

УДК: 577.322

Молекулярная динамика протофиламентов тубулина и влияние таксола на их изгибную деформацию

В. А. Федоров^{1,2,a}, Е. Г. Холина^{1,b}, И. Б. Коваленко^{1,c}

¹Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра биофизики,

Россия, 119992, г. Москва, Ленинские горы, д. 1-12

²Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН,
Россия, 109029, г. Москва, ул. Средняя Калитниковская, д. 30

E-mail: ^a xbgth@yandex.ru, ^b tenarra1@gmail.com, ^c ikovalenko78@gmail.com

Получено 12.10.2023, после доработки — 15.01.2024.

Принято к публикации 12.02.2024.

Несмотря на широкое распространение и применение препаратов химиотерапии рака, остаются невыясненными молекулярные механизмы действия многих из них. Известно, что некоторые из этих препаратов, например таксол, оказывают влияние на динамику сборки микротрубочек и останавливают процесс клеточного деления в профазе-прометафазе. В последнее время появились новые пространственные структуры микротрубочек и отдельных олигомеров тубулина, связанных с различными регуляторными белками и препаратами химиотерапии рака. Однако знание пространственной структуры само по себе не дает информации о механизме действия препаратов.

В работе был применен метод молекулярной динамики для исследования поведения связанных с таксолом олигомеров тубулина и использована разработанная нами ранее методика анализа конформационных изменений протофиламентов тубулина, основанная на вычислении модифицированных углов Эйлера. На новых структурах фрагментов микротрубочек было продемонстрировано, что протофиламенты тубулина изгибаются не в радиальном направлении, как предполагают многие исследователи, а под углом примерно 45° к радиальному направлению. Однако в присутствии таксола направление изгиба смещается ближе к радиальному направлению. Было выявлено отсутствие значимой разницы между средними значениями углов изгиба и скручивания на новых структурах тубулина при связывании с различными естественными регуляторными лигандами, гуанозинтрифосфатом и гуанозиндифосфатом. Было обнаружено, что угол изгиба внутри димера больше, чем угол междимерного изгиба во всех проанализированных траекториях. Это указывает на то, что основная доля энергии деформации запасается внутри димерных субъединиц тубулина, а не на междимерном интерфейсе. Анализ недавно опубликованных структур тубулина указал на то, что присутствие таксола в кармане бета-субъединицы тубулина аллостерически уменьшает жесткость олигомера тубулина на скручивание, что могло бы объяснить основной механизм воздействия таксола на динамику микротрубочек. Действительно, снижение крутильной жесткости дает возможность сохранить латеральные связи между протофиламентами, а значит, должно приводить к стабилизации микротрубочек, что и наблюдается в экспериментах. Результаты работы позволяют пролить свет на феномен динамической нестабильности микротрубочек и приблизиться к пониманию молекулярных механизмов клеточного деления.

Ключевые слова: тубулин, таксол, микротрубочки, динамическая нестабильность, углы Эйлера, молекулярное моделирование

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-74-00119 (<https://rscf.ru/project/22-74-00119/>).

UDC: 577.322

Molecular dynamics of tubulin protofilaments and the effect of taxol on their bending deformation

V. A. Fedorov^{1,2,a}, E. G. Kholina^{1,b}, I. B. Kovalenko^{1,c}

¹Lomonosov Moscow State University, School of Biology, Biophysics Department,
1-12 Leninskie Gory, Moscow, 119992, Russia

²Center for Theoretical Problems of Physico-Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences,
30 Srednyaya Kalitnikovskaya st., Moscow, 109029, Russia

E-mail: ^a xbgth@yandex.ru, ^b tenarra1@gmail.com, ^c ikovalenko78@gmail.com

Received 12.10.2023, after completion — 15.01.2024.

Accepted for publication 12.02.2024.

Despite the widespread use of cancer chemotherapy drugs, the molecular mechanisms of action of many of them remain unclear. Some of these drugs, such as taxol, are known to affect the dynamics of microtubule assembly and stop the process of cell division in prophase-prometaphase. Recently, new spatial structures of microtubules and individual tubulin oligomers have emerged associated with various regulatory proteins and cancer chemotherapy drugs. However, knowledge of the spatial structure in itself does not provide information about the mechanism of action of drugs.

In this work, we applied the molecular dynamics method to study the behavior of taxol-bound tubulin oligomers and used our previously developed method for analyzing the conformation of tubulin protofilaments, based on the calculation of modified Euler angles. Recent structures of microtubule fragments have demonstrated that tubulin protofilaments bend not in the radial direction, as many researchers assume, but at an angle of approximately 45° from the radial direction. However, in the presence of taxol, the bending direction shifts closer to the radial direction. There was no significant difference between the mean bending and torsion angles of the studied tubulin structures when bound to the various natural regulatory ligands, guanosine triphosphate and guanosine diphosphate. The intra-dimer bending angle was found to be greater than the inter-dimer bending angle in all analyzed trajectories. This indicates that the bulk of the deformation energy is stored within the dimeric tubulin subunits and not between them. Analysis of the structures of the latest generation of tubulins indicated that the presence of taxol in the tubulin beta subunit pocket allosterically reduces the torsional rigidity of the tubulin oligomer, which could explain the underlying mechanism of taxol's effect on microtubule dynamics. Indeed, a decrease in torsional rigidity makes it possible to maintain lateral connections between protofilaments, and therefore should lead to the stabilization of microtubules, which is what is observed in experiments. The results of the work shed light on the phenomenon of dynamic instability of microtubules and allow to come closer to understanding the molecular mechanisms of cell division.

Keywords: tubulin, taxol, microtubules, dynamic instability, Euler angles, molecular modeling

Citation: *Computer Research and Modeling*, 2024, vol. 16, no. 2, pp. 503–512 (Russian).

The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 22-74-00119 (<https://rscf.ru/en/project/22-74-00119/>).

1. Введение

Микротрубочки — полимеры белка тубулина, необходимые для внутриклеточного транспорта, деления и поддержания структуры клеток. Интересным свойством микротрубочек является динамическая нестабильность, т. е. способность самопроизвольно переключаться между процессами полимеризации и деполимеризации, на что влияет гидролиз гуанозинтрифосфата (ГТФ), присоединенного к β -тубулину, до гуанозиндифосфата (ГДФ) [Desai, Mitchison, 1997]. Известно, что многие важнейшие противоопухолевые препараты первой линии, такие как таксол, оказывают влияние на динамику сборки и разборки микротрубочек и, таким образом, останавливают процесс клеточного деления [Lu et al., 2012]. Несмотря на то что получены новые пространственные структуры микротрубочек и отдельных олигомеров в комплексе с различными регуляторными белками и препаратами химиотерапии рака, детальные молекулярные механизмы действия этих препаратов до сих пор не изучены.

Недавно была предложена новая концепция сборки микротрубочек [McIntosh et al., 2018; Gudimchuk et al., 2020], заключающаяся в том, что к плюс-концу микротрубочки присоединяются не прямые димеры тубулина, как считалось ранее, а изогнутые, и, таким образом, гидролиз не влияет на форму олигомера тубулина. В нашей предыдущей работе [Fedorov et al., 2019] с помощью молекулярно-динамических (МД) расчетов олигомеров тубулина была исследована роль гидролиза в изменении кривизны олигомеров тубулина.

Помимо гидролиза ГТФ, на гибкость протофиламентов могут воздействовать регуляторные белки и препараты химиотерапии рака, останавливая процессы сборки-разборки микротрубочек. Один из самых известных препаратов химиотерапии — таксол — стабилизирующее микротрубочки вещество, которое связывается на внутренней поверхности бета-тубулина и, как предполагается на основе данных криоэлектронной микроскопии, имитирует свойства ГТФ-тубулинов [Kellogg et al., 2017].

Сайт связывания таксола был впервые описан более 30 лет назад [Rao, Horwitz, Ringel, 1992]. Ранние структурные исследования подтвердили, что таксол связывается с тубулином со стехиометрией 1:1 и влияет на взаимодействие между протофиламентами. Было обнаружено, что таксол связывается с промежуточным доменом β -тубулина благодаря таксановому кольцу. Большинство известных веществ, стабилизирующих микротрубочку, садятся на сайт связывания таксола и обратимо конкурируют с ним за связывание. Прямое или опосредованное взаимодействие между таксолом и m -петлей β -тубулина избирательно стабилизирует его конформацию с высокой кривизной [Debs et al., 2020]. Занятость таксанового сайта не влияет на прямолинейность протофиламентов тубулина [Proto et al., 2023]. В пространственных структурах тубулина, использующихся в настоящей работе (PDB ID 5SYF и 6EW0), положение таксола в сайте связывания тубулина определено с разрешением 3,5 Å и 3,8 Å соответственно. Одним из механизмов действия таксола может быть влияние на гибкость протофиламента.

В настоящей работе было проведено исследование влияния таксола на гибкость тубулиновых протофиламентов на основе недавно опубликованных пространственных структур с применением метода МД. Полученные нами данные позволяют прояснить молекулярные механизмы контроля динамики микротрубочек низкомолекулярными регуляторами и важны для рационального дизайна новых эффективных препаратов химиотерапии рака.

2. Материалы и методы

2.1. Создание молекулярно-динамических моделей

Были построены молекулярные модели тетрамеров тубулинов в комплексе с двумя естественными лигандами, управляющими конформацией тубулинов: ГТФ, ГДФ, а также одним из

препаратов химиотерапии рака — таксолом, относящимся к списку жизненно важных. Молекулярные модели были созданы на основе структурных данных высокого разрешения, недавно полученных независимо в двух лабораториях: в лаборатории Евы Ногалес (США, PDB ID 6DPU, 6DPV, 5SYF) [Zhang, LaFrance, Nogales, 2018; Kellogg et al., 2017] и в лаборатории Каролины Мурс (Великобритания, PDB ID 6EVW, 6EVZ, 6EW0) [Manka, Moores, 2018]. Визуализация структуры тетрамера тубулина, созданной на основе пространственной структуры 5SYF, приведена на рис. 1. Линейный размер представленной фибриллы — 16 нм.

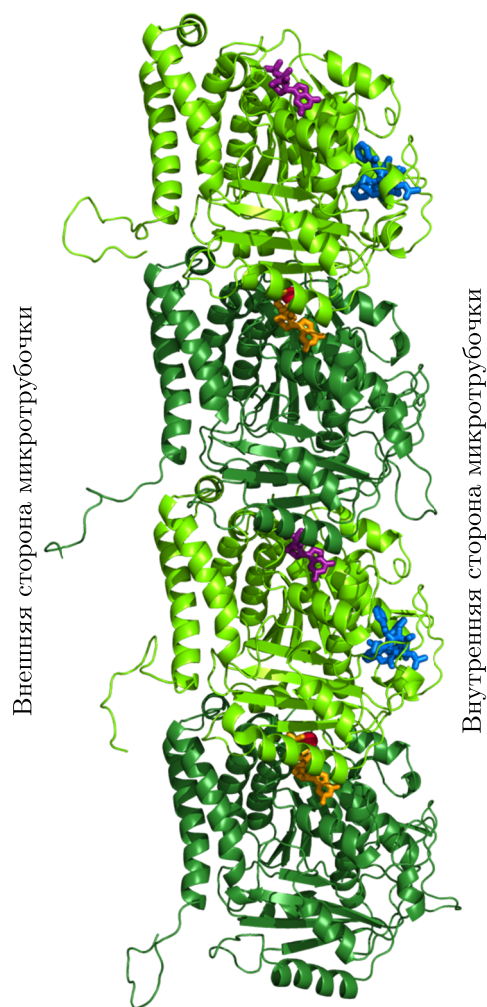


Рис. 1. Визуализация структуры 5SYF тетрамера ГДФ-тубулина, связанного с таксолом, использованная в качестве начального состояния для расчета МД. Альфа-тубулины показаны темно-зеленым цветом, бета-тубулины — светло-зеленым. Золотистым цветом показаны молекулы ГТФ, фиолетовым — ГДФ, красным — атомы магния. Молекулы таксола показаны синим цветом

Начальная структура таксола с атомами водорода была получена с использованием сервиса Automated Topology Builder (ATB). Предварительная оптимизация геометрии была проведена в рамках теории функционала плотности (DFT) с применением функционала PBE0 и базиса 6-31+G**. Дальнейшая оптимизация геометрии была проведена методом MP2/6-311+G**. Расчет точечных зарядов на атомах был произведен на основе алгоритма RESP. Квантово-механические расчеты были выполнены с помощью программного пакета Firefly.

Неразрешенные аминокислоты тубулинов были достроены с использованием программного обеспечения Modeller [Webb, Sali, 2016]. Для выбора состояния протонирования ионизируе-

мых аминокислот была использована программа Propka [Olsson et al., 2011]. Труднодоступные для молекул растворителя белковые карманы были сольватированы с помощью программы Dowser [Morozenko, Stuchebrukhov, 2016]. Тетрамер тубулина помещался в реакционную ячейку таким образом, чтобы минимальное расстояние до поверхности протофиламента составляло не менее 2 нм. В реакционную ячейку добавлялись молекулы воды (модель TIP3P) и ионы K^+ и Cl^- в концентрации 100 мМ. Молекулярно-динамическая модель тетрамера была создана в силовом поле CHARMM27 [MacKerell, Feig, Brooks, 2004].

Для каждой созданной модели тубулина была проведена минимизация энергии, за которой следовало двухступенчатое уравнивание молекулярно-динамической системы. Первый этап уравнивания заключался в проведении молекулярно-динамического расчета длительностью 1 нс с ограничением подвижности всех тяжелых атомов белка при постоянном давлении (баростат Берендсена, 1 бар) и температуре (термостат Берендсена, 300 К). На втором этапе ограничения подвижности затрагивали только атомы белкового остова, длительность расчета составила 5 нс. После уравнивания для каждой системы были проведены по три расчета длительностью не менее 1 микросекунды каждый без ограничения подвижности атомов в составе протофиламента с использованием термостата V-rescale (300 К) и баростата Паринелло – Рамана (1 бар) [Parrinello, Rahman, 1981]. Для учета дальнедействующих электростатических взаимодействий был применен алгоритм суммирования по Эвальду. Ограничение подвижности всех связей по алгоритму PLINKS и частичный перенос масс по Берендсену [Feenstra, Hess, Berendsen, 1999] использовались для обеспечения корректности работы модели при интегрировании с шагом по времени в 4 фс. Молекулярно-динамические модели состояли в среднем из 330 тысяч атомов каждая. Молекулярно-динамические расчеты для каждой молекулярной модели проводились несколько раз с использованием программного пакета GROMACS 2022.04 [Abraham et al., 2015], с суммарной длительностью траекторий более 3 мкс, что достаточно для получения равновесной изогнутой структуры протофиламента тубулина из прямой конфигурации.

2.2. Вычисление углов Эйлера

Для анализа траекторий была использована разработанная нами ранее [Fedorov et al., 2019] методика определения конформации протофиламентов тубулина, основанная на вычислении модифицированных углов Эйлера. Тетрамер тубулина состоит из двух димеров и, таким образом, имеет три интерфейса: два внутридимерных (между мономерами димера) и один междимерный (между двумя димерами). Анализ углов изгиба и скручивания на внутри- и междимерных интерфейсах тубулина проводился с помощью программного обеспечения PyMol [Schrödinger, DeLano, 2020] в сочетании с разработанными нами программами, написанными на языке программирования Python. Чтобы получить более детальное представление о конформационных изменениях на внутридимерных и междимерных интерфейсах тубулина при их релаксации от прямых к изогнутым формам в процессе молекулярной динамики, мы описали относительные движения соседних мономеров тубулина на каждом интерфейсе с помощью трех углов поворота, используя метрики, аналогичные введенным ранее [Graffmüller, Voth, 2011]. В нашей метрике, подробно описанной в [Fedorov et al., 2019], угол φ определяет направление изгиба относительно радиального направления по отношению к микротрубочке, а угол θ характеризует величину изгиба протофиламента относительно прямой структуры в направлении, задаваемом углом φ (углы Эйлера). Вместо угла собственного вращения ψ мы ввели угол внутреннего вращения (скручивания) δ , который позволяет избежать зависимости измерений от выбора системы координат. Заметим, что применительно к тубулинам угол нутации θ (т. е. основной угол искривления протофиламента) всегда сильно меньше 90° . Задача заключалась в определении значений введенных ранее углов между верхним и нижним мономерами в продольно соединенной паре мономеров тубулина. Неподвижная система координат была связана с фрагментом структуры стенки микротрубочки. Затем проводи-

лось выравнивание нижнего мономера из исследуемой пары мономеров тубулина по фрагменту стенки микротрубочки. Для выравнивания мы использовали только концевые глобулярные домены нижней субъединицы тубулина в исследуемой паре. Чтобы определить ориентацию второй субъединицы тубулина в исследуемой паре относительно первой субъединицы, фрагмент стенки микротрубочки (и связанная с ним декартова система координат) был, в свою очередь, выровнен по верхней субъединице исследуемого димера тубулина, таким образом задавая еще одну декартову систему координат. Далее рассчитывались углы изгиба (bend) θ , направления изгиба φ и скручивания (twist) δ поворота второй системы координат относительно первой. Для расчета средних значений углов использовались только данные после первых 500 нс МД-траектории.

2.3. Вычисление изгибной жесткости протофиламентов

Значения изгибной и крутильной жесткости протофиламентов были рассчитаны по теореме о равномерном распределении энергии в гармоническом приближении для каждого интерфейса. Согласно этой теореме при термодинамическом равновесии дисперсия σ^2 заданного конформационного угла (изгиба θ или скручивания δ) должна быть обратно пропорциональна соответствующей гармонической изгибной жесткости κ :

$$\kappa = \frac{k_B T}{\sigma^2},$$

где k_B — постоянная Больцмана, T — температура.

Для каждого интерфейса каждой структуры тетрамера были рассчитаны средние значения и стандартные отклонения изгибной и крутильной жесткости. Как и для расчетов средних значений углов, для анализа были использованы данные трех повторных траекторий молекулярной динамики, взятые после начальных 500 нс каждой траектории. Представленные значения для внутридимерных интерфейсов в тетрамерах объединяют данные из двух внутридимерных интерфейсов каждого тетрамера.

3. Результаты

Нами были рассчитаны значения углов изгиба и скручивания на каждом кадре молекулярно-динамической траектории для междимерного интерфейса в тетрамере тубулина. Угол междимерного изгиба α -тубулина по отношению к β -тубулину не превышает 11° для структур, полученных в лаборатории Е. Ногалес, и 13° — для структур из лаборатории К. Мурс. Среднее значение угла изгиба для структур Е. Ногалес составляет около 4° (ГДФ-тетрамер) и 6° (ГТФ-тетрамер) (табл. 1). Среднее значение угла изгиба для структур К. Мурс составляет около 7° как для ГДФ-тетрамера, так и для ГТФ-тетрамера (табл. 1).

Таблица 1. Параметры конформационных изменений тубулиновых протофиламентов (углов изгиба и скручивания, в градусах), оцененные на основе анализа расчетов молекулярной динамики

| Интерфейс | Изгиб | Скручивание | Изгиб | Скручивание | Изгиб | Скручивание |
|----------------|-------------------------------------|-------------|------------|-------------|---------------------|-------------|
| | Структуры, полученные Ногалес, 2018 | | | | | |
| | 6DPV (ГДФ) | | 6DPU (ГТФ) | | 5SYF (ГДФ + таксол) | |
| Междимерный | 4,7 ± 1,2 | 10,1 ± 0,9 | 6,1 ± 0,4 | 4,2 ± 4,3 | 4,3 ± 1,6 | 8,4 ± 1,8 |
| Внутридимерный | 8,9 ± 2,3 | 6,0 ± 3,4 | 12,6 ± 3,1 | 5,9 ± 3,7 | 6,9 ± 1,3 | 5,8 ± 1,6 |
| | Структуры, полученные Мурс, 2018 | | | | | |
| | 6EVZ (ГДФ) | | 6EVW (ГТФ) | | 6EW0 (ГДФ + таксол) | |
| Междимерный | 6,8 ± 1,7 | 8,7 ± 3,1 | 6,6 ± 1,0 | 5,5 ± 4,3 | 4,2 ± 0,5 | 6,5 ± 1,7 |
| Внутридимерный | 9,3 ± 2,3 | 2,8 ± 2,7 | 8,2 ± 3,3 | 3,9 ± 2,6 | 8,4 ± 1,9 | 5,8 ± 2,3 |

Для всех структур с таксом изменение значений междимерных углов изгиба α -тубулина по отношению к β -тубулину не превышает 9° . Угол скручивания не превышает 11° для структуры К. Мурс и 15° для структуры Е. Ногалес, на внутридимерном интерфейсе этот угол не превышает 12° для структуры Ногалес и 15° для структуры К. Мурс. При этом внутридимерный угол скручивания как для структуры Ногалес, так и для структуры К. Мурс не превышает 11° . Значение угла скручивания на внутридимерном интерфейсе различается от запуска к запуску сильнее для структуры К. Мурс, что подтверждается разбросом величин ошибок, представленных в таблице 1.

Средние значения внутридимерных углов изгиба β -тубулина по отношению к α -тубулину без таксола и их разброс для внутридимерных углов существенно (в 1,5–2 раза) выше по сравнению с междимерными. При этом структуры Е. Ногалес различаются по значению угла изгиба на междимерном и внутридимерном интерфейсах сильнее (более чем в 2 раза) по сравнению со структурами К. Мурс (1,2–1,4 раза). В структурах Е. Ногалес также в более явном виде различаются углы как внутридимерного, так и междимерного изгибов в ГТФ- и ГДФ-тетрамерах тубулина (средние значения для ГТФ-тетрамеров в 1,3 и 1,5 раза выше соответственно), в отличие от структур К. Мурс, где разница между ГТФ- и ГДФ-тетрамерами находится в пределах погрешностей. Как следует из таблицы 1, в присутствии таксола величина угла изгиба для внутридимерного интерфейса несколько выше по сравнению с междимерным для структур, полученных в обеих лабораториях. Противоположная зависимость наблюдается для величин углов скручивания.

Для наглядной визуализации направления и степени изгиба тетрамеров тубулина для всех исследованных структур были построены проекции центров масс верхнего мономера на плоскость, перпендикулярную оси микротрубочки (рис. 2). На основе построенных проекций видно, что вне зависимости от связанного нуклеотида и наличия таксола тетрамеры тубулина отклоняются не в строго радиальном направлении по отношению к микротрубочке, а несколько вправо.

Поскольку по изгибу целого тетрамера влияние таксола не очевидно, мы проанализировали конформационные изменения и изгибную жесткость углов на междимерном и внутридимерном интерфейсах по отдельности. Усредненные значения жесткости были вычислены по теореме равномерного распределения энергии и приведены вместе со стандартными отклонениями в таблице 2. Как видно из таблицы 2, жесткости углов изгиба и скручивания не меняются в зависимости от нуклеотида во всех исследованных структурах. Добавление таксола приводит к снижению жесткости угла скручивания на междимерном интерфейсе для всех исследованных структур.

Таблица 2. Гармоническая жесткость углов изгиба и скручивания ($k_B T/\text{рад}^2$)

| Интерфейс | Изгиб | Скручивание | Изгиб | Скручивание | Изгиб | Скручивание |
|----------------|-------------------------------------|-------------|------------|-------------|---------------------|-------------|
| | Структуры, полученные Ногалес, 2018 | | | | | |
| | 6DPV (ГДФ) | | 6DPU (ГТФ) | | 5SYF (ГДФ + таксол) | |
| Междимерный | 1560 ± 630 | 830 ± 150 | 1030 ± 250 | 870 ± 320 | 1380 ± 490 | 580 ± 130 |
| Внутридимерный | 1230 ± 230 | 1350 ± 260 | 1010 ± 270 | 1080 ± 370 | 1020 ± 350 | 1310 ± 140 |
| | Структуры, полученные Мурс, 2018 | | | | | |
| | 6EVZ (ГДФ) | | 6EVW (ГТФ) | | 6EW0 (ГДФ + таксол) | |
| Междимерный | 820 ± 660 | 900 ± 490 | 1010 ± 100 | 890 ± 340 | 1350 ± 140 | 670 ± 110 |
| Внутридимерный | 1430 ± 250 | 1040 ± 380 | 1420 ± 420 | 1050 ± 380 | 930 ± 460 | 1260 ± 200 |

4. Заключение

Несмотря на широкое распространение и применение таксола в качестве препарата противопухоловой терапии, молекулярные механизмы его действия не были до конца изучены.

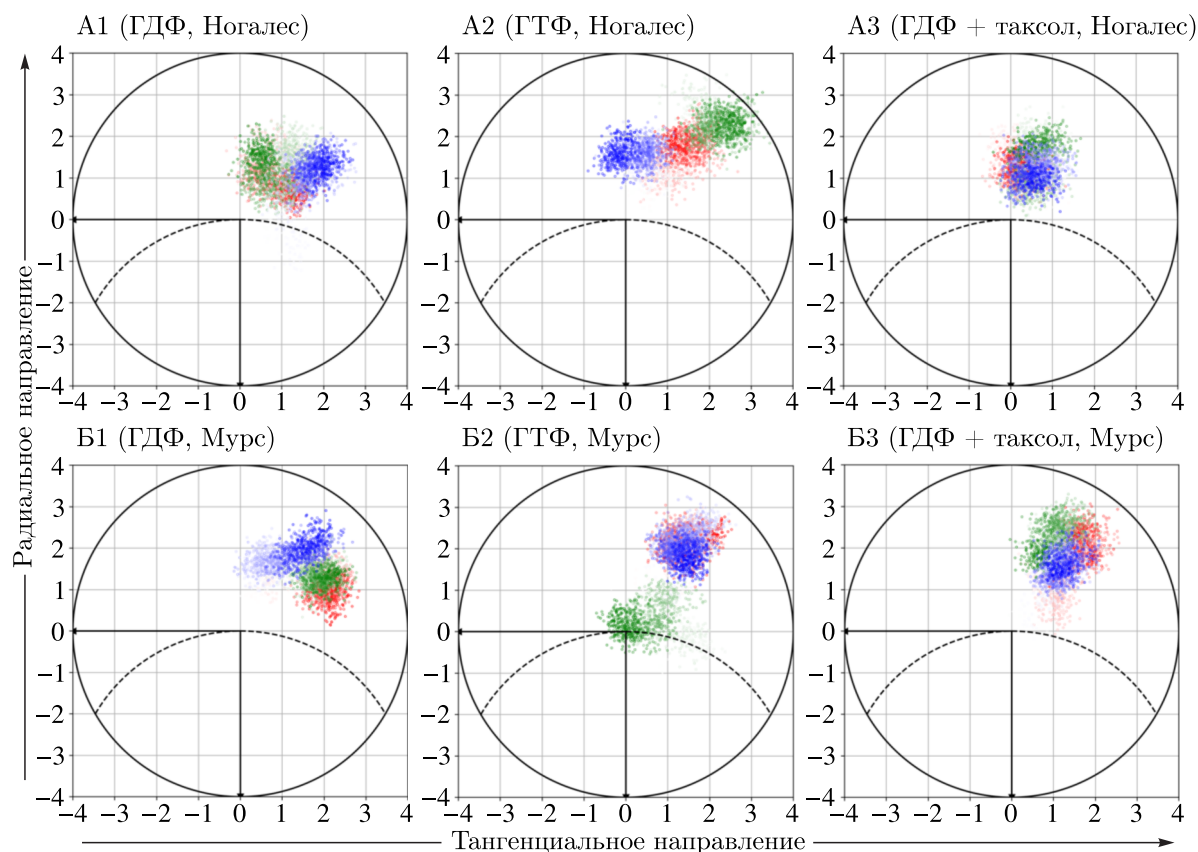


Рис. 2. Проекция центров масс верхнего мономера в тетрамере на плоскость, перпендикулярную оси микротрубочки, в молекулярно-динамических расчетах, основанных на структурах 6dru (A1), 6evz (B1), 6dru (A2), 6evw (B2), 5syf (A3), 6evw (B3). Панели A1–A3 характеризуют структуры лаборатории Е. Ногалес, панели B1–B3 — лаборатории К. Мурс. Для всех траекторий точки показаны градиентом от белого (начало траектории) к цвету конкретной траектории (конец траектории). Пунктирной линией схематически показана окружность стенки микротрубочки. Горизонтальная ось является касательной к стенке микротрубочки, вертикальная ось перпендикулярна к оси микротрубочки. Единицы измерения по осям абсцисс и ординат — нанометры

Для выяснения молекулярных основ, лежащих в эффекте стабилизации микротрубочек в присутствии таксола, в данной работе были построены молекулярные модели тетрамера тубулина в комплексе с двумя естественными лигандами, управляющими конформацией тубулинов: ГТФ, ГДФ, а также одним из препаратов химиотерапии рака — таксолом, относящимся к списку жизненно важных. Молекулярные модели были созданы на основе новейших структурных данных высокого разрешения, недавно полученных независимо в двух лабораториях: в лаборатории Евы Ногалес (США) и в лаборатории Каролины Мурс (Великобритания).

Было выявлено отсутствие значимой разницы между средними значениями основных конформационных углов тубулинов при связывании с различными естественными регуляторными лигандами, ГТФ и ГДФ. Угол изгиба внутри димера больше, чем угол междимерного изгиба во всех проанализированных траекториях. Это указывает на то, что основная доля энергии деформации запасается внутри димерных субъединиц тубулина, а не между ними. При кручении одного димера относительно другого в составе протофиламента микротрубочки может происходить разрыв латеральной связи сначала с одним соседним протофиламентом, а затем с другим, что может существенно облегчать процесс «выламывания» протофиламента из тела микротрубочки. Не радиальный, а примерно под 45° к тангенциальному направлению в плоскости, перпендику-

лярной оси микротрубочки, наклон протофиламентов дополнительно свидетельствует в пользу этого утверждения.

Анализ новейших структур тубулинов указал на то, что присутствие таксола в кармане бета-субъединицы тубулина аллостерически снижает жесткость олигомера тубулина на скручивание, что могло бы объяснить основной механизм воздействия таксола на динамику микротрубочек. Действительно, снижение крутильной жесткости дает возможность сохранить латеральные связи между протофиламентами, а значит, должно приводить к стабилизации микротрубочек, что и наблюдается в экспериментах.

Сравнительный анализ конформационной динамики тубулинов на основе указанной совокупности структурных данных был проведен впервые. Полученная информация будет полезна для создания молекулярных крупнозернистых моделей сборки микротрубочек, а также для понимания механизмов модуляции свойств микротрубочек ингибиторами типа винбластина или колхицина, которые воздействуют на междимерные и внутридимерные интерфейсы тубулинов соответственно.

Список литературы (References)

- Abraham M.J., Murtola T., Schulz R., Páll S., Smith J.C., Hess B., Lindahl E.* GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers // *SoftwareX*. — 2015. — Vol. 1, No. 2. — P. 19–25.
- Debs G.E., Cha M., Liu X., Sindelar Ch. V.* Dynamic and asymmetric fluctuations in the microtubule wall captured by high-resolution cryoelectron microscopy // *Proceedings of the National Academy of Science*. — 2020. — Vol. 117, No. 29. — P. 16976–16984.
- Desai A., Mitchison T.J.* Microtubule polymerization dynamics // *Annual review of cell and developmental biology*. — 1997. — Vol. 13, No. 1. — P. 83–117.
- Fedorov V.A., Orekhov P.S., Kholina E.G., Zhmurov A.A., Ataullakhanov F.I., Kovalenko I.B., Gudimchuk N.B.* Mechanical properties of tubulin intra-and inter-dimer interfaces and their implications for microtubule dynamic instability // *PLoS computational biology*. — 2019. — Vol. 15, No. 8. — P. e1007327.
- Feenstra K.A., Hess B., Berendsen H.J.C.* Improving efficiency of large time-scale molecular dynamics simulations of hydrogen-rich systems // *Journal of computational chemistry*. — 1999. — Vol. 20, No. 8. — P. 786–798.
- Grafmüller A., Voth G.A.* Intrinsic bending of microtubule protofilaments // *Structure*. — 2011. — Vol. 19, No. 3. — P. 409–417.
- Gudimchuk N.B., Ulyanov E.V., O'Toole E., Page C.L., Vinogradov D.S., Morgan G., Li G., Moore J.K., Szczesna E., Roll-Mecak A., Ataullakhanov F.I.* Mechanisms of microtubule dynamics and force generation examined with computational modeling and electron cryotomography // *Nature Communications*. — 2020. — Vol. 11, No. 1. — P. 3765.
- Kellogg E.H., Hejab N.M., Howes S., Northcote P., Miller J.H., Díaz J.F., Downing K.H., Nogales E.* Insights into the distinct mechanisms of action of taxane and non-taxane microtubule stabilizers from cryo-EM structures // *Journal of molecular biology*. — 2017. — Vol. 429, No. 5. — P. 633–646.
- Lu Y., Chen J., Xiao M., Li W., Miller D.D.* An overview of tubulin inhibitors that interact with the colchicine binding site // *Pharmaceutical research*. — 2012. — Vol. 29, No. 11. — P. 2943–2971.
- MacKerell Jr. A.D., Feig M., Brooks C.L.* Improved treatment of the protein backbone in empirical force fields // *Journal of the American Chemical Society*. — 2004. — Vol. 126, No. 3. — P. 698–699.
- Manka S.W., Moores C.A.* The role of tubulin–tubulin lattice contacts in the mechanism of microtubule dynamic instability // *Nature structural & molecular biology*. — 2018. — Vol. 25, No. 7. — P. 607–615.

- McIntosh J.R., O'Toole E., Morgan G., Austin J., Ulyanov E., Ataullakhanov F., Gudimchuk N.* Microtubules grow by the addition of bent guanosine triphosphate tubulin to the tips of curved protofilaments // *Journal of Cell Biology*. — 2018. — Vol. 217, No. 8. — P. 2691–2708.
- Morozenko A., Stuchebrukhov A.A.* Dowser++, a new method of hydrating protein structures // *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. — 2016. — Vol. 84, No. 10. — P. 1347–1357.
- Olsson M.H., Søndergaard C.R., Rostkowski M., Jensen J.H.* PROPKA3: consistent treatment of internal and surface residues in empirical pK_a predictions // *Journal of chemical theory and computation*. — 2011. — Vol. 7, No. 2. — P. 525–537.
- Parrinello M., Rahman A.* Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method // *Journal of Applied physics*. — 1981. — Vol. 52, No. 12. — P. 7182–7190.
- Prota A.E., Lucena-Agell D., Ma Yu., Estevez-Gallego J., Li S., Bargsten K., Josa-Prado F., Altmann K.-H., Gaillard N., Kamimura S., Mühlethaler T., Gago F., Oliva M.A., Steinmetz M.O., Fang W.-S., Díaz F.* Structural insight into the stabilization of microtubules by taxanes // *eLife*. — 2023. — Vol. 12. — P. e84791.
- Rao S., Horwitz S.B., Ringel I.* Direct photoaffinity labeling of tubulin with taxol // *Journal of the National Cancer Institute*. — 1992. — Vol. 84, No. 10. — P. 785–788.
- Schrödinger L., DeLano W.* The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.0 Schrödinger, LLC. — 2020. — <http://www.pymol.org/pymol>
- Webb B., Sali A.* Comparative protein structure modeling using MODELLER // *Current protocols in bioinformatics*. — 2016. — Vol. 54, No. 1. — P. 5–6.
- Zhang R., LaFrance B., Nogales E.* Separating the effects of nucleotide and EB binding on microtubule structure // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. — 2018. — Vol. 115, No. 27. — P. E6191–E6200.