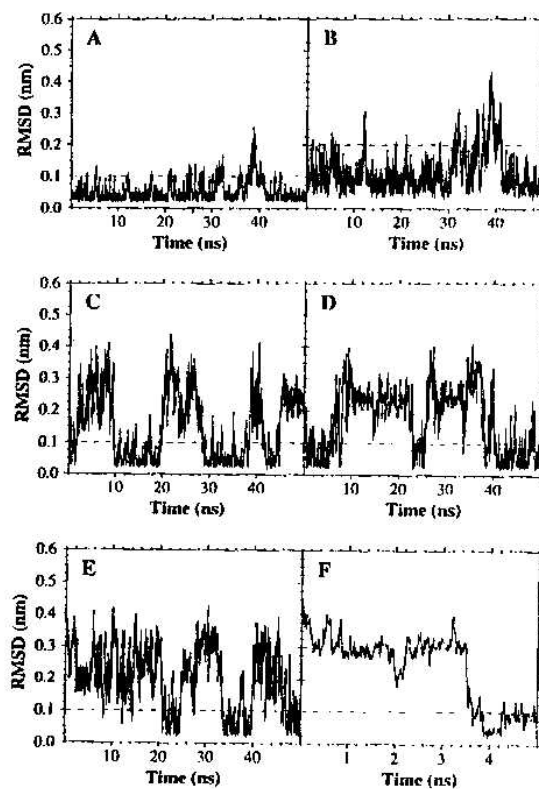
(Daura et al., JMB 280:925 (1998))

- Szekvencia: VALAVAL (béta-aminosavak! 21 torziós szög)
- Natív szerkezete (NMR-ből tudjuk): balkezes 3-hélix (3<sub>10</sub> hélix megfelelője)
- Szimuláció: metanolban (explicit)
  - ◆ 50 ns 298 K-n, a natív szerkezetből kiindulva (stabilitás ellenőrzése)
  - ◆ 50 ns 340 K-n, natív szerkezetből indulva (legombolyítás)
  - ◆ 50 ns 350 K-n, natív szerkezetből indulva
  - ◆ 50 ns 360 K-n, nyújtott konformációból indulva
  - ◆ 340 K, nyújtott konfból



(A: natív, B: nyújtott, C: legombolyodott, D,E: NMR-szerk. és szimulációval kapott szerk. illesztése

- RMSD a natív szerkezettől (RMSD: *root mean square deviation*: az egymásnak megfelelő atomok közötti távolságok négyzetes közepe, két szerkezet hasonlóságának mértéke angströmben):



(A,B: 298 K, C: 340 K, D: 350 K, E: 360 K, F: 340 K)

Több natív–denaturált átmenet, hőmérsékletfüggő egyensúly közöttük!

- 14 db 0,75 ns szimuláció, 400–ról 300 K–ra hűtéssel, véletlen kiinduló konformációból: 2 esetben felgombolyodott a natív szerkezetbe, 12 esetben lokális minimumban ragadt.

**Tehát:** a szimuláció jól megtalálta a natív szerkezetet, és leírja a natív–denaturált állapotok közötti hőmérsékletfüggő egyensúlyt.

# Egy helikális és egy béta-hajtû konformációjú peptid szimulációja

(Schaefer et al., JMB 284:835 (1998))

## Helikális peptid

- Ribonukleáz A C-terminális hélixének felel meg
- 13 aminosav: AETAAAKFLRAHA
- Kísérlet (CD): oldatban, 3 Celsius-fokon 50–60% hélix

## Béta-hajtû

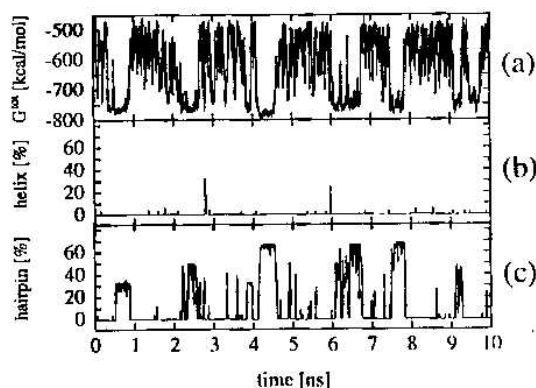
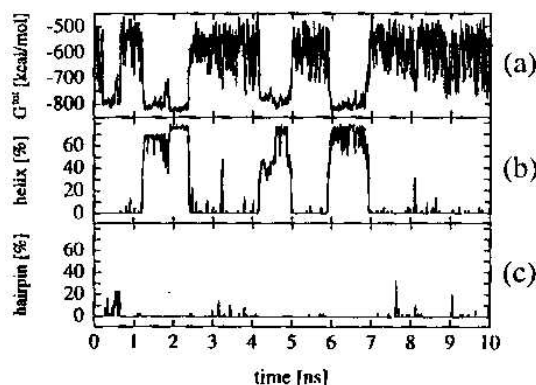
- Tervezett hajtûkonformáció
- 12 aminosav: RGITVNGKTYGR
- Kísérlet (CD, NMR): 274 K-en 19–37% béta-hajtû

## Szimulációk:

- Indulás: nyújtott konformáció
- Forcefield: ACS – Analytical Continuum Solvent: implicit oldószer, egy dielektromos állandóval és egy apoláros szolvatációs állandóval. Effektív szabadenergiát ad.
- Ún. esernyõ-mintavételi technika (hõmérséklet változtatásának felel meg)
- 10 ns szimulációk

## Eredmények

- Az effektív szabadenergia, a hélixtartalom és a bétahajtû-tartalom változása az idõ függvényében:



- Mindkét peptid a neki megfelelő konformációt preferálja
- Több átmenet, egyensúly áll be
- Számítás: a helikális peptid 58% hélix, a hajtûpeptid 38% hajtû
- 2% körüli valószínűséggel a másik konformációt is felveszik!

## Fehérjék natív szerkezetének MD szimulációi

Kérdések:

- A natív állapoton belül milyen alállapotok között fluktuál a konformáció?
- A molekuladinamika képes-e ésszerű időn belül megfelelő mintát venni a natív konformációk halmazából?

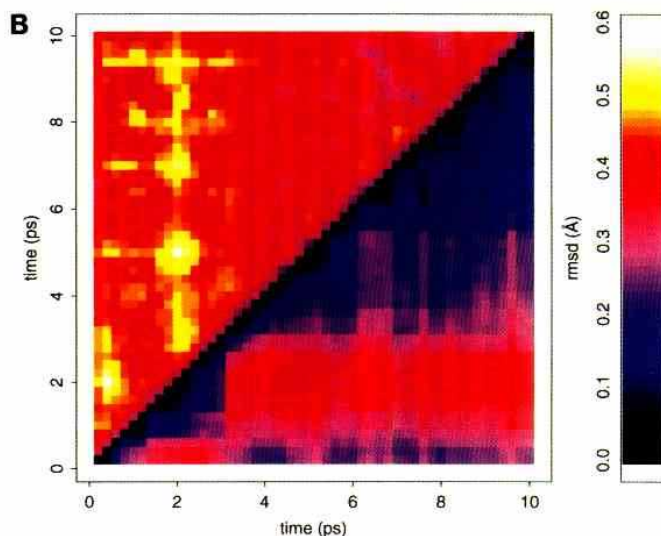
### BPTI (bovine pancreatic trypsin inhibitor) szimulációja

(Troyer és Cohen, Proteins 23:97 (1995))

- BPTI: 58 aminosav, egy béta-lemez és egy hélix, 3 diszulfidhíd
- Szimuláció: 1 ns, explicit oldószerrel
- Energiaminimalizálások: Az MD-trajektória egyes pontjaiban (azaz a szimuláció egyes időpontjaiban) előálló szerkezeteket minimalizálták, az energiafüggvény lokális minimumainak feltárása végett
- Klaszteranalízis: az MD, ill. az energiaminimalizálások révén nyert konformációkat szerkezeti hasonlóság alapján csoportosítják

Eredmények:

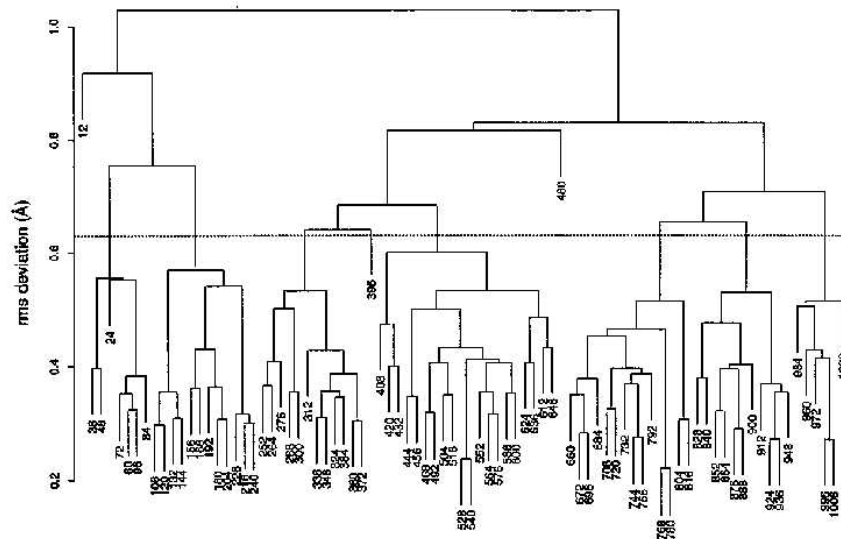
- RMSD mátrix (a szimuláció során fellépő konformációk párjai közötti RMSD-k):



(bal felső rész: MD szerkezetek, jobb alsó: energiaminimalizálás utáni szerkezetek)

- RMSD: root mean square deviation: az egymásnak megfelelő atomok közötti távolságok négyzetes közepe (a konformációs térben a két konformációnak megfelelő pont távolsága)
- Összefüggő foltok: konformációs klaszterek, alállapotok
- A diagonálistól távol nincsenek fekete részek: a konformáció nem tér vissza egy korábbi állapotba
- Hierarchikus klaszterezés:





- 7 fő klaszter, alállapot, azaz 7 energiaminimum van, egymástól 0,65 angströmnél messzebb
- Az alállapotokon a szimuláció alatt sorban végigmegy a molekula (nem elégséges tehát a mintavétel)
- Szerkezetben:



Színek: a 11–18 hurok konformációi a 7 klaszterben

- A legnagyobb változást a 11–18 hurok mutatja: a 14–38 diszulfidhíd mint tengely körül elfordul kb. 30 fokkal

**Tehát:** sikerült a natív konformációk halmazán belül alállapotokat elkülöníteni (7 darabot), a szimuláció során ezeken sorban végigmegy a molekula. A mintavétel nem elégséges, mert egyetlen korábbi állapot sem áll elő újra a szimuláció időtartama alatt.

## A legombolyodás MD szimulációi

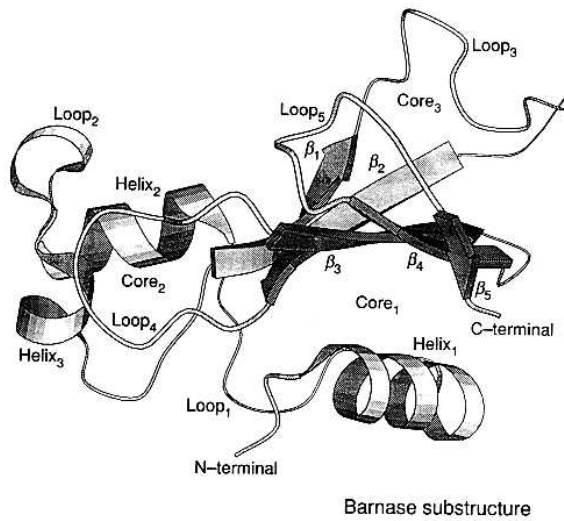
### A legombolyítás módoszatai

- Magas hőmérséklet (600 K–n 6 nagyságrenddel gyorsabb a legombolyodás, mint szobahőmérsékleten)
- Nagy nyomás (vízmolekulák benyomulnak a magba)
- Speciális kényszererők

### Barnáz legombolyodásának szimulációja

(Li és Daggett, JMB 275:677 (1998))

#### Barnáz



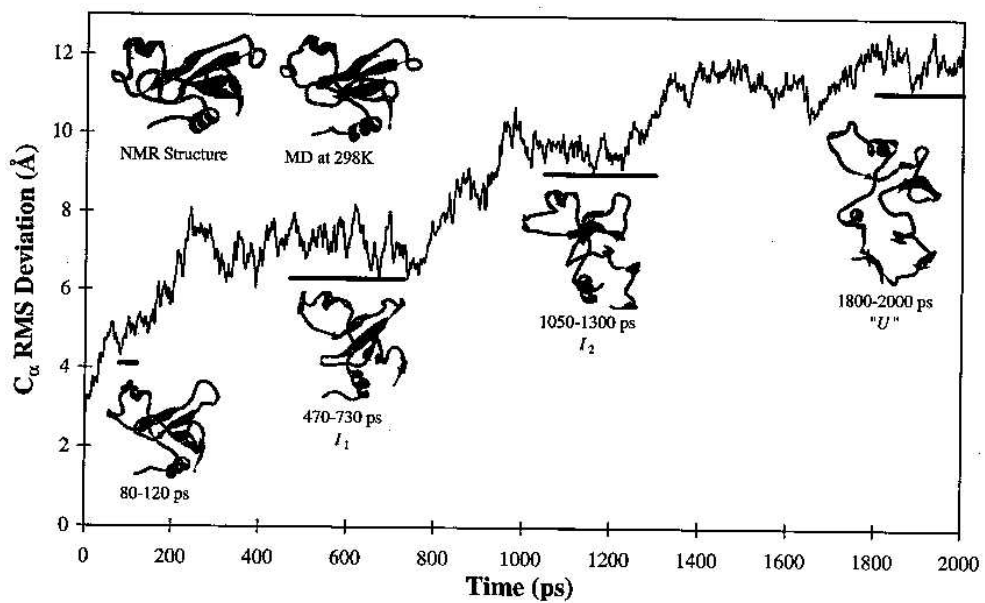
110 aa, 3 hélix, egy ötszálú béta-lemez, 3 hidrofób mag

### Szimuláció

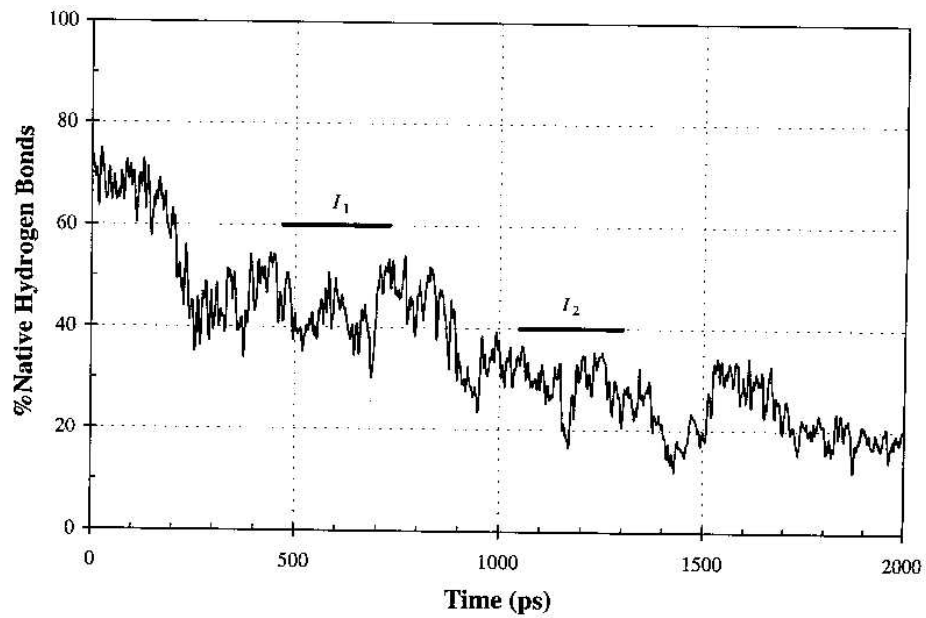
- Kiindulás: átlagos NMR-szerkezet
- periodikus határfeltételek, 3700 vízmolekula
- 2000 ps (2 ns) szimuláció 498 K-n
- kontroll: 2 ns szimuláció 298 K-n

### Eredmények

- RMSD a kiinduló szerkezettől:

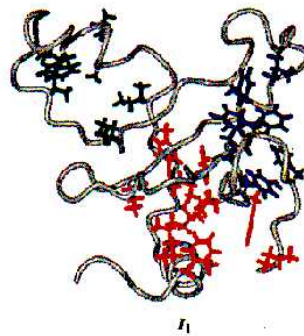
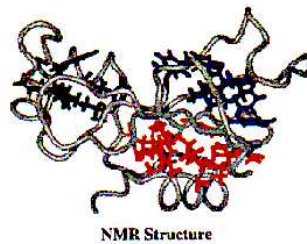


- H-kötések

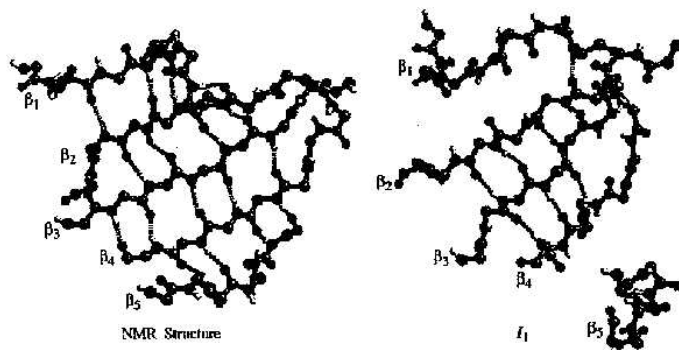


### Elemzés

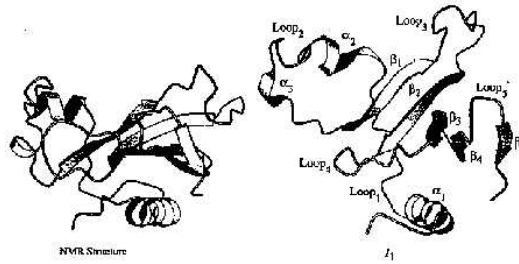
- Két intermedier alakul ki a legombolyodás során,  $I_1$  és  $I_2$
- $I_1$ :
  - ◆ A 3 hidrofób mag megvan, de fellazultak:



- ◆ A béta-lemez közepe megvan, de széle felbomlott:



- ◆ Másodlagos szerkezet:  $\alpha_1$  majdnem teljesen megvan,  $\alpha_2$  első fordulata eltűnt,  $\alpha_3$  legombolyodott:



**Tehát:** a barnáz legombolyodásának szimulációja két köztes állapotot tárt fel, ez jól egyezik a kísérleti eredményekkel (ld. 6. előadás), melyek szerint legalább egy köztes állapot van.

## Titindomén mechanikus legombolyítása

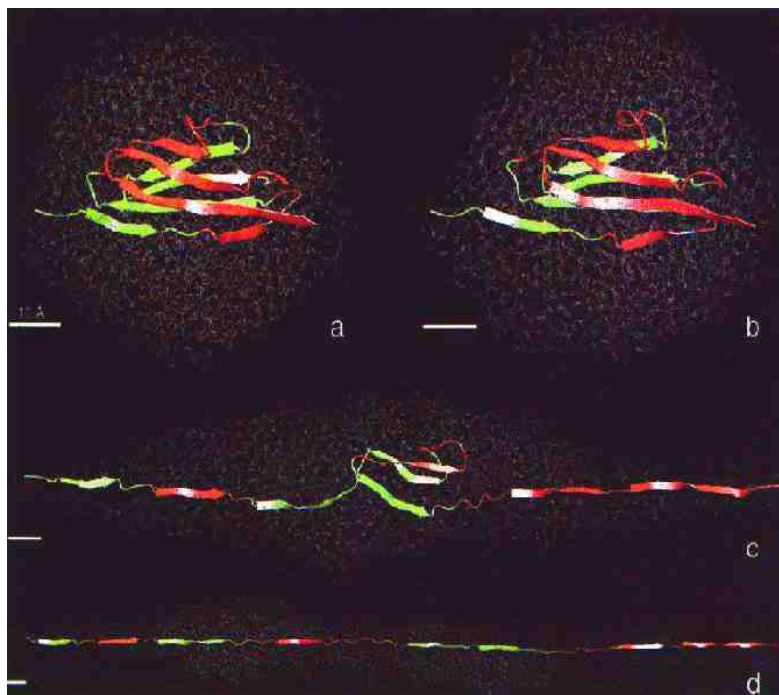
### A molekula

- Titin: 1 mikrométer hosszú molekula simaizom–rostokban, rugóként működik
- Fibronektin–3 és immunglobulin típusú (Ig) domének ismétlődéseiből áll
- A rugalmasságért felelős rész Ig doménekből áll
- Atomierő–mikroszkópiával, ill. lézercsipessel végzett kísérletekkel mérték a molekula széthúzásához szükséges erőt. Az erőgrafikon fűrészfogszerű görbét mutat

### Szimuláció

- Egy Ig domén mechanikus széthúzása
- Egyik vég rögzített, másikat 0,5 angström/ps sebességgel húzzák, míg az egész molekula ki nem egyenesedik
- vízcseppel körülvett domén 300 Celsius–fokon

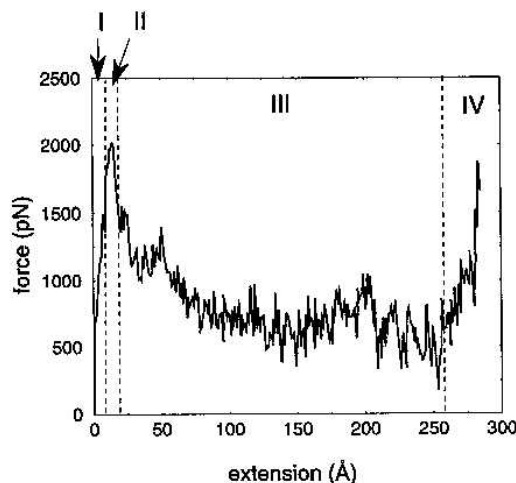
### Eredmények



**a:** 10 angström nyújtás, még semmi nem történt, **b:** 17 angström nyújtás, az erős ponton túl, **c:** 150 angström, felerészben legombolyodott, **d:** 285 angström, kiegyenesedett

- Mintegy 14 angström széthúzásig a béta–szálak csak elcsúsznak kissé egymás mellett, de megmarad a szerkezet
- 14 angströmnél nagyobb megcsúszás

- ezután a domén fokozatosan legombolyodik, a béta-lemez száalai egyenként leválnak
- 260 angströmnél a molekula kiegyenesedett
- Erőgrafikon:



14 anströmig az erő meredeken növekszik, onnét hirtelen lezuhan és nagyjából állandó marad 250 angströmig, ott újra megnő (itt már a kinyújtott molekulát feszítjük)

- Jól egyezik a kísérleti eredményekkel
- Ha sok domén van egymás után, a köztük lévő kis különbségek miatt egyenként gombolyodnak szét húzás hatására, nem egyszerre.

**Tehát:** a titindomén mechanikus legombolyításának molekuladinamikai szimulációja feltárta a legombolyodás mechanizmusát és a kísérletekkel jó egyezést mutató erőgrafikont szolgáltatott.

## A felgombolyodás MD szimulációi

**1 mikroszekundumos szimuláció!** (rekord mindeddig)

(Duan és Kollman, Science 282:740 (1998))

### A fehérje

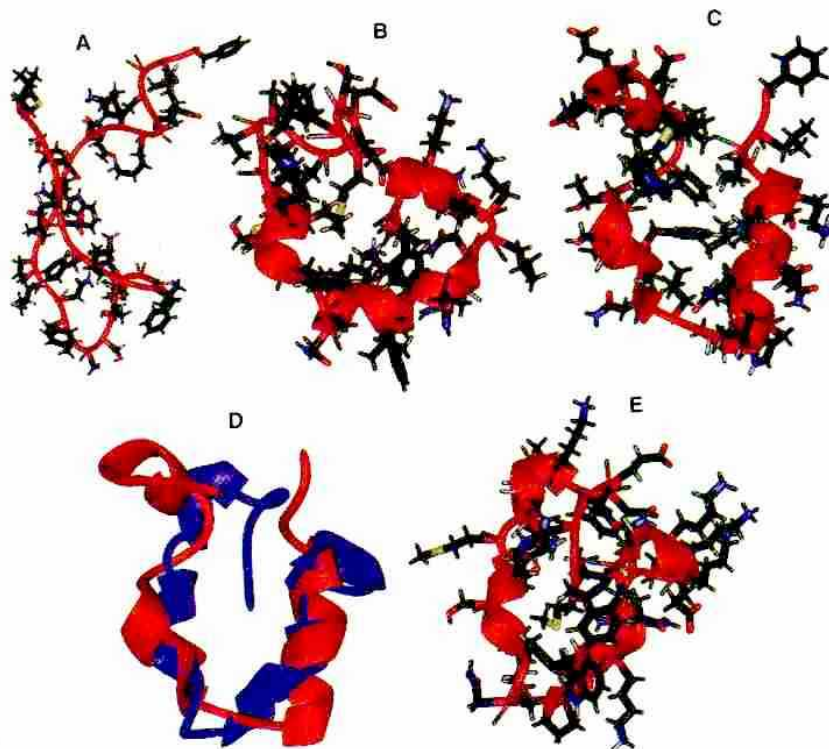
- HP-36: a villin (egy aktinkötő fehérje) feji részének szubdoménje (36 aminosav)
- önálló felgombolyodásra képes, olvadáspontja >70 fok
- felgombolyodási ideje 10–100 mikrosec közötti (igen rövidnek számít, ezért választották ezt)
- NMR-szerk: 3 rövid hélix

### Szimuláció

- Explicit oldószer (kb. 3000 vízmolekula), periodikus határfeltétel
- Indulás: 1000 K-n 1 ns alatt denaturált fehérjéből
- 1 mikroszekundum szimulációja (kb. 2 hónap processzoridő egy 256 processzoros Cray gépen)

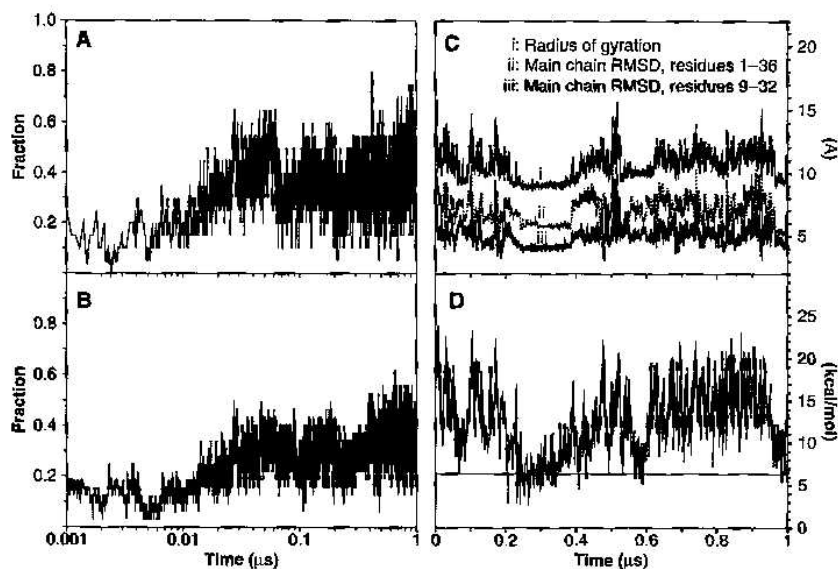
### Eredmények

- A szerkezet változásai:



A: kiinduló, C: natív, B: 980 ns-nál, E: a legstabilabb klaszter, D: a natív (piros) és a legstabilabb klaszter (kék) szerkezet illeszkedése

- A paraméterek változásai:



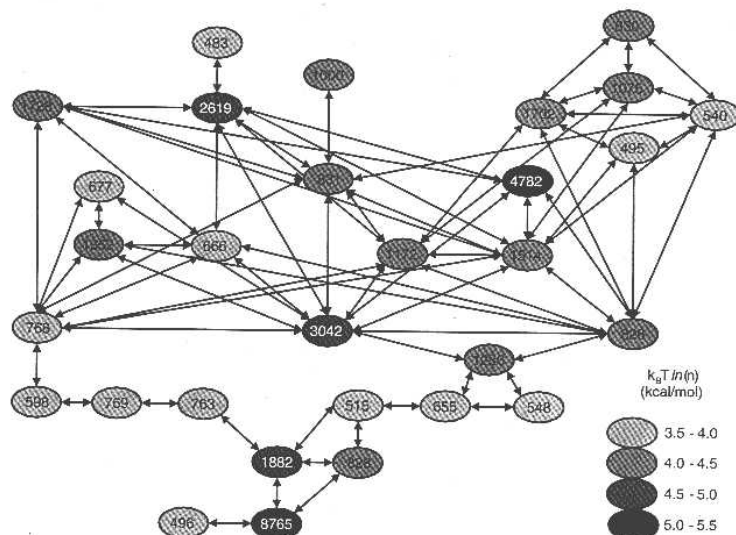
A: hélixtartalom, B: natív kontaktusok hányada, C: girációs sugár és RMSD-k a natív szerkezettől, D: solvatációs szabadentalpia (felszínből számítva). A bal oldali grafikonoknál az időskála logaritmusos, a jobb oldaliaknál lineáris!

- Két szakasz:

- ◆ **"burst" fázis:** gyors hidrofób kollapszus, hélixxépzéssel, kb. 60 ns-on belül. (Hélixtartalom 0-ról 60%-ra, natív kontaktusok aránya 3%-ról 45%-ra nő, solvatációs szabadentalpia 14 kcal/mol-lal csökken (natívközeli szintre).
- ◆ **lassabb, átrendeződési fázis:** hélixtartalom kb. 20%-ra csökken, mindegyik paraméter erősen fluktuálni kezd. Kb. 200 ns-től lassú növekedés a hélixtartalomban és a natív kontaktusok arányában

- **Egy stabil állapot:** 240 és 400 ns között egy szokatlanul stabil (160 ns élettidejű) állapot lép fel. Girációs sugár és rmsd közel állandó, solvatációs szabadentalpia igen alacsony. Nagyon hasonlít a natív szerkezetre.
- Klaszteranalízisből: ehhez a stabil állapothoz 3 út vezet





A felgombolyodás útvonalai. Az ellipszisek a főbb klasztereket reprezentálják, a nyilak az átmeneteket köztük. Az ellipszisekben lévő számok a klaszterekben lévő szerkezetek számát jelzik. A 240 és 400 ns közötti stabil állapot alul a 8765 szerkezetet tartalmazó, legnépesebb klaszter.

**Tehát:** a felgombolyodás molekuladinamikai szimulációja a kísérletből ismert natív szerkezethez közeli szerkezetet eredményezett, időbeli lefutása jó egyezést mutat a felgombolyodás kísérletből ismert menetével (gyors hidrofób kollapszus és másodlagosszerkezet-képzés, majd lassú átrendeződés) és sajátosságaival (több lehetséges útvonal).

## Folding at home: felgombolyítás otthon

A Stanford egyetem elindította a **Folding at home** projektet. Mikroszekundumnál hosszabb felgombolyodási szimulációt végeznek olyan módon, hogy a számítási munkát szétosztják az interneten lévő számítógépek között. Bárki letöltheti és képernyővédőként futtathatja azt a programot, ami a szimuláció egy részét végzi, így egy sok ezer processzoros, a világ minden részére elosztott, virtuális szuperszámítógép végzi a szimulációt.

Lásd: <http://foldingathome.stanford.edu/>