

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
"СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ"
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой

подпись инициалы, фамилия
« _____ » _____ 20__ г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

03.03.02 - Физика

Грубозернистое молекулярное моделирование
системы наноалмаз-люцифераза

Научный консультант:

профессор кафедры биофизики СФУ
доктор физ.-мат наук Белобров П.И.

Руководитель:

научный сотрудник лаборатории
биолюминесцентных биотехнологий
кафедры биофизики СФУ
Денисов И.А.

Студент:

Шадрина Г.В.
номер группы,
зачетной книжки

Красноярск 2018

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа по теме «Грубозернистое молекулярное моделирование системы наноалмаз-люцифераза» содержит 38 страниц текстового документа, 8 рисунков, 39 использованных источников.

МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ, ГРУБОЗЕРНИСТЫЙ МЕТОД, ЛЮЦИФЕРАЗА, ДЕТОНАЦИОННЫЙ НАНОАЛМАЗ, НАНОАЛМАЗНЫЙ КЛАСТЕР, СИЛОВЫЕ ПАРАМЕТРЫ.

Актуальность: Наночастицы находят применение для очистки рекомбинантных белков. Однако, подбор раствора для очистки рекомбинантных белков осуществляется эмпирически. На сегодняшний день известны растворы только для люциферазы и апообелина. Поэтому актуальна разработка теоретических методов для предсказания состава раствора и его свойств.

Цель работы: построение компьютерной модели системы наноалмаз-люцифераза в растворе, позволяющей качественно наблюдать сорбцию люциферазы на кластере из детонационных наноалмазов.

Задачи:

- упростить молекулу люциферазы с помощью грубозернистого подхода;
- создать грубозернистую модель наноалмазного кластера;
- провести расчет динамики модельной системы наноалмазного кластера и нескольких молекул люциферазы в неявном растворителе.

Результатом работы стало составление компьютерной модели системы наноалмаз-люцифераза в растворе, позволяющей качественно наблюдать сорбцию люциферазы на кластере из детонационных наноалмазов.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
1 Обзор литературы	7
1.1 Молекулярное моделирование.....	7
1.1.1 Грубозернистое представление	8
1.1.2 Способы разбиения на блоки	9
1.1.3 Характерные взаимодействия	11
1.1.4 Интегрирование модифицированным методом Верле	13
1.2 Объекты исследования	15
1.2.1 Бактериальная люцифераза.....	15
1.2.2 Детонационный наноалмаз	16
1.2.3 Очистка рекомбинантной люциферазы с помощью наноалмазных кластеров	16
1.2.4 Коагуляция и пептизация белков и наночастиц	18
2 Материалы и методы	20
2.1 Создание грубозернистых моделей белков	20
2.2 Расчет молекулярной динамики	20
2.3 Визуализация результатов моделирования	20
2.4 Разработка скрипта для составления оригинального метода	20
2.5 Описание пакета Nanoscale Molecular Dynamics	21
3 Результаты	23
3.1 Сравнение атомистического и грубозернистого представлений ..	23
3.2 Упрощение люциферазы согласно грубозернистому приближению	25
3.3 Создание грубозернистой модели наноалмазного кластера.....	26
3.3.1 Алгоритм генерации координат частиц наноалмазного кластера	26
3.3.2 Минимизация энергии кластера и удаление поровых частиц	27
3.3.3 Оценка силовых параметров наноалмаза	28

3.3.3.1 Оценка величины заряда наноалмаза.....	28
3.3.3.2 Оценка величины параметров потенциала Леннарда- Джонса	30
3.4 Упрощенный расчет динамики	31
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	33
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	34
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	35

ВВЕДЕНИЕ

На данный момент наночастицы находят широкое применение в области биотехнологий [1]. Их популярность в качестве инструмента для исследования процессов клеточной биологии объясняется наличием управляемой настройки параметров для большого спектра задач [2, 3]. Одним из развивающихся направлений использования наноалмазов является разделение и очистка рекомбинантного белка с применением стабильных кластеров из наночастиц алмаза. Например, в Институте биофизики СО РАН разработан метод выделения и очистки рекомбинантных люциферазы и апообелина [4, 5]. Методики очистки разных ферментов отличаются видом и количеством присутствовавших в растворе ионов (люцифераза десорбировалась с поверхности наноалмаза фосфатным буфером, апообелин дитиотреитолом). Подбор состава растворов для очистки является трудоемкой поисковой задачей. Исследование механизма физико-химического взаимодействия, существующего между наноалмазом и белком в известной среде раствора актуально из практических соображений. При наличии компьютерной модели, отражающей физико-химические взаимодействия, возможно позволит производить предварительный подбор параметров растворителя подходящего для выделения конкретного белка (выделение и очистка рекомбинантного белка с применением частиц наноалмаза занимает около 30 минут против 2–3 дней хроматографической очистки [3]).

Поскольку по люциферазе имеется большее количество данных, чем по апообелину, (отснята структура молекулы) было решено остановить выбор на системе люциферазы и наноалмазных комплексов в качестве объекта исследования.

Цель работы — построение компьютерной модели системы наноалмаз-люцифераза в растворе, позволяющей качественно наблюдать сорбцию люциферазы на кластере из детонационных наноалмазов.

В связи с большим размером кластера из наноалмазов (более 50 нм в диаметре) и нескольких десятков макромолекул люциферазы в модели, было решено использовать метод грубозернистого моделирования, для которого до сих пор актуально развитие алгоритмов и методов параметризации упрощенных моделей.

Для достижения цели работы были поставлены следующие задачи:

- упростить молекулу люциферазы с помощью грубозернистого подхода;
- создать грубозернистую модель наноалмазного кластера;
- провести расчет совместной эволюции наноалмазного кластера и нескольких молекул люциферазы в растворе.

Данная работа разделена на три части. В разделе «Обзор литературы» приводится теория по методам молекулярного моделирования, применяющихся для исследования молекулярных систем, свойства молекул люциферазы и наноалмаза в растворе. В разделе «Материалы и методы» рассматриваются инструменты для моделирования молекулярной динамики, способы представления молекул. Последний раздел посвящен описанию и обсуждению результатов.

1. Обзор литературы

1.1 Молекулярное моделирование

Молекулярное моделирование — собирательное название методов исследования структуры и свойств молекул вычислительными методами с последующей визуализацией результатов, обеспечивающие их трехмерное представление при заданных в расчете условиях [6]. Первое, что необходимо знать — структура вещества. Определением пространственного расположения атомов в молекуле занимается структурная биология. В её арсенале: методы рентгеноструктурного анализа, ЯМР спектроскопии, криоэлектронной микроскопии. Первые структуры были получены с помощью рентгеноструктурного анализа. Основные вехи таковы: в 1922 г — описана одна из первых органических молекул — уротропин [7], 1953 г — расшифрована структура ДНК, в 1958 г — представлена модель белка — миоглобина. Появились попытки описать конформацию молекул — сначала небольших — с помощью введения силовых полей, возникающих в результате наличия у атомов массы, заряда, наведенного дипольного момента. Начался перебор разного вида энергетических потенциалов, удовлетворяющих свойствам ансамблей молекул, наблюдающимся в эксперименте: резонансным частотам частотам колебательного спектра, энтальпии системы. Наиболее адекватный вид потенциала в 1968 г предоставили Самюэль Лифсон и Арье Варшел в статье - «Consistent Force Field» [8]. Так было положено начало молекулярному моделированию, пока только в атомном представлении молекул.

Получение структур белков породило вопросы сборки их третичных структур в клетке. Было предложено описать фолдинг белка как результат стремления системы к минимизации энергии. На тот момент (1975 г) вычислительные мощности были низкими и расчет крупных молекул затягивался надолго, поэтому было решено представить белок в упрощенном виде. Аминокислотный остаток заменялся двумя «зернами», положение одного

соответствовало C_{α} атому, другого — центру масс радикала [9]. Такой прием сработал, расчет показал приемлемые результаты. В последующие годы метод упрощения структуры молекул был автоматизирован для большинства органических веществ — белки, жиры, ДНК, РНК, и получил название «грубозернистое представление».

Сравним масштабы применимости используемых представлений.

1.1.1 Грубозернистое представление

В зависимости от уровня детализации представления распределяются следующим образом:

- Квантово-механический подход. Позволяет учитывать движение электронов и применяется для моделирования ферментативного катализа [2], в связи с большими вычислительными затратами метод используется ограниченно.

- Атомистический подход. Шаг по времени порядка фемтосекунды, пространственное разрешение — длина химической связи, временное — 10^{-15} с. Достаточно подробно описывает динамику системы на нанометровом — микрометронном масштабах [5].

- Грубозернистый подход. Молекулы представляются в виде групп композиций атомов от 2 и до 250 штук — в зависимости от способа разбиения и сложности задачи. Позволяет охватывать большие по протяженности времена (порядка наносекунды, шаг по времени в 20-40 фс, что в десятки раз больше, чем при атомистическом подходе) [10], экономить ресурсы, в рамках применения выдает приемлемую точность [11, 12]. Работа [13] иллюстрирует способность расчета, проводимого для молекул в грубозернистом представлении, выдавать качественно верные результаты.

Рассмотрим подробнее идеи метода, применяемого к решению поставленной задачи по двум пунктам: — включенные взаимодействия между частями системы и — возможные варианты разбиения молекулы на составляющие части.

1.1.2 Способы разбиения молекул на блоки

Упрощение модели на основании функциональных групп (англ. Residue-based Coarse Graining, RBCG) [11]. В случае не больших по размеру систем вся молекула разбивается на функциональные группы с фиксированным составом, например $-\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2-$, $-\text{OH}$, ионы и т.д. Весь набор таких групп по степени полярности, заряженности, делится на четыре класса: полярные, аполярные, неполярные, заряженные. В зависимости от выраженности признака внутри каждого класса происходит дополнительное разбиение на пять подгрупп. Перебирая всевозможные парные сочетания задают константы взаимодействия для каждого из них [14].

Упрощение модели на основании формы (англ. Shape-based Coarse Graining, SBSG) [12]. В случае крупных белковых молекул в несколько сотен и тысяч Дальтон оправдано менее мелкое (более крупное) разбиение без учета взаимного расположения функциональных групп — молекула просто режется на нужное количество блоков, в каждом из которых есть непрерывная цепь атомов связанных химическим взаимодействием.

Отдельно следует сказать об алгоритме вычисления центра масс зерен. В руководстве по методу SBSG при обсуждении алгоритма приводится ссылка на статью [15], которая в свою очередь, отсылается к самоорганизующимся картам Кохонена [16]. Имеется трехмерная сеть с произвольным количеством связей между узлами. В процессе обучения возможно корректировать количество узлов сети — модель «нейронного газа» [17], однако в NAMDe реализован вариант с заранее заданным числом нейронов [18]. Веса нейронов соответствуют координатам узлов в трехмерном пространстве и в начале выбираются случайным образом. Процесс самостоятельного обучения сети (настройки весов нейронов) и есть суть кластеризация. На каждом шаге случайным образом выбирается один из атомов, принадлежащий молекуле. Определяется нейрон, находящийся на минимальном расстоянии от

представленной сети точке — нейрон-победитель. Весы победителя и его окружения (в заданном радиусе) подлежат корректировке - сдвигу в сторону предъявленной точки:

$$R_i^{\text{new}} = R_i^{\text{old}} + \varepsilon \cdot e^{-k/\lambda} (r_i - R_i^{\text{old}}), \quad (1)$$

где i — номер итерации,

r_i — радиус-вектор предъявленной точки [13].

Параметры сети ε и λ — претерпевают изменения на каждом шаге и отражают скорость смещения соседей узла-победителя в сторону обучающего вектора. Пример набора параметров:

$$\varepsilon_i = \varepsilon_0 (\varepsilon_s / \varepsilon_0)^{i/s}, \quad \varepsilon_0 = 0.3, \quad \varepsilon_s = 0.05, \quad s = 200N, \quad N - \text{число зерен}, \quad (2)$$

$$\lambda_i = \lambda_0 (\lambda_s / \lambda_0)^{i/s}, \quad \lambda_0 = 0.2N, \quad \lambda_s = 0.01. \quad (3)$$

Полное число прогонов сети — по 200 на зерно.

Далее, остается рассчитать массу, приходящуюся на одно зерно. Для этого вся молекула делится на не пересекающиеся области, грани которых являются равностоящими от центров областей — трехмерный аналог полигонов Вороного [13]. Масса всех атомов, попавших в область ячейки, складывается и присваивается центральной точке — так образуется зерно. То же самое происходит с зарядами атомов.

Затем следует определить связи между зернами. Для этого выбирается пороговое расстояние, и, если зерна находятся на расстоянии меньше порогового — считаются связанными. Поскольку сами зерна не являются химическими элементами, а состоят из близко расположенных групп атомов, связи между ними не являются реальными, и задаются лишь для того, чтобы выдержать форму исходной молекулы.

1.1.3 Характерные взаимодействия

Динамика системы описывается системой уравнений Ланжевена, которые представляют собой второй закон Ньютона с дополнительными членами, учитывающими диссипацию в среде и Броуновское движение:

$$\frac{1}{2} \ddot{p} = F - \gamma \dot{p} + \sigma G(t), \quad (4)$$

здесь p - импульс частицы,

F — силы, действующие на зерно (в соответствии с выбранными потенциалами),

γ — константа затухания,

$G(t)$ — гауссов процесс,

σ — шумовой множитель.

Задание γ и σ позволяет перейти от модели явного к неявному растворителю — когда траектории рассчитываются для всех объектов, за исключением молекул воды, что актуально при всеатомном рассмотрении молекул.

Набор потенциалов, отражающих физические взаимодействия между частицами, и для всеатомного, и для грубозернистого представлений один и тот же.

Для определенности все потенциалы делятся на те, что описывают связанные взаимодействия — для блоков напрямую связанных химическими связями, или её аналогами, и несвязанные взаимодействия — для химически несвязанных блоков.

Связанные взаимодействия описываются следующими потенциалами:

$$V_{\text{bond}}(R) = \frac{dp}{dt} K_{\text{bond}}(R - R_{\text{bond}})^2, \quad (5)$$

$$V_{\text{angle}}(\theta) = \frac{1}{2} K_{\text{angle}}(\cos(\theta) - \cos(\theta_0))^2, \quad (6)$$

$$V_{\text{torsion}}(\varphi) = K_{\text{torsion}}(1 + \cos(n\varphi - \varphi_0)), \quad (7)$$

$$V_{\text{improper}}(\zeta) = \frac{1}{2} K_{\text{improper}}(\zeta - \zeta_0)^2, \quad (8)$$

где R — текущее расстояние между частицами,

θ — текущий плоский угол разворота связи,

φ — текущий торсионный угол,

ζ — текущий «неправильный» торсионный угол [11, 19];

$K_{\text{bond}}, K_{\text{angle}}, K_{\text{dihedral}}, K_{\text{improper}}$ — константы связи;

$R_{\text{bond}}, \theta_0, \varphi_0, \zeta_0$ — средние по времени параметры длины связи, плоского угла разворота связи, торсионного и «неправильного» торсионного угла. Эти параметры подбираются на основе экспериментальных данных и индивидуальны для каждой частицы (атома, зерна). Если связь образована различающимися элементами — параметры которых не совпадают, то в выражение для потенциала подставляют усредненные значения параметров:

$$\langle P \rangle = \sqrt[2]{P_1 P_2}, \quad (9)$$

где P_i — параметр i -ой взаимодействующей частицы, либо упрощенный вариант:

$$\langle P \rangle = \frac{P_1 P_2}{2}. \quad (10)$$

Таким образом, химическая связь моделируется гармоническими потенциалами.

Несвязанные взаимодействия — взаимодействия ковалентно не связанных атомов, т.е. атомов, не имеющих общих валентных орбиталей, приближенно описывается потенциалами Кулона и Леннарда-Джонса:

$$U_{el}(r) = \frac{q_i q_j}{4 \pi \epsilon_0 \epsilon r} , \quad (11)$$

где q_i, q_j — заряды взаимодействующих частиц,
 ϵ_0 — диэлектрическая проницаемость вакуума,
 ϵ — относительная диэлектрическая проницаемость среды,
 r — расстояние между объектами.

$$U_{LJ} = \epsilon_{ij} \left[\left(\frac{R_{vdw ij}}{r} \right)^{12} - 2 \left(\frac{R_{vdw ij}}{r} \right)^6 \right] , \quad (12)$$

где ϵ_i — глубина потенциальной ямы,
 $R_{vdw i}$ — Радиус Ван-дер-Ваальса,
а ϵ_{ij} и $R_{vdw ij}$ — находятся усреднением (7, 8).

Несвязанные взаимодействия распространяются на весь моделируемый объем, и рассчитывать их бывает по времени затратно. Поэтому на некотором расстоянии производят обрезку потенциала, а чтобы избежать в точке обреза не физической картины — резкого скачка силы, потенциал в точке обреза плавно (по экспоненте) спускают до нуля на некотором не очень большом расстоянии [18].

1.1.4 Интегрирование модифицированным методом Верле

Через руководство по зернению [12] можно выйти по ссылкам на статью [20] разработчиков основной программы — Nanoscale Molecular Dynamics, где указывается схема модифицированного метода Верле, использующегося для расчета траекторий частей системы путем интегрирования системы уравнений

(1), приводятся обоснования его преимуществ по сравнению с другими расчетными схемами. Набор вычислений, выполняемый на каждом шаге интегрирования выглядит следующим образом:

$$v_{n+1/2} = v_n + M^{-1}F_n \cdot \Delta t / 2, \quad (13)$$

$$r_{n+1} = r_n + v_{n+1/2} \cdot \Delta t, \quad (14)$$

$$F_{n+1} = F(r_{n+1}), \quad (15)$$

$$v_{n+1} = v_{n+1/2} + M^{-1}F_{n+1} \cdot \Delta t / 2, \quad (16)$$

где r_n — начальный параметр, известен из исходного набора координат,

v_n — начальный параметр, направление вектора скорости задается (при $n = 0$) случайным образом, а длина — согласно статистическому распределению системы с заданной температурой,

F_n — сила, действующая на заряд q с массой m в точке, расположенной в r_n , находится при подставлении r_n , q , m и других параметров, описанных в разделе 1.4 в заготовленное выражение для силы,

Δt — шаг по времени,

M — масса.

Все остальные величины вычисляются на основе трех начальных значений r_n , v_n , F_n .

Метод назван модифицированным методом Верле, или «Velocity-Verlet», по причине нахождения скорости на каждом шаге. В исходном методе Верле нахождение траектории обходится без вычисления скорости. Почему не используют исходный метод Верле, который не требует дополнительных вычислений? Скорость вычислять необходимо, чтобы определять степень расхождения решения. Если выбран слишком большой шаг по времени, скорости частей системы начинают устремляться к бесконечности, что при

фиксированной температуре системы является некорректным. «Решатель» имеет ограничение на максимальное значение скорости и при превышении границы дает сигнал о расхождении решения. Также скорости необходимо знать для постсимуляционного анализа системы, например, для оценки относительной подвижности частей системы.

В то же время метод не так точен, как метод Рунге-Кутты 4-ого порядка, часто применяющийся в пакетах, решающих различные динамические задачи (Matlab и др.), и имеет первый порядок точности (Рунге-Кутты — четвертый) за счет меньшего количества вычислений, приводящих к нахождению значения величины на следующем шаге. Такой выбор метода обусловлен экономией времени на расчет, т. к. даже небольшие по размеру молекулярные системы рассчитываются начиная с нескольких десятков минут и дольше [13].

Ошибка вычислений накапливается пропорционально Δt^2 [20]. Поэтому для корректного расчета через настраиваемое и задаваемое в файле конфигурации число шагов выполняется сброс скоростей в системе и замена на значения, соответствующие заданной температуре системы.

1.2 Объекты исследования

1.2.1 Бактериальная люцифераза

Люцифераза — фермент белковой природы, катализирующий окислительные реакции сопровождающиеся переносом электронов и испусканием света. Одной из ферментативных биолюминесцентных систем является биферментная система NAD(P)H:FMN-оксидоредуктаза – люцифераза [21]. Детали механизма работы которого до сих пор не перестают интересовать исследователей [22]. В присутствии различных классов веществ происходит гашение свечения, что научились использовать при разработке биолюминесцентных методов тестирования различных сред как при помощи бактерий, так и используя иммобилизованные ферменты [23, 24].

1.2.2 Детонационный наноалмаз

Наноалмазы — углеродные наноструктуры имеющие кристаллическую решетку типа алмаза. Атомы поверхности и толщи обладают sp^3 гибридизацией, в состоянии с sp^2 – гибридизацией, как показали исследования, находится менее 1% от общего числа атомов [25]. Недостающие до валентности связи заполняются за счет атомов водорода, кислорода и азота, с образованием функциональных групп [26]. Наночастицы обладают интересными свойствами за счет большого отношения доли атомов поверхности к доле атомов, спрятанных в объеме частицы по сравнению с макрочастицами [27]. По этой причине различные физические характеристики таких алмазов являются не табличными, нестандартными, что нашло применение как в различных технических приложениях, так и в биофизической технологии [1].

1.2.3 Очистка рекомбинантной люциферазы с помощью наноалмазных кластеров

Производство рекомбинантной люциферазы для исследовательских нужд требует выделения как можно более чистой фракции вещества из суспензии синтезирующих бактерий [28]. Найден был следующий способ её извлечения. К клеткам бактерий с предварительно разрушенной мембраной добавляется порция наноалмазов. При определенной ионной силе раствора происходит поверхностная сорбция частицами алмаза молекул люциферазы [4]. Что позволяет центрифугированием выделить из смеси теперь уже наноалмазно-люциферазные комплексы. Для ослабления интенсивности взаимодействия достаточно повысить ионную силу раствора. Часть люциферазы после десорбции остается на наноалмазах в рабочем виде, что научились использовать для создания индикаторных тест-систем [4].

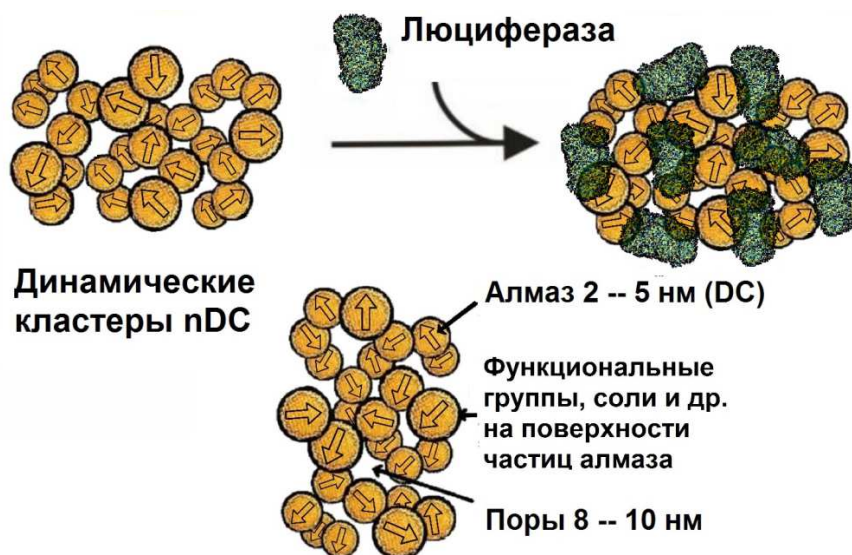


Рисунок 1 — Составляющие компоненты системы наноалмаз-люцифераза [29]

Вывод о механизмах взаимодействия авторы статьи «Наноалмазы в биотехнологии: применение для выделения белков и создания индикаторных тест-систем» [4] сделали на основе измерения свечения люциферазы во время манипуляций с раствором. Так, после образования наноалмаз—люциферозного комплекса, свечение уменьшалось примерно на 40-45% по сравнению с неадсорбированным белком, что говорило об адсорбции белка с потерей активности. Отмывание фосфатным буфером в концентрации 5 мМоль позволило реадсорбировать около 40% исходного количества люциферазы, и около 15% белка осталось в рабочем состоянии на поверхности адсорбента.

Отмывание 40% белка предположительно осуществлялось за счет конкуренции ионов буфера и молекул люциферазы за поверхность наноалмаза — поэтому повышение концентрации буфера дало такой результат. На численном эксперименте такой результат можно получить в результате учета несвязанных взаимодействий в системе. Прилипшие 60% люциферазы остались там предположительно за счет химического взаимодействия с поверхностью наноалмаза, поскольку поверхность наночастиц содержит определенное количество функциональных групп.

1.2.4 Коагуляция и пептизация белков и наночастиц

Рассмотрим окружение частицы, опущенной в растворитель. Заряженная частица обладает своеобразной «шубой», составленной из ионов противоположного знака. Это могут быть как ионы какого-либо электролита, добавленного в систему извне, так и ионы, образующиеся в результате диссоциации воды — ион гидроксония H^3O^+ и гидроксид ион OH^- . Система, образованная зарядами, собранными с внутренней стороны частицы и зарядами с внешней её стороны называется двойным электрическим слоем [30, 31]. Слой образованный противоионами состоит из наименее подвижных ионов внешней среды, которые находятся ближе других к поверхности частицы, - их относят к адсорбционному слою, и относительно подвижных ионов диффузионного слоя. Ионы экранируют исходный заряд частицы и появляется смысл говорить об эффективном заряде. Мерой эффективного заряда может служить дзета-потенциал. Это потенциал, соответствующий плоскости скольжения — плоскости, находящейся между границами адсорбционного и диффузионного слоев [31]. Потенциал оказывается чувствительным к концентрации ионов в среде, и при добавлении в раствор дополнительного количества противоионов наблюдается уменьшение величины потенциала, что приводит к слипанию, или агрегации частиц. Явление такого рода ответственно за стабилизацию наноалмазных кластеров [4], как его ещё называют, высаливание [32].

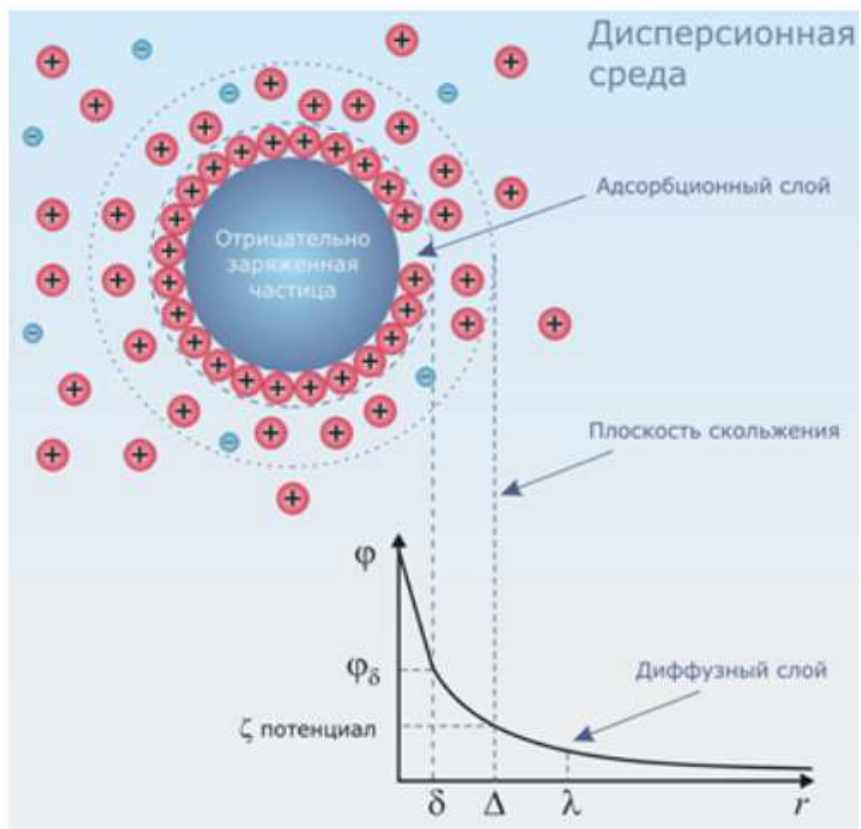


Рисунок 2 - Дзета-потенциал — потенциал плоскости скользящая [40].

2 Материалы и методы

2.1 Создание грубозернистых моделей белков

Для создания грубозернистой модели люциферазы был использован метод упрощения модели на основании формы (SBSG) [12] из пакета NAMD производства University of Illinois at Urbana–Champaign, США.

2.1 Расчет молекулярной динамики

Расчет производился в пакете NAMD [18] поскольку это приложение обладает большей функциональностью для работы с грубозернистыми моделями молекул.

2.3 Визуализация результатов моделирования

Визуализация результатов моделирования системы наноалмазного кластера и нескольких десятков молекул люциферазы в неявном растворителе производилась с помощью приложения VMD [33], разработанного в University of Illinois at Urbana–Champaign, США специально под NAMD.

2.4 Разработка скрипта для составления оригинального метода

Разработка скриптов для создания оригинального метода генерации координат частиц наноалмазного кластера происходила в среде BlackBox Component Builder производства Oberon microsystems Inc., Швейцария [34]. Эта универсальная среда программирования позволила выполнить действия, неосуществимые в NAMDe. Язык среды — Компонентный Паскаль.

2.5 Описание пакета **Nanoscale Molecular Dynamics**

Nanoscale Molecular Dynamics — объектно-ориентированное программное обеспечение разработанное на базе иллинойского университета Урбаны-Шампейна для расчетов молекулярной динамики, код которого поддерживает технологию распараллеливания вычислений [18]. Язык исполняемых кодов — Tcl, который, в свою очередь, написан на Си. Спектр решаемых задач включает моделирование как равновесных (минимизация энергии) так и неравновесных процессов, методами пакета возможно нахождение таких характеристик моделируемых систем, как удельная теплоемкость, распределение температур, вклад различных энергий в общую сумму, коэффициент температуропроводности и т.д.

Перед запуском расчета формируются файлы, задающие описание системы и желаемого процесса. В NAMD для этого используются следующие расширения. Файлы PDB формата содержат координаты центров масс частей системы {x, y, z} и отражают их принадлежность молекулам белков, липидов или воды, аминокислотным остаткам. Файл топологии TOP отражает видовую принадлежность атома, из типов, хранящихся в библиотеке. Например, радикал метила содержит три атома водорода, которые помечаются разными номерами 1, 2 и 3, но относятся к одному виду водородов углеродного скелета протеинов — HB. Библиотеки файлов топологии содержат данные о структуре (величины плоских и пространственных углов между связями, массы частиц, удельный заряд (в зарядах протона), который приобретают атомы вследствие упаковки в конкретную структуру) основных аминокислот, липидов и некоторых видах ионов и позволяют, при необходимости, восстанавливать недостающие элементы молекул, например атомы водорода в структурах белков, полученных методом рентгеноструктурного анализа [35]. Информация о массах и зарядах каждого атома (если говорить об атомистическом представлении — для грубозернистого все аналогично) моделируемой системы дублируется в PSF-файле, там же попарно перечисляются химически связанные атомы. Отдельно,

в файле PAR прописываются параметры входящие в выражения потенциалов связанных взаимодействий и Леннарда-Джонса.

Есть возможность окружать молекулы неводным растворителем. Для этого нужно иметь PDB, PSF, TOP, PAR добавляемых молекул. Для воды все файлы подгружаются автоматически. При растворении есть возможность выбрать форму сольватационной камеры. Формирование сферической формы камеры происходит путем задания радиуса шара, величины действующего на границе сферы потенциала и экспоненциального параметра, используемого при задании скорости убывания потенциала. При этом есть возможность вырезать внутреннюю часть сферы и работать с шаровым слоем. Более физичная картина получается, если использовать периодические граничные условия — камера в форме параллелипипеда. Также возможен вариант неявного растворителя, который предусмотрен на случай крупномасштабных систем когда есть смысл в усреднении свойств большого количества молекул растворителя, введением макропараметров среды, таких как, диэлектрическая проницаемость и др. . В любом из случаев в раствор можно добавить катионы некоторых щелочных металлов и анионы, образующиеся при диссоциации сильных кислот, однако добавление происходит не поштучно, а путем задания концентраций, что подходит для большинства задач.

Расчет запускается, когда сформирован файл конфигурации процесса, в котором указываются шаг по времени, средняя температура, шаг сброса скоростей ансамбля до соответствующих заданной средней температуры системы (т. к. накопление ошибки приводит к расхождению решения [20]), радиус обрезания потенциалов, размер ячейки системы с раствором.

3. Результаты

3.1 Сравнение атомистического и грубозернистого представлений

Были сделаны оценки количества составных частей системы при минимальном её наполнении моделируемыми структурами: один наноалмаз диаметром 5 нм сферической формы (верхняя граница размера детонационного наноалмаза), одна молекула люциферазы, молекулы воды, заполняющая пустоты ограничивающей ячейки размерами $7,1 \times 6,7 \times 8,3$ нм.

Молекула люциферазы [36] состоит ровно из 10 423 атомов с учетом всех водородов, имеет линейные размеры $6,02 \times 1,69 \times 7,28$ нм и занимает в пространстве около $38,99 \text{ нм}^3$ (если представить её в качестве эллипсоида с осями, соответствующими линейным размерам). Если из объема сольватационной ячейки $394,9 \text{ нм}^3$ вычесть объем молекулы люциферазы, объем наноалмаза (шарик $65,5 \text{ нм}^3$) то останется около $290,4 \text{ нм}^3$ отведенных под молекулы воды. Осталось найти плотность молекул воды ($\text{частиц}/\text{нм}^3$) и то же — для наноалмаза. Для воды находим простым расчетом. Растворим молекулу люциферазы в боксе размером $6,22 \times 1,89 \times 7,48$ нм. Из объема бокса вычтем объем люциферазы и на него поделим число молекул воды. Получается 20 769 молекул воды на $48,94 \text{ нм}^3$, а это примерно $424 \text{ част}/\text{нм}^3$. Следовательно в $290,4 \text{ нм}^3$ уместится около 123 130 молекул воды. С наноалмазом поступим следующим образом. Приложение DiaBall генерирует углеродные структуры алмазной решетки размером от одного атома до 10 нм [37]. Сгенерируем с помощью DiaBall наноалмаз нужного радиуса. Такая структура содержит 11 543 атома углерода.

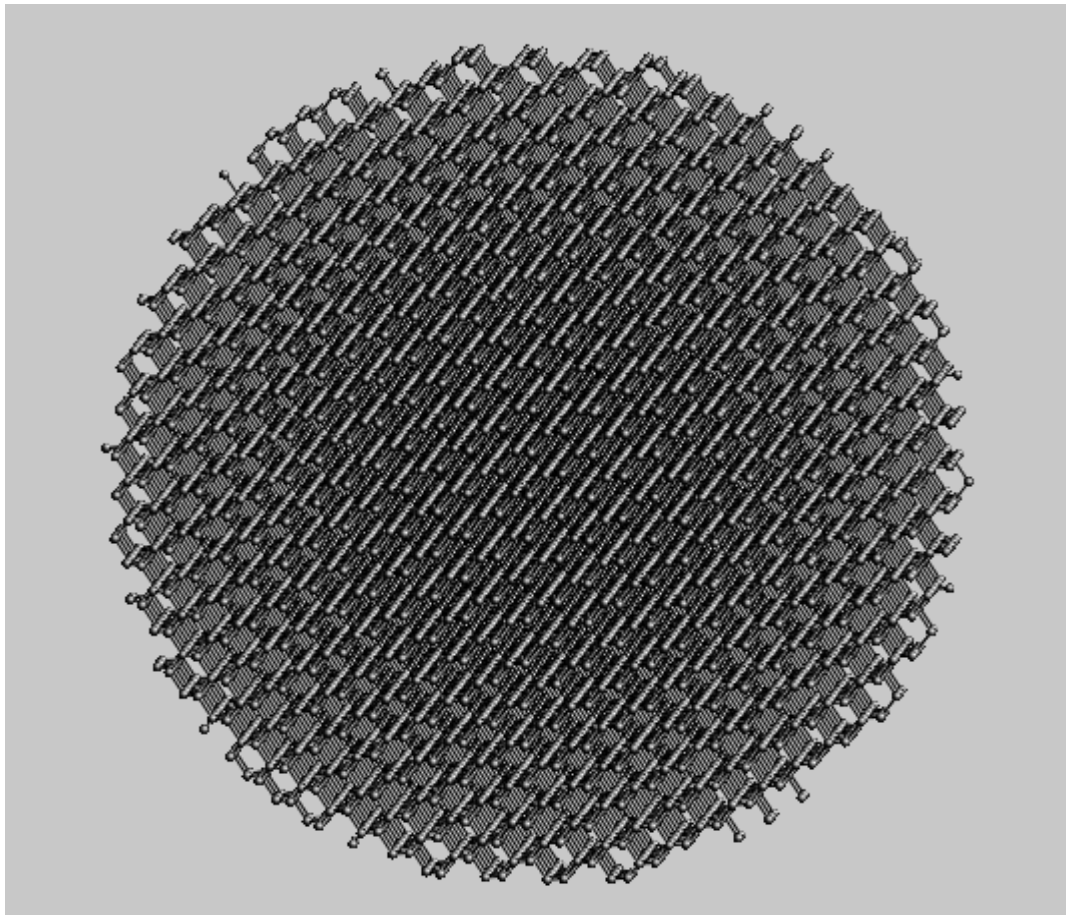


Рисунок 3 — Углеродная структура ядра нанодиама, $D = 5,0$ нм

Итог: 11 543 атомов углерода + $123\ 130 \times 3$ атомов, входящих в состав воды + 10 423 атомов, входящих в состав люциферазы = 391 356 атомов.

Осуществим подсчет составных частей той же системы при разбиении на блоки. Люциферазу разобьем на 48 блоков, среднее число атомов в которых около 217. Поскольку нанодиама представляет собой твердое тело (Не способен изменять конфигурацию, в отличие от белков), он представим в виде одного блока. Молекулы воды можно заменить некой средой с макропараметрами, называемой «неявным растворителем» — тогда для молекул воды не нужно будет считать динамику. Итог: 49 блоков за счет упрощения системы. Остается лишь облечь люциферазу и нанодиама в грубозернистую форму.

3.2 Упрощение люциферазы согласно грубозернистому приближению

Перейти от атомистического представления к грубозернистому позволяет строитель модели CG Builder, где имеется возможность выбрать тип разбиения — RCBG/SCBG. Для построения грубозернистой модели необходимы PDB, TOP и PAR файлы исходной атомистической модели. Далее, нужно определиться с параметрами построения модели: число блоков разбиения — оно было выбрано равным 48, число итераций прогона через нейросеть и другие параметры сети (см. раздел 1.1.2); расстояние, на котором блоки будут считаться «химически» связанными — исходя из линейных размеров молекулы было решено выбрать 1,3 нм. На выходе создаются PDB файл построенной модели, а также пересчитанные для неё файлы топологии TOP и параметров PAR. Далее, на основе файла топологии строится PSF файл, который будет использоваться при расчете, и строится с помощью модуля PSF Builder либо путем управления через консоль.

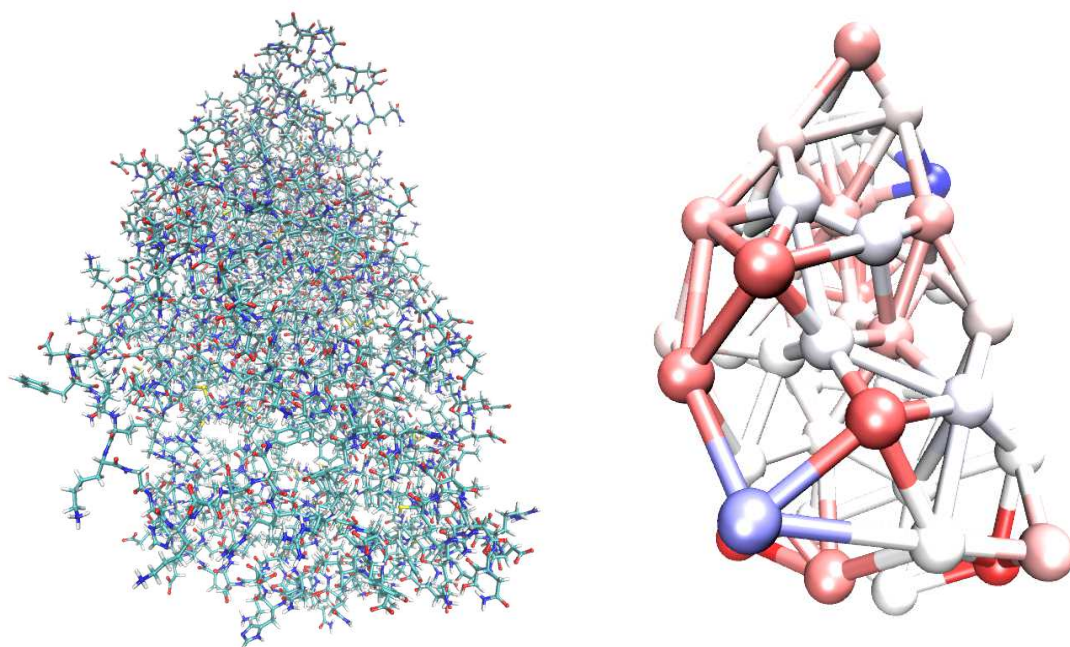


Рисунок 4 — Всеатомное (слева) и грубозернистое (справа) представление люциферазы

3.3 Создание грубозернистой модели nanoалмазного кластера

3.3.1 Алгоритм генерации координат частиц кластера

Если молекулу люциферазы имеет смысл представлять некоторым количеством зерен, то nanoалмаз, вследствие высокой симметрии частицы, возможно представить одним зерном без потери точности вычислений.

Из эксперимента известно, что nanoалмазы в растворе не существуют по отдельности, а слипаются в кластеры порядка нескольких десятков нанометров [1]. Поэтому целесообразно иметь набор координат всего кластера сразу. При этом частицы распределены по объему не плотно, между ними имеются поры, сравнимые по размеру с самим nanoалмазом [32].

В среде BlackBox Component Builder писался код, где с помощью генератора случайных чисел сфера неплотно заполнялась частицами двух видов.

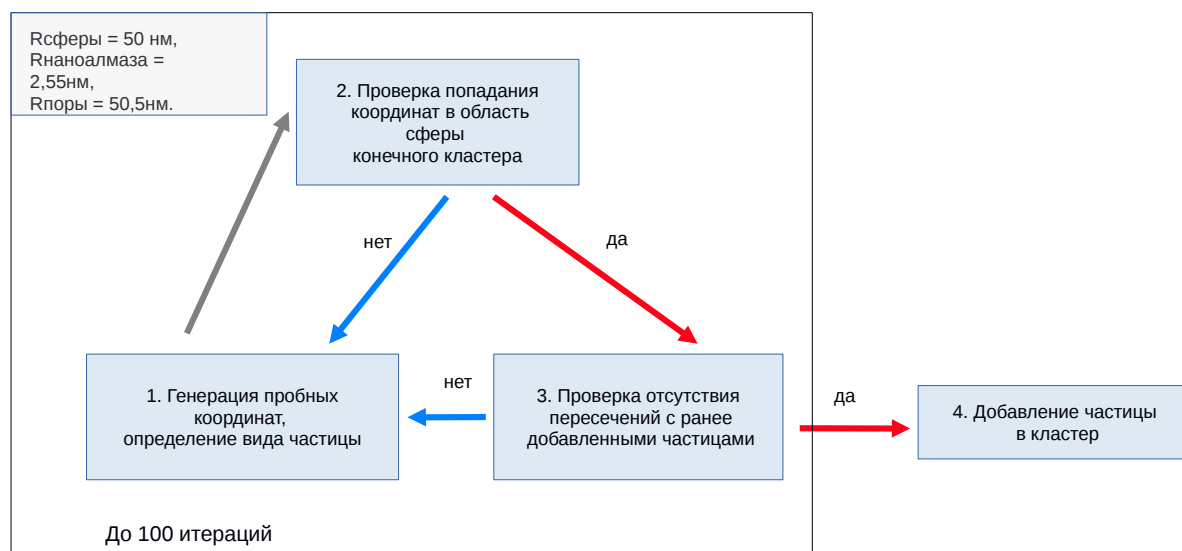


Рисунок 5 — Блок-схема части алгоритма по генерации и проверки координат nanoалмазных и поровых частиц во внутреннем объеме сферы

Частицы именованные nanoалмазом или порой, были неразличимы. Набор координат каждой частицы проверялся на нахождение в области сферы

конечного кластера (радиус-вектор частицы $<$ радиуса кластера) и на отсутствие пересечений с ранее добавленными частицами (расстояние между центрами текущей частицы и каждым соседом $>$ суммы радиусов частицы и соседа). Если одно из условий не выполнялось, происходил возврат на этап генерации координат. Число попыток сгенерировать координаты для частицы равнялось 100. По исчерпанию этого резерва выполнялся выход из процедуры генерации координат, формировались файлы, необходимые для дальнейшей работы с кластером. Отношение частиц в сфере 7:3.

3.3.2 Минимизация энергии кластера и удаление поровых частиц

Поскольку структура получалась рыхлой, её требовалось сформировать в более плотный ком, что достигалось минимизацией энергии системы в пакете NAMD. При этом радиус кластера сужался с 50 нм до 30 нм. Координаты частиц записывались в файл PDB формата, для них был составлен PSF файл системы. Для того, чтобы частицы могли слипнуться, включены были лишь Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия. После слипания частиц из теперь уже плотного кластера производилось удаление поровых частиц, что приводило к принятию кластером желаемой конфигурации.

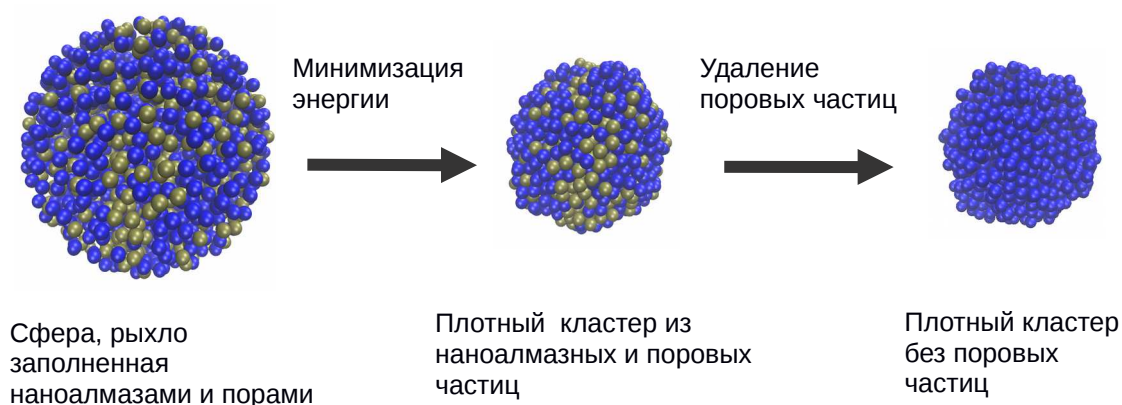


Рисунок 6 — Минимизация энергии нанодиамаз-поровой массы и удаление поровых частиц из кластера.

3.3.3 Оценка силовых параметров наноалмаза

3.3.3.1 Оценка величины заряда наноалмаза

Для наноалмазного зерна требовалось подобрать величины эффективного заряда (для составления кулоновского потенциала), глубину потенциальной ямы и радиус Ван-дер-Ваальса (для составления Леннард-Джонсовского потенциала).

Провести оценку величины заряда наноалмаза можно методом электрофореза. В данном методе о знаке заряда частиц судят по перемещению границы золя (к положительно или отрицательно заряженному электроду), а величина электрокинетического (дзета-) потенциала пересчитывается через электрофоретическую скорость движения частиц при заданной вязкости геля и приложенном электрическом поле.

"Обычные" (без дополнительной обработки поверхности) наноалмазы имеют дзета-потенциал в диапазоне -30 - -38 мВ. Потенциал модифицированных наноалмазов смещен в область -50 - -52 мВ [26].

Природа наблюдаемого заряда обсуждалась в [26], где автор приводит экспериментальную зависимость дзета-потенциала алмазных (не модифицированных) частиц от величины рН суспензий. Модуль потенциала частиц растет при повышении рН раствора, из чего делается вывод о преимущественно протоногенном характере поверхностных функциональных групп алмазов. Алмазы, использовавшиеся в работе получены детонационным синтезом - путем перевода смеси сажи и графитовых структур в алмазные конденсаты при высоких давлениях и температуре. При таком способе синтеза структура ядра частицы оказывается близка к алмазной [27], а атомы поверхности не полностью насытившие свои координационные связи легко поддаются окислению кислородом при очистке прореагировавшей смеси от

неалмазного углерода с образованием на поверхности карбонильных, карбоксильных, эфирных, гидроксильных групп [26].

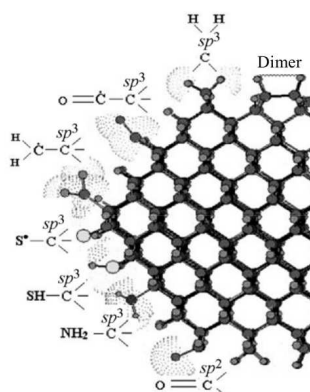


Рисунок 7 — Схематичная модель атомной структуры наноалмаза отражающая количественный состав возможных функциональных групп [1].

Пересчет заряда наноалмаза осуществляется через измеренный потенциал и расстояние от центра частицы до внешней границы двойного электрического слоя (что примерно равно радиусу частицы):

$$q = \frac{\xi * r * \epsilon}{k} , \quad (17)$$

$$q = \frac{50 \times 10^{-3} \text{ В} \times 2,5 \times 10^{-9} \text{ м} \times 81}{9 \times 10^9 \text{ Вм/Кл}} = 11,25 \times 10^{-19} \text{ Кл} \approx 7 \times q_e , \quad (18)$$

что составляет ≈ 7 электронных зарядов на одну наночастицу.

Стоит отметить, что таким образом возможно оценить лишь нижнюю границу заряда наноалмаза, реальный заряд частиц несколько больше. Так происходит вследствие экранировки заряда любой частицы ионами противоположного знака, имеющимися в растворе.

Однако, задание отрицательного заряда наноалмаза приведет к возникновению кулоновского отталкивания между наноалмазом и

люциферазой, более сильного, чем Ван-дерВаальсово притяжение, что делает невозможным наблюдение сорбции. Поэтому для получения качественной картины было решено присвоить наноалмазу эффективный положительный заряд. Это не противоречит реальной ситуации, т. к. в растворе каждая частица окружена «шубой» из противоионов — ионов противоположного знака [31].

3.3.3.2 Оценка величины силовых параметров потенциала Леннарда-Джонса

Поскольку вопрос параметризации неорганических частиц в литературе освещен недостаточно общо, было решено приблизительно оценить глубину потенциальной ямы — ϵ — для наноалмаза. Найдем коэффициент пропорциональности между средним значением ϵ для атома, входящего в состав всеатомной модели люциферазы и зерна грубозернистой модели той же молекулы. Среднее значение ϵ для атома составляет 0,1 кКал/Моль, для зерна из примерно 200 таких атомов — 20 кКал/Моль. Таким образом, коэффициентом пропорциональности между средними значениями ϵ для атома и зерна является число атомов, входящих в состав зерна.

Величина ϵ для атома углерода структуры наноалмаза не определялась ранее. Поэтому для определенности можно взять среднее значение по видам параметризованных углеродных атомов входящих в состав органических молекул — 0,1 кКал/Моль. Одно зерно наноалмаза содержит порядка 10000 атомов, следовательно интегральное значение ϵ равно ≈ 1000 кКал/Моль.

Величина приведенного радиуса определяется также по аналогии. Для атомов приведенный радиус берется того же порядка, что и ковалентный радиус, поэтому целесообразно будет задать радиус зерна наноалмаза по порядку совпадающий с реальным радиусом частицы, а по величине несколько превышающий его (из физических соображений). Реальный радиус частицы в модели составляет 2,5 нм, а приведенный будет на 0,1 нм больше. 0,1 нм — средняя величина для атомов [39].

3.4 Упрощенный расчет динамики

Для качественной оценки ситуации были проведены расчеты осаждения молекул люциферазы на кластер наноалмаза. Общее время — 100 нс, по 100 фс на шаг. 100 люцифераз случайным образом распределенные по объему и один наноалмазный кластер из 1241 частиц помещались в сольватационную шарообразную камеру радиусом 70 нм. Была задана концентрация ионов, компенсирующих избыточный в системе заряд в неявном растворителе — 0.2 М.

Силовые параметры люциферазы определялись автоматически при построении грубозернистой структуры конструктором грубозернистых моделей в NAMDе. Силовые параметры наноалмаза задавались вручную. Каждой частице был присвоен эффективный положительный заряд величиной с электрон, глубина потенциала Леннарда-Джонса 1000 кКал/Моль и радиус Ван-дер-Ваальса 2,6 нм. При задании конфигурации системы были опущены абсолютно все взаимодействия между наноалмазами. Это потребовалось для моделирования устойчивых кластеров, стабильность которых достигалась предварительной обработкой — высаливанием.

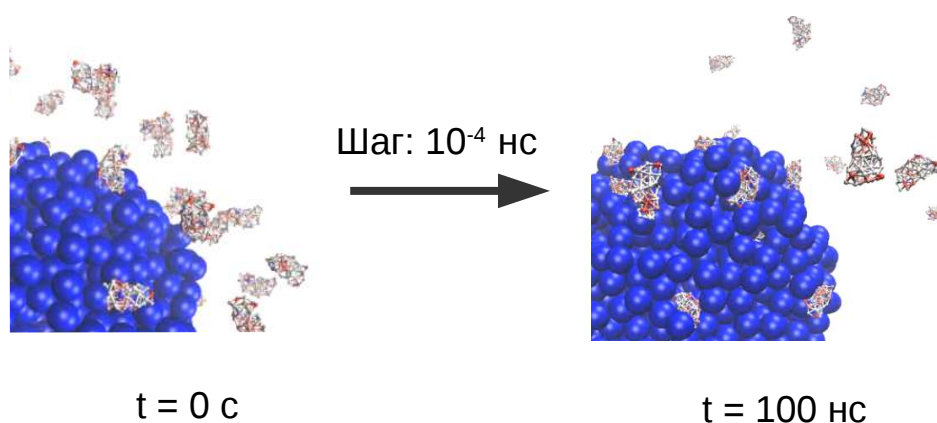


Рисунок 8 — Начальное (слева) и конечное (справа) состояние системы.

Общее время расчета составило 100 нс, шаг по времени — 10^{-4} нс. На рисунке 7 представлена система до проведения расчета и после. Цветовая раскраска молекул соответствует распределению электрического заряда: отрицательный заряд — синий, положительный — красный, нулевой — белый.

В течении выделенного промежутка времени люцифераза активно мигрировала в сторону наноалмазного кластера, часть молекул забила глубоко в поры. Количество сорбированной люциферазы составило около 10%. Остальная часть белка разлетелась. Не смотря на то, что люцифераза сорбировалась не полностью, можно говорить об успехе модели в рамках использованных приближений. Одна из причин низкого процента оседания состоит в том, что задание неявного растворителя не позволяет моделировать ионную «шубу» вокруг заряженных молекул белка, а значит распределение заряда ионов в растворе отличается от реально существующего «в пробирке».

Было сделано предположение, что десорбция люциферазы с поверхности наноалмаза возможна за счет конкуренции ионов раствора и молекул люциферазы. Повышение концентрации ионов в таком случае приводит к «выживанию» люциферазы с поверхности частиц. Проверка это предположения остается перспективной задачей для последующих исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе работы были:

- изучены способы модельного представления (атомистическое и грубозернистое) молекул, виды взаимодействий, учитываемых на данном уровне моделирования,
- освоены готовый пакет программ расчета молекулярной динамики NAMD с сопутствующим ему инструментом визуализации VMD ;
- разработан способ составления нанодиазных кластеров нужной топологии;
- проведено составление модели молекул люциферазы и нанодиаза в рамках грубозернистого описания;
- составлена компьютерная модель системы нанодиаз-люцифераза в растворе, позволяющая качественно наблюдать сорбцию люциферазы на кластере из детонационных нанодиазов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

NAMD — Nanoscale Molecular Dynamics;

PAR — файл параметров;

PDB — файл координат структурных блоков системы: дословная расшифровка — Protein Data Bank;

PSF — файл структуры молекулы (protein structure file);

RBCG — Residue-based Coarse Graining, разбиение молекулы по функциональным группам;

SBSG — Shape-based Coarse Graining, блоковое разбиение молекулы;

TOP — файл топологии (topology file);

VMD — Visual Molecular Dynamics.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Shugalei, I. V., Voznyakovskii, A. P., Garabadzhiu, A. V., Tselinskii, I. V., Sudarikov, A. M., Ilyushin, M. A. Biological activity of detonation nanodiamond and prospects in its medical and biological applications. / I. V. Shugalei // Russian Journal of General Chemistry. — 2013. — № 5. — P. 851–883.
2. Passeri, D., Rinaldi, F., Ingalina, C., Carafa, M., Rossi, M., Terranova, M. L., Marianecchi, C. Biomedical Applications of Nanodiamonds: An Overview / D. Passeri // Journal of Nanoscience and Nanotechnology. — 2015. — № 2. — P. 972–988.
3. Xing Y., Dai L. Nanodiamonds for nanomedicine / Y. Xing // Nanomedicine. — 2009. — № 2. — P. 207–218.
4. Ронжин, Н.О., Харин, К.А., Пузырь, А.П., Бондарь В.С. Наноалмазы в биотехнологии: применение для выделения белков и создания индикаторных тест-систем / Н.О. Ронжин // Журнал Сибирского Федерального Университета. Биология. — 2010. — № 3. — С. 418-433.
5. Sherwood, P., Bernard R. B., Mark S. S. Multiscale methods for macromolecular simulations / P. Sherwood // Current Opinion in Structural Biology. — 2008. — № 18. — P. 630–640.
6. Molecular modeling [Электронный ресурс] : IUPAC Gold Book. Режим доступа — <http://goldbook.iupac.org/html/M/MT06971.html>.
7. Dickinson R. G., Raymond A. L. The crystal structure of hexamethylene-tetramine // J. Am. Chem. Soc. — 1923. — № 1. — P. 22–29.
8. Lifson, S., Warshel, A. Consistent Force Field for Calculations of Conformations, Vibrational Spectra, and Enthalpies of Cycloalkane and *n*-Alkane Molecules / S. Lifson // J. Chem. Phys. — 1968. — №. 11. — P. 5116-5129.
9. Levit, M., Warshel, A. Computer simulation of protein folding / M. Levit // Nature. — 1975. — V. 253. — P. 694-698.
10. Marrink, S. J., Vries, A. H., Mark A. E. Coarse Grained Model for Semiquantitative Lipid Simulations / S. J. Marrink // J. Phys. Chem. B. — 2004. — № 2. — P. 750-760.

11. Gamini, R. Residue-Based Coarse Graining using MARTINI Force Field in NAMD : tutorial / R. Gamini, D. Chandler. — University of Illinois at Urbana-Champaign, Beckman Institute for Advanced Science and Technology, Theoretical and Computational Biophysics Group, Computational Biophysics Workshop, — 31 p.
12. Shape-Based Coarse Graining : tutorial / A. Arkhipov [et. al.]. — University of Illinois at Urbana-Champaign, Beckman Institute for Advanced Science and Technology, Theoretical and Computational Biophysics Group, Computational Biophysics Workshop, — 36 p.
13. Arkhipov, A., Freddolino, P. L., Schulten, K.. Stability and dynamics of virus capsids described by coarse-grained modeling / A. Arkhipov // Structure. — 2006. — № 14. — P. 1767-1777.
14. Marrink, S. J., Risselada, H. J., Yefimov, S., Tieleman, D. P., Vries, A. H. The MARTINI Force Field: Coarse Grained Model for Biomolecular Simulations / S. J. Marrink // J. Phys. Chem. B. — 2007. — № 27. — P. 7812-7824.
15. Arkhipov, A., Yin, Y., Schulten, K. Membrane-Bending Mechanism of Amphiphysin N-BAR Domains / A. Arkhipov // Biophys. J. — 2009. — № 10. — P. 2727–2735.
16. Ritter, H. Neural Computation and Self-Organizing Maps: An Introduction / H. Ritter, T. Martinetz, K. Schulten. — Addison-Wesley. — 1992. — 306 p.
17. Martinetz, T. M., Berkovich, S. G., Schulten, K. J. “Neural gas” network for vector quantization and its application to time-series prediction / T. M. Martinetz // IEEE Transactions on neural networks. — 1993. — № 4. — P. 558-567.
18. Phillips, J. NAMD Tutorial: tutorial / J. Phillips, D. Hardy. — University of Illinois at Urbana-Champaign, NIH Center for Macromolecular Modeling and Bioinformatics, Beckman Institute, Computational Biophysics Workshop. — 2016. — 119 p.
19. Brooks, B. R., Bruccoleri, R. E., Olafson, B. D., States, D. J., Swaminathan, S., Karplus, M. CHARMM: A programm for macromolecular energy, minimization and dynamics calculations / B. R. Brooks // J. Phys. Chem. — 1978. — V. 82. — P. 187-217.

20. Phillips, J. C., Braun, R., Wang, W., Gumbart, J., Tajkhorshid, E., Villa, E., Chipot, C., Skell, R. D., Kale, L., Shulten, K. Scalable molecular dynamics with NAMD / J. C. Phillips // *J. Comp. Chem.* — 2005. — V. 26. — P. 1781-1802.
21. Кудряшева, Н. С. Физико-химические основы биолюминесцентного анализа : учеб. Пособие / Н.С. Кудряшева, В.А. Кратасюк, Е.Н. Есимбекова — Красноярск : Красноярский Государственный Университет, Институт биофизики СО РАН. — 2002. — 151 с.
22. Молекулярное моделирование взаимодействия бактериальной люциферазы и NADH:FMN-оксидоредуктазы : отчет о НИР / Коваль А. А. — Красноярск : СФУ. — 4 с.
23. Физика и химия биолюминесценции : учебное пособие / СФУ; по ред. О. Шимомуры. — Красноярск: Изд-во СФУ, 2015. — 268 с.
24. Оценка степени загрязнения почвы медью с помощью биолюминесцентного ферментативного биотеста : бакалаврская работа : 03.03.02 / И. В. Потапенко — Красноярск: СФУ, 2016. — 57 с.
25. Fang, X. W., Mao, J. D., Levin, E. M., Schmidt-Rohr, K. Nonorganic Core-Shell Structure of Nanodiamond from Solid-State NMR Spectroscopy / X. W. Fang // *J. Am. Chem. Soc.* — 2009. — № 4. — P. 1426-1435
26. Чиганова Г. А. Исследование поверхностных свойств ультрадисперсных алмазов / Г. А Чиганова // *Коллоидный журнал.* — 1994. — № 2. — С. 266–268.
27. Denisov, I. A., Zimin, A. A., Bursill, L. A., Belobrov, P. I. Nanodiamond Collective Electron States and their Localization / I. A. Denisov // *J. SFU. Mathematics & Physics.* — 2014. — № 1. — P. 35-45.
28. Бондарь, В. С., Позднякова, И. О., Пузырь, А. П.. Применение наноалмазов для разделения и очистки белков / В. С. Бондарь // *Физика твердого тела.* — Т. 46. — С.737-739.
29. Микрофлюидные технологии биологического анализа природных и промышленных вод / Евстапов, А. А.б Белобров, П. И. [и др.]. — Новосибирск : Издательство СО РАН, 2017. — 176 с.

30. Щукин, Е. Д. Коллоидная химия : учебник для бакалавров / Е. Д. Щукин, А. В. Перцов, Е. А. Амелина. — Москва : Юрайт, 2014. — 444 с.
31. Двойной электрический слой [Электронный ресурс] : Википедия — свободная энциклопедия. Режим доступа: <https://ru.wikipedia.org>.
32. [Salting out](#) [Электронный ресурс] : Википедия — свободная энциклопедия. Режим доступа: <https://ru.wikipedia.org>.
33. Visual Molecular Dynamics [Электронный ресурс] : Theoretical and Computational Biophysics Group. Режим доступа: <http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/>
34. Oberon microsystems AG BlackBox [Электронный ресурс] : Официальный сайт. — Режим доступа: <http://www.oberon.ch/blackbox.html>
35. Oakley , А. Topology File Tutorial : tutorial / А. Oakley, T. Isgro, Y. Wang. University of Illinois at Urbana-Champaign, Beckman Institute for Advanced Science and Technology, Theoretical and Computational Biophysics Group, — 2012. — 39 p.
36. Crystal structure of the bacterial luciferase: fjavin complex reveals the basis of intersubunit communication [Электронный ресурс] : An information portal to 130365 biological macromolecular structures // Protein Data Bank. — Режим доступа: <http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=3fgc>.
37. DiaBall for nanodiamond structure exploring [Электронный ресурс] : MOLPIT. — Режим доступа: <https://molpit.org/page/34>.
38. Киселев, Н. И. [и др.]. Электрические и магнитные свойства композитов из наноалмазов и пироуглерода / Н. И. Киселев // Рос. Хим. Ж. — 2012. — № 1-2. — С. 50-57.
39. Полинг, Л. Химия : науч. Изд. / Л. Полинг, П. Полинг. — Москва: Мир, 1978. — 685 с.
40. Дзета-потенциал. Двойной электрический слой. [Электронный ресурс] : Photocor. — Режим доступа: <https://www.photocor.ru/theory/zeta-potential>

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
"СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ"
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

В.А. Крайасюк В.А. Крайасюк

подпись инициалы, фамилия

« 9 » 06 2018г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

03.03.02 - Физика

Грубозернистое молекулярное моделирование
системы наноалмаз-люцифераза

Научный консультант:

профессор кафедры биофизики СФУ

доктор физ.-мат наук Белобров П.И.

ХСБ

Руководитель:

научный сотрудник лаборатории

биолюминесцентных биотехнологий

кафедры биофизики СФУ

Денисов И.А.

И.А. Денисов

Студент:

Шадрина Г.В.

номер группы,

зачетной книжки

Шадрина
ФБ 14-015
041400764

Красноярск 2018