

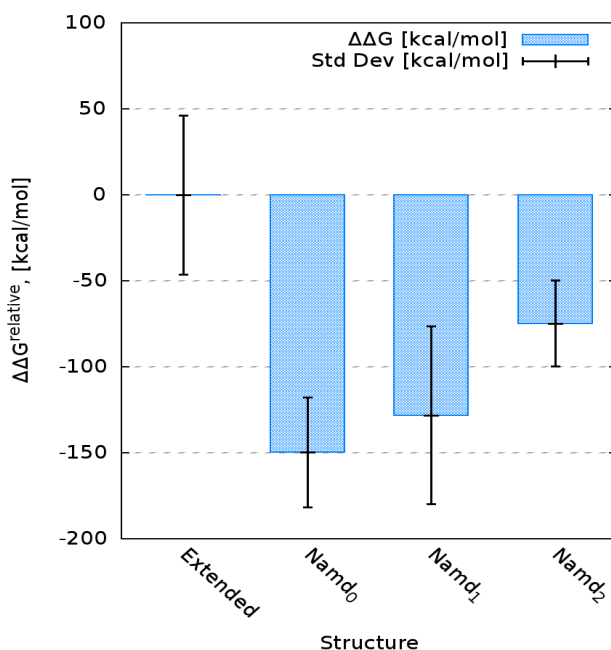
РП 10: Суперкомпютърни симулации на биологични молекули и системи

Задача 10.1.1 Изследване на нагъването и стабилността на конформациите на С-краищата на човешки интерферон гама

За да се определи коя структура е енергетично най-изгодна, бяха проведени серия симулации по метода на пертурбиране на свободната енергия на центроидите на най-големите клъстери на NAMD+CHARMM22 симулацията. Целта беше да се пресметне енергията им на разтворимост, която да послужи като индикатор за стабилността на съответната структура. За всеки от центроидите и за началната разгъната конформация бяха направени по 3 независими симулации и резултатът беше усреднен.

Симулациите бяха извършени с пакета NAMD2.9, като плавно беше изключвано взаимодействието между протеина и разтворителя. Този преход беше разделен на 67 прозореца. Във всеки прозорец беше направена кратка минимизация от 500 стъпки, последвана от 7000 стъпки уравнивяване и още 2000 стъпки, по време на които се набираха статистически данни. След това преходът беше обърнат, като взаимодействията между белтъка и водата бавно се включват. При тази симулация беше използван същият симулационен протокол.

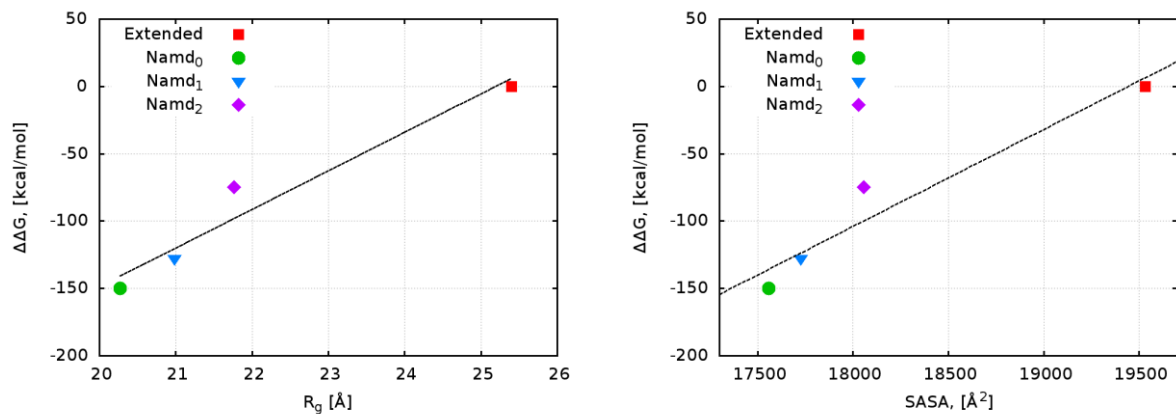
Усреднените енергии на разтворимост на началната структура и центроидите на най-големите клъстери и стандартното им отклонение, изчислени спрямо началната референтна конформация са представени на Фиг. 1.



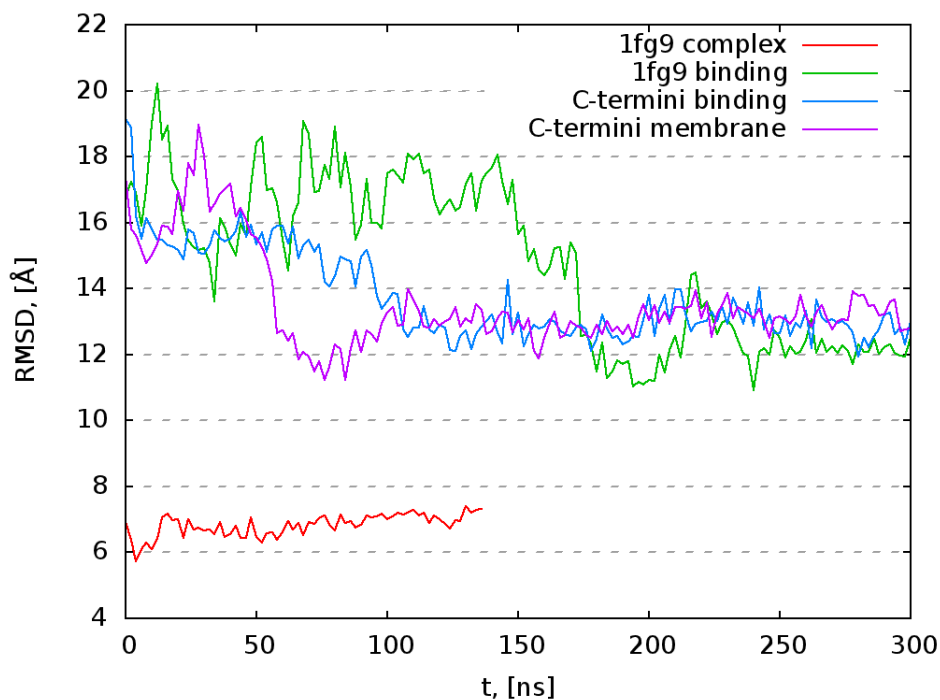
Фиг. 1 Относителни енергии на разтворимост на центроидите на трите най-големи клъстери на NAMD+CHARMM22 симулацията спрямо началната разгъната конформация.

Както се очакваше, представителите на двата най-големи клъстера, които обхващат около 72% от симулацията по нагъване имат значително по-ниска енергия на разтворимост от разгънатата начална структура. Това са и най-компактните конформации. Установено беше, че енергията на разтворимост намалява с намаляването на площта на протеина, достъпна за

разтворителя (SASA), както и с радиуса на въртене и с разстоянието между C α атомите от C-опашките и центъра на масите на глобулярната част. Тази корелация е представена на Фиг. 2.



Фиг. 2 Корелация между енергията на разтворимост на структурите и (а) радиуса на въртене; (б) повърхнината, достъпна за разтворителя.



Фиг. 3 Средноквадратично разстоянието между центровете на масите на активните центрове на свързване в молекулата на hIFN γ и в тази на hIFN γ R α .

От направения анализ следва, че коформацията на центроида на нулевия клъстер е най-стабилна. Ето защо тази структура беше избрана за провеждане на симулации по формиране на комплекс hIFN γ -hIFN γ R α . Бяха направени следните симулации:

А) Референтна симулация на интерферон без C-краища и два рецептора в комплекс от PDB 1FG9. Симулацията е с продължителност 130 ns и дава референтните стойности за разстоянията между свързващите центрове в интерферона и рецепторите, когато има формиран комплекс.

Б) Втора референтна симулация на интерферон без С-краища и два рецептора, но не в комплекс, а разделени на разстояние 1.8 nm. Целта на тази симулация беше да се види какво влияние оказват С-краищата на hIFN γ върху свързването.

В) Симулация за свързване на интерферон с изградени и нагънати С-краища и двата рецептора, като началната коформация на hIFN γ е на центроида на нулевия клъстер от NAMD+CHARMM22 симулацията по нагъване.

Г) Аналогична на В) симулация, но в просъствието на мембрана, за да се провери, дали взаимодействието с полярна мембрана ще промени взаимодействието на цитокина с рецепторите.

Симулации Б), В) и Г) са с продължителност 300ps. За съжаление, беше установен, че С-краищата на hIFN γ не спомагат за свързването с рецепторите. На Фиг. 3 са представени стойностите на средно-квадратното разстояние между центровете на масите на свързващите центрове в hIFN γ и рецептора за четирите симулации. Както се вижда, при нито една не се стига до формиране на комплекс. Това се дължи на високия енергетичен бариер, който трябва да се преодолее. Предвижда се да се проведат симулации по разрушаване на комплекса hIFN γ -hIFN γ R α по метода на метадинамиката, за да се установи колко голям е този бариер.

Задача 10.1.2 Изследване на влиянието на точкови мутации в представения пептид върху процеса на формиране на рМНС комплекс и неговото разпознаване от Т-клетъчните рецептори

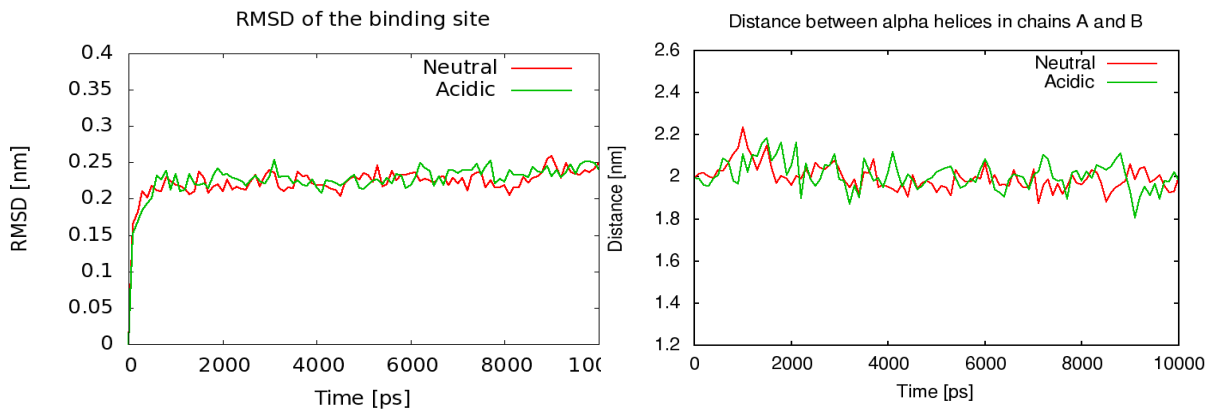
Продължиха започнатите в края на предходния отчетен период изследвания на една от ключовите компоненти на имунната система – главния комплекс за тъканна съвместимост МНС. МНС (при човека известен още като HLA) презентира на клетъчната повърхност (фрагмент от) протеин, наречен епитоп, формирайки с него рМНС (пептид – МНС) комплекс. Върху клетъчната повърхност този пептид (или по-скоро целият рМНС комплекс) бива подложен на идентификация от страна на Т-клетките като след евентуалното формиране на TCRpMНС комплекс може да се стигне до инициране на имуен отклик. Разбирането в детайли на този процес е от критична важност за опитите за модулиране на имунната активност на организма както в положителна (при атакуването на предимно вирусни, но и бактериални инфекции), така и в отрицателна (при борбата с автоимунните заболявания) посока.

Потенциалната практическа ориентация на моделните изследвания поставя с особена острота въпроса за критериите за оценка на молекулно-динамичните симулации и получаваните на тяхна база резултати. Засега не съществува метод, позволяващ еднозначното характеризирание на дадена симулация като сходяща. Беше предложен метод за оценка на сходимостта на МД симулациите на големи белтъчни комплекси (от типа на главния комплекс за тъканна съвместимост) – т.н. последователно-корелиран RMSD анализ (lagged RMSD analysis) и формулиран съответният критерий, даващ възможност да се определят ясно уловията, когато една симулация трябва да бъде продължена. Този анализ се базира на RMSD стойности между двойки конфигурации, разделени от променлив времеви интервал Δt . Бяха изследвани зависимостите на резултатите от началните условия, максималната стойност на променливата времева стъпка, началната точка на референтния интервал t_{offset} . За все още неконвергирали симулации формата на RMSD(Δt) силно зависи от t_{offset} . Методът комбинира сглаждащия ефект на усредняването със специфичността на времевия интервал между сравняваните конфигурации. Тъй като времето за «полу-насищане» намалява при нарастването на t_{offset} , при избора на конфигурации с достатъчно голямо t_{offset} за референтни платото на RMSD се достига относително по-бързо. Това ни води до извода, че използваемите (независимите) конформации са инвариантна характеристика, независеща от дължината на траекторията – около 75%.

Въпреки че направеният анализ отчита спецификата на TCRpMНС комплексите, очакваме че той е приложим и за други подобни (големи) молекулни системи за оценка на

сходимостта на провежданите МД симулации и на статистическото качество на получените от тях изводи. Тези резултати са публикувани в една журнална статия.

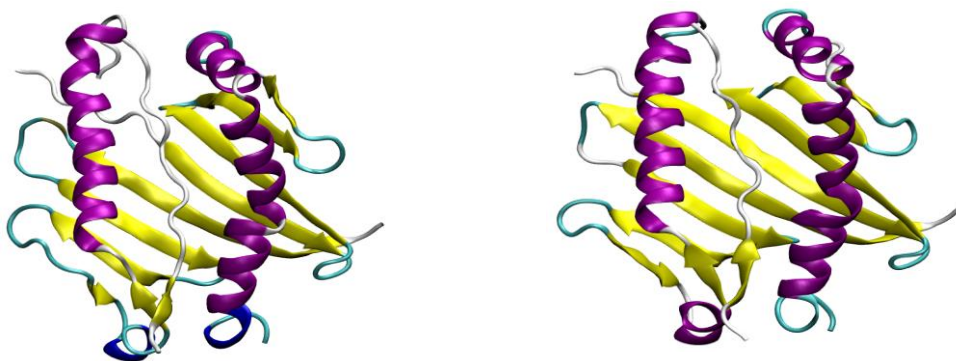
Предложеният метод е в основата на изследването на молекулната мимикрия като способ за Т-клетъчна идентификация. Моделирано беше свързването на Т-клетъчния рецептор LC13 както с представители на типа HLA-B*08, така и на HLA-B*44. Беше направена подробна «карта» на контактната област. Получените резултати са в процес на систематизиране и



оформяне във вид на статия.

Фиг. 4 а) Средно-квадратично отклонение на атомите на протеина за свързаните системи: с червено за неутралната и със зелено за киселата; б) Разстоянието между алфа-спиралите от вериги А и В се запазва.

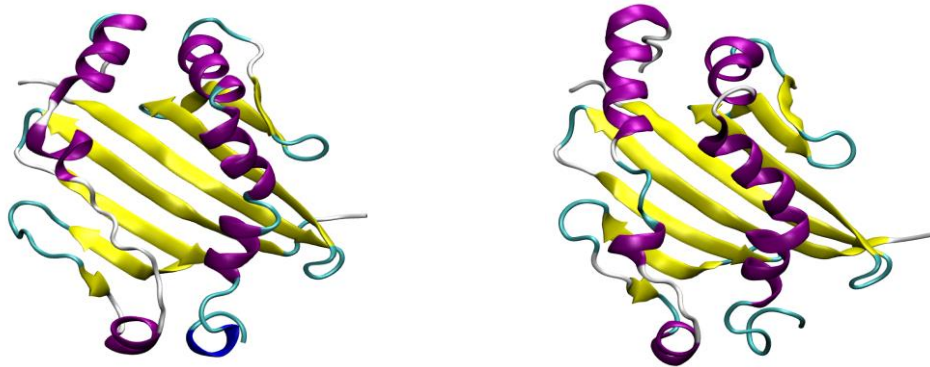
Бяха проведени серия симулации на пептиди с една или няколко точкови мутации, свързани към HLA-B*0701 с цел разработване на МД-базирана методика за количествена оценка на активността им на свързване в контекста на разработването на конкретен медикамент. Важността на тези изследвания се определя от ролята им на тренировъчен пример за изследването на активността на свързване на комплекса KIR-HLA:пептид, който е особено интересен поради възможността за селектиране на Т-клетки, активни към HLA:пептид комплекс, включващ пептид от HIV. Прогнозната оценка би била от изключително значение поради липсата на експериментални данни. Сравнението на предсказанияте и експериментално получените (в Медицинския факултет на Imperial College в Лондон) стойности показва 0.68% съвпадение, което е сравнимо с резултата на най-добрия прогностичен софтуер (0.69%). Предстои оформяне и публикуване на тези първи резултати и продължаване на съвместните изследвания по тази тематика.



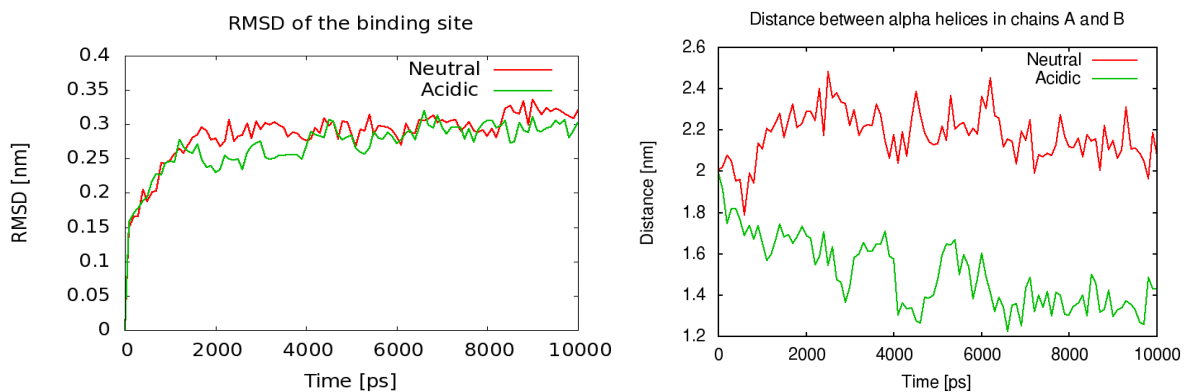
Фиг. 5 Структури на МНС клас 2 в комплекс с CLIP пептид: а) неутрална система; б) кисела система. На фигурата е представен само свързващия център на протеина и пептида.

Задача 10.1.3 Изследване на структурата и електростатичните свойства на главен комплекс за тъканна съвместимост клас 2 (МНС-II) в различни зарядови състояния.

Главният комплекс за тъканна съвместимост претърпява взаимодействия в среда с различна киселинност. За по-пълното описание на процесите, в които той участва беше изграден електростатичен модел на молекулата на МНС, който напълно отчита презареждането на аминокиселинните остатъци при прехода от 7 към 4.5 рН. На тази база бяха дефинирани 4 молекулни системи, върху които бяха проведени изследванията. Това са несвързан белтък във вода в неутрално и кисело зарядово състояние и свързан белтък, отново в неутрално и кисело зарядово състояние. Преминването от неутрална към кисела форма в нашия модел се реализира чрез презареждане на всички йоногенни аминокиселини в белтъка, което за всяка от тях зависи от рН, но и от заобикалящите аминокиселини. Промяната на зарядовото състояние доведе до промяна на заряда от -17 до 0 за прехода от 7 към 4.5 рН единици.



Фиг. 6 Структури на несвързани МНС клас 2: а) неутрална система; б) кисела система. На фигурата е представен само свързващия център на протеина.

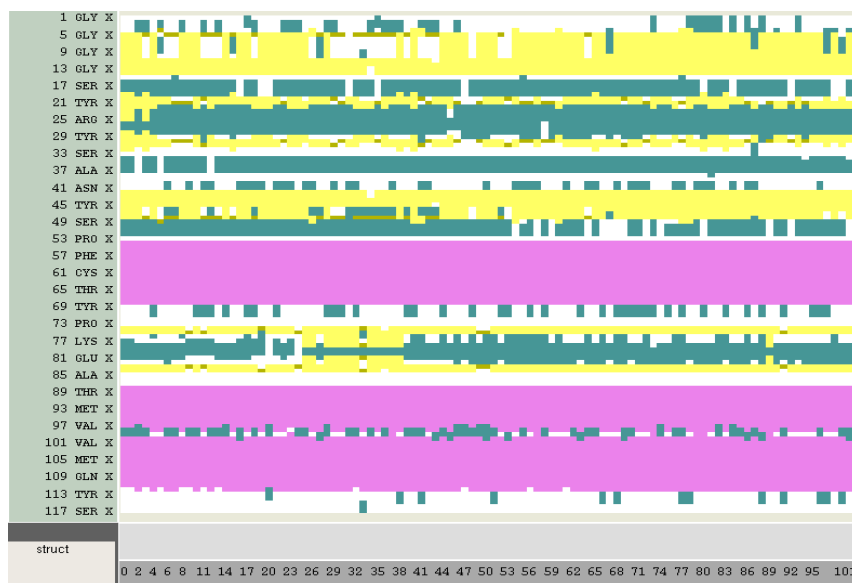


Фиг. 7 а) Средно-квадратично отклонение на атомите на протеина за несвързаните системи: с червено за неутралната и със зелено за киселата; б) Разстоянието между алфа-спиралите от вериги А и В се запазва за неутралната система, макар и тя да е частично разплетена (с червено), но значително намалява за киселата система и инактивира молекулата (със зелено).

За свързаните системи беше избран пептид, който е част от инвариантна верига, която свързва всички аналози на МНС, които варират при различните индивиди, който пептид за по-кратко ще наричаме CLIP.

Изчисленията бяха проведени с програмен пакет за молекулярна динамика Gromacs и силово поле Gromos53a6. Всяка от 4-те системи е симулирана за 10 ns в NVT ансамбъл при 310 K температура. За разлика от предишни симулации на свързани с CLIP структури, в този случай

конформацията на протеина се запазва, което е в съгласие с общоприетата теория за функцията на МНС2 молекулите. Не се наблюдават конформационни изменения нито при неутралната, нито при киселата система. В предишен етап на нашата работа имаме случай на частично разгънат протеин, което се дължеше на недостатъчно големия симулационен обем. Тъй като симулациите са с периодични гранични условия, недостатъчния слой водни молекули до стената на кутията не позволяваше екранирането на самовзаимодействие с долната част на молекулата на протеина. При увеличаване на минималното разстояние от белтъка до края на симулационната кутия от 1 на 2 nm, системата остава стабилна за целия период. Средно-квадратични отклонения за неутралната и киселата система са представени на Фиг. 4а. Вижда се, че те бързо достигат плато, което е критерий за стабилност на заетата конформация. Дефиниран беше параметър “разстояние между алфа-спиралите във вериги А и В на молекулата на МНС”, който остава постоянен за тези два случая – Фиг. 4б. Получените структури са представени на Фиг. 5.



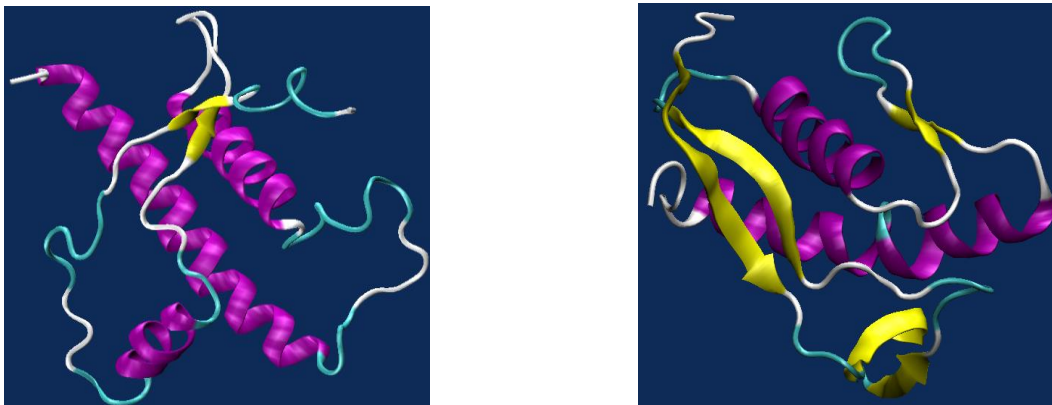
Фиг. 8 Изменение на вторичната структура на модела на скрепи формата на приона със симулационното време. По оста Y е нанесена аминокиселинната последователност на приона, а цветният код обозначава вторичната структура, в която участват аминокиселините: лилаво за алфа-спирала, жълто за бета-лист, а бяло и зелено за неструктурирани участъци от молекулата. Вижда се, че количеството бета-структура се запазва по време на симулацията.

При несвързаните системи се наблюдават конформационни изменения, които се различават за киселото и неутралното състояние. Докато неутралното състояние претърпява разрушаване на алфа спирала и остава с по-свободно плаваща верига, киселото състояние придобива по-затворена конформация като по този начин затваря свързващия си център и преминава в неактивна форма – Фиг. 6. На Фиг. 7а отново са представени средно-квадратичните отклонения на всички атоми на протеина за времето на симулацията, които също достигат плато, но на по-късен етап от симулацията. Различията в крайната конформация по-добре се описват от хода на разстоянието между алфа-спиралите А и В, което се запазва за неутралната, но значително намалява за киселата система – Фиг. 7б. Изследванията продължават.

Задача 10.1.4 Изследване на конформационното пространство на прион протеини в търсене на кандидати за скрепи форма.

Прионите са протени, за които не се знае много. Произвеждат се в нервните клетки, но функцията им е неизвестна. Известно е, че съществуват в две форми – нативна, която е безвредна за организма и патогенна, още наричана “скрепи” форма, която е свързана с редица редки заболявания с летален изход. Тези две форми на белтъка имат еднаква аминокиселинна последователност, но различна пространствена структура, както и коренно различни физични характеристики. Нативната форма е разтворима, неустойчива на протеази и се среща в мономерно състояние, докато патогенната форма е неразтворима, устойчива на протеази, топлина, радиация, химически вещества и разтворители, има свойството да агрегира и да образува в последствие амилоидни плаки. Това е механизмът, по който причинява клетъчна смърт. Друга особеност на прионите е, че скрепи формата взаимодейства с нативната и спомага за нейното пренагъване до образуване отново на скрепи форма. Изследванията на този белтък са от основно научно, а също и медицинско значение.

Основен проблем при изследвания на прионите е, че досега не е получена експериментална структура на скрепи формата му. Затова беше проведено изследване с цел да се обходи конформационното пространство на нативен прион в търсене на кандидати за скрепи форма, която съгласно експериментални данни за вторичната структура, трябва да съдържа повече от 30 % бета структури.



Фиг. 9 Структура на а) нативна форма; б) модел на скрепи форма на приона.

За бързото и ефективно обхождане на конформационното пространство беше избран метода на молекулната динамика с размяна на реплики. Бяха проведени серия от симулации като за начало беше симулирана система на разтворена във вода нативна форма на прион за 10 ns със стандартна молекулна динамика за уравнивяване. След това бяха проведени две симулации с метода на молекулната динамика с размяна на реплики в два различни температурни диапазона – от 300 до 318 K и от 310 до 338.5 K с продължителност съответно 4.2 и 105 ns. За симулациите е използван пакета за молекулно динамични симулации Gromacs, със силово поле Gromos53ab, в NVT ансамбъл и при наложени периодични гранични условия.

Получена беше структура със съдържание на аминокиселини, участващи в бета-листове, от 28.7 %. Наблюдава се разплитане на част от алфа-спиралните региони на молекулата и образуване на бета-листове в близост до N-края на белтъка. В допълнение беше проведена симулация със стандартна молекулна динамика за оценяване на стабилността на получената конформация за време от 10 ns. На Фиг. 8 е показано изменението на вторичната структура с времето за конформацията с максимално количество бета-листове, която се запазва.

На Фиг. 9 са показани нативната форма и получения модел за скрепи формата на приона.

Задача 10.1.5 Профилиране на версия на Gromacs 4.6 с поддържане на графичен ускорител

Беше проведено изследване за профилиране на софтуерния пакет за молекулно динамични симулации Громакс, версия 4.6, в режим на работа, в който се използва графичен ускорител. В него се проследява работата на функциите, които се изпълняват на графичния ускорител, както и преноса на данни между него и централния процесор.

Версията на програмния код беше компилирана за съвместна употреба на процесор и графичен ускорител. Инсталацията е в единична точност и използва avx векторизация на данните. Възможността за използване на графичния ускорител беше осигурена чрез използването на съвкупността от библиотеки и инструменти на NVIDIA – CUDA Toolkit 5. Изследването е проведено на локална линукс базирана машина, разполагаща с 4-ядрен процесор Xeon на Intel и NVIDIA GTX 680 графичен ускорител.

В програмния модел на пакета Громакс, изчисленията се разделят между централния процесор и графичния ускорител, на който се прехвърля изчислението на частта от далекодействащите сили, която се пресмята в реалното пространство. За целите на изследването беше подбрана молекулна система, съдържаща комплекс на човешки интерферон гама с извънклетъчната част на неговия специфичен рецептор, възлизаща на приблизително 180 000 атома, която се симулира за 10000 стъпки.

Профилирането на програмния код е извършено с вградения в CUDA Toolkit 5 инструмент за профилиране на приложения за графични ускорители NVIDIA Visual profiler. За разлика от други профилиращи програми, това приложение не инструментира програмния код предварително, а се възползва от вътрешни за програмния модел CUDA особености, които позволяват да се проследи колко време е отнело изпълнението на отделните функции, които се изпълняват на графичния ускорител. Недостатък на този начин на работа е, че не може да се проследи времето за изпълнението на цялата програма, а само на тези части от нея, които се изпълняват на графичния ускорител.

Във версия 4.6 на пакета Громакс са дефинирани 6 функции, които се изпълняват на графичния ускорител. В резултат на изследването беше установено, че най-много време отнема процедурата `k_nbxn_ewald_twin` – 86% от общото време, прекарано в графичния ускорител. Това се обяснява с най-големия брой извиквания на тази процедура от главната програма – 8910. По-интересен е фактът, че отделните извиквания на коя да е функция имат много близки времена за изпълнение. Горепосочената функция, например, се изпълнява за 33 до 34 ms при всяко извикване. Такова поведение се наблюдава и при останалите функции. Времето за изпълнение варира между 15 и 34 ms, но за една и съща функция отделните извиквания отнемат приблизително еднакво време. Това е признак за добре оптимизирани процедури, докато броят на извикванията зависи от особености на реалната физична система, която трябва да се решава и не може да се контролира от гледна точка на програмния код.

Друга проследима особеност на този хибриден модел на работа е комуникацията между централния процесор и графичния ускорител и преноса на данни. В рамките на тестовата симулация от централния процесор към графичния ускорител се прехвърлят общо около 12 GB данни, а в обратна посока около 8 GB. Отново се наблюдава еднакво време за единична операция на пренос на данни, този път от порядъка на 0,3 ms от централния процесор към графичния ускорител и 0,17 ms наобратно, което е признак за стабилна процедура по обмен на данни. Броят на извикванията в първия случай е 20835, а във втория случай е 13004. Като недостатък трябва да се отбележи, че максималната скорост на преноса на данни достига до 1,9 GB/s за комуникация от централния процесор към графичния ускорител и по-малко в обратната посока, което е значително по-малко от максималната реализуема скорост на пренос на данни за стандарта PCI express 2.0, която е 8 GB/s. Възможно е това ограничение да не може да се достигне заради специфичен начин, по който трябва да се прехвърлят данните, който зависи от алгоритмите, заложили в програмата.

Задача 10.1.6 Изследване на производителността на пакета GROMACS 4.6.1 на хибридна CPU/GPU архитектура

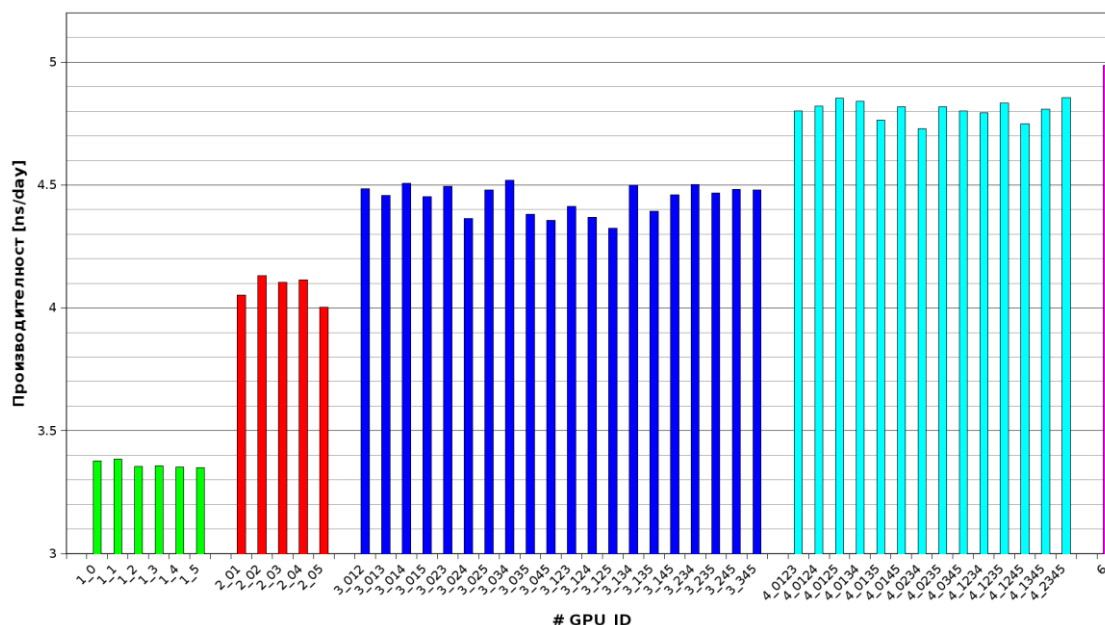
Беше инсталирана хибридна версия на пакета за молекулно-динамични симулации GROMACS 4.6.1 на хибридна CPU/GPU архитектура. Тестовата машина се състои от 2 процесора Intel Xeon E5649 с по 6 ядра с по 2 нишки, които са оборудвани с 6 графични ускорителя NVIDIA Tesla M2090 с по 512 CUDA ядра. Допълнително, пакетът беше инсталиран да използва SSE4.1 инструкции.

Тестовата система е белтъчен комплекс на човешки интерферон гама и два негови клетъчни рецептора във водна среда. Тя се състои от 180 411, като 169 023 от тях са вода и 11 382 са протеинови атоми. описани от силово поле CHARMM 22 и модифициран TIP3P модел на водата. Всички симулации са правени в явен разтворител, с наложени периодични гранични условия, използва се метода PME за пресмятане на електростатичните взаимодействия, с твърди връзки, при постоянна температура и налягане и времева стъпка от 2 fs. Симулациите бяха с продължителност 40 000 стъпки, като броячите бяха рестартирани по средата (след 20 000-ната стъпка).

Основната задача беше да се изследва как зависи производителността на пакета при вариране на броя на графичните ускорители. Освен това беше проверено как избора на конкретни GPU карти ще се отрази на производителността. Обобщени резултати са представени на Фиг. 10. Беше установено, че различното разпределение на графичните ускорители оказва минимално въздействие върху производителността на пакета (около 3%).

Най-високите получени стойности на производителността и съответно ускорението са дадени в Таб. 1 и са представени на Фиг. 11.

Както се вижда, най-съществено нарастване на ускорението се получава при използването на 2 графични ускорителя (около 20%). Последващото включване на още GPU карти в изчисленията ги ускорява с около 10% на графичен ускорител, като при използването на всички 6 карти се наблюдава още по-влошена скалируемост. Може да се направи извода, че използването на повече от 3 GPU карти е неефективно.

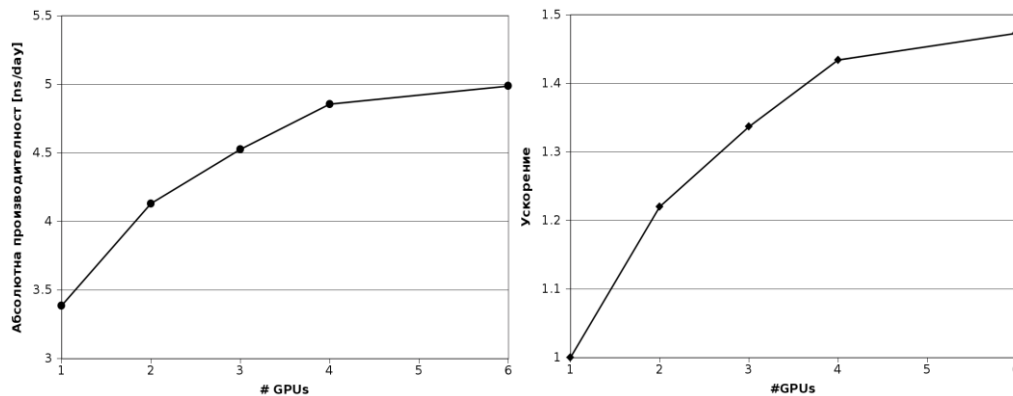


Фиг. 10 Производителност на GROMACS 4.6.1. за тестова система със 180 000 атома при вариране на броя и разпределението на графичните ускорители. По абсцисата са нанесени различният брой използвани GPU-карти, а след долното тире – тяхното разпределение (ID).

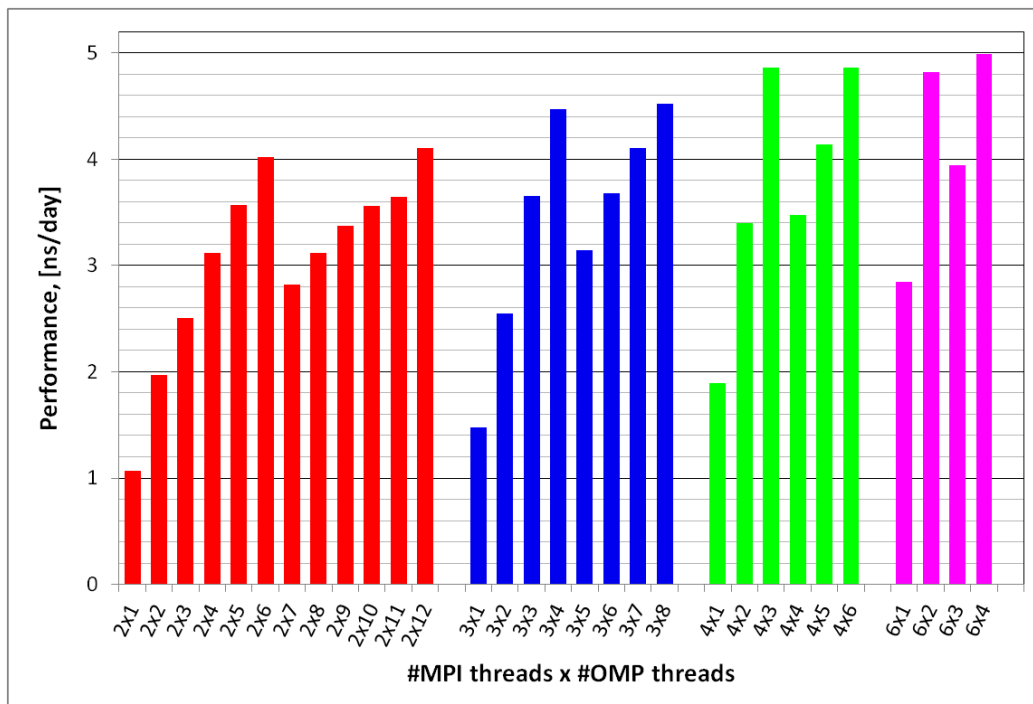
Беше изследвано и как зависи производителността от броя OMP нишки и от използването на хипертрединг (Фиг. 12). Както се вижда, хипертрединга подобрява скалируемостта на GROMACS.

Табл. 1

Брой GPU	Производителност,[ns/day]	Ускорение
1	3.386	1
2	4.131	1.22
3	4.526	1.34
4	4.856	1.43
6	4.988	1.47



Фиг. 11 Зависимост на максималната производителност и ускорението на GROMACS 4.6.1 за тестова система със 180 000 атома от броя на графичните ускорители.



Фиг. 12 Зависимост на производителност на GROMACS 4.6.1 за тестова система със 180 000 атома от броя на графичните ускорители и броя на OMP нишките.

Задача 10.1.6 *Разработване на библиотеки за решаване на уравнението на Поасон*

През отчетния период беше реализиран алгоритъм за решаване на уравнението на Поасон като бяха разработени библиотеки с цел прилагането им за третиране на далечни електростатичните взаимодействия в програмни пакети за молекулно-динамични симулации. Разработените библиотеки бяха написани на програмните езици C и Fortran 90. Директното разшаване на гореспоменатото уравнение е един от начините да се избегне използването на периодични гранични условия в случаите, в които това може да доведе до появата на артефакти или нежелани странични ефекти. Бяха разработени два алгоритъма: по метода на спрегнатите градиенти и стабилизирани с двойно спрегнат градиент. Платформите, на които бяха изпробвани реализациите са: IBM BlueGene/P и NVIDIA CUDA.

Задача 10.1.7 *Разработване програмен пакет за пресмятания по метода на фрагментиране на молекулните орбитали*

Метода на молекулните орбитали е изчислителна техника за разделяне на пресмятания на електронната плътност на големи молекули чрез разделянето им на фрагменти. Енергията и електронната плътност се пресмятат за отделните фрагменти, двойки от фрагментите и т.н., ако е нужна по-висока точност. Всеки фрагмент и двойка от фрагменти се смята поотделен и независим начин. Тава дава възможност да се увеличи мащабирането на производителността чрез намаляване на комуникациите в сравнение със случая когато енергията и електронната плътност се пресмятат чрез една паралелна задача. Следвайки представената идея бяха разработени три програмни приложения – Fragmen, Gridpot и беше модифицирана програмата CP2K така, че пресмятанията по метода на функционала на електронната плътност да се извършват във външно електростатично поле, зададено върху решетка. Fragmen заделя входната молекула на фрагменти по зададен от потребителя критерии и терминира свободните валентни електрони чрез добавяне на допълнителни водородни атоми. Програмата Gridpot пресмята електростатичното поле в предварително дефинирана област за всеки от фрагментите като се отчита електростатичното поле на всички останали фрагменти. Модифицирана версия на програмата CP2K взема като входни данни координатите на атомите на фрагмента, електростатичното поле, създадено от останалите фрагменти, дефинирано върху решетка. Така се пресмятат толкова независими задачи, колкото са фрагментите. Следващата стъпка повтаря вече описаната процедура като вместо фрагменти се пресмятат двойки фрагменти, които са образувани така, че да се пресмятат само двойки от най-близки съседи. Последната стъпка представлява реконструиране на пълната енергия на молекулата и нейната електронна плътност.

Задача 10.2 Структура и динамика на пептидил трансферазният център в РНК.

Изследване на Na и Mg йони в съседство с скелета на РНК с ab initio молекулна динамика

Взаимодействията между натриевите и магнезиеви йони и фосфатните групи от скелета на РНК във воден разтвор са изследвани чрез използването на ab initio молекулна динамика на Борн – Опенхаймер (Фиг. 13). Приложена е Теорията на Функционала на Плътността с функционал PBE и набор базисни функции DZVP. Всички ab initio молекулно динамични симулации са проведени в NVT ансамбъл със стъпка от 1 fs. Изследваните системи се състоят от динуклеотиден фрагмент РНК (включващ рибоза) без нуклеобазите. Включени са два Na⁺ или един Mg²⁺ йон, необходими за неутрализиране на отрицателните заряди на фосфатните групи.

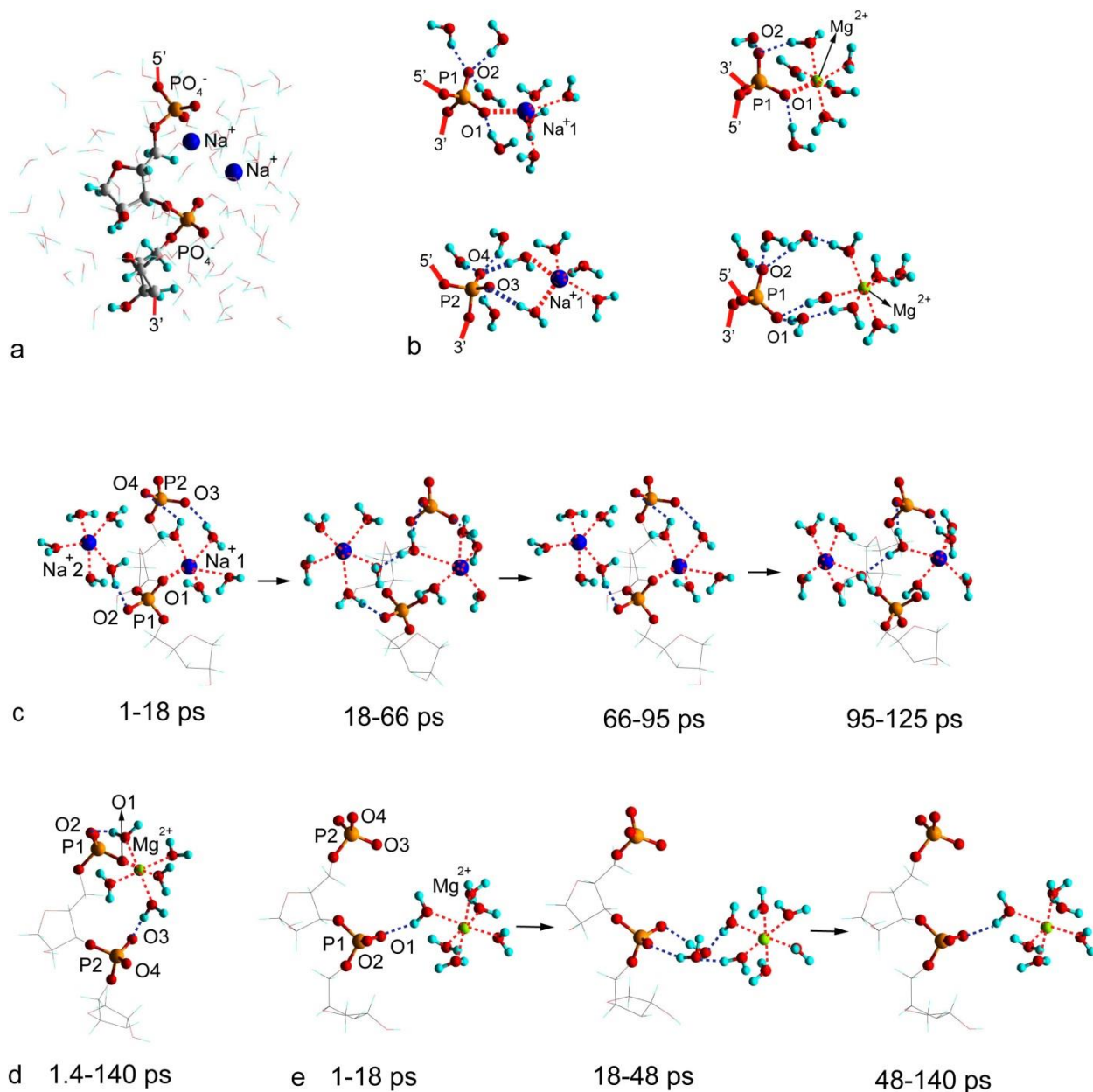
Натриевите йони се оказват по-мобилни от магнезиевите и често сменят позицията си спрямо фосфатните групи. Те могат да се намират както в директно свързано състояние, така и

да са напълно солватирани. По време на симулацията при 300 K (104 ps) времето за което Na^+ остава директно свързан е около 20 - 30 ps. Йонът координира само един от кислородните атоми от фосфатната група на разстояние около 235 – 255 pm. Един от изследваните натриеви йони остава напълно солватиран през цялата симулация.

Натриевите йони свързват 4 до 7 кислородни атома от водни молекули или фосфатни групи в първата си координационна обвивка като най-често срещаното координационно число 5 (около 80% от симулационното време), следвано от координационно число 6 (около 15% от времето). Координационното число на натриевите йони често се променя през неправилни интервали варирайки от няколко фемтосекунди до около 10 ps. Разстоянието между натриевия йон и кислородния атом от първата координационна обвивка е около 235 pm и не зависи от произхода на кислородния атом – от водна молекула или фосфатна група.

Двете състояния на системите, когато Mg^{2+} е директно свързан с фосфатната група или е напълно солватиран се оказват стабилни за по 140 ps. Магнезиевият йон се свързва с един от кислородните атоми от фосфатна група на избрания РНК фрагмент с оптимално $\text{Mg}^{2+} \dots \text{O}=\text{P}$ разстояние от около 205 pm. Напълно солватираният Mg^{2+} взаимодейства с фосфатните групи през една или две водни молекули. Директно свързаните и напълно солватиранияте магнезиеви йони имат точно 6 кислородни атома в първата си координационна обвивка. Трябва да се отбележи, че през цялата симулация при 300 K и 320 K не се наблюдава обмен на лиганди в първата координационна обвивка на Mg^{2+} . Разстоянието между магнезиевия йон и кислородните атоми от първата му координационна обвивка е около 215 pm.

Стабилността на системата съдържаща натриеви йони не зависи пряко от позицията на йоните спрямо фосфатните групи. Енергетичната разлика между свързаното и солватираното състояние на един от катионите е едва 6 kJ/mol (симулирано при 300 K). Тази стойност е пренебрежимо малка за системата и най-вероятно се дължи на вариации в подреждането на водните молекули.



Фиг. 13. Избрани моменти от симулациите: (a) кутията в която са извършени симулациите със скелета на РНК и два натриеви йона (водните молекули са показани само като линии); (b) водните молекули солватирани фосфатните групи P1 или P2 както и катионите в солватирано или свързано състояние; (c) позиции на натриевите през различните времеви периоди; (d) свързания магnezиев йон и (e) напълно солватирания магnezиев йон през различните времеви периоди.

Публикации

(a) излезли от печат

1. G. Nacheva, E. Lilkova, P. Petkov, P.St. Petkov, N. Ilieva, S. Markov, S. Petrov, I. Ivanov, and L. Litov, *In silico studies on the stability of human interferon-gamma mutants*. *Biotechnology and Biotechnol. Eq.* **26** (2012) 200–204; doi: 10.5504/50YRTIMB.2011.0036 (IF 0.760, ISSN 1310-2818);

2. D. Grancharov, E. Lilkova, N. Ilieva, P. Petkov, L. Litov, *Open problems in High-Performance Molecular-Dynamics Simulations*. Information Technologies and Control **2** (2012) 23–29 (John Atanasoff Society of Automatics and Informatics, Sofia, 2012; ISSN: 1312-2622);
3. L. Litov, I. Ivanov, P. Petkov, P. Petkov, E. Lilkova, S. Markov, N. Ilieva, G. Nacheva, S. Petrov, *A new approach to cope with autoimmune diseases: computer simulations and laboratory tests*. Radiotherapy and Oncology **102** (Suppl. 1) (2012) S134–S135; <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167814012702256> (IF 5.58, ISSN: 0167-8140);
4. W. Schreiner, R. Karch, B. Knapp and N. Ilieva, *Relaxation Estimation of RMSD in Molecular Dynamics Immunosimulations*. Computational and Mathematical Methods in Medicine, Volume 2012, Article ID 173521, 9 p.; doi:10.1155/2012/173521 (IF 0.814, ISSN: 1748-6718);
5. Elena Lilkova, Peicho Petkov, Nevena Ilieva, Damyan Grancharov, Leandar Litov, Petko Petkov, *Molecular Dynamics Simulations of Human Interferon Gamma*. 2nd Congress on Physical Sciences, Sofia, 25-29.09.2013. Book of abstracts, p. ... (Sofia Univ. Press, 2013; ISBN 978-954-07-3600-6);
6. Peicho Petkov, Elena Lilkova, Damyan Grancharov, Nevena Ilieva, Leandar Litov, *Replica exchange MD investigation of conformational space of prion proteins*. nd Congress on Physical Sciences, Sofia, 25-29.09.2013. Book of abstracts, p. ... (Sofia Univ. Press, 2013; ISBN 978-954-07-3600-6).
7. S. Kolev, P. St. Petkov, M. Rangelov, G. N. Vayssilov
“Ab Initio Molecular Dynamics of Na⁺ and Mg²⁺ Counterions at the Backbone of RNA in Water Solution”
ACS Chemical Biology, **8**, 1576-1589 (2013). (IF=5.44)

(б) приети за печат

1. Peicho Petkov, Elena Lilkova, Damyan Grancharov, Petko S. Petkov, Nevena Ilieva, Leandar Litov, *Calculating Binding Free Energies of Variants of hIFN-g and their Extracellular Receptor*. Biomath (ISSN: 1314-7218/online. ISSN: 1314-684X/print) (to appear);
2. Peicho Petkov, Elena Lilkova, Damyan Grancharov, Nevena Ilieva, Leandar Litov, *MD construction of chicken prion protein candidate by replica exchange.(???)Title*. Biomath (ISSN: 1314-7218/online. ISSN: 1314-684X/print) (to appear).

(в) подготвени за печат

- P. Petkov, E. Lilkova, G. Nacheva, P.St. Petkov, I. Ivanov, N. Ilieva, S. Markov, and L. Litov, *Human Interferon Gamma C-Termini Modeling*.
- Nevena Ilieva, Antti Niemi, Xubiao Peng, *On the phase transitions in protein folding*.

Конференции

International Conference on Bioinformatics and Computational Biology, BIOCOMP 2012 (20 – 21 Sept. 2012, Varna, Bulgaria)

- Peicho Petkov, Elena Lilkova, Nevena Ilieva, and Leandar Litov, *Modeling the Structure of Human Interferon Gamma C-Termini*
- Peicho Petkov, Elena Lilkova, Damyan Grancharov, Petko St. Petkov, Nevena Ilieva, and Leandar Litov, *Calculating binding free energies of hIFN-gamma variants and its extracellular receptor (poster presentation)*.

International Conference on Mathematical Methods and Models in Biosciences, BIOMATH 2013 (16 – 21 June 2013, Sofia, Bulgaria)

- Peicho Petkov, Elena Lilkova, Damyan Grancharov, Petko S. Petkov, Nevena Ilieva, Leandar Litov, *Calculating Binding Free Energies of Variants of hIFN-g and their Extracellular Receptor*;
- Peicho Petkov, Elena Lilkova, Damyan Grancharov, Nevena Ilieva, Leandar Litov, *Replica exchange MD investigation of conformational space of prion proteins*.

Втори Национален Конгрес по Физически Науки, 25–29 септември 2013, София

- Elena Lilkova, Peicho Petkov, Nevena Ilieva, Damyan Grancharov, Leandar Litov, Petko Petkov, *Molecular Dynamics Simulations of Human Interferon Gamma*;
- Peicho Petkov, Elena Lilkova, Damyan Grancharov, Nevena Ilieva, Leandar Litov, *Replica exchange MD investigation of conformational space of prion proteins*.

International conference Bio-IT World Europe on, October 2012, Vienna, Austria

]M. Rangelov, P. Petkov, P. Petkov, S. Markov, L. Litov, G. Vayssilov

“Insights on the mobility of the ribosome and the mechanism of protein biosynthesis in it from large scale classical molecular dynamics and quantum chemical modeling”

Seminar in the Academia Sinica, January 2013, Taipei, Taiwan.

G. N. Vayssilov, S. Kolev, P. Petkov, M. Rangelov “Computational modelling of the ribosome and the mechanism of the peptide bond formation”

Seminar at Beijing Computational Science Research Center, September 2013, Beijing China

G. N. Vayssilov, S. Kolev, P. Petkov, M. Rangelov “Ab initio and molecular mechanical modeling of RNA fragments and the ribosome”.

Ефективни международни сътрудничества, започнати и развивани на базата на SuperCA++

- Section for Biosimulation and Bioinformatics, CeMSIIS, Vienna Medical University (Austria)
- Laboratory for Mathematical and Theoretical Physics, CNRS, Tours (France)
- Department of Physics and Astronomy (Theoretical Physics), Uppsala University (Sweden)
- Faculty of Medicine, Imperial College, London (Great Britain)