



evropský  
sociální  
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

**F1190 Úvod do biofyziky**  
**Masarykova Univerzita**  
**Podzimní semestr 2023**  
**14.12.2023 Molekulární dynamika**

**Doporučená doplňující četba:**

**Molecular Modelling: Principles and Applications, second edition**

**Andrew R. Leach**

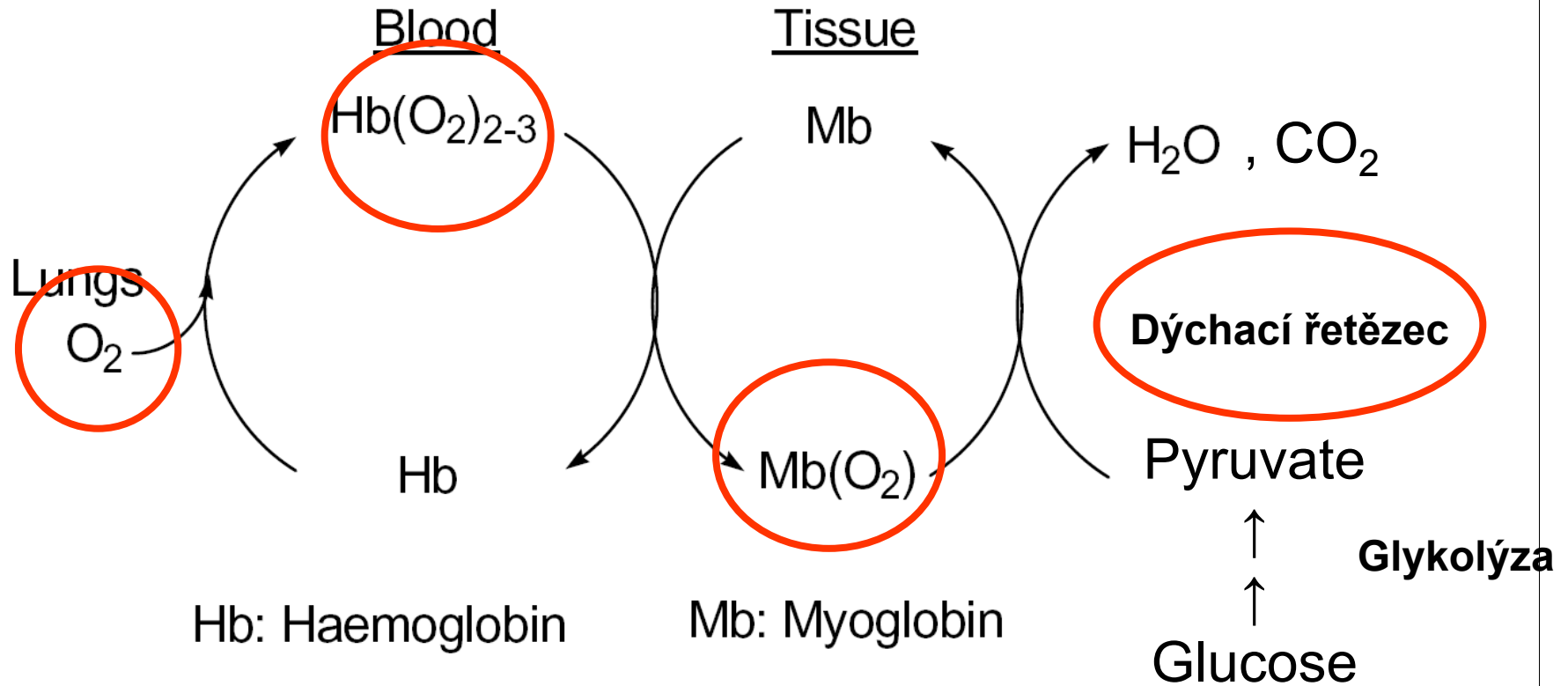
**Pearson Education EMA, 2001**

**ISBN 0-582-38210-6**

**Prof. Jiří Kozelka, Biofyzikální Laboratoř, Ústav fyziky kondenzovaných látek, PŘF MU,  
Kotlářská 2, [kozelka.jiri@gmail.com](mailto:kozelka.jiri@gmail.com)**

**Důležitost strukturních fluktuací biomolekul (neboli dynamiky molekul) pro jejich funkci si ukážeme na příkladu **myoglobinu**, proteinu, který ve svalech obratlovců přebírá kyslík od hemoglobinu a uvolňuje jej pro získávání energie v dýchacím řetězci.**

# Oxygen transport (vertebrates)



**Myoglobin: 1. protein, jehož struktura byla zjištěna v atomovém rozlišení pomocí rentgenové krystalografie (John Kendrew, 1960, Nobelova cena s Maxem Perutzem, 1962).**

**„Research Collaboratory for Structural Bioinformatics“ (RCSB, viz předchozí přednáška) vyhlásilo v lednu 2000 myoglobin Molekulou měsíce.**

# Myoglobin: « Molekula měsíce », leden 2000

<http://pdb101.rcsb.org/motm/1>

## The First Protein Structure

Any discussion of protein structure must necessarily begin with myoglobin, because it is where the science of protein structure began. After years of arduous work, **John Kendrew and his coworkers determined the atomic structure of myoglobin**, laying the foundation for an era of biological understanding. You can take a close look at this protein structure yourself, in PDB entry [1mbn](#). You will be amazed, just like the world was in **1960**, at the beautiful intricacy of this protein.

## Myoglobin and Muscles

Myoglobin is a small, bright red protein. It is very common in muscle cells and gives meat much of its red color. Its job is to **store oxygen**, for use when muscles are hard at work. To do this, **it uses a special chemical tool to capture slippery oxygen molecules: a heme group**. Heme is a **disk-shaped molecule** that has a hole in the center that is perfect for holding an **iron ion**. The iron then **forms a strong interaction with the oxygen molecule**. As you can see in the structure, the **heme group is held tightly in a deep pocket on one side of the protein**.

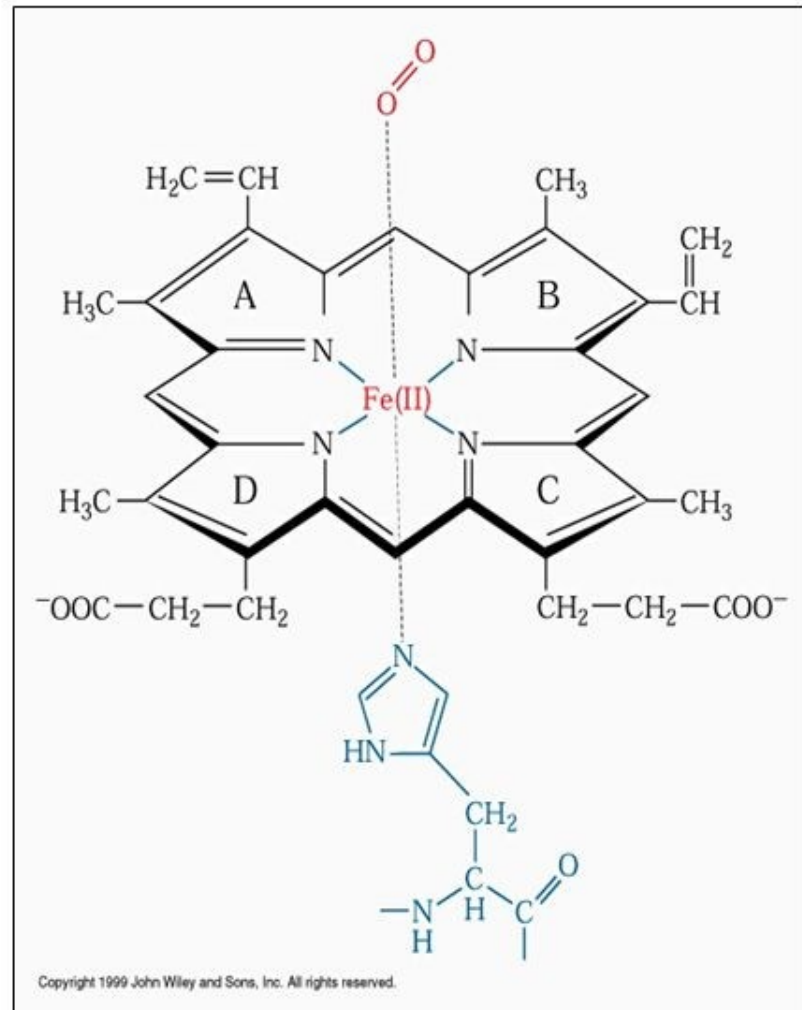
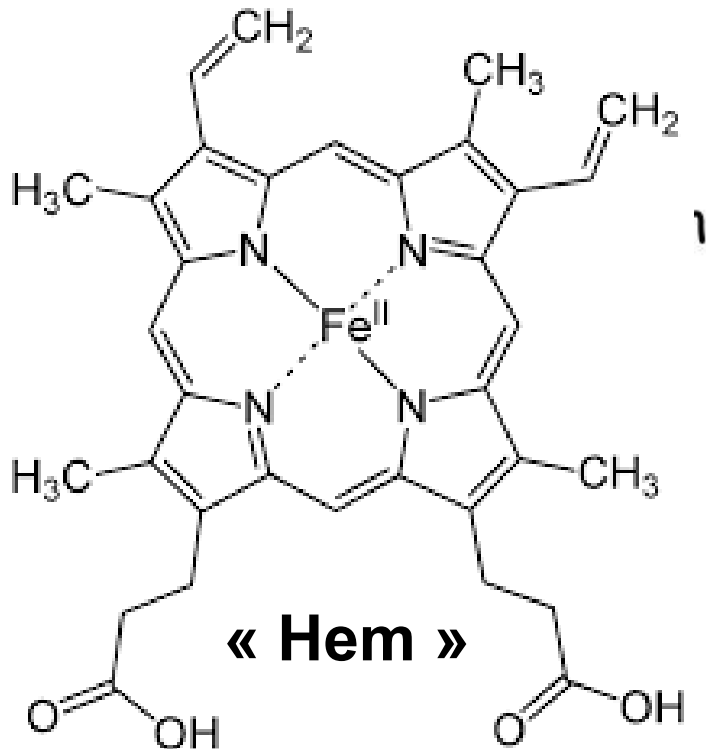


« Disk-shaped molecule », hem

Toto by měla být molekula O<sub>2</sub>

# Vlastnosti železa v hemu

- **Koordinační číslo železa v hemu = 6**



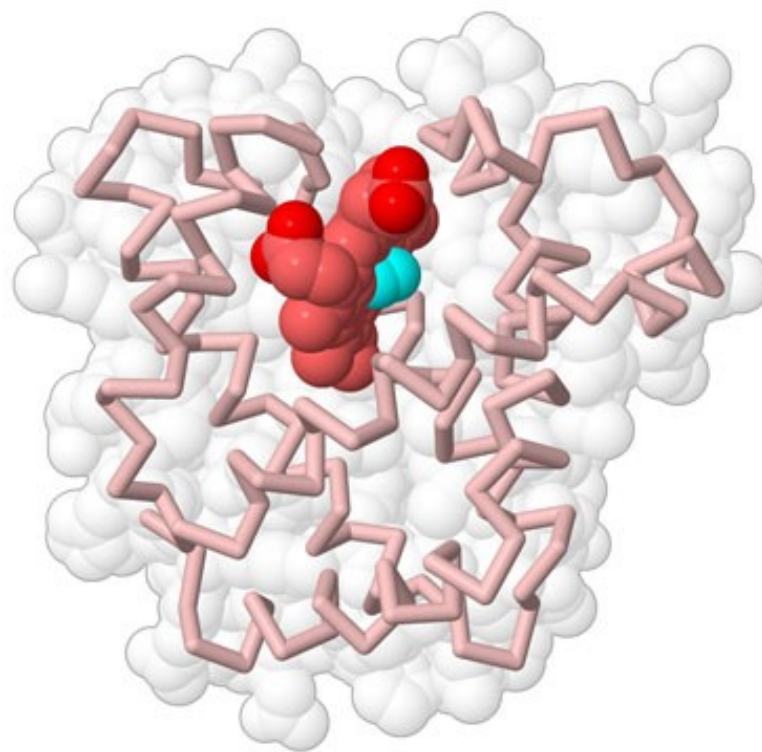
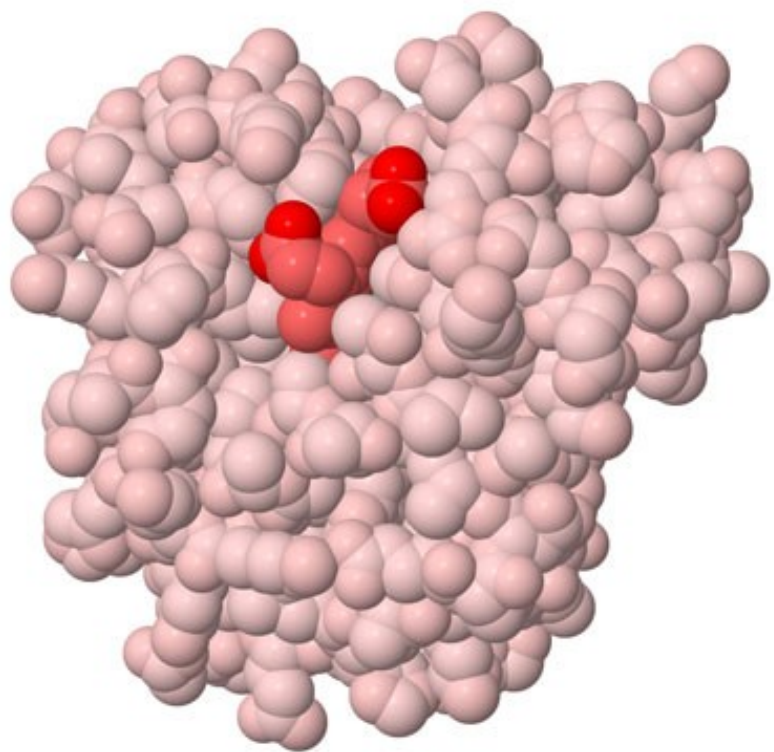
**Hem** je [prostetická skupina](#) obsahující [železnatý ion](#) (Fe<sup>2+</sup>) ve středu tetrapyrrolového jádra, na něž jsou navázány [substituenty](#). Červená barva hemu je způsobena konjugovaným systémem dvojných vazeb, kvůli kterému se hem dobře [excituje](#) a následně emituje červenou část spektra viditelného světla. (Pramen: Wikipedie)

**Připojte se prosím na internet a článek o myoglobinu na adrese <http://pdb101.rcsb.org/motm/1> si přečtěte. Na konci článku je odstavec“Exploring the structure“, tam pod obrázkem klikněte na „JSmol“. Objeví se následující menu:**

- Many protein chains fold into a stable, globular structure. To see this, show all atoms (protein is in pink and heme is in red).
- Proteins have a hierarchical structure, with the chain folding into local secondary structures that maximize the number of internal hydrogen bonds, which then fold into the globular tertiary structure. To see this, show alpha helices, with hydrogen bonds in dotted lines.
- Specialized amino acids are perfectly placed to perform the function of the protein. To see this, show the two histidines that coordinate the iron and oxygen.
- Charged amino acids are arranged on the surface of the protein, and amino acids with opposite charges (colored blue and red here) often form salt bridges.
- Carbon-rich amino acids are arranged on the interior of the protein, sheltered from the surrounding water.

**Zaklikněte si postupně jednotlivá kolečka. Objeví se vždy příslušný doprovodný obrázek, které můžete pomocí myši otáčet. Na následujících třech diapozitivech najdete shrnutí informací, které v článku považuji v tuto chvíli za nejdůležitější.**





**Rotace tohoto obrázku vám ozřejmí, jak poměrně hluboko se molekula O<sub>2</sub> nachází v proteinové struktuře (tyrkisové atomy kyslíku pouze občas probleskují při určitých orientacích proteinové molekuly).**

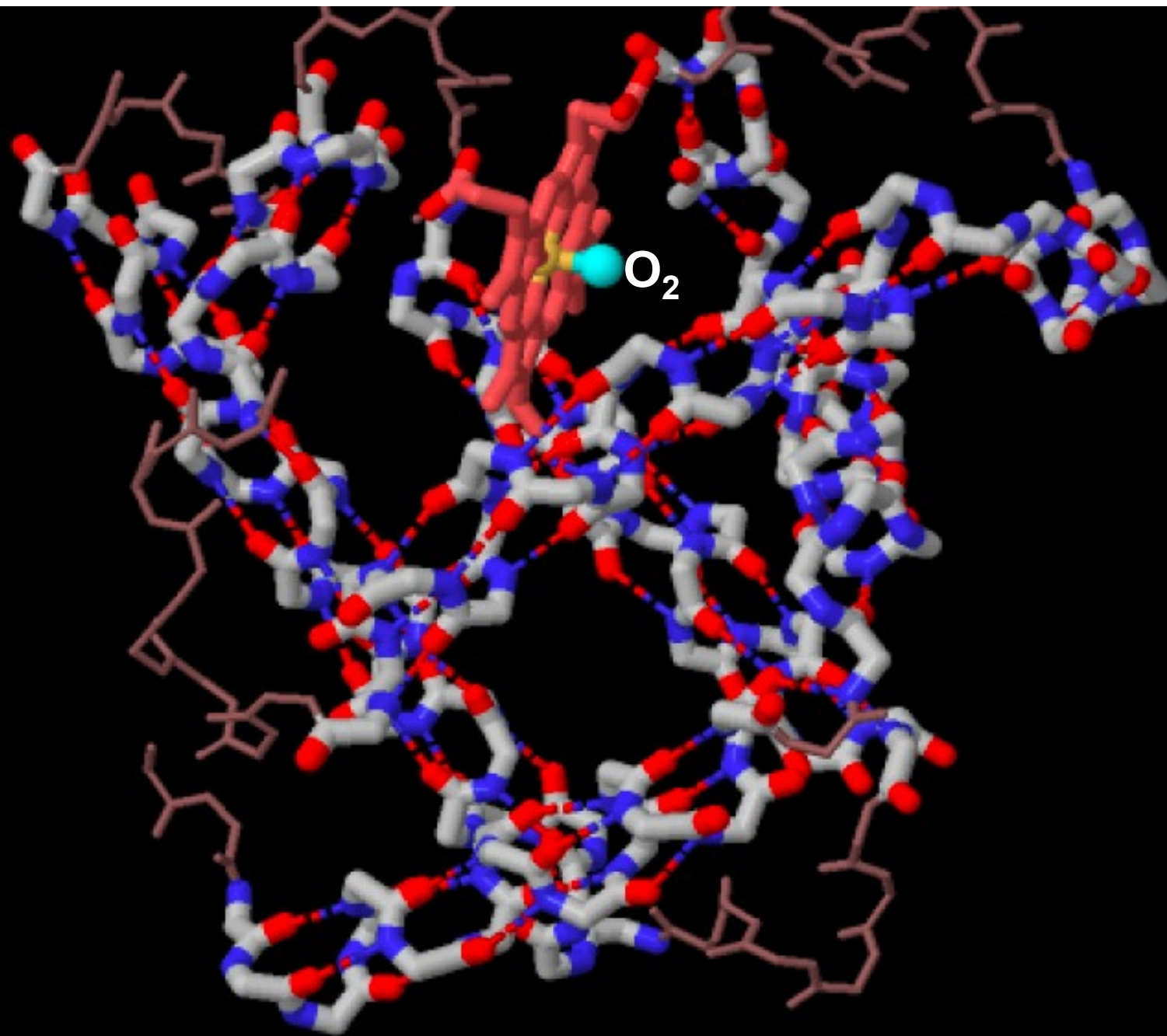


**Připojte se prosím na internet a článek o myoglobinu na adrese <http://pdb101.rcsb.org/motm/1> si přečtěte. Na konci článku je odstavec“Exploring the structure“, tam pod obrázkem klikněte na „JSmol“. Objeví se následující menu:**

- Many protein chains fold into a stable, globular structure. To see this, show all atoms (protein is in pink and heme is in red).
- Proteins have a hierarchical structure, with the chain folding into local secondary structures that maximize the number of internal hydrogen bonds, which then fold into the globular tertiary structure. **To see this, show alpha helices, with hydrogen bonds in dotted lines.**
- Specialized amino acids are perfectly placed to perform the function of the protein. To see this, show the two histidines that coordinate the iron and oxygen.
- Charged amino acids are arranged on the surface of the protein, and amino acids with opposite charges (colored blue and red here) often form salt bridges.
- Carbon-rich amino acids are arranged on the interior of the protein, sheltered from the surrounding water.

**Zaklikněte si postupně jednotlivá kolečka. Objeví se vždy příslušný doprovodný obrázek, které můžete pomocí myši otáčet. Na následujících třech diapozitivech najdete shrnutí informací, které v článku považuji v tuto chvíli za nejdůležitější.**

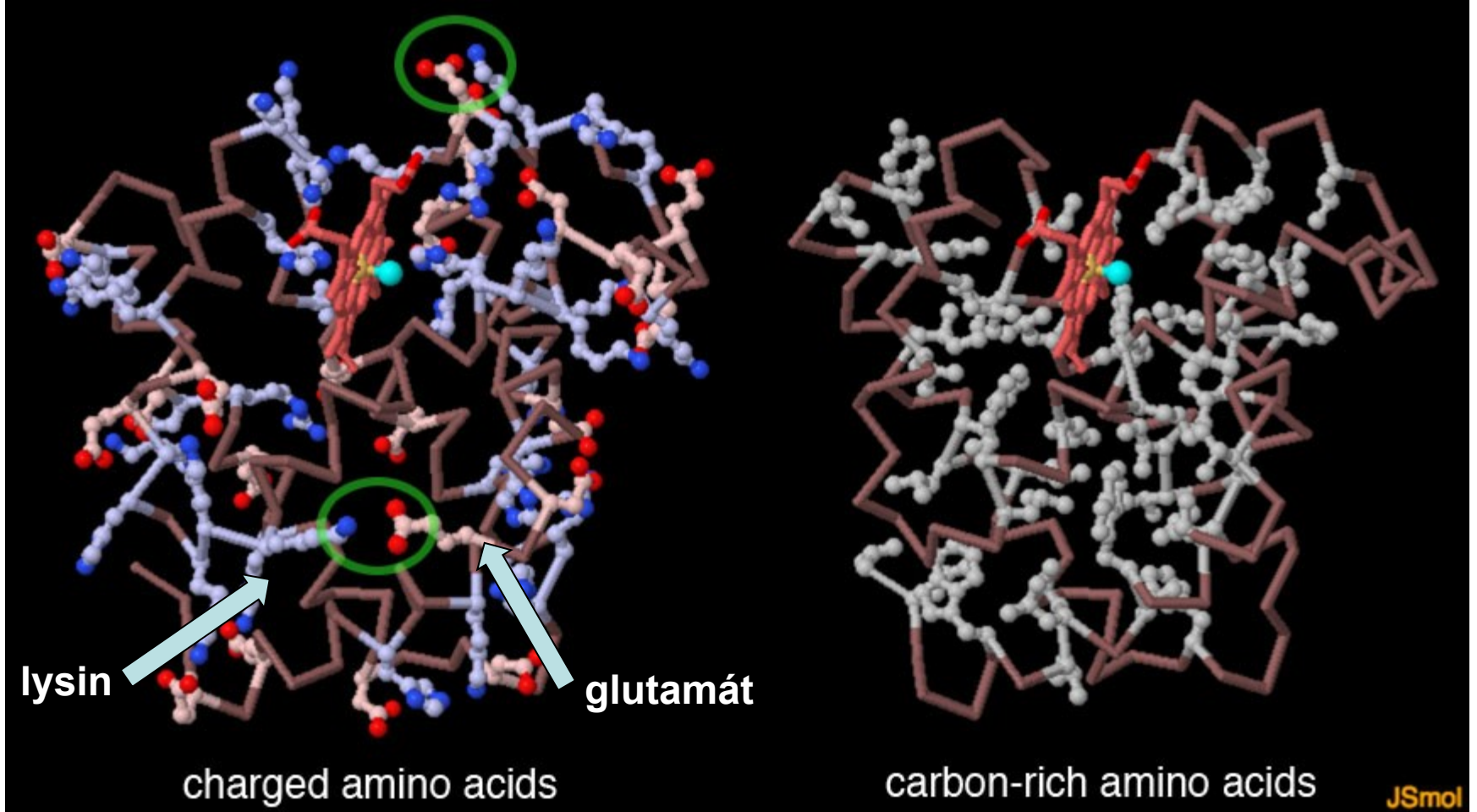
Myoglobin: protein ze 153 aminokyselin organizovaných v 6  $\alpha$ -šroubovicích



**Připojte se prosím na internet a článek o myoglobinu na adrese <http://pdb101.rcsb.org/motm/1> si přečtěte. Na konci článku je odstavec“Exploring the structure“, tam pod obrázkem klikněte na „JSmol“. Objeví se následující menu:**

- Many protein chains fold into a stable, globular structure. To see this, show all atoms (protein is in pink and heme is in red).
- Proteins have a hierarchical structure, with the chain folding into local secondary structures that maximize the number of internal hydrogen bonds, which then fold into the globular tertiary structure. To see this, show alpha helices, with hydrogen bonds in dotted lines.
- Specialized amino acids are perfectly placed to perform the function of the protein. To see this, show the two histidines that coordinate the iron and oxygen.
- Charged amino acids are arranged on the surface of the protein, and amino acids with opposite charges (colored blue and red here) often form salt bridges.
- Carbon-rich amino acids are arranged on the interior of the protein, sheltered from the surrounding water.

**Zaklikněte si postupně jednotlivá kolečka. Objeví se vždy příslušný doprovodný obrázek, které můžete pomocí myši otáčet. Na následujících třech diapozitivech najdete shrnutí informací, které v článku považuji v tuto chvíli za nejdůležitější.**



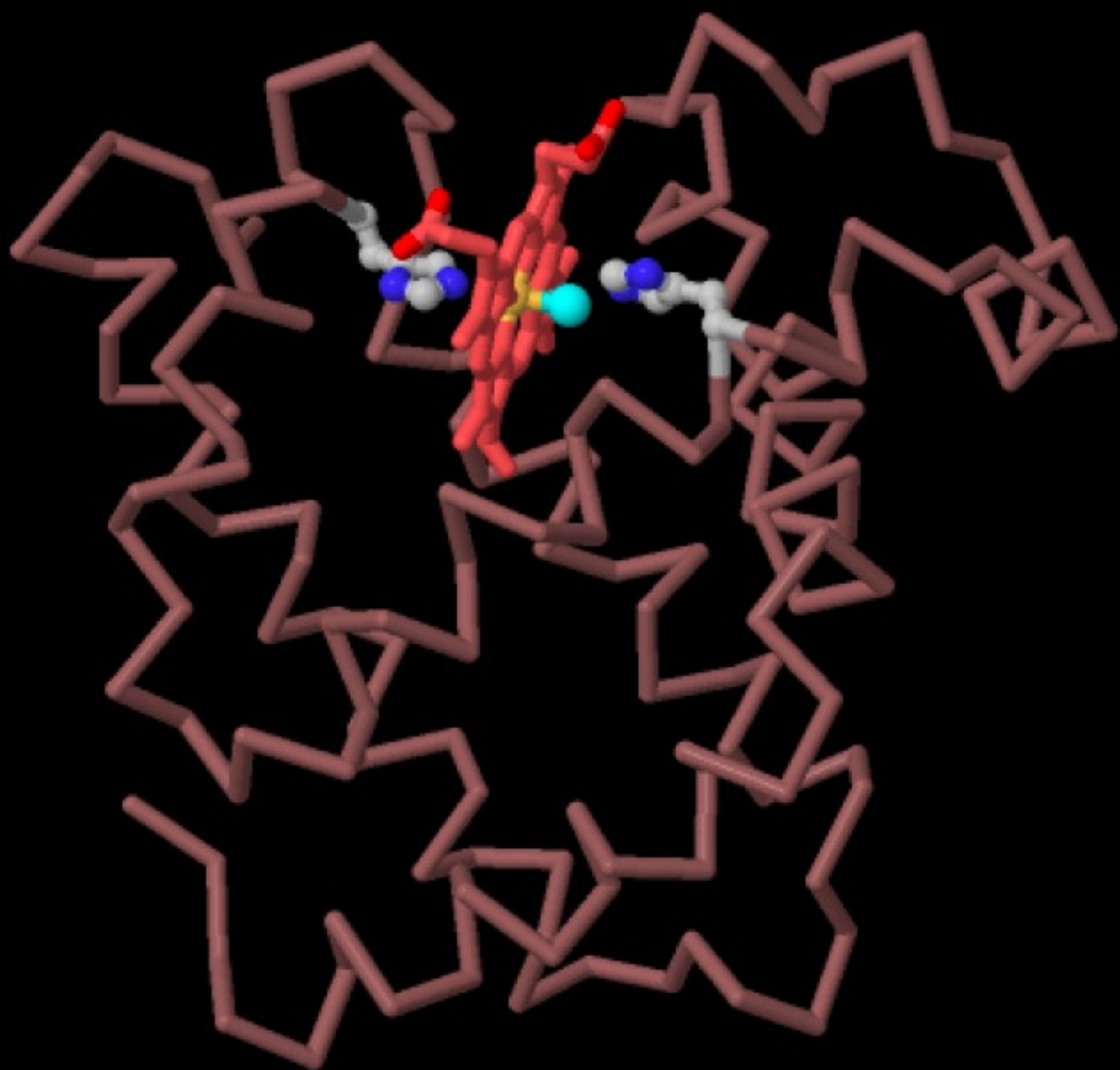
The atomic structure of myoglobin revealed many of the basic principles of protein structure and stability. For instance, the structure showed that when the protein chain folds into a globular structure, carbon-rich amino acids are sheltered inside and charged amino acids are most often found on the surface, occasionally forming salt bridges that pair two opposite charges (shown here with circles).

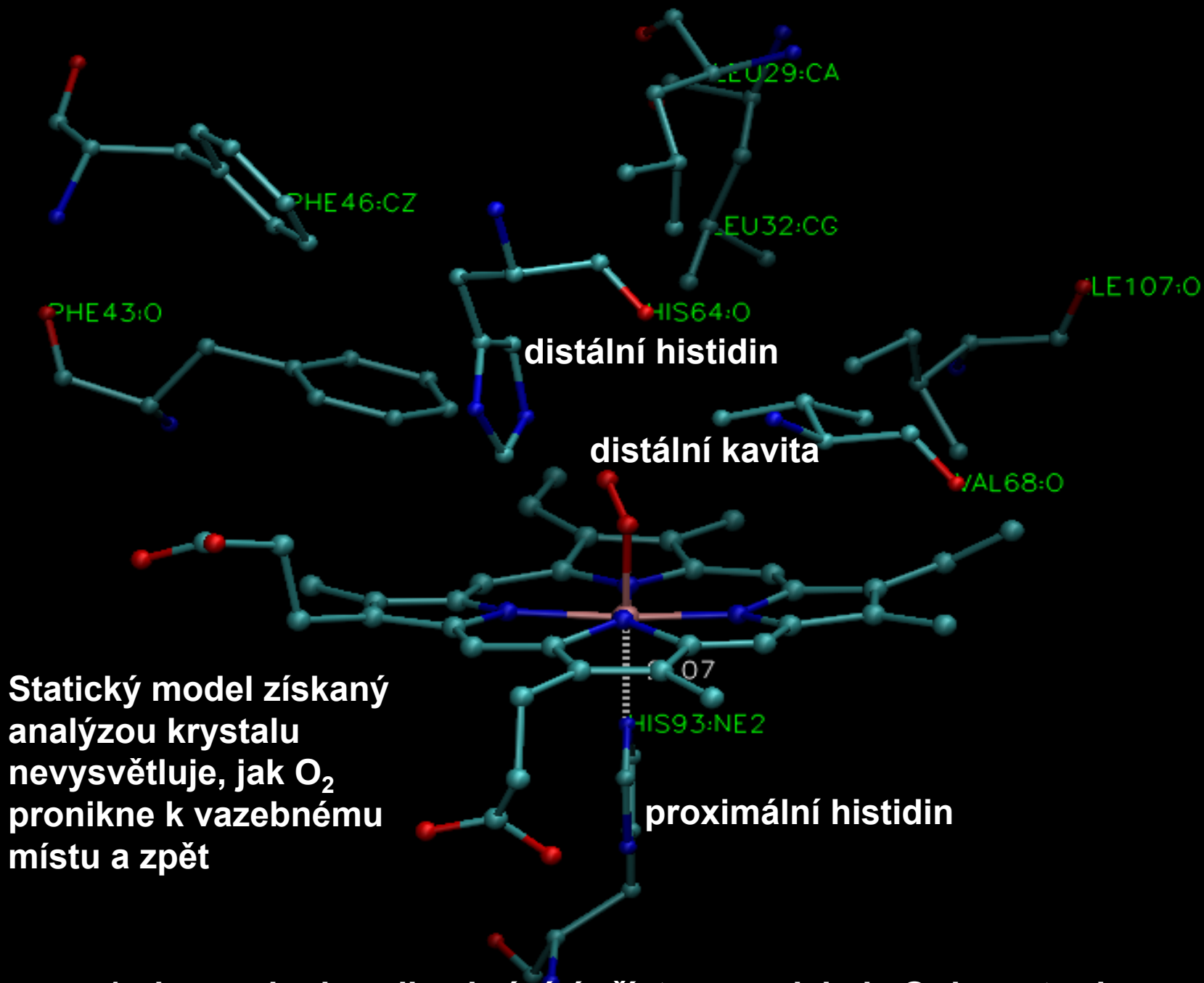
**Připojte se prosím na internet a článek o myoglobinu na adrese <http://pdb101.rcsb.org/motm/1> si přečtěte. Na konci článku je odstavec“Exploring the structure“, tam pod obrázkem klikněte na „JSmol“. Objeví se následující menu:**

- Many protein chains fold into a stable, globular structure. To see this, show all atoms (protein is in pink and heme is in red).
- Proteins have a hierarchical structure, with the chain folding into local secondary structures that maximize the number of internal hydrogen bonds, which then fold into the globular tertiary structure. To see this, show alpha helices, with hydrogen bonds in dotted lines.
- **Specialized amino acids are perfectly placed to perform the function of the protein. To see this, show the two histidines that coordinate the iron and oxygen.**
- Charged amino acids are arranged on the surface of the protein, and amino acids with opposite charges (colored blue and red here) often form salt bridges.
- Carbon-rich amino acids are arranged on the interior of the protein, sheltered from the surrounding water.

**Zaklikněte si postupně jednotlivá kolečka. Objeví se vždy příslušný doprovodný obrázek, které můžete pomocí myši otáčet. Na následujících třech diapozitivech najdete shrnutí informací, které v článku považuji v tuto chvíli za nejdůležitější.**

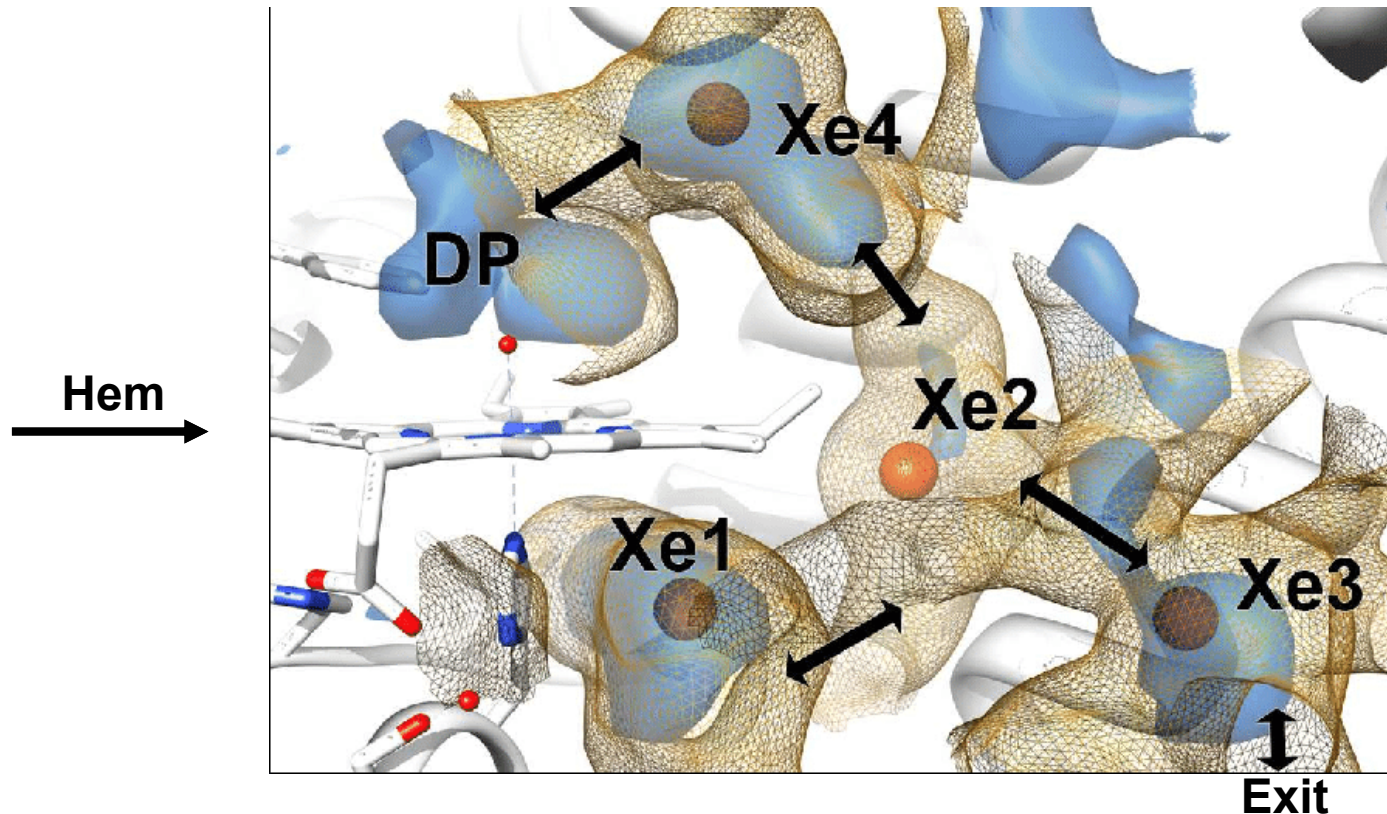






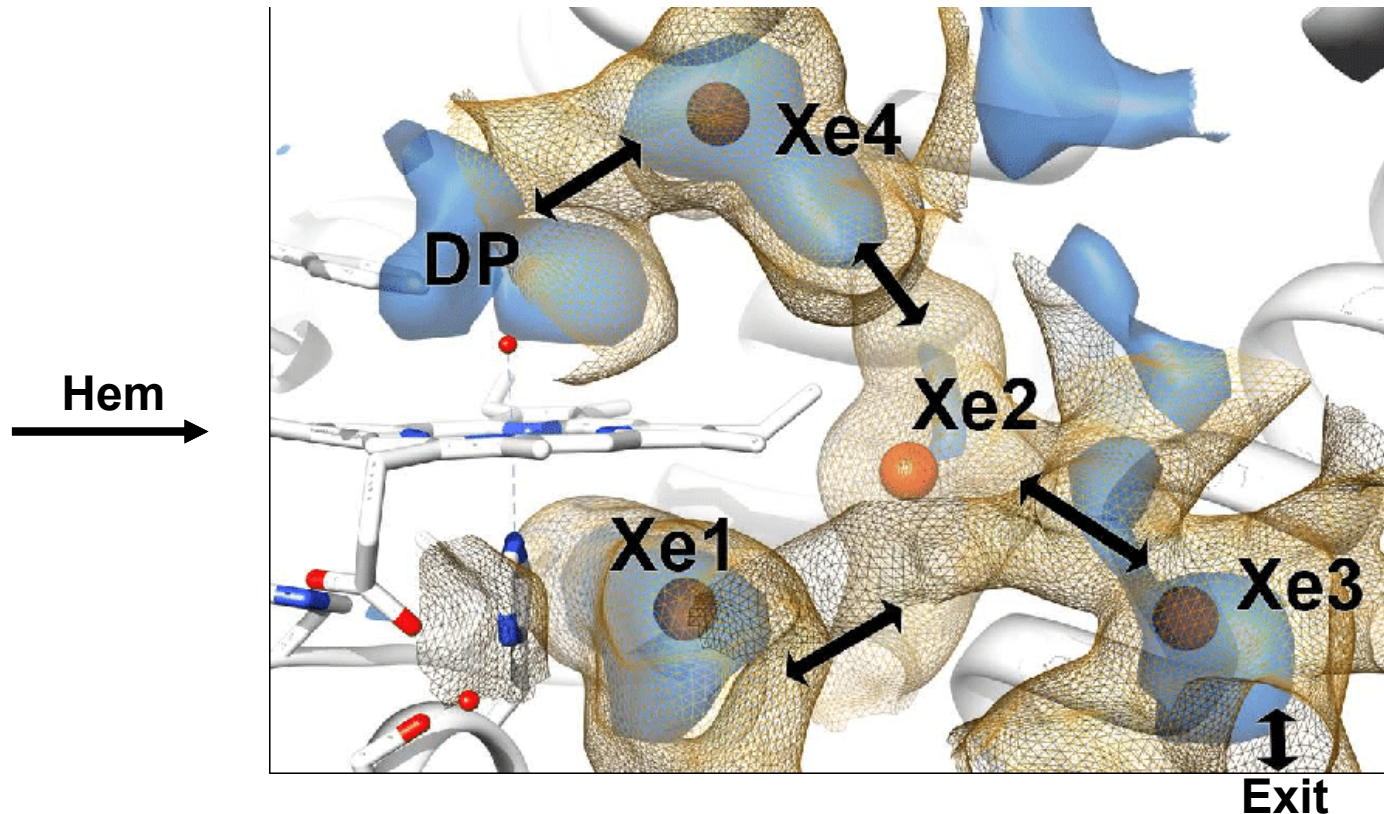


Jak se molekula kyslíku dostane k vazebnému místu uvnitř myoglobinu?  
V krystalové struktuře oxymyoglobinu (1mbo) není vidět žádný přístupový kanál. Možnou přístupovou cestu ukázala rentgenová struktura deoxymyoglobinu, který byl nasycen xenonem (pdb kód 1J52). Xenon tvoří sice jednoatomové, sférické molekuly, jejich velikost je však podobná molekulám O<sub>2</sub> nebo CO (ten se na myoglobin rovněž váže). V krystalu jsou místa, kde jsou molekuly Xe „uvězněny“, dobře vidět (Xe1 až Xe4), neboť rentgenové paprsky atomy s mnoha elektrony snadno zobrazují. Analýza molekulární dynamiky (P. Schmidke et al., Bioinformatics 27, 2011, 3276-3285) naznačila cestu, jakou kyslík z distální kavity („distal pocket“, DP) může uniknout (nebo k ní vniknout): DP→Xe4→Xe2→Xe3→Exit



Přechody mezi jednotlivými místy na trase DP→Xe4→Xe2→Xe3→Exit jsou možné jen díky tomu, že atomy proteinu nejsou statické, ale vykonávají vibrační a rotační pohyby (např. metylové skupiny X-CH<sub>3</sub> se mohou otáčet kolem osy X-C). Díky těmto pohybům se mezi jednotlivými místy DP, Xe4, Xe2 atd. krátkodobě otvírají kanálky, kterými “uvězněná” molekula (Xe, O<sub>2</sub>, CO) může difundovat z jednoho místa na druhé.

Na příkladu myoglobinu jsme si tedy ukázali, že k pochopení funkce biomolekul nestačí znát jejich statickou strukturu, musíme znát i dynamiku této struktury. Ve druhé části přednášky si vysvětlíme, jak se dynamika biomolekul studuje.



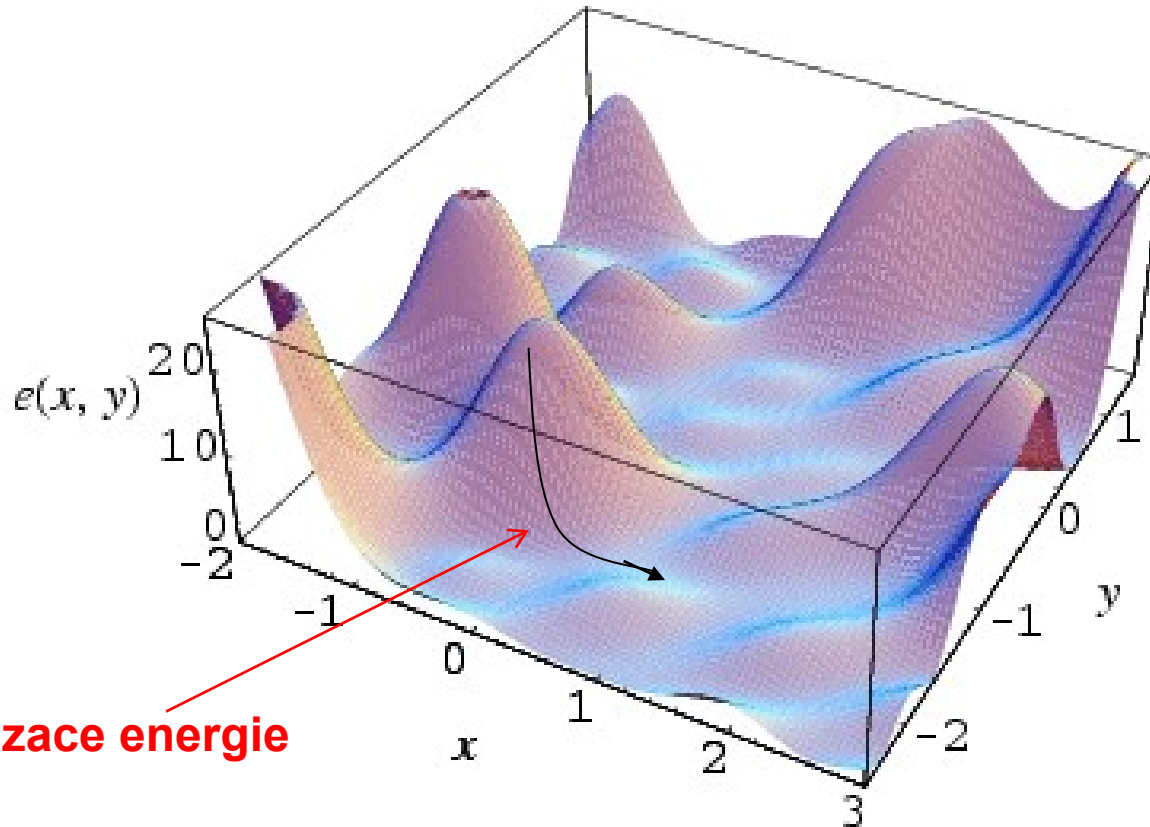
# Konformační dynamika makromolekul

Biologické makromolekuly nejsou rigidní. Jejich struktury vykazují různé stupně volnosti:

- Vazby a vazebné úhly vibrují kolem rovnovážných poloh
- Jednoduché vazby umožňují rotaci a tím konformační změny
- Cyklické podjednotky (např. cukry) přecházejí mezi energeticky výhodnými konformacemi (pro ribózu: N a S)

Jednotlivé konformace se liší stabilitou. Stabilitu konformace **k** (závislou na souřadnicích  $x_{ki}$ ,  $y_{ki}$ ,  $z_{ki}$  všech atomů **i**) určuje její potenciální energie **E**.

# Potenciální energie v závislosti na dvou souřadnicích (v n-atomové molekule je souřadnic 3n)

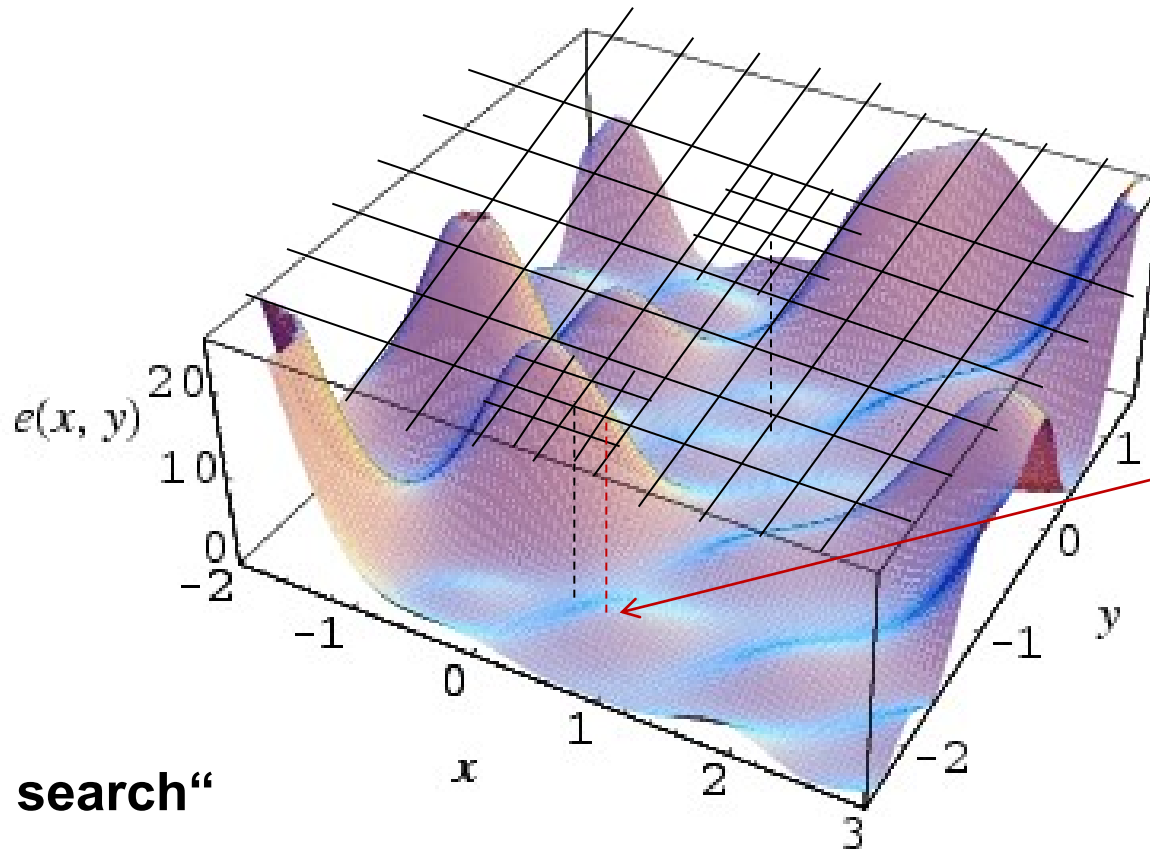


**minimalizace energie**

Při výzkumu biomolekul nás zajímají především:

1. Nejstabilnější konformace (konformace s nejnižší energií)  
→ hledáme metodou **minimalizace energie**
2. Konformační změny v závislosti na čase při dané teplotě  
→ popisujeme **simulacemi molekulární dynamiky**

# Metody minimalizace energie



**Nejnižší energie.  
Zde vytvoříme nový,  
ještě jemnější raster,  
atd.**

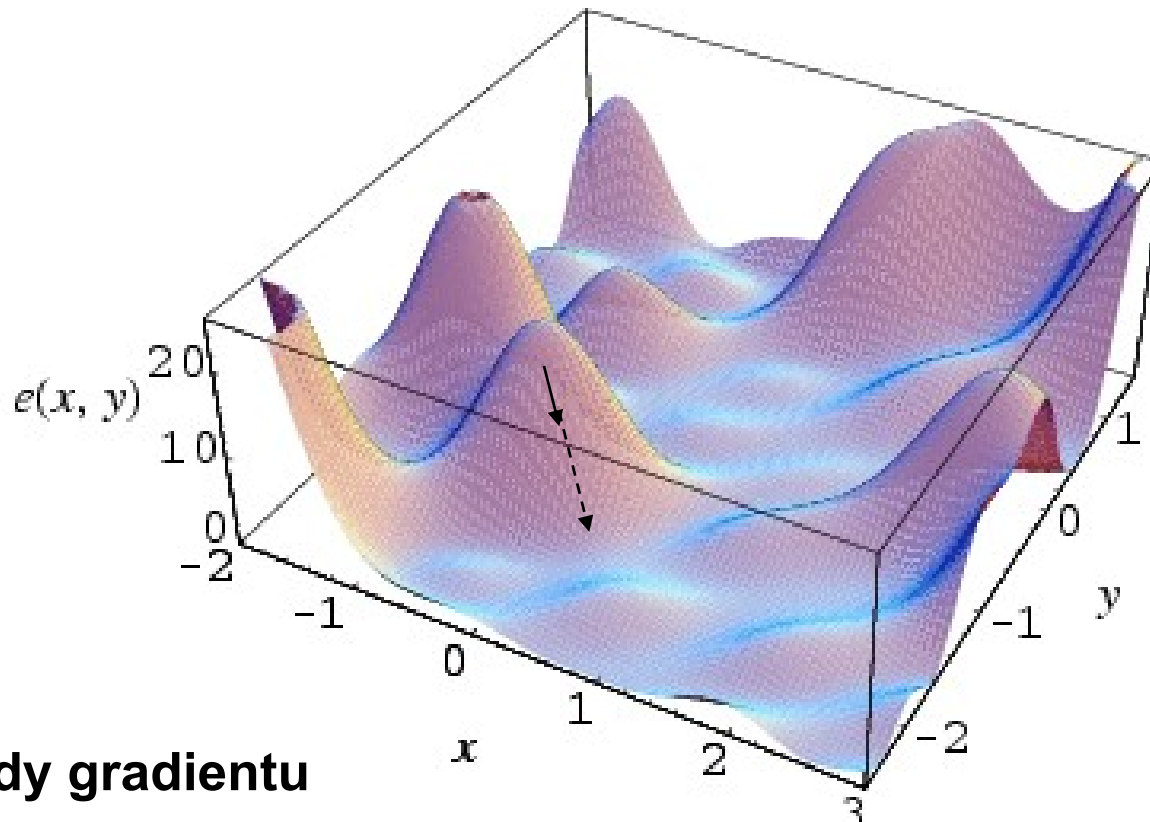
## 1. „Grid search“

- Zvolíme raster intervalů na obou osách, pro každý pár hodnot vypočteme energii
- Kolem bodů s nejnižší energií vytvoříme raster menších intervalů, opět vypočteme energii a takto dále zjemňujeme, dokud pokles energie v posledním kroku neklesne pod zadanou prahovou hodnotu

**Grid search používá pouze výpočet energie, nikoliv jejích derivací.**



# Metody minimalizace energie



## 2. Metody gradientu

- Vypočítáme gradient (vektor růstu) energie. Pro molekulu tvořenou  $n$  atomy je rozměr gradientu  $3n$  (matice parciálních derivací energie podle atomových souřadnic). **Pozor, šipka znázorňuje gradient s negativním znaménkem.**
- Posuneme souřadnice atomů ve směru negativního gradientu energie. Pro určení koeficientu, kterým negativní gradient znásobíme, abychom obdrželi posuny atomů, používáme různé algoritmy. Tento krok opakujeme, až pokles energie klesne pod zadanou prahovou hodnotu.

Výpočet potenciální energie  
 $E_{\text{total}}$  pro danou konformaci  
 molekuly:

známé z experimentů nebo výpočtů

ideální vazby

ideální úhly

deformace vazeb

deformace vazeb. úhlů

$E_{\text{total}}$

$$= \sum_{\text{bonds}} \frac{k_i}{2} (l_i - l_{i,0})^2 + \sum_{\text{angles}} \frac{k_i}{2} (\theta_i - \theta_{i,0})^2$$

ideální torzní úhly

$$+ \sum_{\text{torsions}} \frac{V_n}{2} (1 + \cos(n\omega - \gamma))$$

deformace torzních úhlů

nevazebné kontakty

$$+ \sum_{\substack{i=1 \\ \text{atoms}}}^N \sum_{\substack{j=i+1 \\ \text{1...N}}}^N \left( 4\epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \right)$$

Lennard-Jones

Coulomb



Výpočet potenciální energie  
 $E_{\text{total}}$  pro danou konformaci  
 molekuly:

ideální vazby

ideální úhly

deformace vazeb

deformace vazeb. úhlů

harmonická  
 aproximace

$E_{\text{total}}$

$$= \sum_{\text{bonds}} \frac{k_i}{2} (l_i - l_{i,0})^2 + \sum_{\text{angles}} \frac{k_i}{2} (\theta_i - \theta_{i,0})^2$$

ideální torzní úhly

$$+ \sum_{\text{torsions}} \frac{V_n}{2} (1 + \cos(n\omega - \gamma))$$

deformace torzních úhlů

nevazebné kontakty

$$+ \sum_{\substack{i=1 \\ \text{atoms}}}^N \sum_{\substack{j=i+1 \\ \text{1...N}}}^N \left( 4\varepsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\varepsilon_0 r_{ij}} \right)$$

Lennard-Jones

Coulomb

Výpočet potenciální energie  
 $E_{\text{total}}$  pro danou konformaci  
 molekuly:

$$\begin{aligned}
 E_{\text{total}} = & \sum_{\text{bonds}} \frac{k_i}{2} (l_i - l_{i,0})^2 + \sum_{\text{angles}} \frac{k_i}{2} (\theta_i - \theta_{i,0})^2 + \sum_{\text{torsions}} \frac{V_n}{2} (1 + \cos(n\omega - \gamma)) \\
 & + \sum_{i=1}^N \sum_{j=i+1}^N \left( 4\epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \right)
 \end{aligned}$$

deformace vazeb      deformace vazeb. úhlů      harmonická aproximace  
 ideální vazby      ideální úhly  
 ideální torzní úhly  
deformace torzních úhlů  
Lennard-Jones      Coulomb  
ne vazebné kontakty  
 Pauliho repulze      dispersní energie

Výpočet potenciální energie  
 $E_{\text{total}}$  pro danou konformaci  
 molekuly:

$$\begin{aligned}
 E_{\text{total}} = & \sum_{\text{bonds}} \frac{k_i}{2} (l_i - l_{i,0})^2 + \sum_{\text{angles}} \frac{k_i}{2} (\theta_i - \theta_{i,0})^2 \\
 & + \sum_{\text{torsions}} \frac{V_n}{2} (1 + \cos(n\omega - \gamma)) \\
 & + \sum_{i=1}^N \sum_{j=i+1}^N \left( 4\epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \right)
 \end{aligned}$$

deformace vazeb     deformace vazeb. úhlů     harmonická aproximace  
ne vazebné kontakty     Lennard-Jones     Coulomb     deformace torzních úhlů  
 Pauliho repulse     dispersní energie     elektrostatika

Výpočet potenciální energie  $E_{\text{total}}$  pro danou konformaci molekuly:

Tučně zakroužkovány jsou konstanty, které lze odvodit ze spektroskopických měření nebo zjistit pomocí kvantově chemických výpočtů.



ideální vazby

ideální úhly

harmonická aproximace

deformace vazeb

deformace vazeb. úhlů

$E_{\text{total}}$

$$= \sum_{\text{bonds}} \frac{k_i}{2} (l_i - l_{i,0})^2 + \sum_{\text{angles}} \frac{k_j}{2} (\theta_j - \theta_{j,0})^2$$

ideální torzní úhly

$$+ \sum_{\text{torsions}} \frac{V_n}{2} (1 + \cos(n\omega - \gamma))$$

deformace torzních úhlů

nevazebné kontakty

$$+ \sum_{i=1}^N \sum_{j=i+1}^N \left( 4\varepsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \right)$$

Pauli repulsion

dispersion energy

elektrostatika

## **Simulace molekulární dynamiky (MD)**

**Popisují pohyb molekul a atomů v molekule pomocí zákonů klasické mechaniky, tak, aby byly splněny základní podmínky:**

- 1. Kinetická energie všech atomů odpovídá teplotě, kterou simulujeme**
- 2. Velikosti kartézských složek rychlosti mají Gaussovo rozdělení**

**K nastartování simulace makromolekuly (např. proteinu) potřebujeme smysluplný model, který by měl mít určitou stabilitu (jinak se molekula při simulaci “rozpadne“).** Ten získáme např. z krystalové struktury.

**Atomům v molekule přiřadíme náhodné rychlostní vektory tak, aby celková okamžitá kinetická energie odpovídala teplotě (např 300 K).** Algoritmus generující náhodné rychlostní vektory je součástí každého programu simulací MD.

**Vycházejí z rozložení pohybu na infinitezimální časové úseky  $dt$ .** Síla působící na jednotlivé atomy je vypočtena jako suma párových interakcí mezi atomy. **Zrychlení každého atomu  $i$  je pak definováno Newtonovými pohybovými rovnicemi,  $a_i = F_i/m_i$ ,  $a_i$  je předpokládáno konstantní během intervalu  $dt$ .** Nejznámější algoritmus pro výpočet atomových souřadnic na konci každého krůčku je **Verletův algoritmus.** Posuny atomů se v něm počítají na základě střední rychlosti pro daný časový interval.

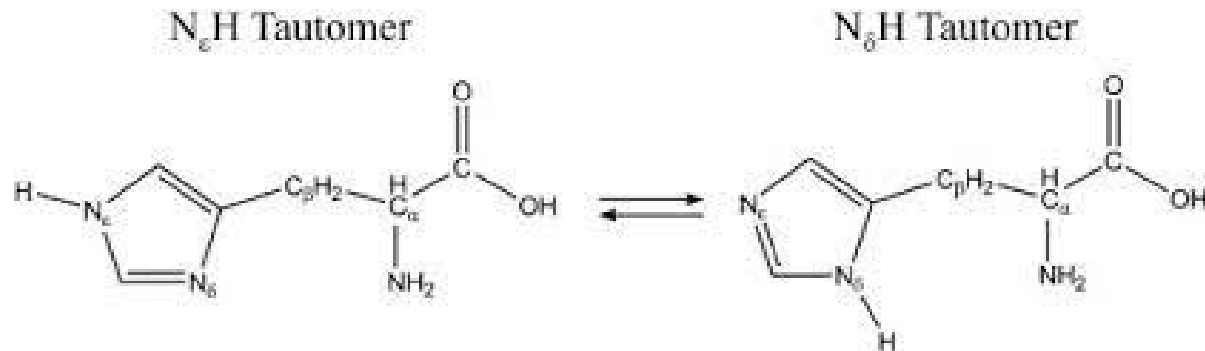
# Verlet algorithm



**Každý lichý násobek  $1/2\delta t$  aktualizujeme souřadnice, síly a vektory zrychlení**

**Každý sudý násobek  $1/2\delta t$  aktualizujeme vektory rychlosti**

# Cvičení



- A) Aminokyselina histidin existuje ve dvou izomerních formách lišících se v poloze vodíkového atomu v pětičlenném heterocyklickém kruhu postranního řetězce (viz obrázek nahoře). Takové izomery se nazývají tautomery, v případě histidinu se označují jako tautomer N<sub>δ</sub> tautomer N<sub>ε</sub>, podle toho, na který atom dusíku je vázán atom vodíku. V proteinech se vyskytují obě tautomerní formy, v závislosti na tom, kterou formu konkrétního histidinu interakce s okolím energeticky zvyhodňují.

Pomocí programu VMD proveďte inspekci vazebného místa pro hem a kyslík ve struktuře 1mbo a prozkoumejte pozorně okolí proximálního a distálního histidinu. Rozhodněte pro oba histidiny, ve které tautomerní formě se preferenčně každý z nich nachází. Své rozhodnutí odůvodněte.

(V rentgenových strukturách proteinů zpravidla vodíkové atomy nelze lokalizovat.)

- B) Vyzdvihněte vlastními slovy, co nejdůležitějšího jste se v dnešní přednášce naučili.

1. Myoglobin
2. Simulace molekulární dynamiky

Věnujte každé části půl až maximálně celou stránku A4.

Cvičení mi zašlete mailem do 21.12.