

УДК 577.152.3.612.014

**КОМП'ЮТЕРНЕ МОДЕЛЮВАННЯ КОМПЛЕКСОУТВОРЕННЯ  
ЦИТОХРОМУ P-450 2E1 ЛЮДИНИ**

В. О. КИТАМ, М. О. ЧАЩИН

*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ;  
e-mail: v.o.kitam@gmail.com; chaschin@imbg.org.ua*

*Проведено порівняння просторових структур CYP2E1 людини, одержаних експериментальним шляхом, і структур, розрахованих з використанням комп'ютерних методів. Структури охарактеризовано за такими параметрами: загальна енергія, об'єм протеїнової кишені та загальний об'єм молекули, аналіз якості просторової геометрії. Одержані результати довели, що розрахована та оптимізована модель може бути застосована для дослідження механізмів взаємодії активного центру ензиму із субстратами та інгібіторами. Показано, що одним із механізмів інактивації ензиму може бути зменшення об'єму протеїнової кишені. При цьому зменшуються об'єми активного центру та каналу, що значно ускладнює доступ субстратів до порожнини активного центру.*

*Ключові слова: цитохром P-450 2E1 людини, комп'ютерне моделювання просторової структури, молекулярна динаміка, докінг, валідація просторових структур протеїнів.*

**В**ідомо, що основними методами експериментального дослідження просторової структури протеїнів є рентгеноструктурний аналіз (РСА) та ядерний магнітний резонанс (ЯМР). Застосування цих методів потребує значної кількості очищеного протеїну у водорозчинній формі. Цитохром P-450 (EC 1.14.14.1) людини належить до гідрофобних мембранних протеїнів, розчинення та кристалізація яких у нативному стані неможливі. Це, головним чином, пов'язано з наявністю на N-кінці ензиму гідрофобної ділянки, яка відповідає за зв'язування з мембраною. У зв'язку з цим одержання експериментальних даних щодо повнорозмірної структури цього ензиму дуже ускладнене.

Ензими надродини P-450 прокариот, на відміну від еукаріотичних, не асоційовані з мембраною і не мають гідрофобного мембранного якоря, внаслідок чого є водорозчинними. Тому перші експериментальні дані щодо просторової структури цих ензимів були одержані для цитохромів P-450 прокариот – Cam [1], Bm-3 [2], Tegr [3] та Eryf [3].

Що стосується надродини P-450 еукаріот, то лише здійснення певних модифікацій амінокислотної послідовності, таких як видалення гідрофобного мембранного якоря (в середньому 20–30 амінокислот з N-кінця) та заміна деяких гідрофобних амінокислот на поверхні ензиму на нейтральні чи гідрофільні, дозволило отримати водорозчинні функціонально активні форми цих протеїнів. Це значно

полегшило дослідження їхньої просторової структури. Варто зауважити, що просторова структура апоензимів (протеїнів, не зв'язаних із лігандом – субстратом чи інгібітором) характеризується значною мінливістю. У зв'язку з цим більшість відомих на сьогодні даних щодо просторової структури P-450 еукаріот були отримані для комплексів протеїнів з лігандами (останні стабілізують просторову структуру цих ензимів, зменшуючи їх конформаційну лабільність). Одержані, таким чином, просторові структури деяких модифікованих ензимів P-450 еукаріот, у комплексі з інгібіторами чи субстратами, наведено у табл. 1.

Для побудови просторової структури мембранозв'язаних протеїнів, експериментальне дослідження яких є ускладненим, використовують методи комп'ютерного моделювання. Одним з найпоширеніших серед них вважають метод побудови моделі тривимірної структури за гомологією з протеїнами з відомою просторовою структурою [4]. Достовірність такої теоретичної моделі залежить від рівня гомології амінокислотних послідовностей протеїну-моделі та матриці (структури протеїну, яку використовують як шаблон), а також якості експериментальних даних щодо структури протеїну-шаблону.

Раніше нами було запропоновано теоретичну модель тривимірної структури цитохрому P-450 2E1 (CYP2E1) людини [5], побудовану за гомологією з CYP2C9 (код в Protein Data Bank (PDB) – 1OG5). Вона дала змогу отримати

Таблиця 1. Евкаріотичні цитохроми P-450, просторові структури яких експериментально визначені

Цитохром P-450 евкаріот	Ліганд	Код в Protein Data Bank
1A2	$\alpha$ -нафтофлавіон	2HI4
2A6	Фенацетин	3EBS
	–	2PG7
	–	2PG6
	–	2PG5
	Адритіол	2FDY
	(5-(піридин-3-Ү1)фуран-2-Ү1)метанамін	2FDW
	N-метил(5-(піридин-3-Ү1)фуран-2-Ү1)метанамін	2FDV
	N,N-диметил(5-(піридин-3-Ү1)фуран-2-Ү1)метанамін	2FDU
	Метоксален	1Z11
	Кумарин	1Z10
2A13	Фенацетин	3EBS
	Індол	2P85
2B4	1-біфеніл-4-метил-1h-імідазол	3G93
	1-біфеніл-4-метил-1h-імідазол	3G5N
	1-(4-хлорфеніл)імідазол	2Q6N
	Біфоназол	2BDM
	4-(4-хлорфеніл)імідазол	1SUO
	–	1PO5
2C5	Диклофенак	1NR6
	Диметильна похідна сульфафеназолу	1N6B
	–	1DT6
2C8	Троглітазон	2VN0
	Фелодипін	2NNJ
	Монтелукаст	2NNI
	2 молекули 9-цис ретиноевої кислоти	2NNH
	Пальмітинова кислота та фосфорна кислота	1PQ2
2C9	Флубіпрофен	1R9O
	S-варфарин	1OG5
	–	1OG2
2D6	Сірчана кислота	2F9Q
2E1	Індазол	3E6I
	4-Метилпіразол	3E4E
2R1	1- $\alpha$ -гідрокси-вітамін D <sub>2</sub>	3DL9
	Вітамін D <sub>2</sub>	3CZH
	Вітамін D <sub>3</sub>	3C6G

Таблиця 1. Продовження

3A4	Кетоконазол	2V0M
	Еритроміцин	2J0D
	Метирапон	1W0G
	Прогестерон	1W0F
	–	1TQN
7A1	Аміак	3DAX
8A1	Аналог субстрату U51605	3B99
	–	3B98
	Міноксидил	3B6H
46A1	Гліцерол	2Q9G
	Холестерол-3-сульфат	2Q9F

уявлення про загальну будову ензиму, зокрема структуру його активного центру. Проте, через недостатню оптимізацію геометрії просторової структури та відсутність простетичних груп, розрахована нами модель потребує подальшого вдосконалення.

Для створення просторових структур нативних ензимів із вбудованою простетичною групою використовується метод докінгу (пошук можливих комплексів рецептора з лігандом із найменшою загальною енергією) [6]. Існуючі алгоритми докінгу можна умовно поділити на два класи – жорсткий (rigid) та гнучкий (flexible). Перший клас алгоритмів характеризується жорсткою структурою рецептора та ліганду, в той час як другий клас враховує можливі конформаційні зміни ліганду. Проте обидва класи алгоритмів не враховують можливі конформаційні зміни власне рецептора. Вплив ліганду на конформацію рецептора можна передбачити, використовуючи метод розрахунку симуляції молекулярної динаміки. Таким чином, поєднання вищезазначених методів дозволяє достовірніше передбачати взаємодію ензиму з лігандом.

Цілком зрозуміло, що будь-яке дослідження структурно-функціональних особливостей сайту зв'язування ензиму, зроблене з використанням теоретичної моделі, а не експериментально визначеної просторової структури, є лише гіпотезою. Проте експериментально визначені структури протеїнів також можуть бути неточними (зокрема, використання різних буферних розчинів, а також лігандів може суттєво впливати на просторову структуру протеїну).

Завданням нашої роботи була оптимізація методом молекулярної динаміки раніше побудованої теоретичної моделі просторової

структури CYP2E1 людини [5] та комп'ютерне моделювання комплексів ензиму з деякими лігандами.

#### Матеріали і методи

Просторову структуру цитохрому P-450 2E1 людини створювали з використанням веб-сервера Swiss-Model (<http://www.expasy.ch/swissmod/SWISS-MODEL.html>) як було описано раніше [5].

Експериментально визначені просторові структури комплексів CYP2E1 людини з 4-метилпіразолом (PDB код 3E4E) та індазолом (PDB код 3E6I) [7] отримали з бази даних Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org>).

Пошук активного центру ензиму проводили за допомогою програми Fred Receptor (version 2.2.3, OpenEye Scientific Software, Inc., Santa Fe, NM, USA, <http://www.eyesopen.com>, 2005).

Докінг молекули гемму в активний центр ензиму проводили, використовуючи програму HEX 5.0 [8], із застосуванням методу п'ятивимірної (5d) обертальної кореляції за формою та електростатичними взаємодіями з подальшою мінімізацією енергії такої системи.

Одержану структуру оптимізували у водному оточенні методом молекулярної динаміки (комп'ютерного моделювання руху атомів і молекул) із застосуванням програми NAMD [9]. Сольватацію (оточення структури молекулами води) ензиму проводили за допомогою програми VMD [10], простір для сольватації був обмежений розмірами протеїну. Загалом структуру було оточено 6190 молекулами води типу TIP3P [11]. Розрахунок молекулярної динаміки здійснювали за стандартних умов у NVE-ансамблі при температурі 37 °C з використанням силових полів Charmm35 [12] протягом 10 пс.

Теоретичні розрахунки взаємодії активного центру ензиму з субстратами та інгібіторами виконували за допомогою програми ArgusLab 4.01 [13]. Пошук активного центру ензиму проводили методом ShapeDock. Дані про амінокислотний склад активного центру CYP2E1 людини наведено з робіт [14–16], особливості активного центру передбачено за допомогою програми Fred Receptor.

Для комплексів ензиму із хлорзоксазоном та кверцетином обрахунок симуляції молекулярної динаміки проводили протягом 40 та 140 пс в оточенні 5692 та 3688 молекул води (TIP3P) відповідно. Всі інші параметри не відрізнялися від описаних вище.

З метою аналізу даних, одержаних під час обрахунку симуляції молекулярної динаміки, використовували два методи обрахунку середньоквадратичного відхилення: власне сам RMSD (Root Mean Square Deviation) – середньоквадратична зміна положення  $C\alpha$  атомів відносно початкового стану та RMSD-швидкість (RMSD-velocity) – середньоквадратична зміна положення  $C\alpha$  атомів кожної наступної ітерації відносно попередньої. У цьому випадку математичний термін «ітерація» (результат багаторазового повторення якоїсь математичної операції) характеризує один акт зміни положення атомів в ході обрахунку молекулярної динаміки та в перерахунку на одиницю часу дорівнює 0,002 пс.

Оцінку загальної енергії ензиму проводили за допомогою програми ArgusLab. Загальну енергію обчислювали, як суму енергії зв'язків, кутів між зв'язками, дигедральних кутів, неправильних торсіонних кутів та ван-дер-ваальсових взаємодій, використовуючи силове поле UFF (яке дозволяє оцінювати комплекси з хімічними лігандами невідомої топології). Позитивне значення величин можна пояснити тим, що не враховувався внесок електростатичних взаємодій, які мають від'ємне значення та значно переважають всі інші складові загальної енергії.

Загальний об'єм молекули та об'єм протеїнової кишені оцінювали за допомогою програми Pocket-finder (<http://www.modelling.leeds.ac.uk>).

Для оцінки якості просторової геометрії структур проводили аналіз кутів  $\phi/\psi$  згідно з картою Рамачандрана [17].

Валідацію (процес, спрямований на підтвердження об'єктивними доказами того, що кінцевий продукт відповідає встановленим вимогам) тривимірних структур проводили, використовуючи веб-сервер [http://www.psvs-1\\_3.nesg.org](http://www.psvs-1_3.nesg.org) за допомогою програм ProCheck,

Verify3D, ProsaII та MolProbity. Якість просторової геометрії структур для кожної програми валідації представлено у двох варіантах: Raw score та Z-score. Загалом Raw score показує середню якість геометрії амінокислотних залишків молекули протеїну, в той час як Z-score – розподіл цих значень відносно середньоарифметичного. Чим більше значення Raw score та Z-score, тим краща якість. Пошук стереохімічнонеможливих контактів ( $\leq 0,22$  нм), тобто помилкових зв'язків між амінокислотними залишками, та обчислення середньоквадратичного відхилення від ідеальної геометрії для амінокислотних залишків було проведено за допомогою програми PDB Validation (<http://deposit.rcsb.org/validate/>).

### Результати та обговорення

Як було зазначено вище, одним із недоліків методу побудови теоретичних моделей просторових структур за гомологією є неможливість враховувати вплив простетичних груп на конформацію протеїнів. Для вирішення цієї проблеми за допомогою програми HEX 5.0 було проведено докінг молекули гему в активний центр ензиму (рис. 1).

Одержану систему модель–гем оптимізували, використовуючи метод симуляції молекулярної динаміки у водному оточенні. На рис. 2 представлено графіки зміни RMSD (А) та RMSD-швидкість (Б) для цієї системи

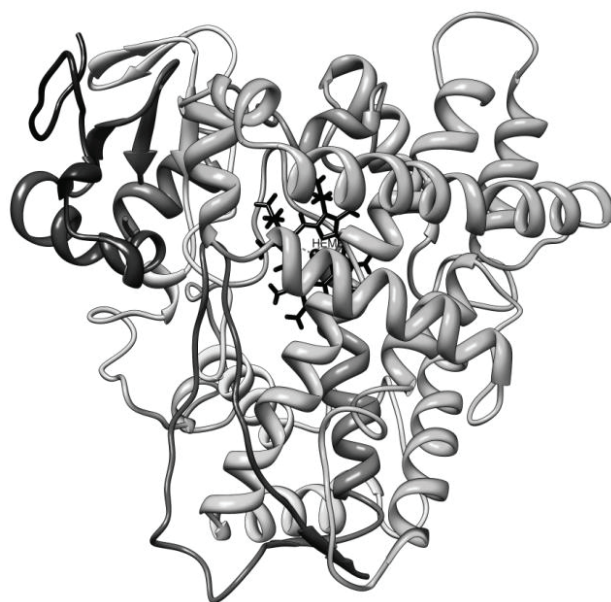


Рис. 1. Розміщення молекули гему в активному центрі просторової структури цитохрому P-450 2E1 людини, одержаної методами комп'ютерного моделювання

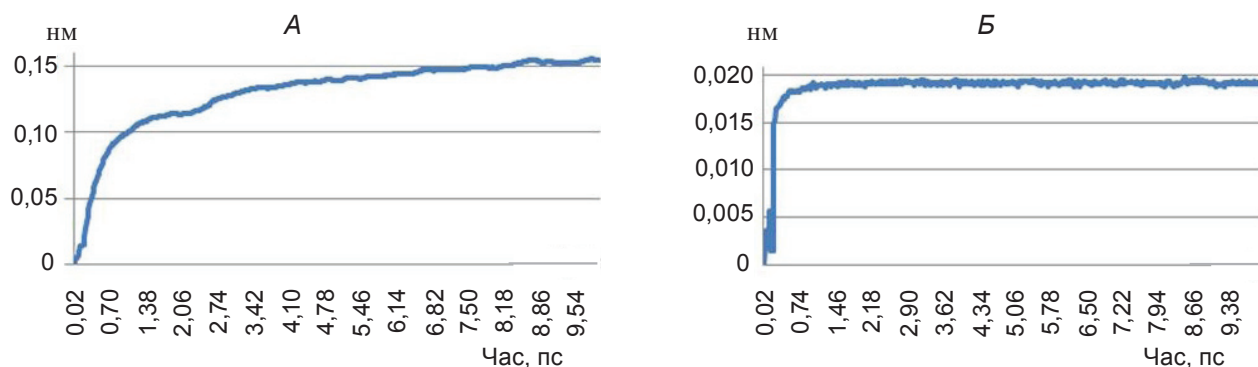


Рис. 2. Зміна RMSD (А) та RMSD-швидкість (Б) з часом для системи ензим–гем

впродовж часу. Видно, що система модель–гем характеризуються швидким виходом на квазі-стабільний рівень (equilibration level). Це свідчить про те, що така конформація системи є стабільною та енергетично вигідною.

Одержану систему модель–гем використовували для дослідження взаємодії активного центру ензиму з певними субстратами та інгібіторами (табл. 2). Показано, що комплекси ензиму із субстратом хлорзоксазоном та інгібітором кверцетином характеризуються найбільшою енергією зв'язування –  $\Delta G_{Gibbs}$  (відповідно 8,61 та 9,99 ккал/моль), тому в подальшому було проведено обрахунок симуляції молекулярної динаміки саме цих комплексів.

Для порівняння відібрано наступні структури CYP2E1 людини:

1) теоретична просторова структура CYP2E1, побудована з використанням веб-сервера SwissModel за гомологією з CYP2C9 (PDB код 1OG5) (надалі «неоптимізована модель» або «1»);

2) оптимізована методом молекулярної динаміки теоретична просторова структура CYP2E1 із вбудованою молекулою гему (надалі «оптимізована модель» або «2»);

3) оптимізована методом молекулярної динаміки модель CYP2E1 із вбудованою в активний центр молекулою хлорзоксазону (надалі «модель + хлорзоксазон» або «3»);

4) оптимізована методом молекулярної динаміки модель CYP2E1 із вбудованою в активний центр молекулою кверцетину (надалі «модель + кверцетин» або «4»);

Таблиця 2. Вільна енергія зв'язування лігандів з активним центром ензиму та амінокислотні залишки, які в цьому беруть участь

Ліганди	Енергія, ккал/моль	Амінокислотні залишки, які беруть участь у зв'язуванні та орієнтації лігандів в активному центрі ензиму
<i>Інгібітори</i>		
Біфоназол	-9,13	Trp122, Lys123, Arg126, Val436, Lys434
Флуфеназін	-7,51	Asp167, Pro168, Thr169, Asn204, Arg309, Ile481, Pro482, Arg484, Tyr485
Піридин	-6,75	Leu103, Gln216, Asn219, Leu368, Pro369, Phe478
Кверцетин	-9,99	Leu103, Phe106, Phe207, Leu210, Leu215, Gln216, Asn219, Ala299, Thr303, Leu363, Val364, Leu368, Phe478
<i>Субстрати</i>		
Анілін	-8,54	Ala299, Thr303, Leu363, Val364, Leu368
Хлорзоксазон	-8,61	Leu103, Ala105, Phe106, Phe207, Leu210, Ser211, Leu215, Phe478, Gly479
Нітрозодиметиламін	-4,91	Leu210, Ser211, Thr212, Pro213, Trp214, Leu215, Gln216, Ile476, Gly477, Phe478

5) експериментально визначена просторова структура СУР2Е1 в комплексі з 4-метилпіразолом (надалі «3Е4Е» або «5»);

б) експериментально визначена просторова структура СУР2Е1 в комплексі з індазолом (надалі «3Е6І» або «6»).

У табл. 3 представлено показники загальної енергії відібраних для аналізу структур. Як видно, комплекс ензиму із хлорзоксазоном має найменшу енергію (5423,13 ккал/моль). Це свідчить про те, що такий комплекс найбільш енергетично вигідний.

У табл. 4 представлено об'єми кишені та загальні об'єми протеїнових структур. Варто зауважити, що оптимізована модель має найменший загальний об'єм протеїну. Однак вона характеризується значно більшим, ніж у протеїнових структур «3» – «6», об'ємом кишені, а отже й більшим об'ємом активного центру. Це залежить від відстані між амінокислотними залишками, які утворюють протеїнову кишеню. Так, у теоретичній структурі «2» порівняно зі структурами «5» і «6» (визначеними експериментально), відстань між Phe207 і Phe298 складає 0,762 і 0,692 нм, між Leu210 і Leu215 – 0,565 і 0,489 нм, а між Leu103 і Leu210 – 0,890 і 0,661 нм відповідно. На рис. 3 представлено амінокислотні залишки, які утворюють активний центр СУР2Е1. З табл. 4 видно, що об'єм кишені просторової структури апоензиму значно більший, ніж структури ензиму, зв'язаного з лігандами, серед яких найменший об'єм кишені у комплексів ензиму з інгібіторами. Це дозволяє припустити, що одним із механізмів інактивації (інгібування) цитохрому *P*-450 2Е1 людини може бути така зміна конформації молекули, яка спричинює зменшення об'єму активного центру.

З метою валідації структур «1»–«6» проведено оцінку якості їхньої просторової геометрії. У табл. 5 представлено дані з карти Рамачандрана, які дозволяють оцінити якість

Таблиця 3. Порівняння загальної енергії (*ArgusLab*) просторових структур СУР2Е1 людини

№ п/п	Структура	Енергія, ккал/моль
1	Неоптимізована модель	7520,92
2	Оптимізована модель	15928,79
3	Модель+хлорзоксазон	5423,13
4	Модель+кверцетин	10183,51
5	3Е4Е	7965,08
6	3Е6І	6896,39

просторової геометрії амінокислотних залишків в цих структурах. Найменший відсоток амінокислотних залишків у недозволених районах спостерігається у структурах «5» та «6», за ними йде теоретично визначена структура «модель + кверцетин». Загалом, згідно з картою Рамачандрана, як одержані експериментально, так і розраховані комп'ютерними методами тривимірні структури відзначаються відносно високою якістю просторової геометрії.

Загальну оцінку якості, обчислену за допомогою вищезазначених програм валідації просторових структур, представлено в табл. 6. Як видно, всі просторові структури характеризуються високою якістю як просторової геометрії (*ProCheck*, *ProsaII* та *Verify3D*), так і просторової укладки (*MolProbity*) амінокислотних залишків. Найкращі результати серед теоретично розрахованих структур показали структури «3» та «4». Це підтверджує той факт, що субстрати (у випадку «3») та інгібітори (у випадку «4») стабілізують просторову структуру цитохрому *P*-450 2Е1 людини.

Також було проведено пошук стереохімічно неможливих контактів ( $\leq 0,22$  нм) та обчислено середньоквадратичне відхилення від іде-

Таблиця 4. Порівняння об'єму протеїнової кишені та загального об'єму протеїнових структур

№ п/п	Структура	Об'єм протеїнової кишені, нм <sup>3</sup>	Загальний об'єм протеїну, нм <sup>3</sup>
1	Неоптимізована модель	3,057	45,174
2	Оптимізована модель	2,171	43,300
3	Модель + хлорзоксазон	0,945	46,413
4	Модель + кверцетин	0,588	46,687
5	3Е4Е	0,878	46,426
6	3Е6І	0,870	46,828

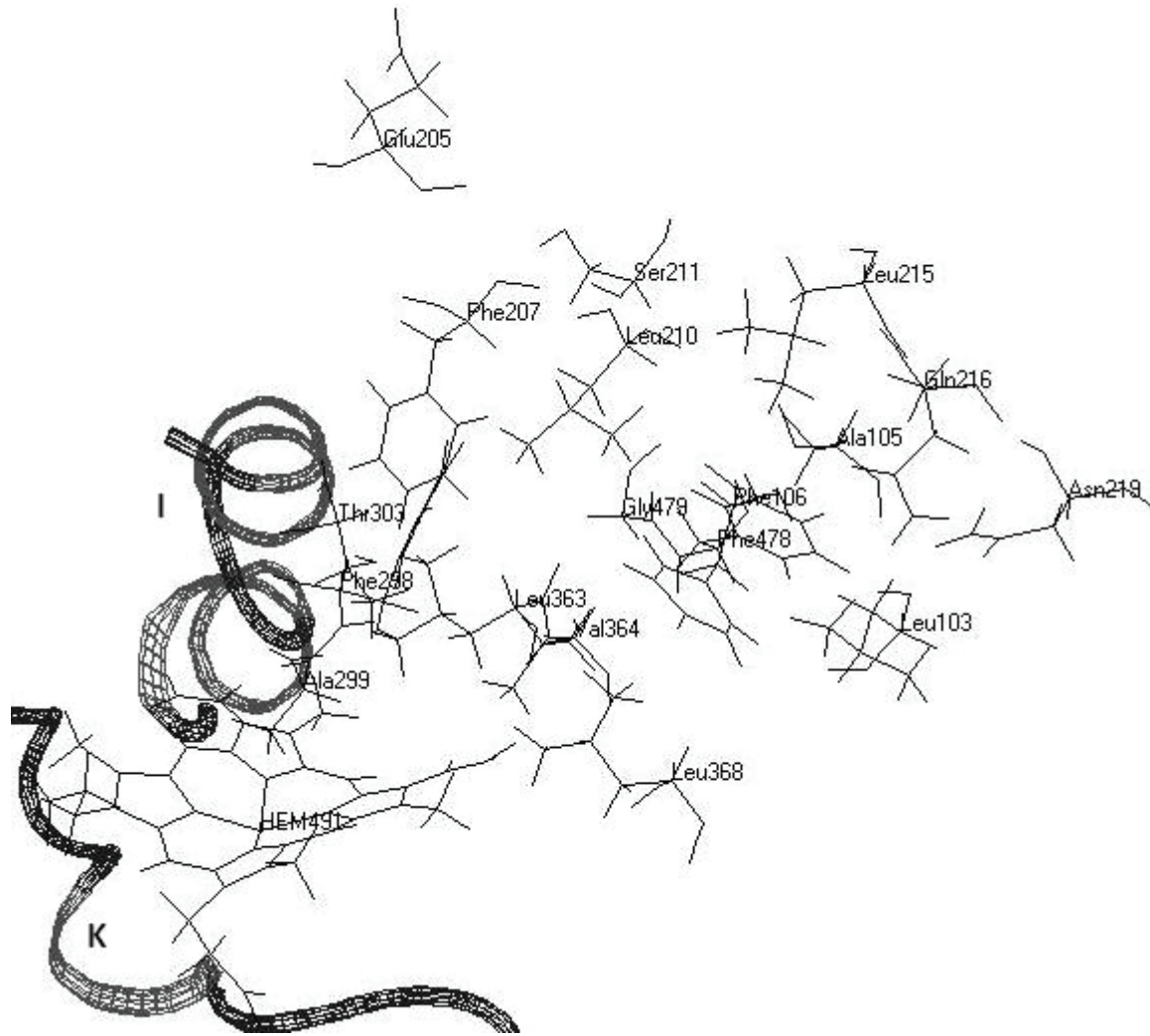


Рис. 3. Активний центр CYP2E1. Показано амінокислотні залишки, які відповідають за зв'язування з лігандами, та  $\alpha$ -спіралі I та K, що зв'язують молекулу гему

Таблиця 5. Порівняння розподілу кутів  $\phi/\psi$  амінокислотних залишків згідно з картою Рамачандрана

№ п/п	Структура	Розподіл амінокислотних залишків згідно з картою Рамачандрана, %			
		Дозволені конформації	Додаткові дозволені конформації	Відносно дозволені конформації	Недозволені конформації
1	Неоптимізована модель	86,6	10,9	1,3	1,3
2	Оптимізована модель	81,3	15,7	1,8	1,2
3	Модель+хлорзоксазон	83,6	14,1	0,5	1,8
4	Модель+кверцетин	83,9	14,6	0,5	1,0
5	3E4E	81,5	17,5	0,8	0,3
6	3E6I	89,2	9,3	1,0	0,5

Таблиця 6. Якість просторової геометрії теоретичних та експериментально визначених структур протейнів згідно з програмами Verify3D, ProsaII (-ve), Procheck (φ/ψ), Procheck (all) та MolProbit Clashscore

№ п/п	Структура	Verify3D		ProsaII (-ve)		Procheck (phi-psi)		Procheck (all)		MolProbit Clashscore	
		Raw score	Z-score	Raw score	Z-score	Raw score	Z-score	Raw score	Z-score	Raw score	Z-score
1	Неоптимізована модель	0,40	-0,96	0,60	-0,21	-0,15	-0,28	-0,13	-0,77	53,81	-7,71
2	Оптимізована модель	0,40	-0,96	0,21	-1,82	-0,65	-2,24	-0,54	-3,19	3,63	0,90
3	Модель+хлорзоксазон	0,41	-0,80	0,59	-0,25	-0,46	-1,49	-0,49	-2,90	4,94	0,68
4	Модель+кверцетин	0,43	-0,48	0,62	-0,12	-0,51	-1,69	-0,52	-3,08	4,28	0,79
5	3E4E	0,47	0,16	0,56	-0,37	-0,49	-1,61	-0,42	-2,48	4,46	0,76
6	3E6I	0,47	0,16	0,66	0,04	-0,04	0,16	-0,14	-0,83	14,75	-1,01

альної геометрії для амінокислотних залишків (табл. 7). Як видно, стереохімічно неможливі контакти не спостерігаються для жодної структури, а середньоквадратичне відхилення від ідеальної геометрії приблизно однакове для всіх наведених структур.

Таким чином, у роботі зроблено порівняння просторових структур СУР2Е1 людини як одержаних експериментальним шляхом, так і розрахованих із використанням комп'ютерних методів. Доведено високу якість просторової геометрії наданих структур, серед яких експериментально визначені структури зв'язаного з інгібіторами (4-метилпіразол та індазол) ензиму, а також розраховані нами структури апоензиму та його комплексів із субстратом (хлорзоксазон) та інгібітором (кверцетин). Структури охарактеризовано за такими параметрами, як загальна енергія, об'єм протейнової кишені та загальний об'єм молекул, аналіз якості просторової геометрії (карта Рамачандрана, MolProbit, ProCheck, ProsaII та Verify3D). Використання обчислень методом молекулярної динаміки дозволило оцінити вплив субстратів та інгібіторів на просторову структуру СУР2Е1 людини та виявити деякі механізми його функціонування. Одержані результати дозволяють дійти висновку, що розрахована та оптимізована модель може бути застосована для подальшого дослідження механізмів взаємодії активного центру ензиму як із субстратами, так і з інгібіторами. В ході дослідження було показано, що одним з механізмів інактивації ензиму може бути зменшення об'єму протейнової кишені. При цьому зменшуються об'єми активного центру та каналу, що значно ускладнює доступ субстратів до порожнини активного центру.

#### КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ ЦИТОХРОМА P-450 2E1 ЧЕЛОВЕКА

В. О. Китам, Н. А. Чащин

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев;  
e-mail: v.o.kitam@gmail.com; chaschin@imbg.org.ua

Проведено сравнение пространственных структур СУР2Е1 человека, полученных экспериментальным путем, и структур, рассчитанных с использованием компьютерных методов. Структуры охарактеризованы по таким параметрам, как общая энергия, объем протейнового кармана и общий объем молекулы, анализ качества пространственной геометрии.



Таблиця 7. Стереохімічно неможливі контакти та відхилення від ідеальної геометрії просторових структур

№ п/п	Структури	Стереохімічно неможливі контакти ( $\leq 0,22$ нм)	Середньоквадратичне відхилення від ідеальної геометрії	
			Кути між зв'язками, °	Довжина зв'язків, нм
1	Неоптимізована модель	0	2,0	0,0013
2	Оптимізована модель	0	3,6	0,0035
3	Модель + хлорзоксазон	0	2,3	0,0026
4	Модель + кверцетин	0	3,6	0,0034
5	3E4E	0	3,7	0,0035
6	3E6I	0	1,4	0,0014

Полученные результаты показали, что рассчитанная и оптимизированная модель может быть применена для исследования механизмов взаимодействия активного центра энзима с субстратами и ингибиторами. Показано, что одним из механизмов инактивации энзима может быть уменьшение объема протеинового кармана. При этом уменьшаются объемы активного центра и канала, что существенно усложняет доступ субстрата к полости активного центра.

Ключевые слова: цитохром P-450 2E1 человека, компьютерное моделирование пространственной структуры, молекулярная динамика, докинг, валидация пространственных структур протеинов.

#### COMPUTATIONAL MODELING OF THE HUMAN CYTOCHROME P-450 2E1 COMPLEX FORMATION

V. O. Kitam, M. O. Chashchin

Institute of Molecular Biology and Genetics,  
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;  
e-mail: v.o.kitam@gmail.com, chashchin@imbg.org.ua

#### Summary

A comparison has been made between spatial structures of human CYP2E1 obtained experimentally and those calculated using the computer methods. The structures were characterized by such parameters as total energy, protein pocket volume and total volume of molecules as well as the analysis of spatial geometry. The obtained results have proved that the model calculated and optimized by us can be used for studying the mechanisms of interaction of the active center of the enzyme with

substrates and inhibitors. An assumption was made in the course of the research that one of the possible mechanisms of inactivation of the enzyme is the reduction of protein pocket volume, which prevents substrate access to the active center.

Key words: human cytochrome P-450 2E1, computer modeling of spatial structure, molecular dynamics, docking, validation of protein spatial structures.

1. Raag R., Poulos T. L. // *Biochemistry*. — 1989. — **28**. — P. 7586–7592.
2. Ravichandran K. G., Boddupalli S. S., Hasemann C. A. et al. // *Science*. — 1993. — **261**. — P. 731–736.
3. Hasemann C. A., Ravichandran K. G., Peterson J. A., Deisenhofer J. // *J. Mol. Biol.* — 1994. — **236**. — P. 1169–1185.
4. Sutcliffe M. J., Haneef I., Carney D., Blundell T. L. // *Protein Eng.* — 1987. — **1**, N 5. — P. 377–384.
5. Данко И. М., Одынец К. А., Кутам В. О., Чащин Н. А. // *Укр. біохім. журн.* — 2006. — **78**, № 2. — С. 154–162.
6. Kuntz Irwin D., Blaney Jeffrey M., Oatley Stuart J. et al. // *J. Mol. Biol.* — 1982. — **161**, N 2. — P. 269–288.
7. Porubsky P. R., Meneely K. M., Scott E. E. // *J. Biol. Chem.* — 2008. — **283**. — P. 33698–33707.
8. Ritchie D. W. // *Curr. Prot. Pep. Sci.* — 2008. — **1**, N 9. — P. 1–15.
9. Phillips James C., Braun Rosemary, Wang Wei, Gumbart J. // *J. Computat. Chem.* — 2005. — **26**. — P. 1781–1802.
10. Humphrey W., Dalke A., Schulten K. // *J. Mol. Graphics.* — 1996. — **14**. — P. 33–38.

11. Price Daniel J., Brooks B. R. R. // *J. Chem. Physics.* – 2004. – **121**, N 20. – P. 10096–10103.
12. Brooks B. R. R., Brooks C. L. L., Mackereil A. D. D. et al. // *J. Computat. Chem.* – 2009. – **10**, N 30. – P. 1545–1614.
13. Saju Joy, Parvathy S. Nair, Ramkumar Hariharan, Radhakrishna M. Pillai // *In Silico Biology.* – 2006. – **6**. – P. 0053.
14. Collom Samuel L., Jamakhandi Arvind P., Tackett Alan J. et al. // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2007. – **459**, N 1. – P. 59–69.
15. Lewis D. F., Lake B. G., Bird M. G. et al. // *Toxicol. In Vitro.* – 2003. – **17**. – P. 93–105.
16. Lewis D. F., Bird M. G., Dickins M. et al. // *Xenobiotica.* – 2000. – **30**. – P. 1–25.
17. Ramachandran R. // *Physical. Review.* – 1965. – **139**, N 1B. – P. B121–B125.

Отримано 06.08.2009