

**От молекул до клеток:
компьютерное моделирование
динамики микротрубочек на
суперкомпьютере Ломоносов-2**

**Никита Борисович
Гудимчук**

**Кафедра биофизики
Физический факультет МГУ**

Коллектив со-авторов работы

СryoET



J. Richard McIntosh



Eileen O'Toole

Броуновская динамика



Евгений Ульянов



Дмитрий
Виноградов



Фазли
Атауллаханов



Молекулярная динамика



Владимир
Федоров



Илья
Коваленко



Екатерина
Холина

Монте-Карло



Вероника
Александрова

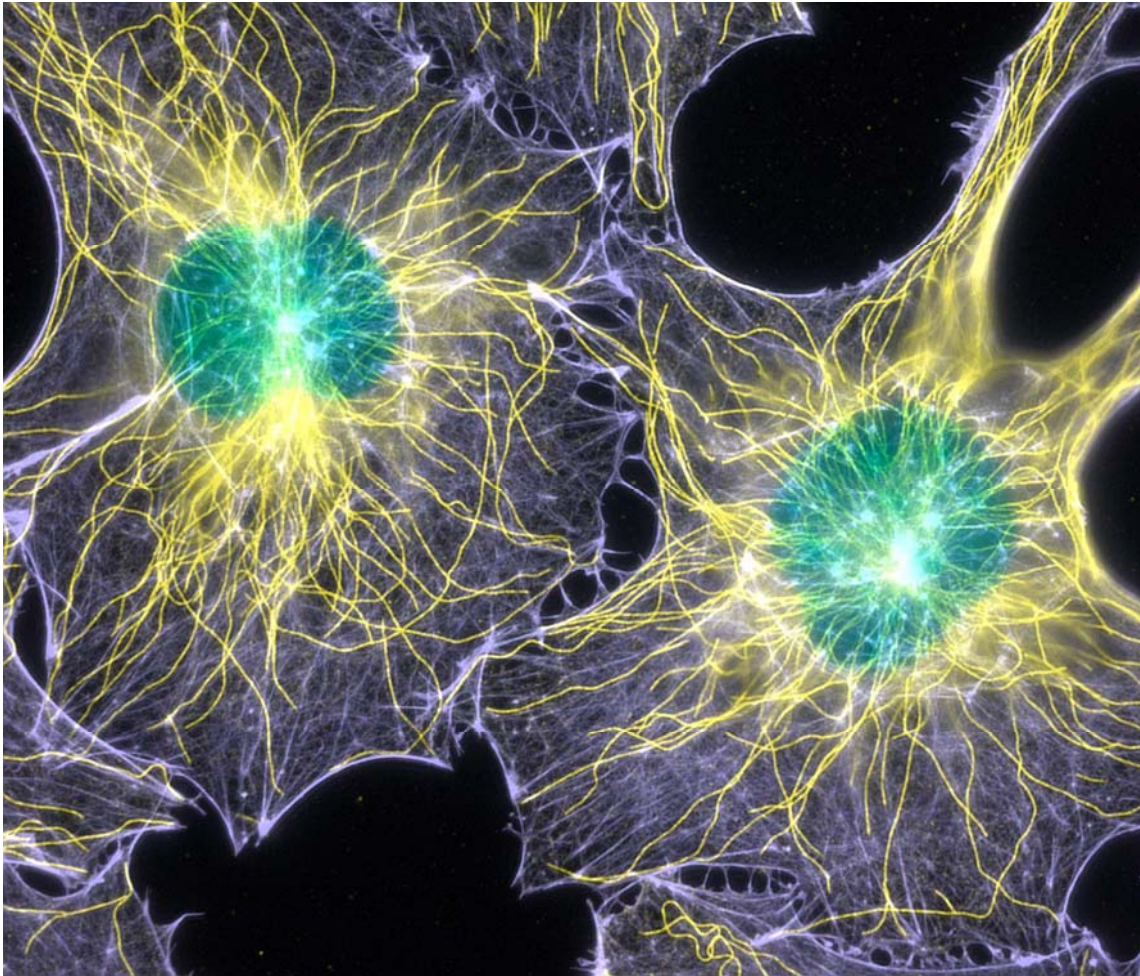
CellDynaMo



Валерий
Барсегов

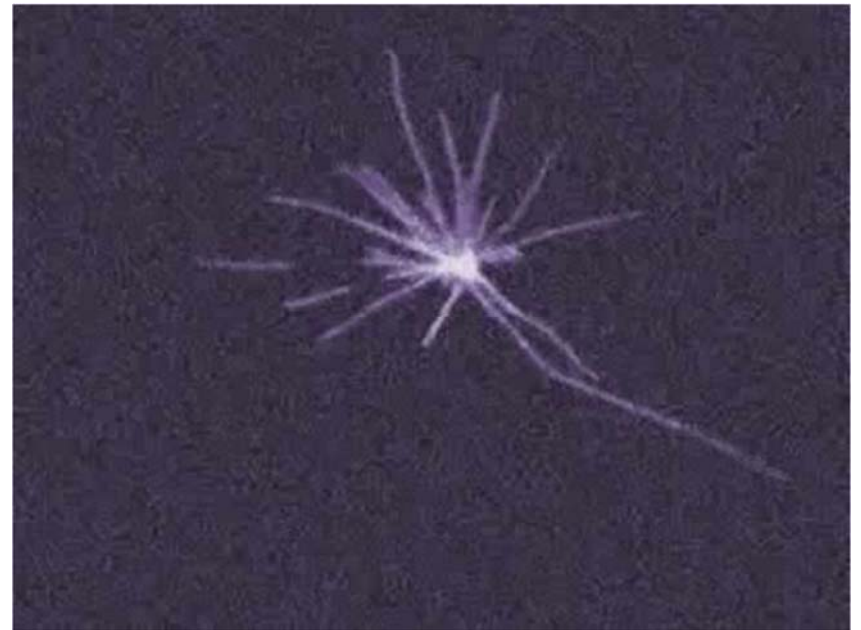


Динамическая нестабильность микротрубочек



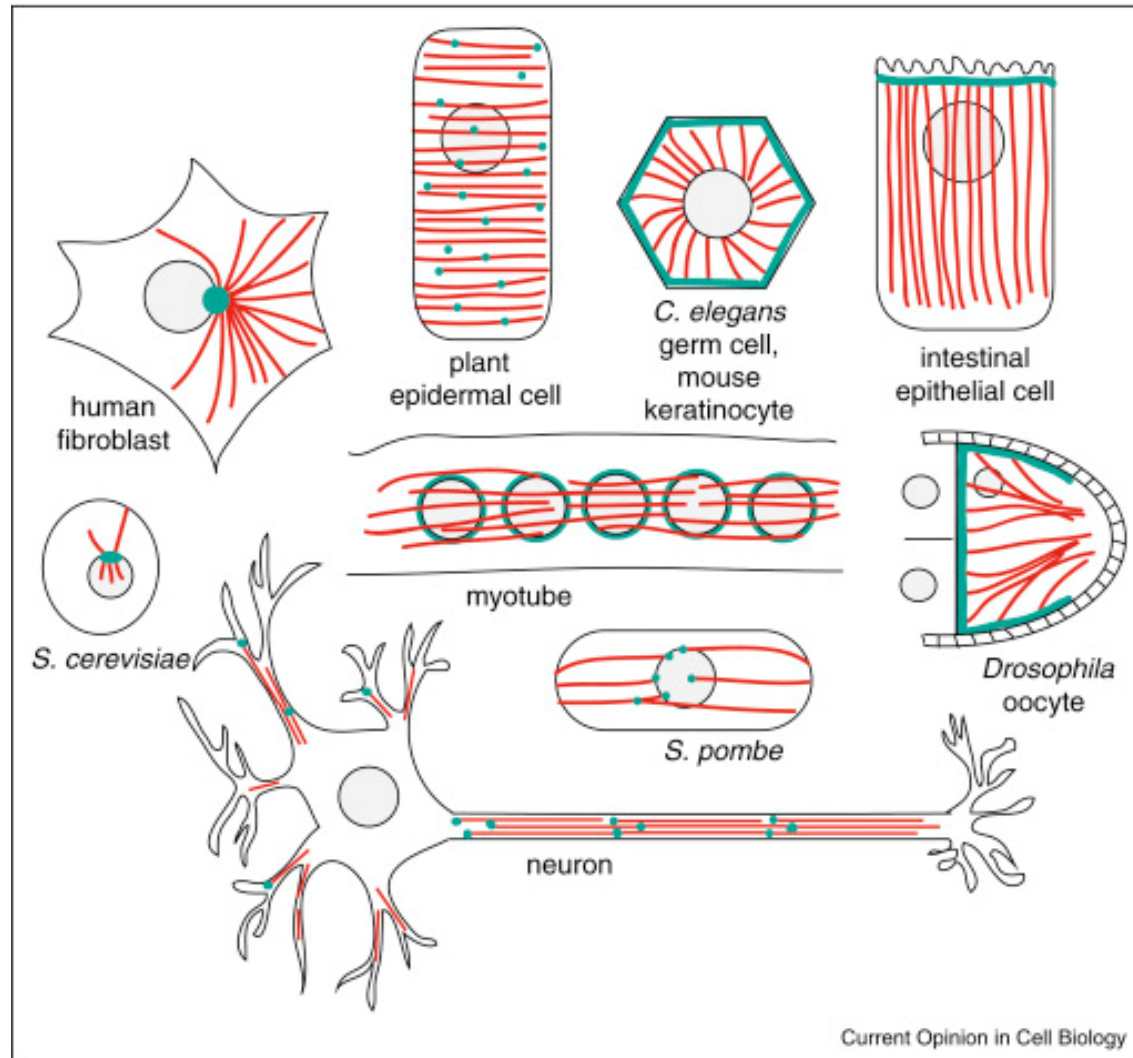
Dr. Torsten Wittmann

В очищенной системе in vitro



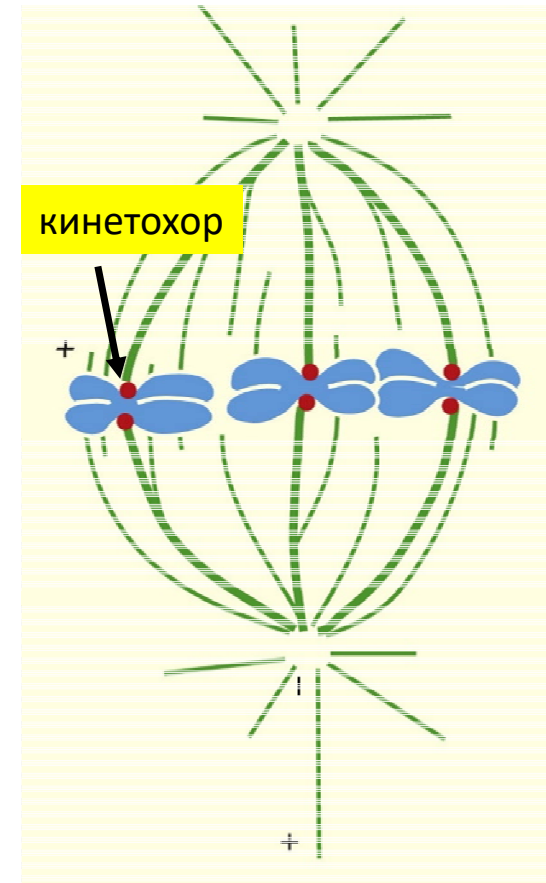
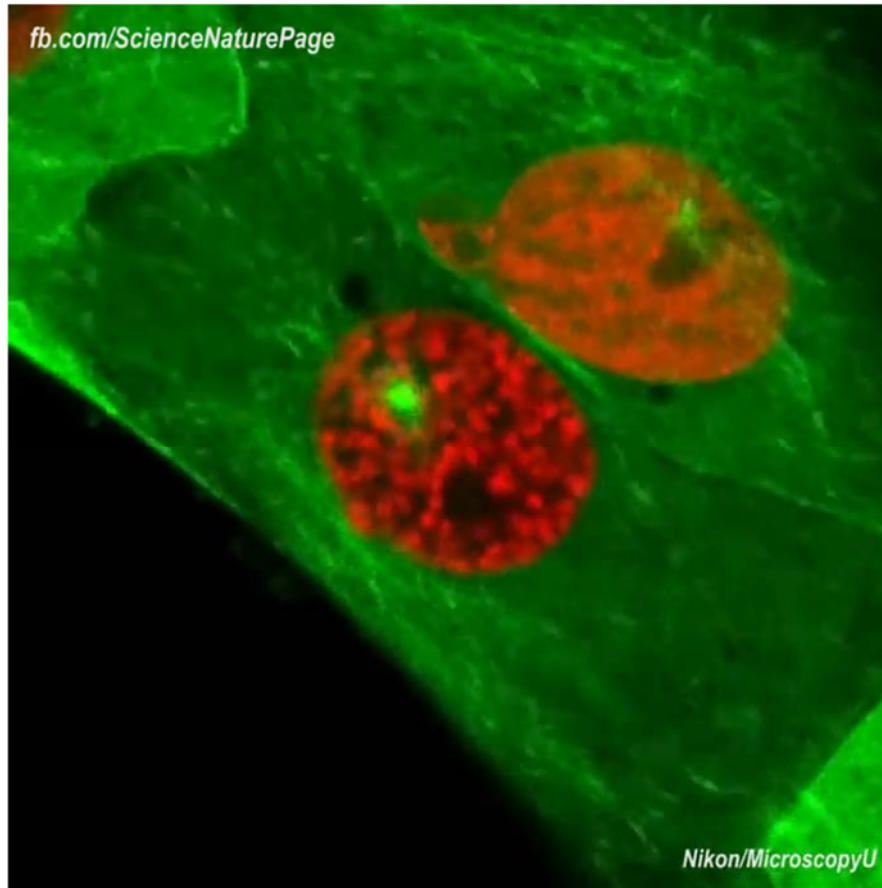
Dr. Tim Mitchison

Многообразие структур, образуемых микротрубочками в клетках

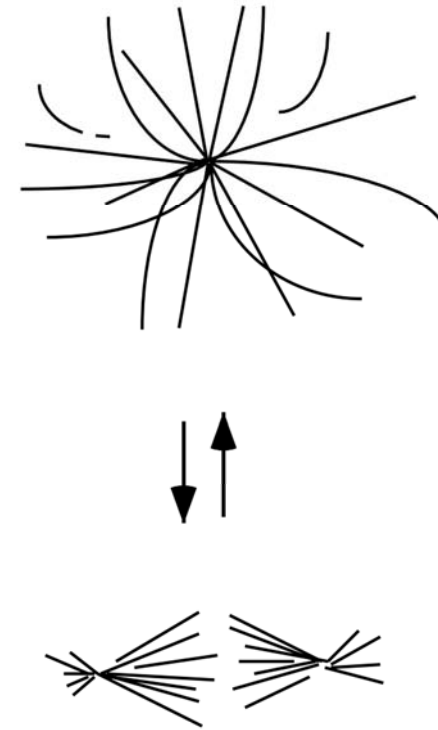
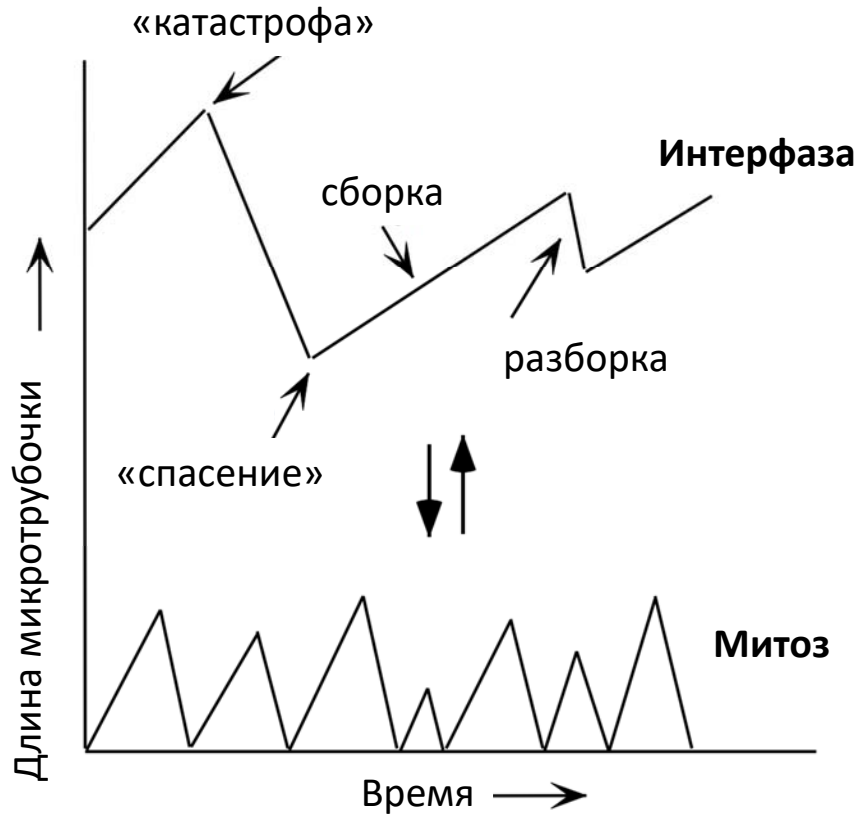


Sanches et al 2017

Динамика микротрубочек позволяет захватывать и распределять хромосомы во время клеточного деления



Регуляция динамики микротрубочек в клеточном цикле

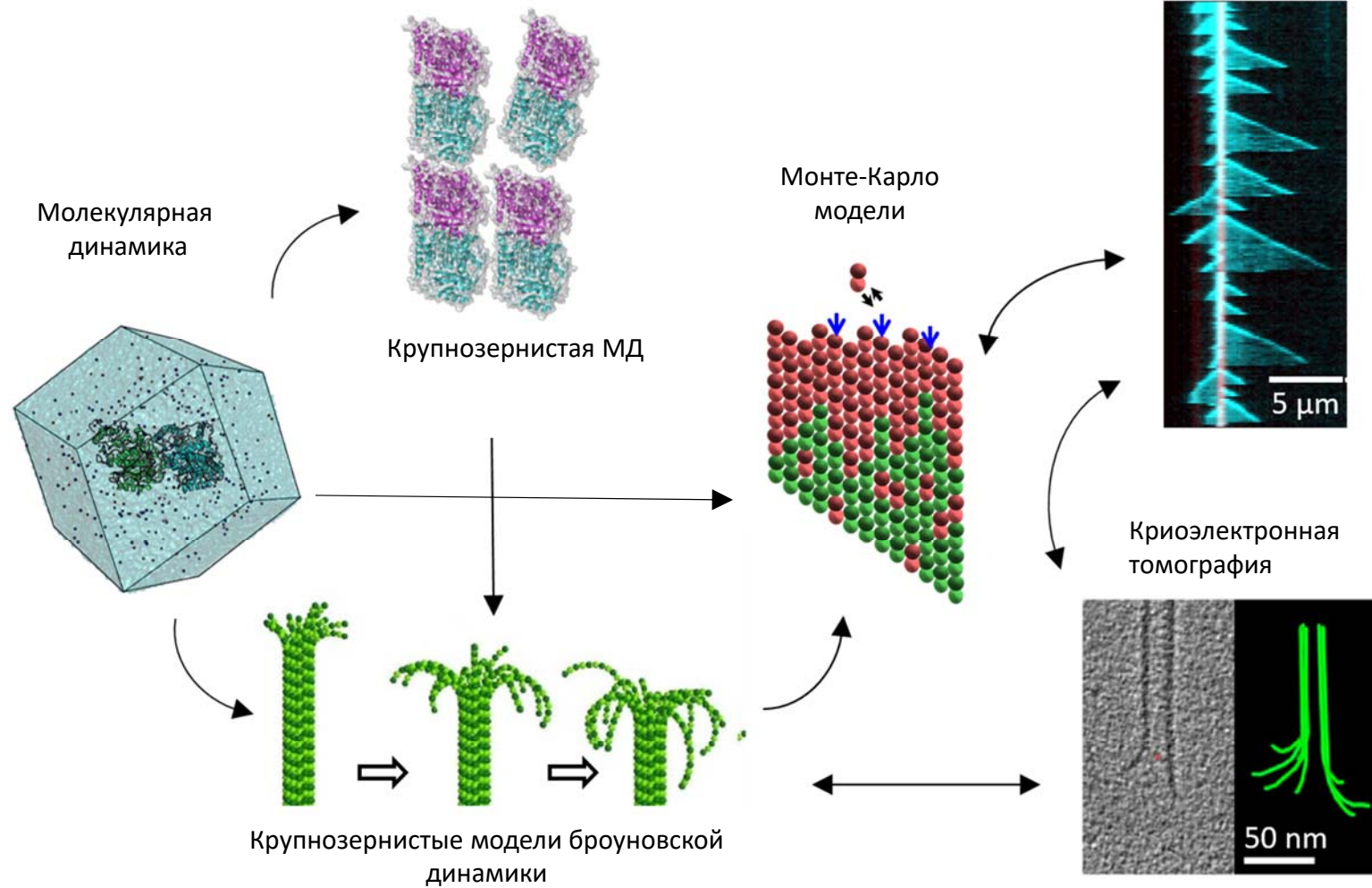


1. Каковы механизмы динамического поведения микротрубочек в клетках и каковы принципы его регуляции?

2. Какова логика и механизмы взаимодействия микротрубочек и хромосом во время клеточного деления?

Наш подход: многомасштабное моделирование в сочетании с экспериментом

Оптическая микроскопия



Криоэлектронная томография

McIntosh et al JCB 2018

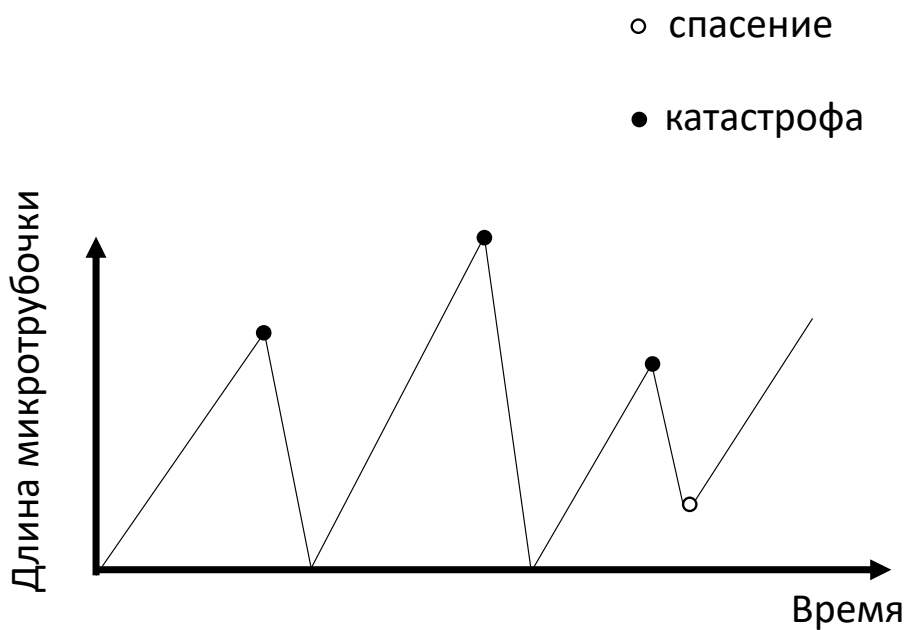
План доклада

Блок 1: динамика микротрубочек

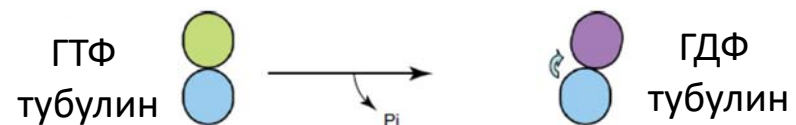
Блок 2: микротрубочка как молекулярная машина

Блок 3: модель митотического деления клеток

Устоявшиеся представления о механизме динамики микротрубочек



Классическая модель «ГТФ-шапки»



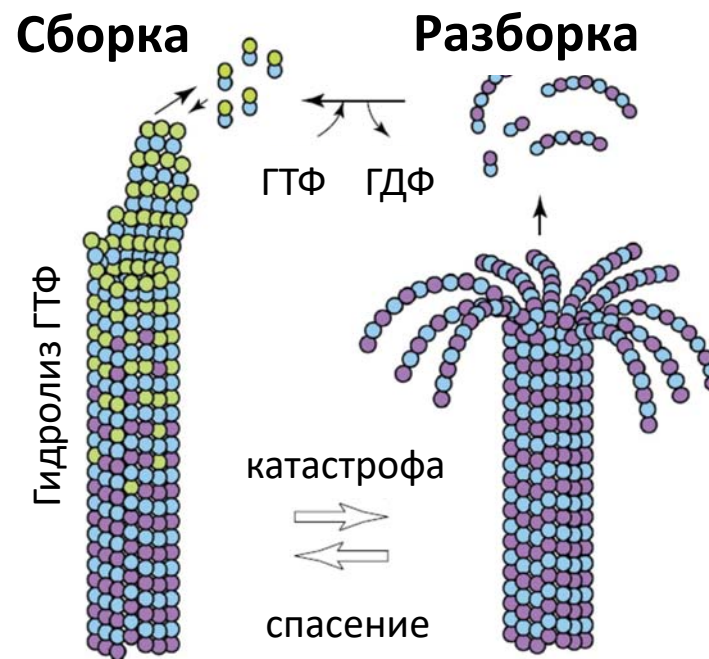
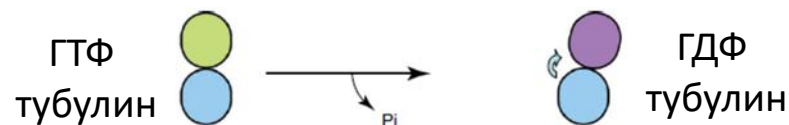
Al Bassam et al 2011

Устоявшиеся представления о механизме динамики микротрубочек

Постулаты

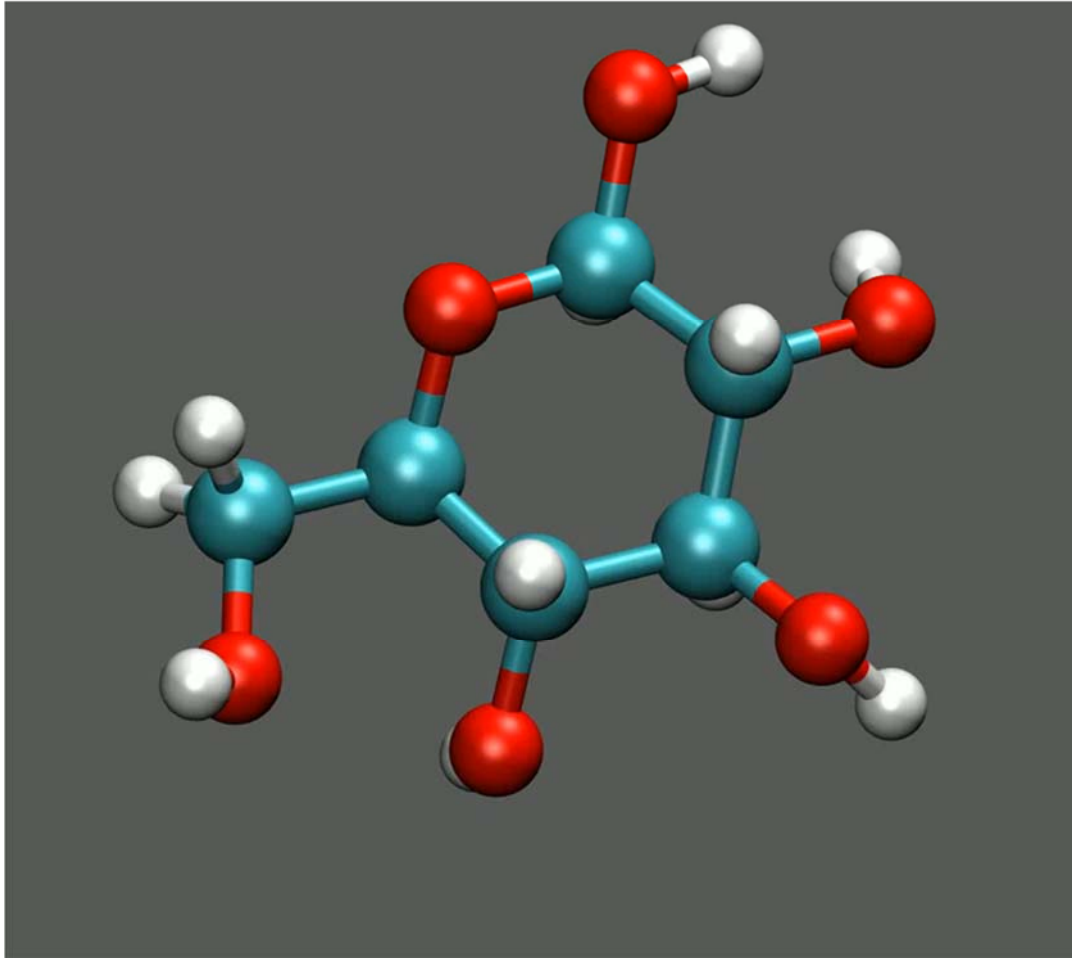
- 1) ГТФ-димеры тубулина – «прямые», ГДФ-димеры тубулина – «изогнутые»
- 2) Форма концов микротрубочек при сборке и разборке существенно различаются кривизной протофиламентов.
- 3) Катастрофа – случайное событие потери ГТФ-шапки на конце собирающейся микротрубочки

Классическая модель «ГТФ-шапки»



Al Bassam et al 2011

Метод молекулярной динамики



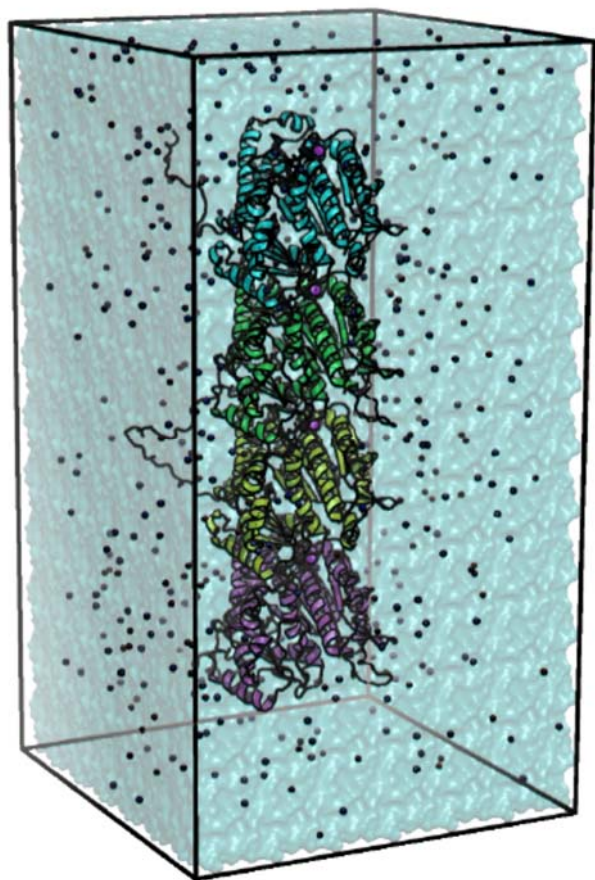
- Пакет GROMACS
- Силовое поле CHARMM22*/CHARM36M (для белков) и CHARMM27 (для нуклеотидов)

$$U(\vec{R}) = \sum_{\text{bonds}} K_b(b - b_0)^2 + \sum_{\text{UB}} K_{\text{UB}}(S - S_0)^2 + \sum_{\text{angle}} K_\theta(\theta - \theta_0)^2 + \sum_{\text{dihedrals}} K_\chi(1 + \cos(n\chi - \delta)) + \sum_{\text{impropers}} K_{\text{imp}}(\varphi - \varphi_0)^2 + \sum_{\text{nonbond}} \epsilon \left[\left(\frac{R_{\text{min}_{ij}}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{R_{\text{min}_{ij}}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{\epsilon_1 r_{ij}}$$

- Модель воды TIP3P

Полноатомные молекулярные модели тубулинов с явным учетом растворителя

Тетрамер тубулина



Размер системы:

Ящик 11.9x12.4x22.4 нм

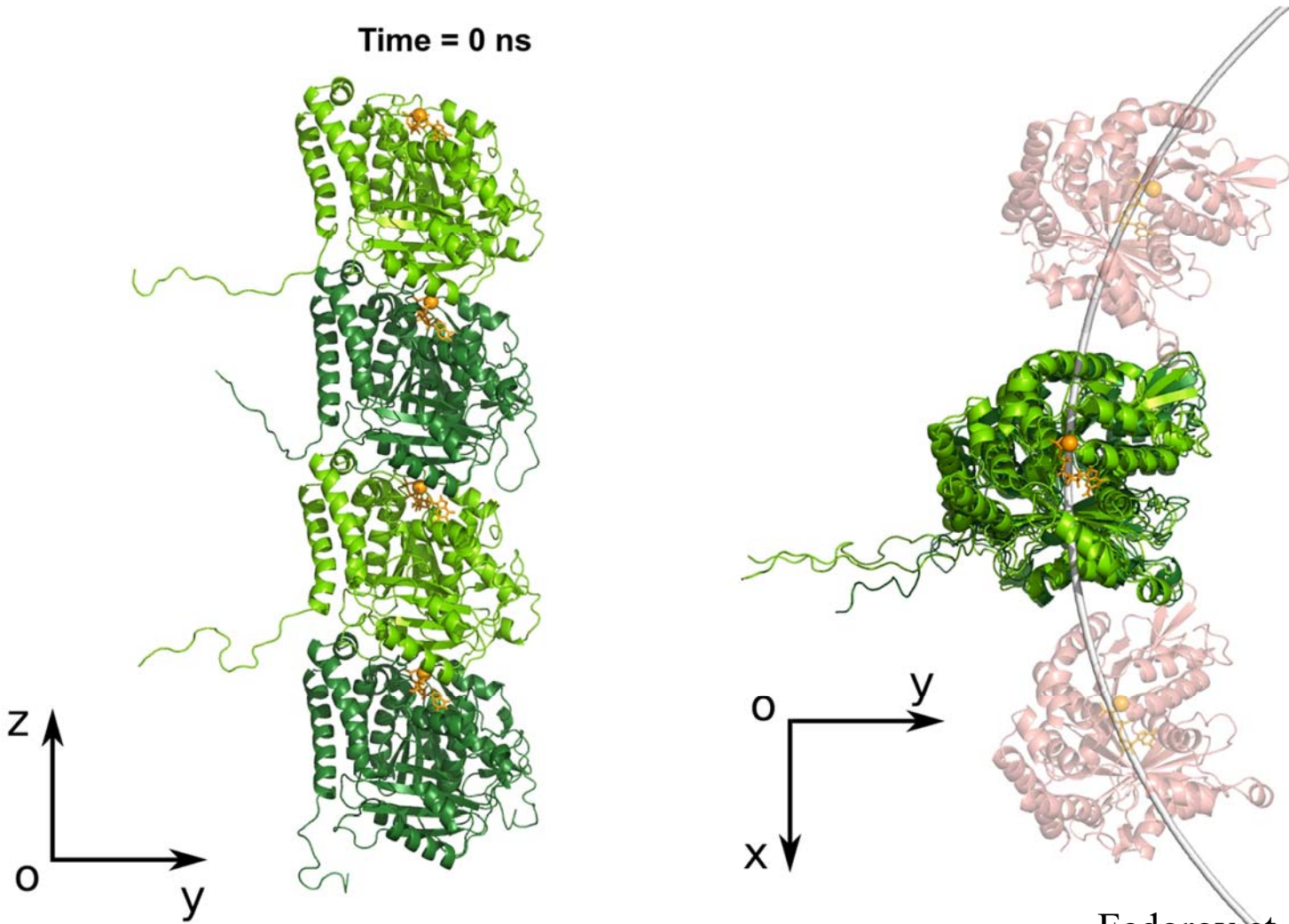
Всего: 315 718 атомов, включая
воду и ионы

Из них 27 628 атомов белка

Порядок расчетов:

- 1) Создание молекулярной системы (Modeller, Propka, Gromacs)
- 2) Минимизация энергии
- 3) Релаксация системы с фиксированными тяжелыми атомами (1 нс)
- 4) Релаксация системы с фикс $C\alpha$ – атомами (5 нс)
- 5) Продуктивные расчеты (1 мкс)

Тубулин, связанный с ГТФ принимает изогнутую конформацию в молекулярно-динамических расчетах



Fedorov et al., 2019

**Средняя равновесная кривизна олигомеров ГТФ- и ГДФ-
тубулина сопоставима (обе структуры существенно искривлены)**



Fedorov et al., 2019

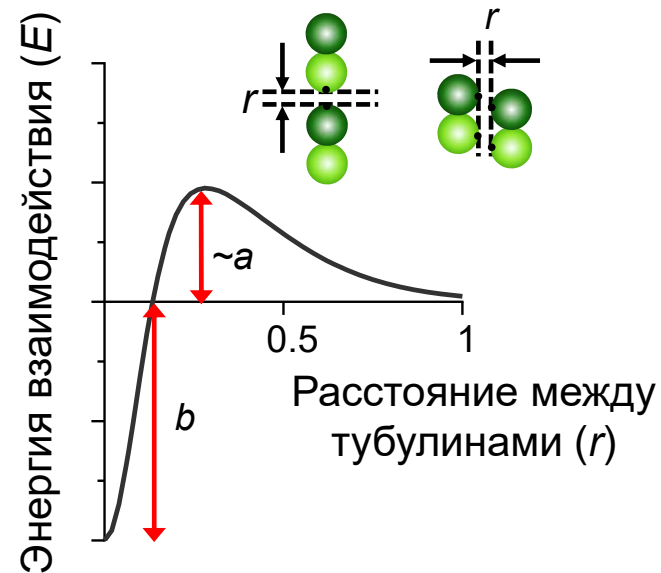
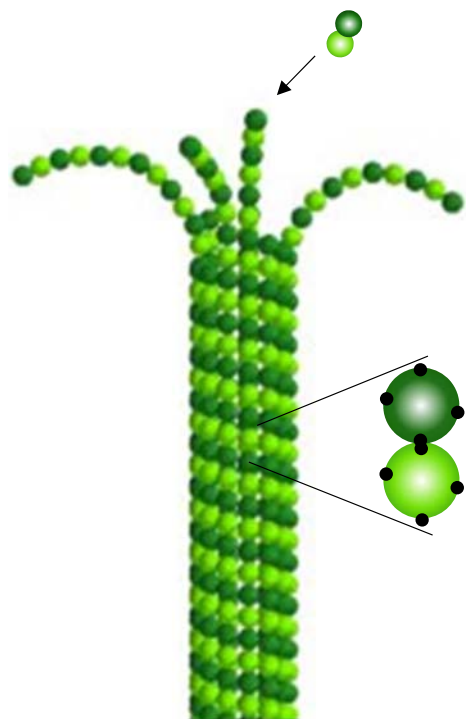
Коэффициент изгибной жесткости межтубулиновых интерфейсов

$$\kappa = k_B T / \sigma^2$$

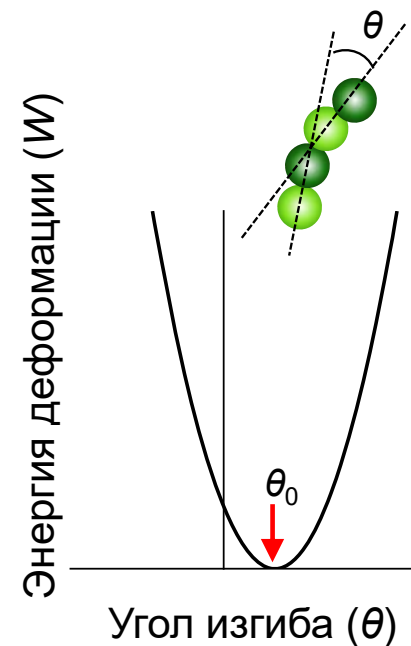
Нуклеотид	Интерфейс	Изгибная жесткость, $kT \cdot \text{rad}^{-2}$
ГДФ	внутридимерный	930 ± 120
ГТФ	внутридимерный	1100 ± 120
ГДФ	междимерный	1290 ± 510
ГТФ	междимерный	350 ± 110

Наиболее гибкий интерфейс

Модель конца микротрубочки



$$E = 2a(r/r_0)^2 \exp(-r/r_0) - b \exp(-r^2/r_0^2)$$



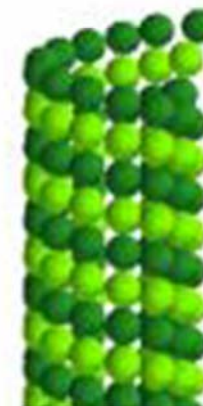
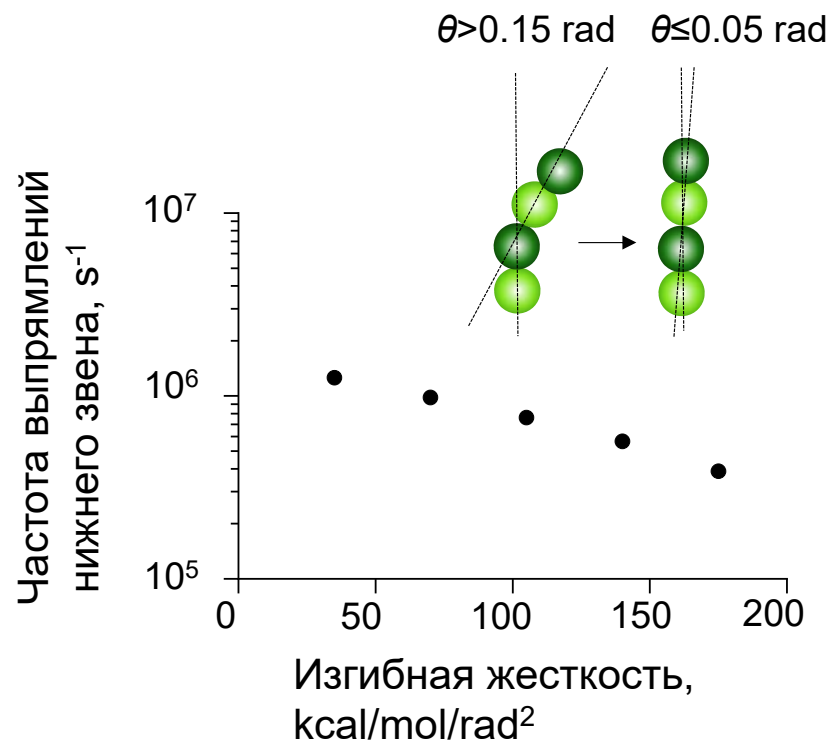
$$W = B (\theta - \theta_0)^2 / 2$$

$$U_{total} = \Sigma(W + E)$$

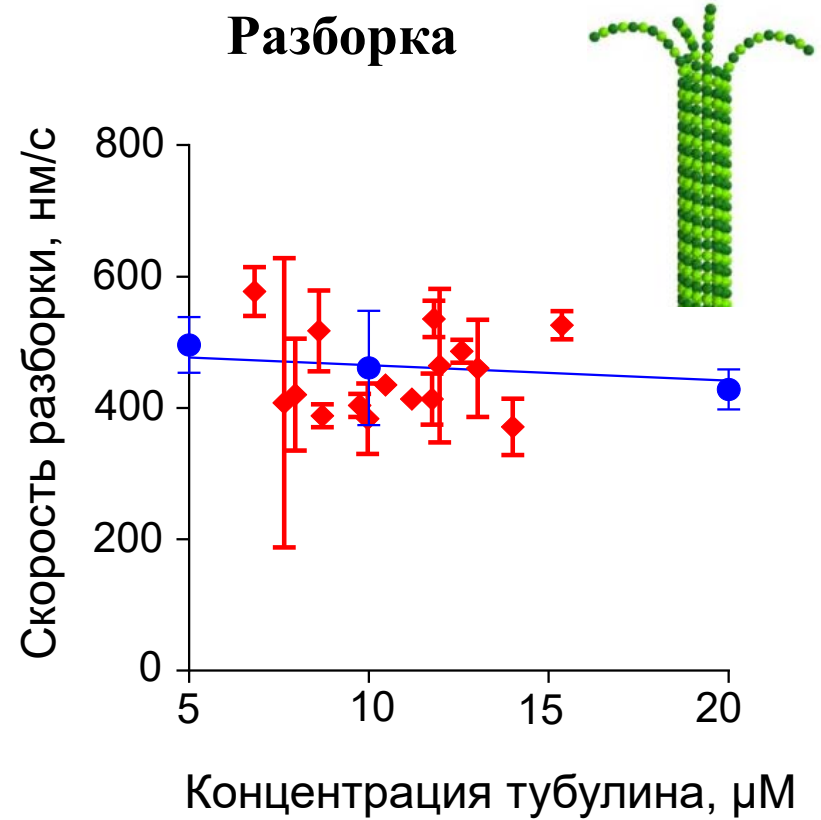
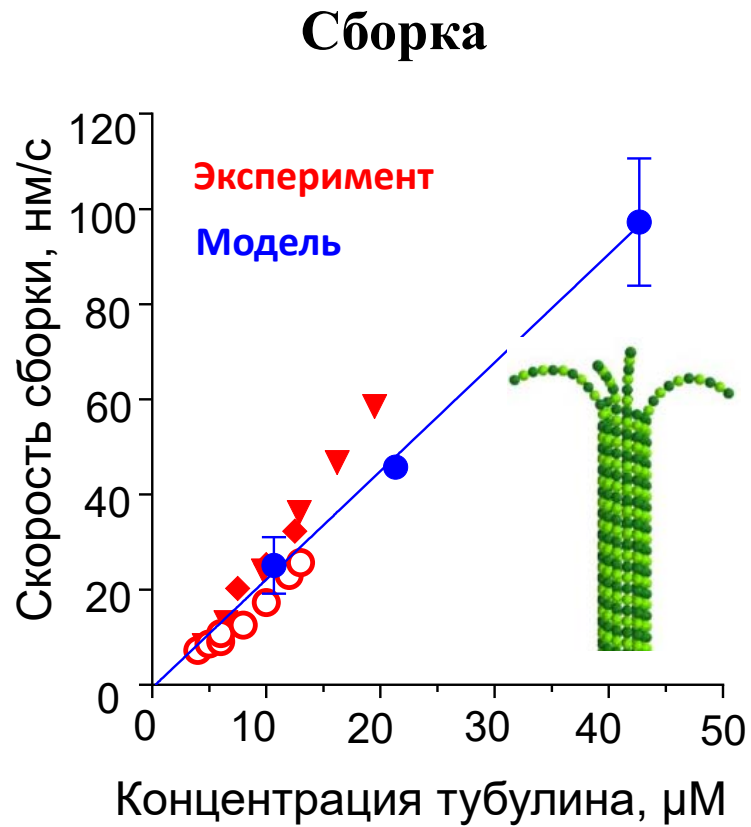
Уравнение Ланжевена

$$q_{k,n}^i = q_{k,n}^{i-1} - \frac{dt}{\gamma_q} \cdot \frac{\partial U_{total}}{\partial q_{k,n}^i} + \sqrt{2k_B T \frac{dt}{\gamma_q}} \cdot N(0,1)$$

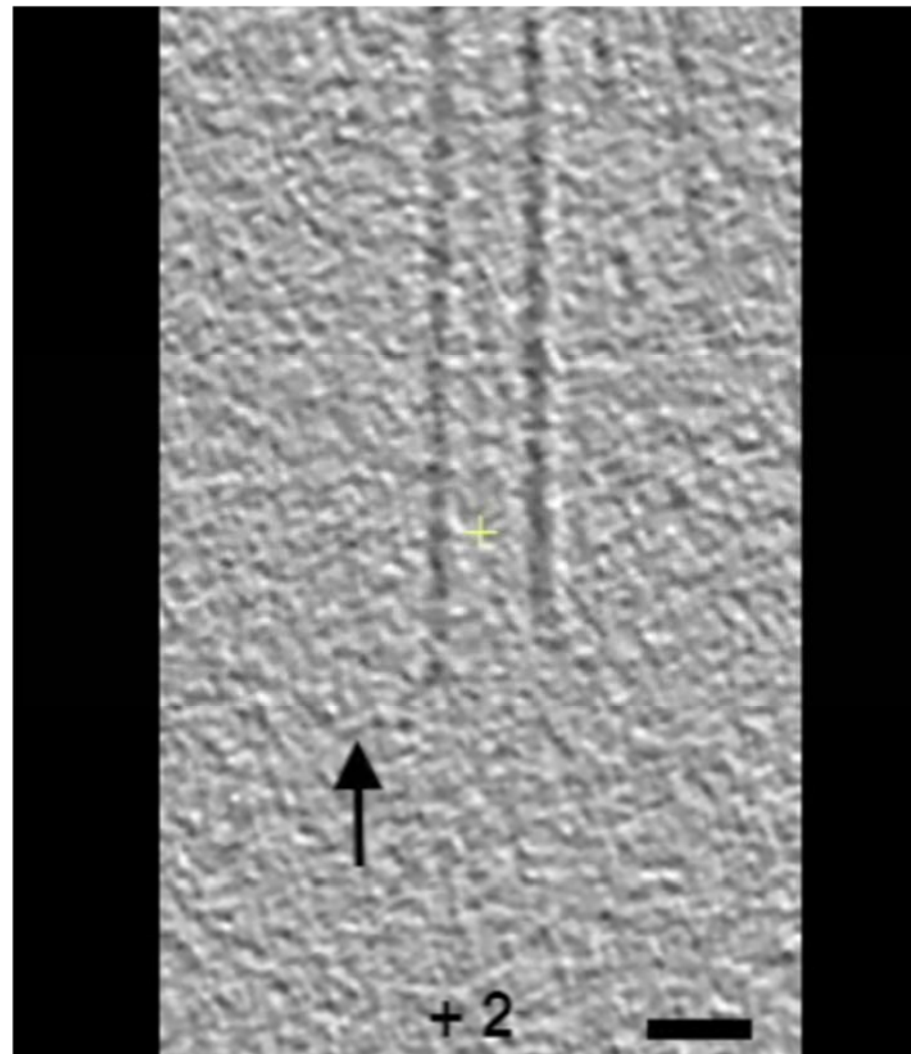
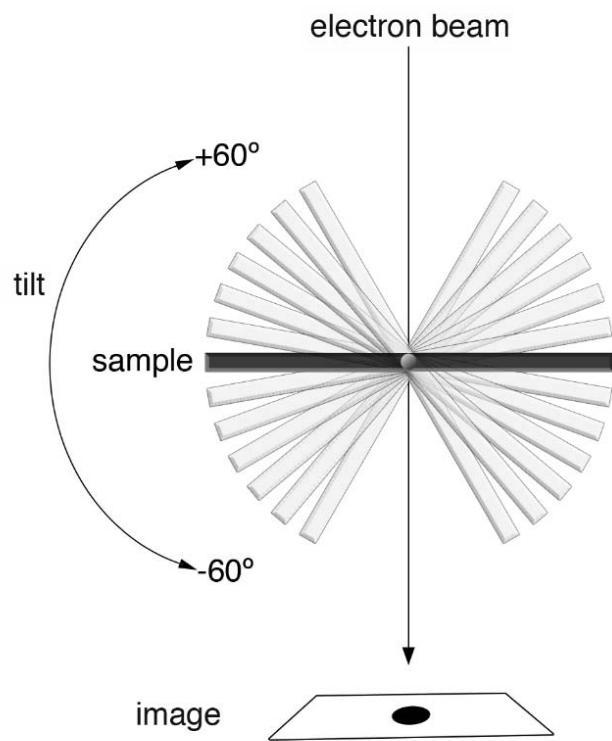
Протофиламент спонтанно выпрямляется из-за тепловых флуктуаций с частотой порядка мегагерц



Жесткость протофиламента не лимитирует скорость сборки микротрубочки

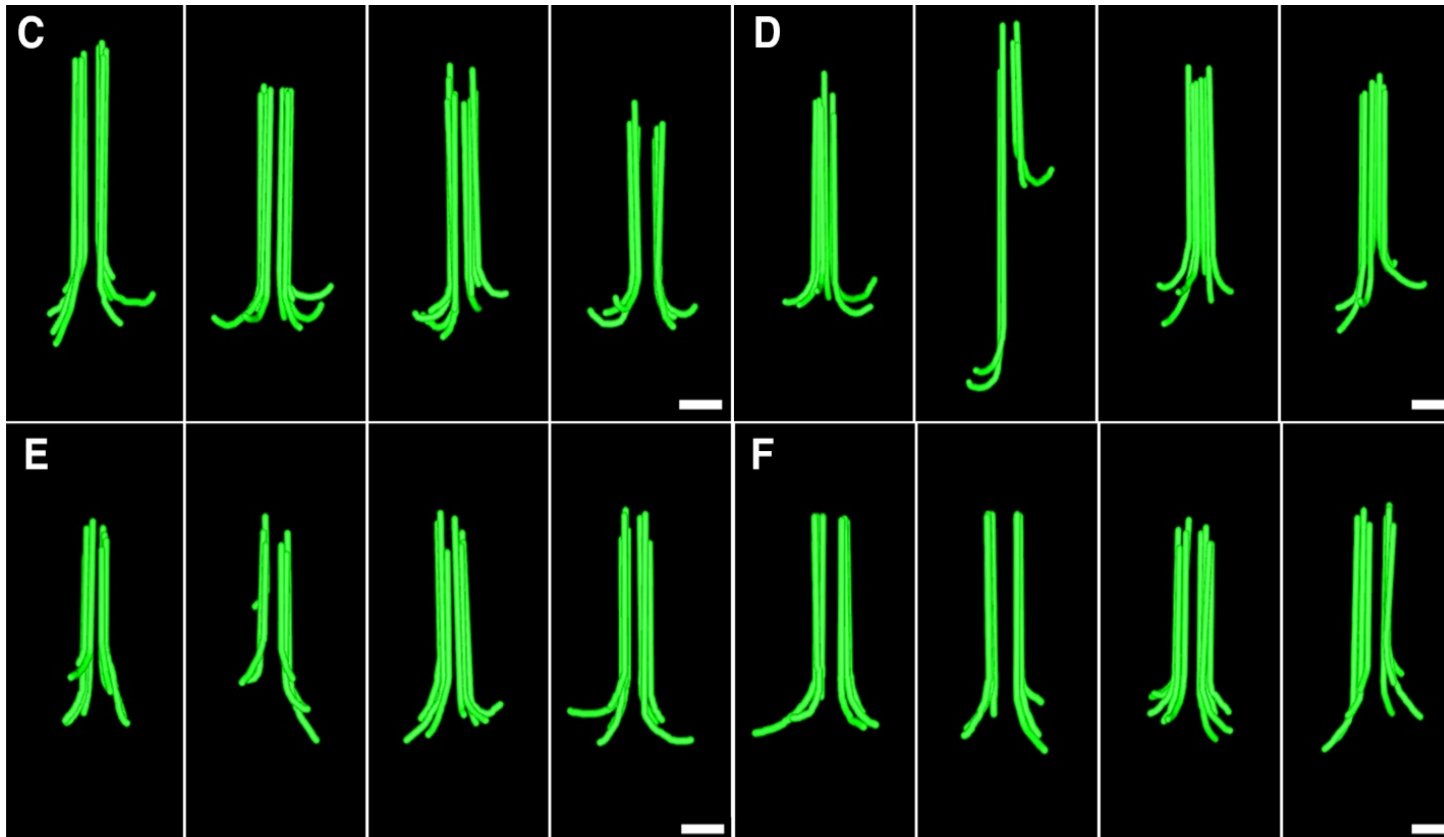


Криоэлектронная томография концов микротрубочек при их сборке



PtK₂ cells

Arabidopsis meristems

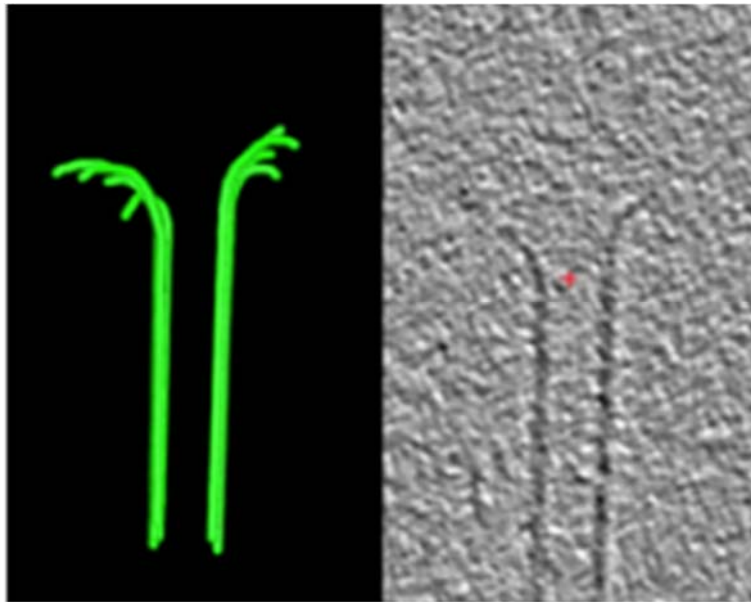


S. pombe cells

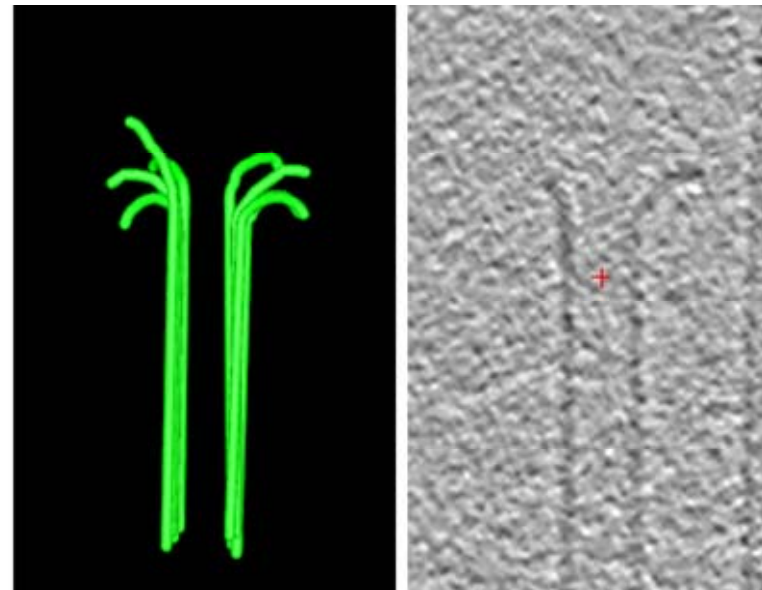
S. cerevisiae cells

**Протофиламенты на концах микротрубочечек изогнуты как
при разборке, так и при сборке**

Сборка



Разборка

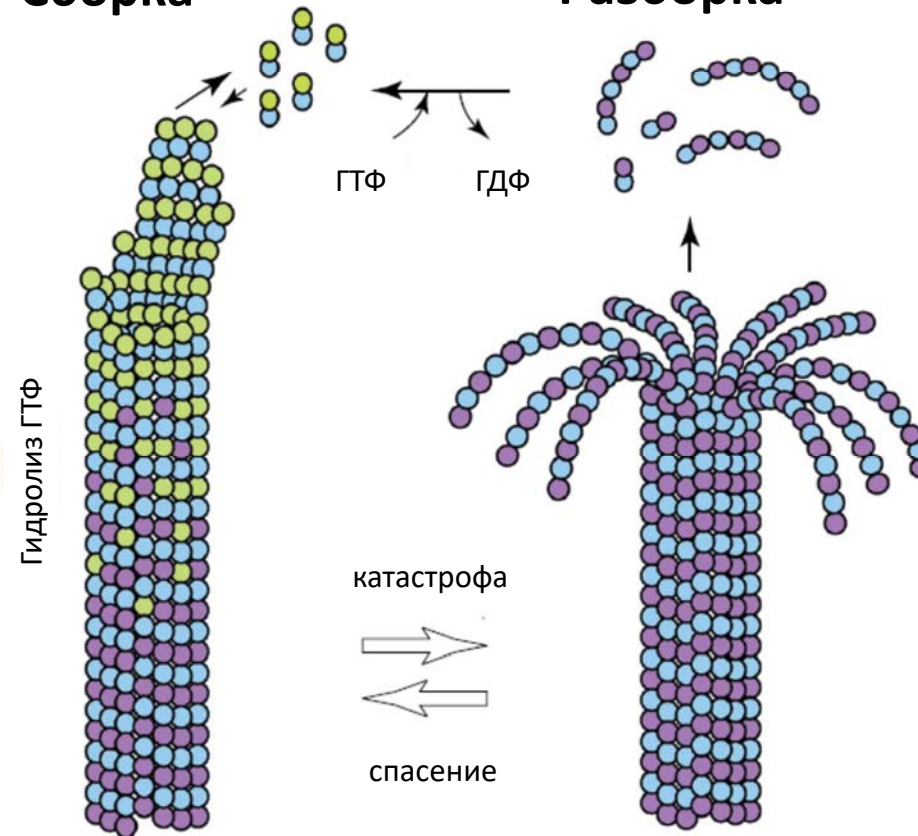


Классическая модель «ГТФ-шапочки»



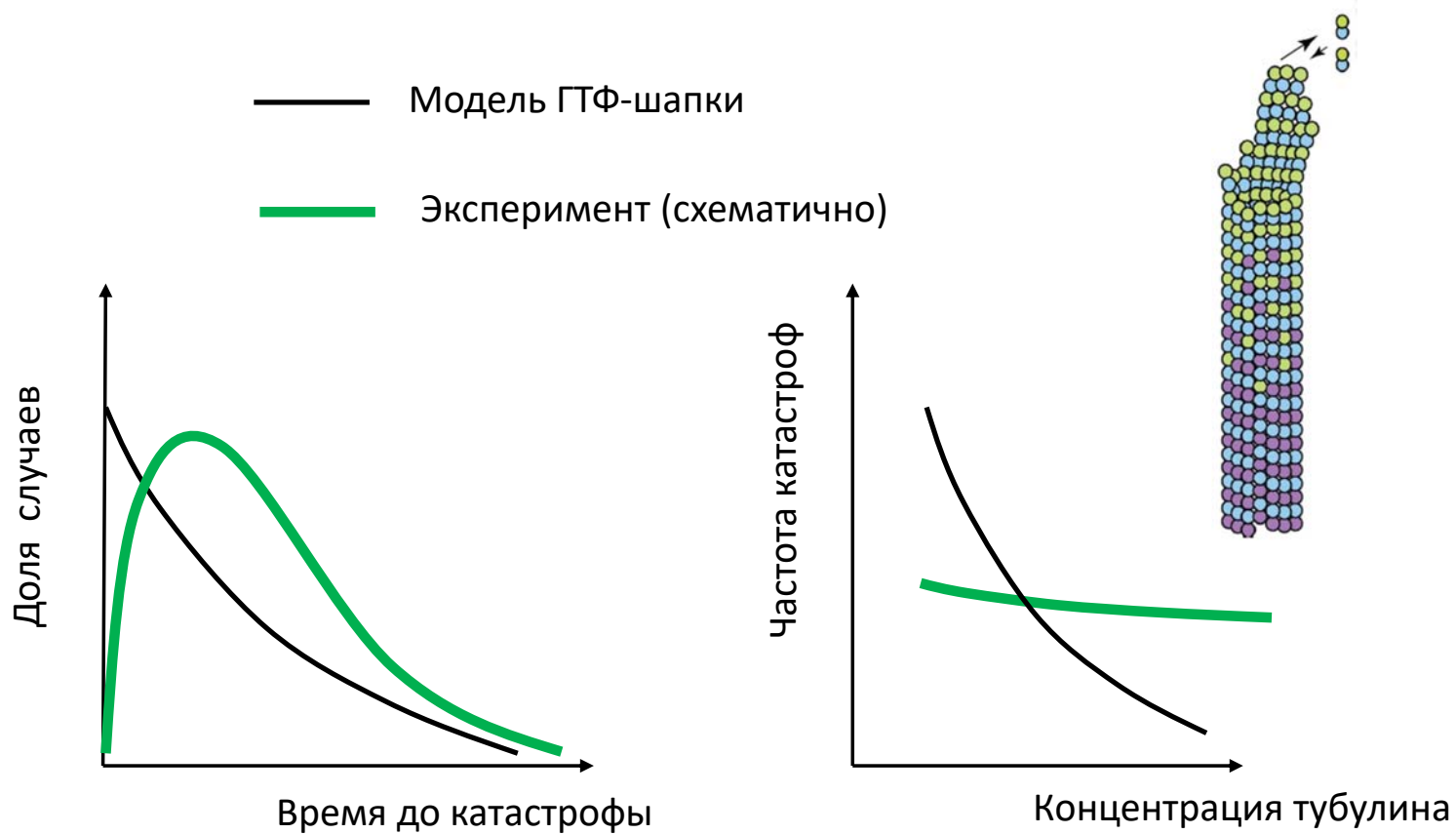
Сборка

Разборка



Al-Bassam and Chang 2011

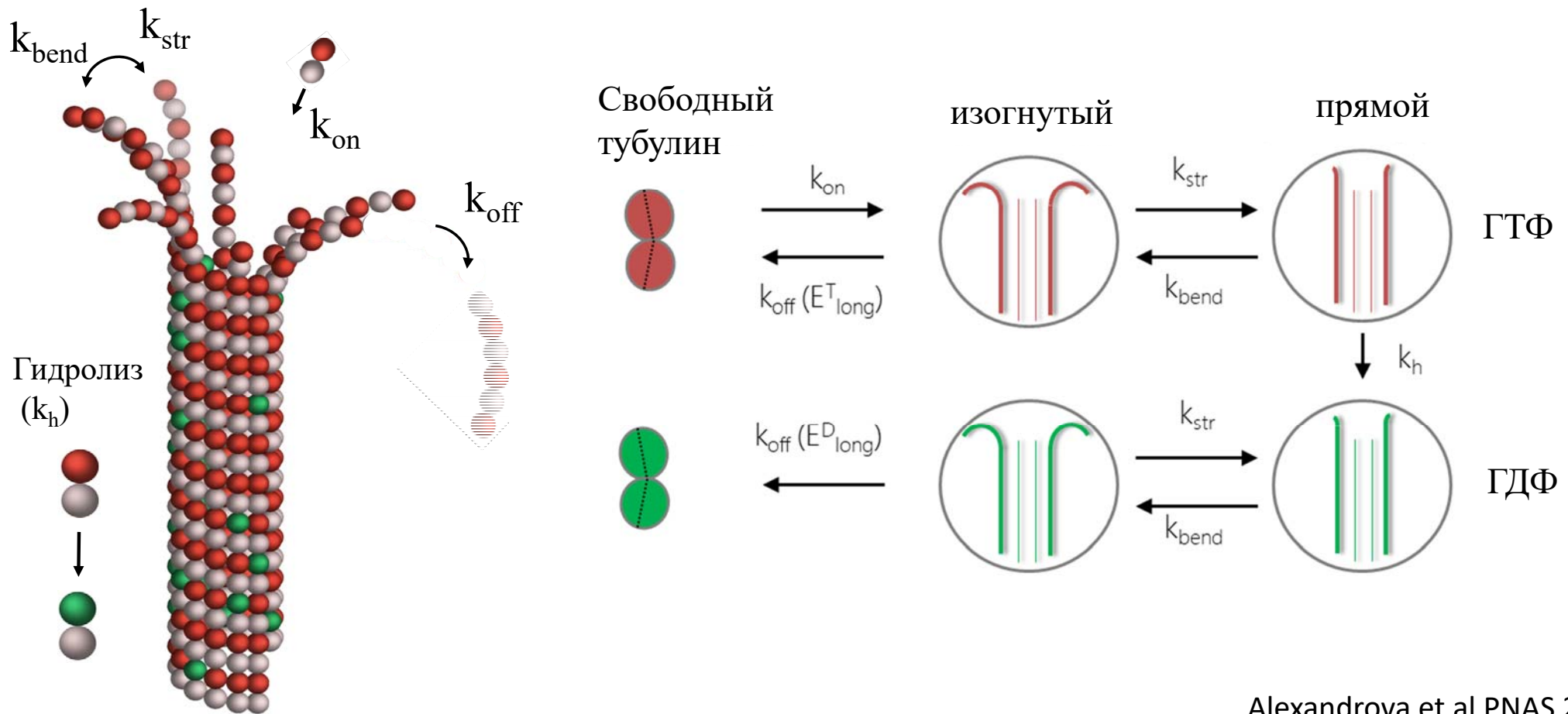
Модель «ГТФ-шапки» не описывает все аспекты «катастроф» и «спасений» микротрубочек



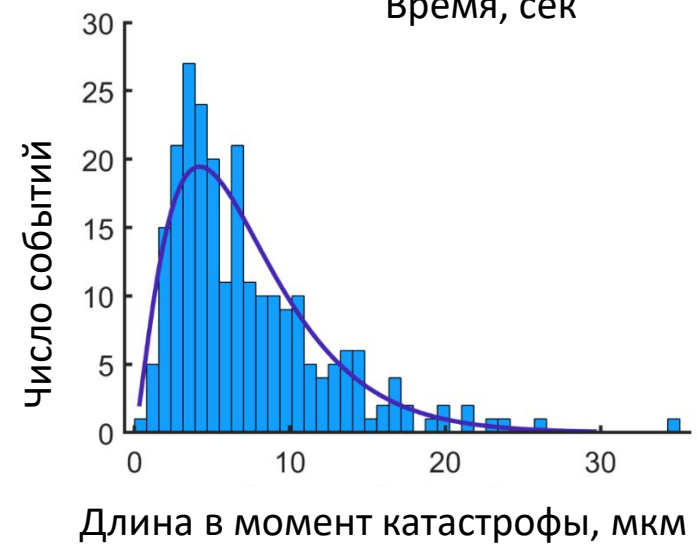
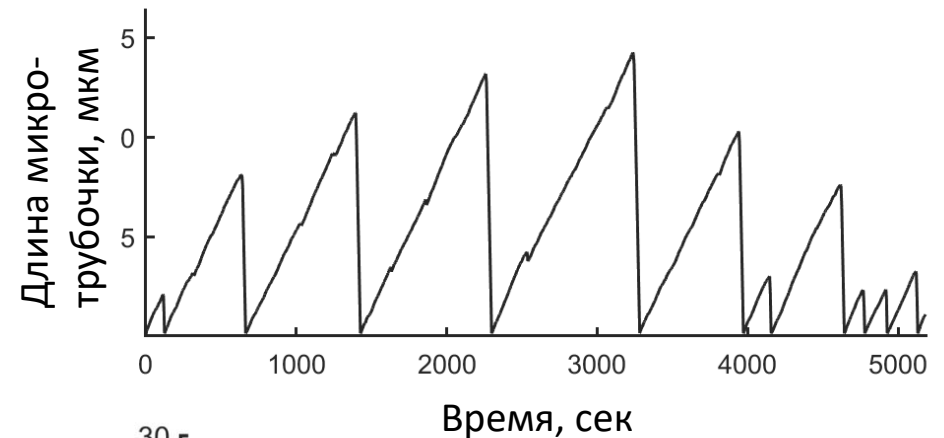
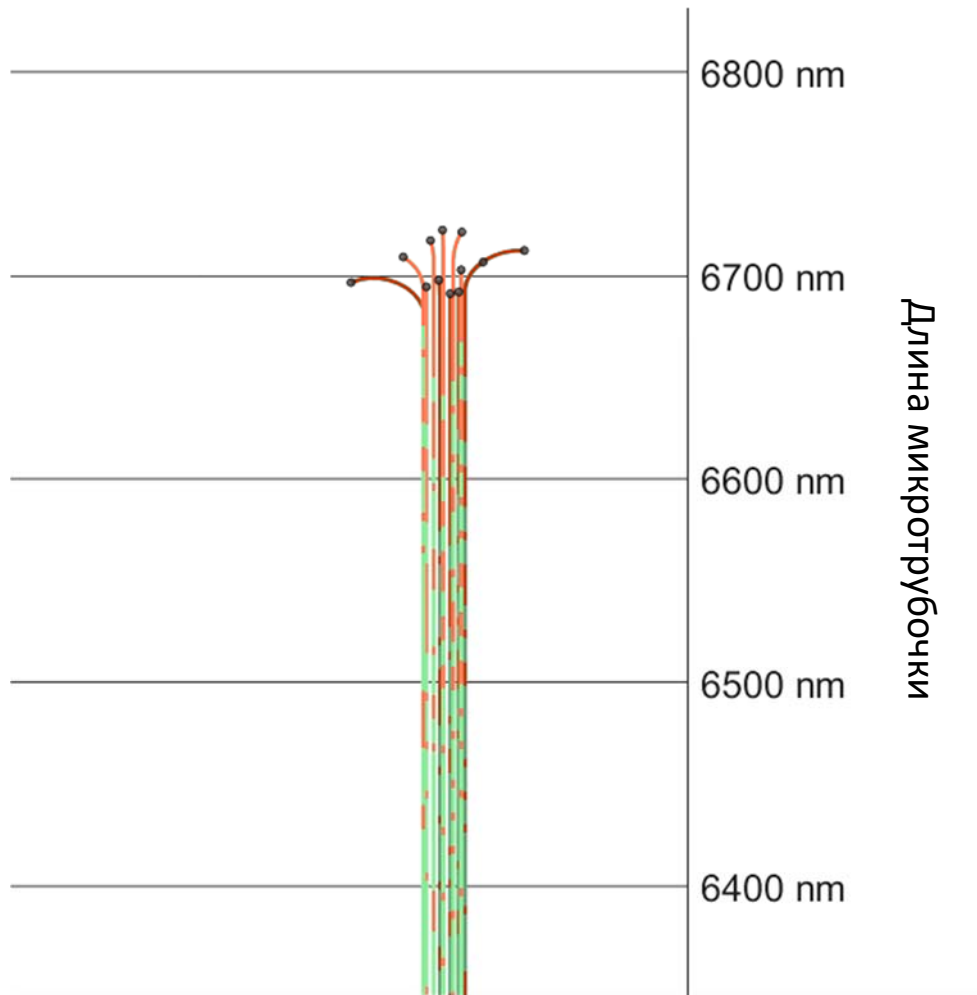
Gardner et al., Cell 2011

Walker et al., J Cell Biol 1988

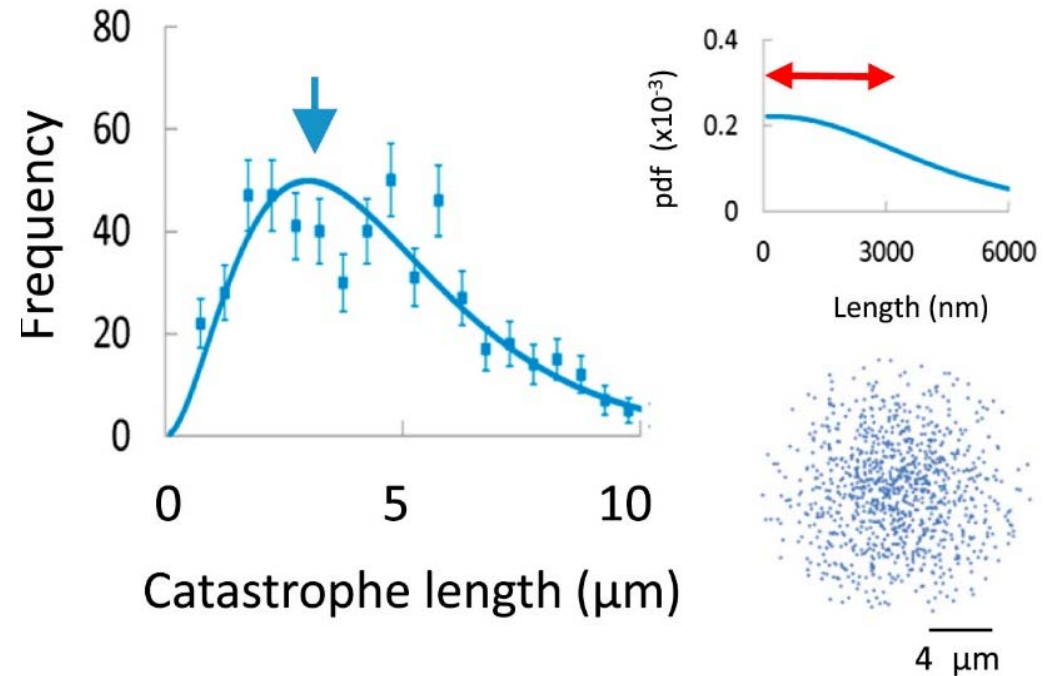
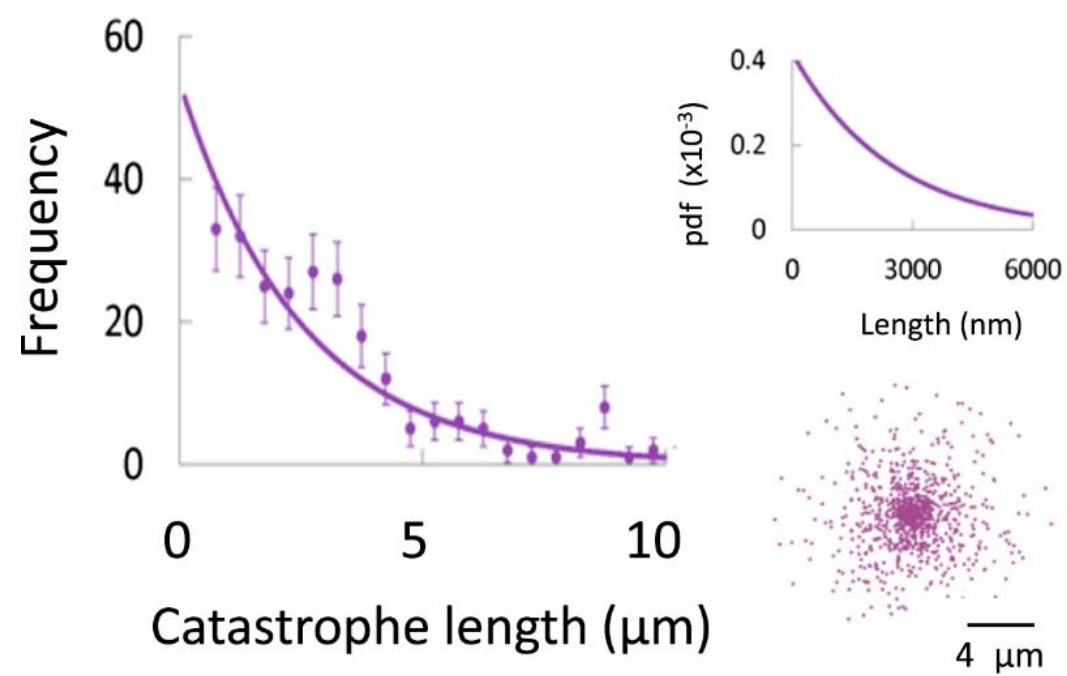
Стохастическая модель микротрубочки, растущей с ИЗОГНУТЫМИ КОНЦАМИ



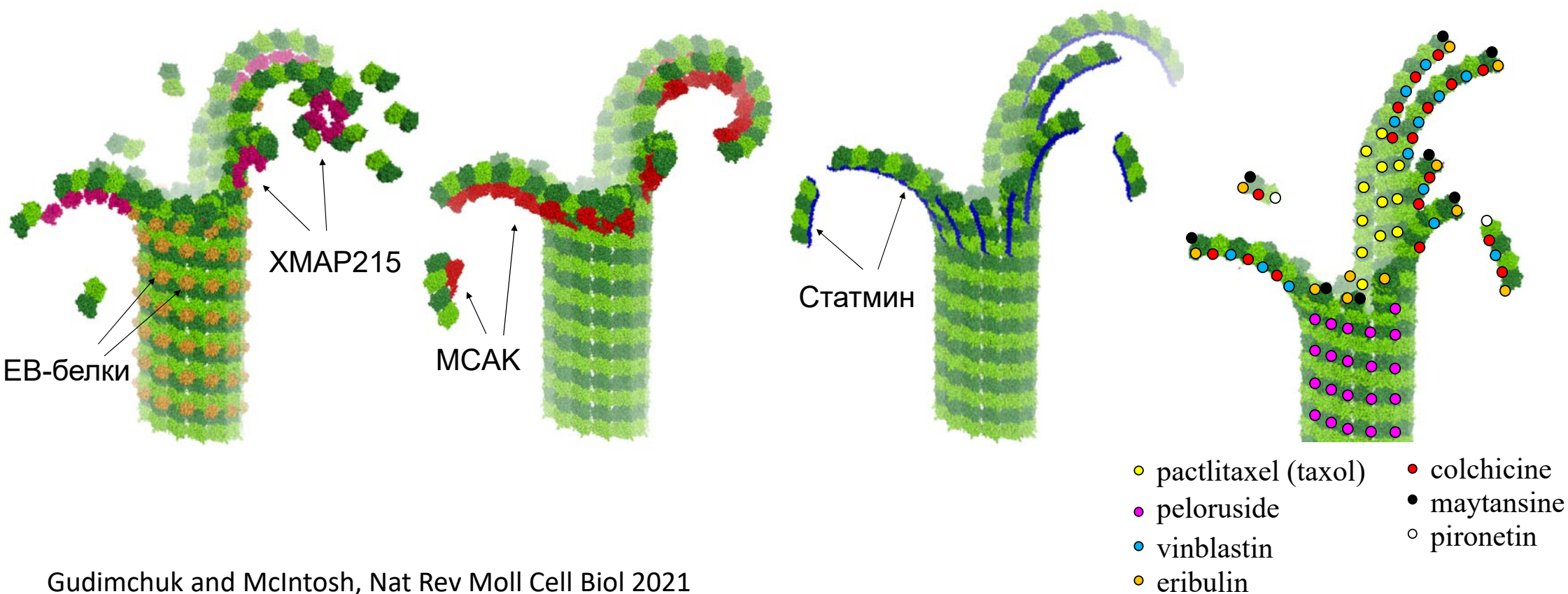
Построенная модель описывает многостадийный характер переходов микротрубочек от сборки к разборке



Влияние статистики катастроф на распределение длин микротрубочек в клетке

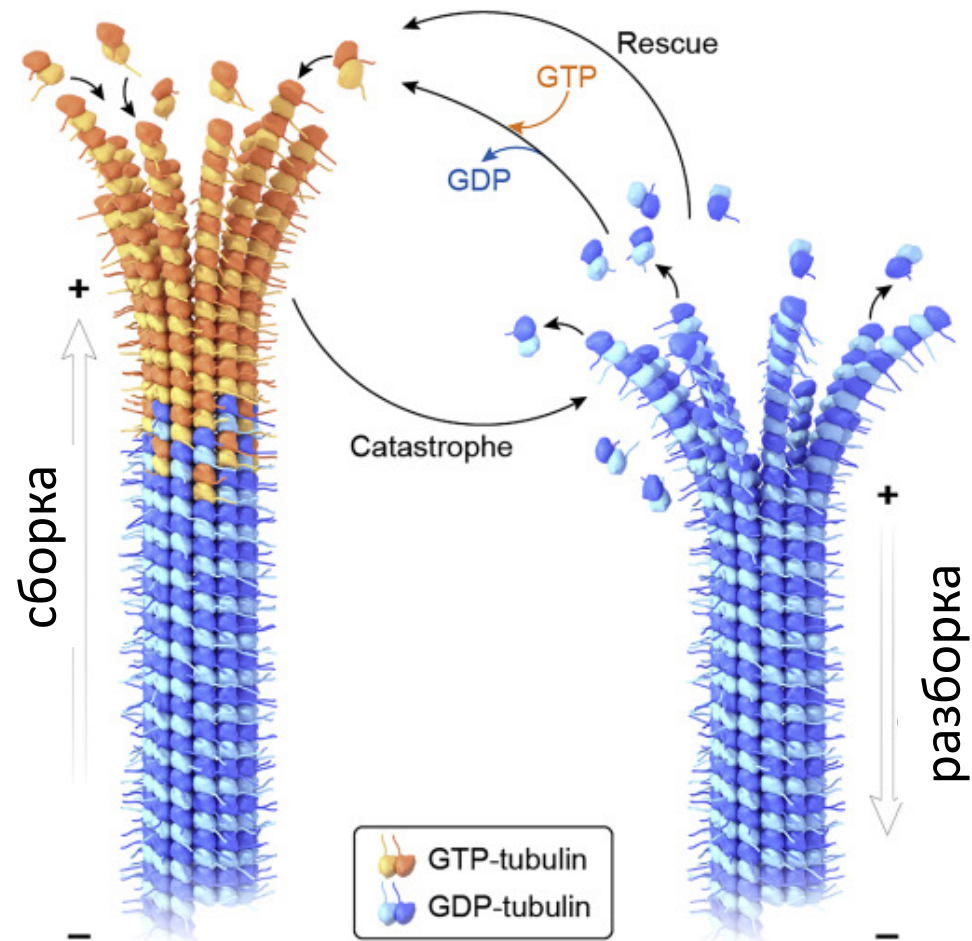


Разработанная модель сборки микротрубочек указывает на новые возможные механизмы регуляции работы микротрубочек белками и низкомолекулярными ингибиторами



Gudimchuk and McIntosh, Nat Rev Moll Cell Biol 2021

Новые представления о сборке и разборке микротрубочки



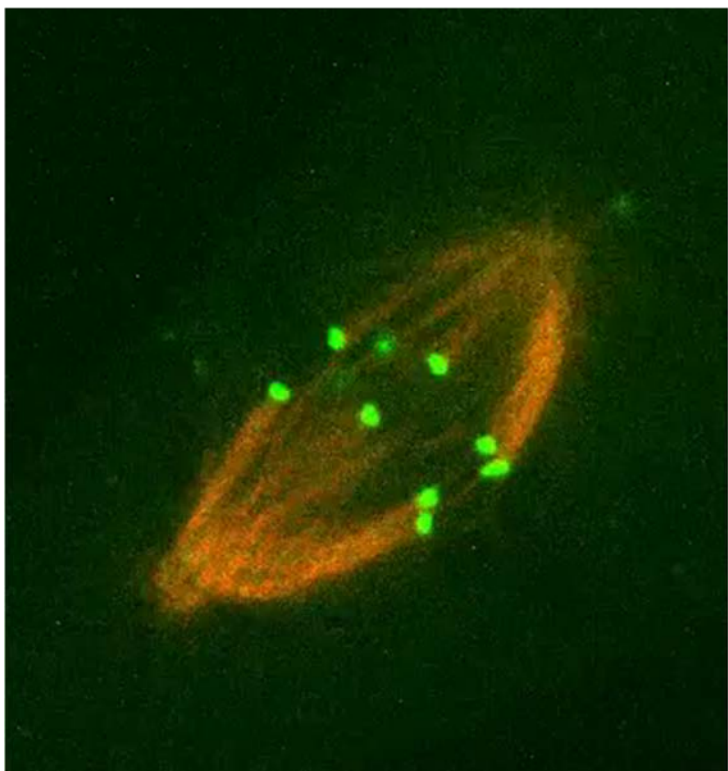
Roll-Mecak (Dev. Cell 2020)

Блок 1: динамика микротрубочек

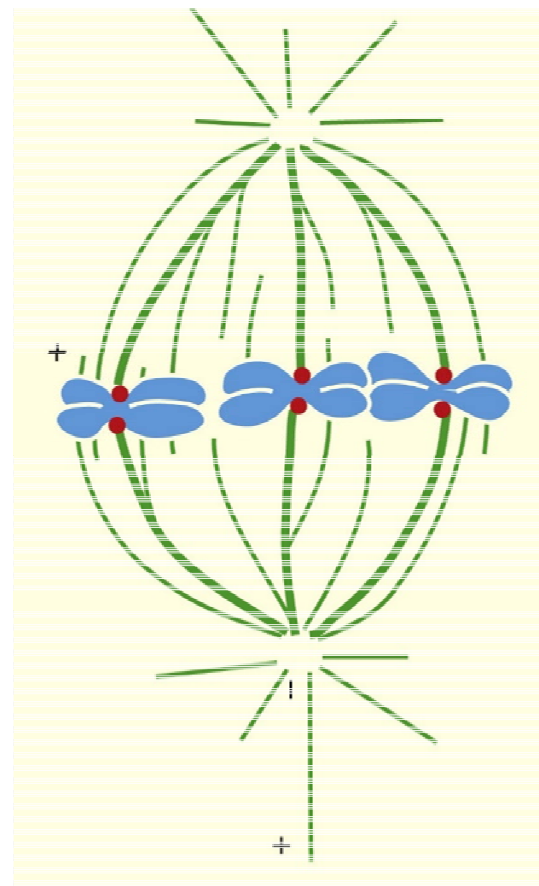
Блок 2: микротрубочка как молекулярная машина

Блок 3: модель митотического деления клеток

Взаимодействие концов микротрубочек и хромосом во время митоза

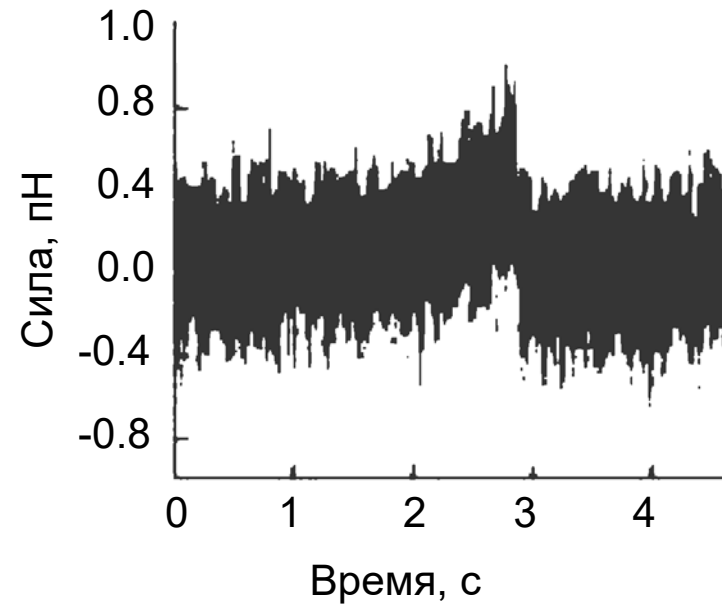
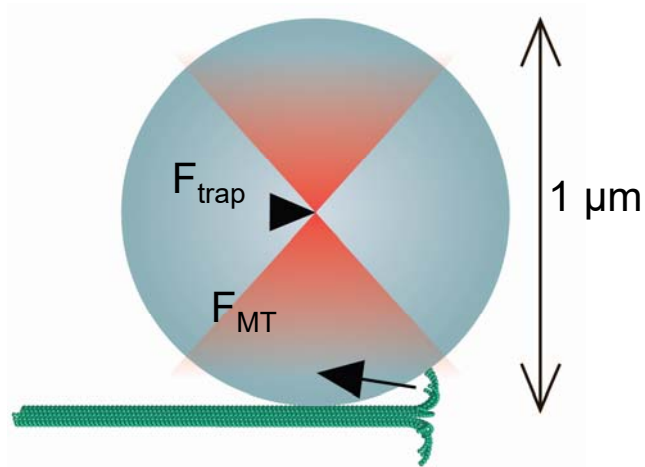


Данные из лаборатории
Dr. Sophie Dumont



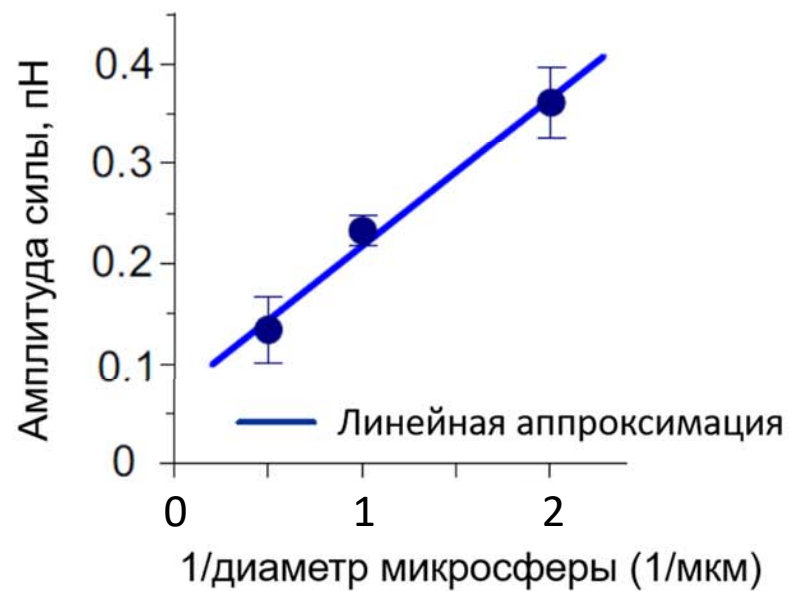
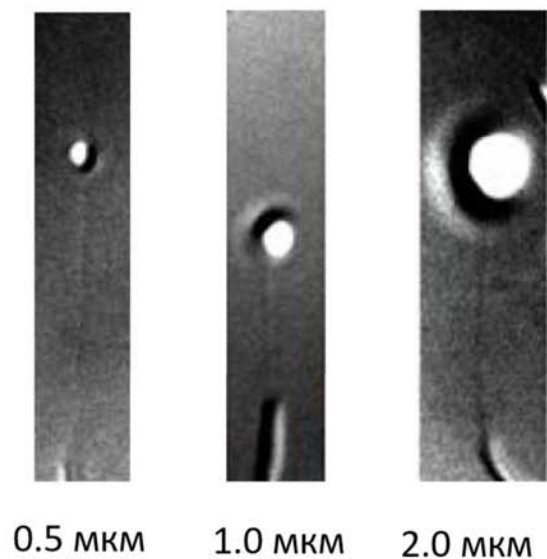
Эксперимент для измерения силы, развиваемой микротрубочками при деполимеризации

Оптическая ловушка

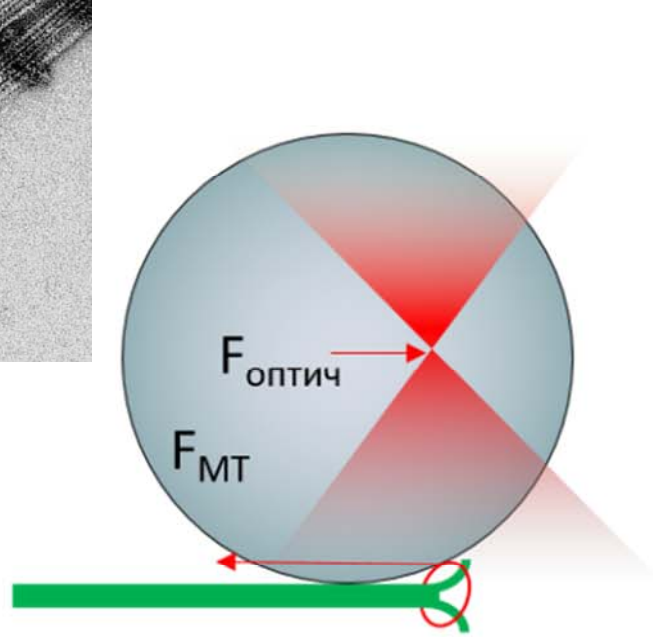
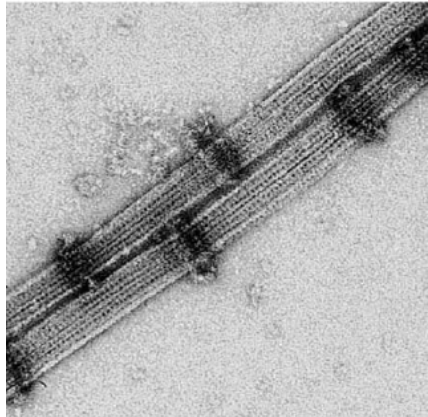


Grishchuk et al. Nature 2005

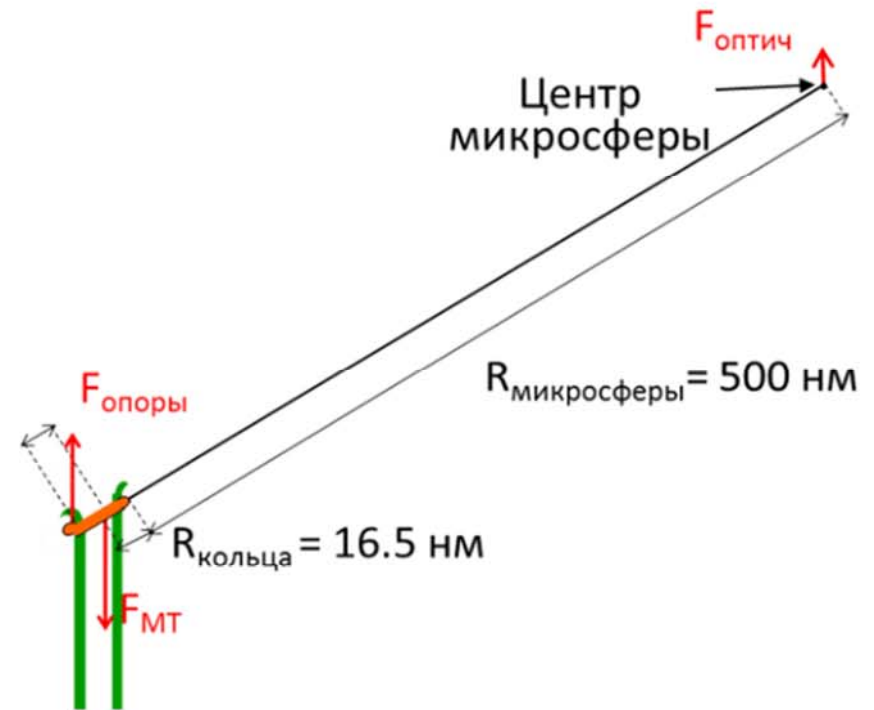
Измеряемая в центре ловушки сила зависит от размера микросферы



В присутствии кольцевого Dam1 комплекса сила собирается со всех 13 протофиламентов микротрубочки

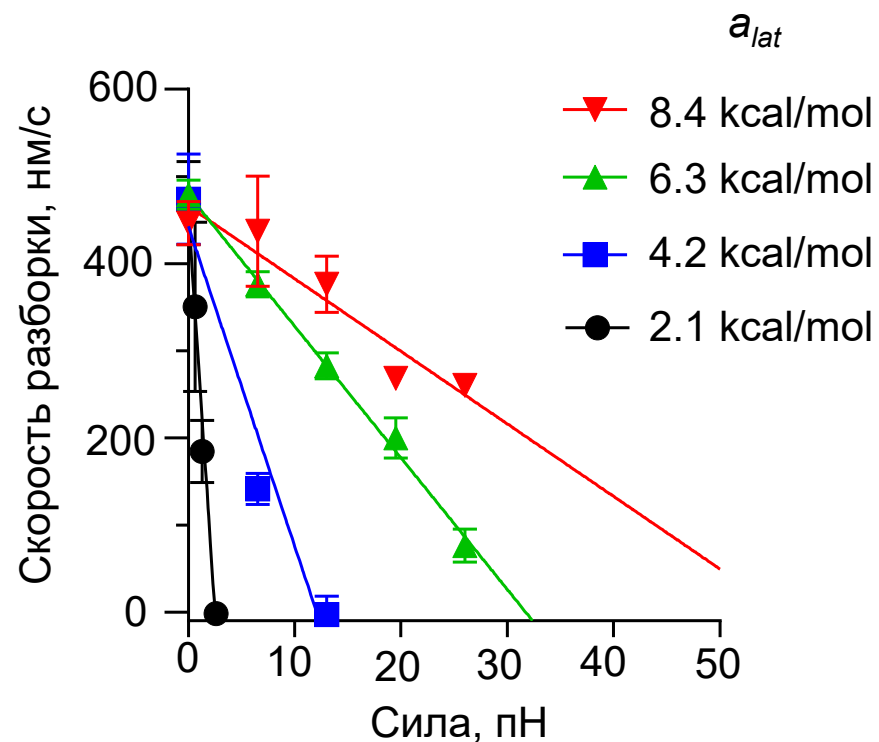
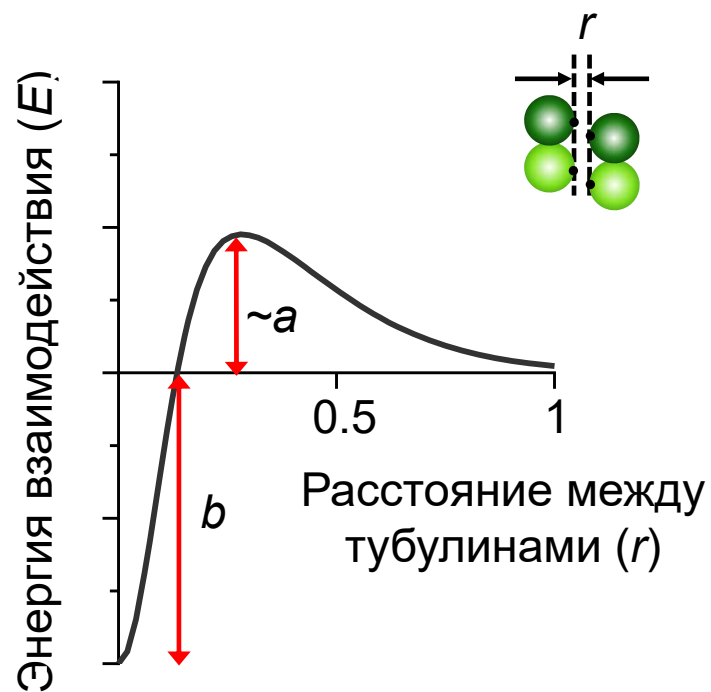
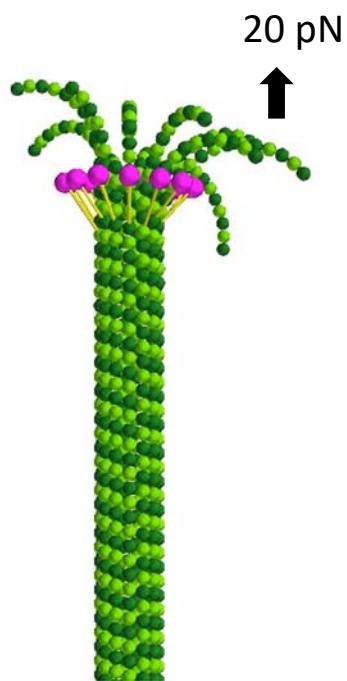


Латеральное закрепление через Dam1 кольцо



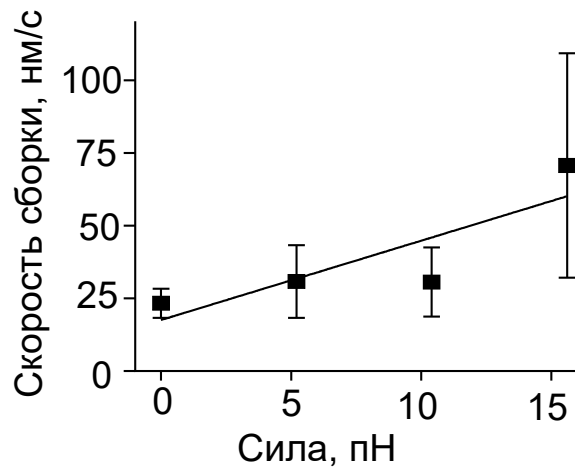
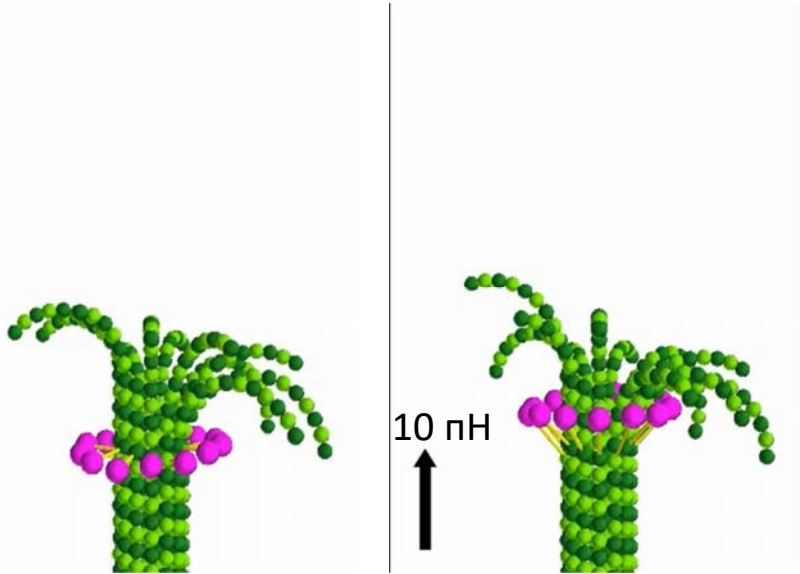
$$\begin{cases} F_{MT} = F_{опоры} + F_{оптич} \\ F_{оптич} (2R_{кольца} + R_{микро сферы}) = R_{MT} r \end{cases}$$

Высокий активационный барьер позволяет развивать существенные силы при разборки микротрубочек



Gudimchuk et al., Nat Commun 2020

Разработанная модель дает механизм сопряжения концов собирающихся микротрубочки с кинетохором



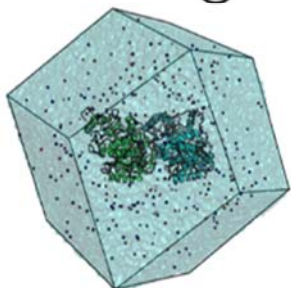
Данные из лаборатории
Dr. Sophie Dumont

Общая схема исследований

Многомасштабная модель динамики микротрубочек

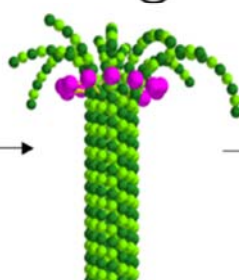
Олигомер тубулина
(молекулярная динамика)

⌚ ~1 мкс



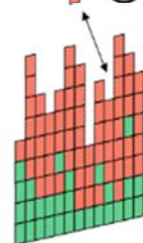
Конец микротрубочки
(броуновская динамика)

⌚ ~1 с



Целая микротрубочка
(метод Монте-Карло)

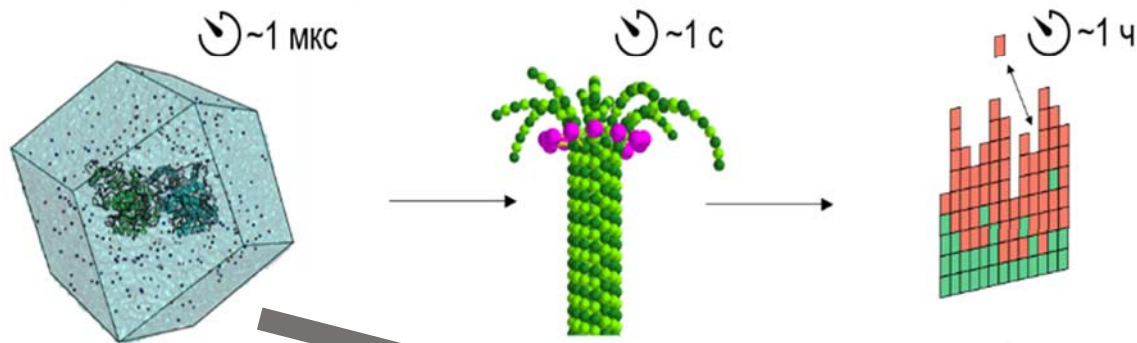
⌚ ~1 ч



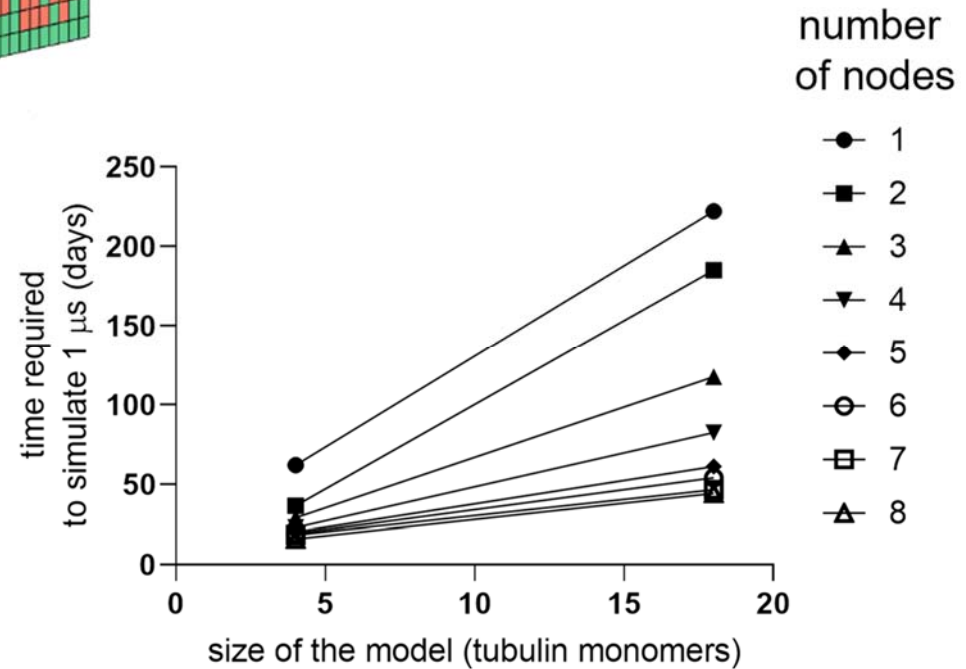
Общая схема исследований

Многомасштабная модель динамики микротрубочек

Олигомер тубулина (молекулярная динамика) Конец микротрубочки (броуновская динамика) Целая микротрубочка (метод Монте-Карло)



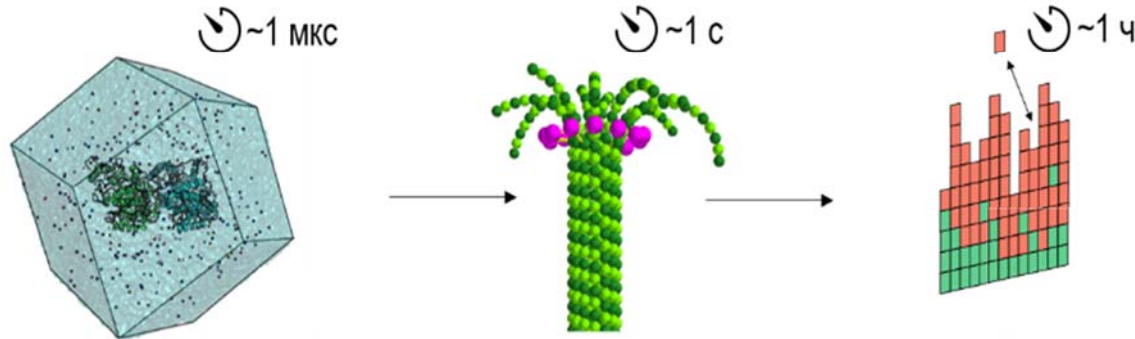
Gudimchuk et al., JSFI 2024



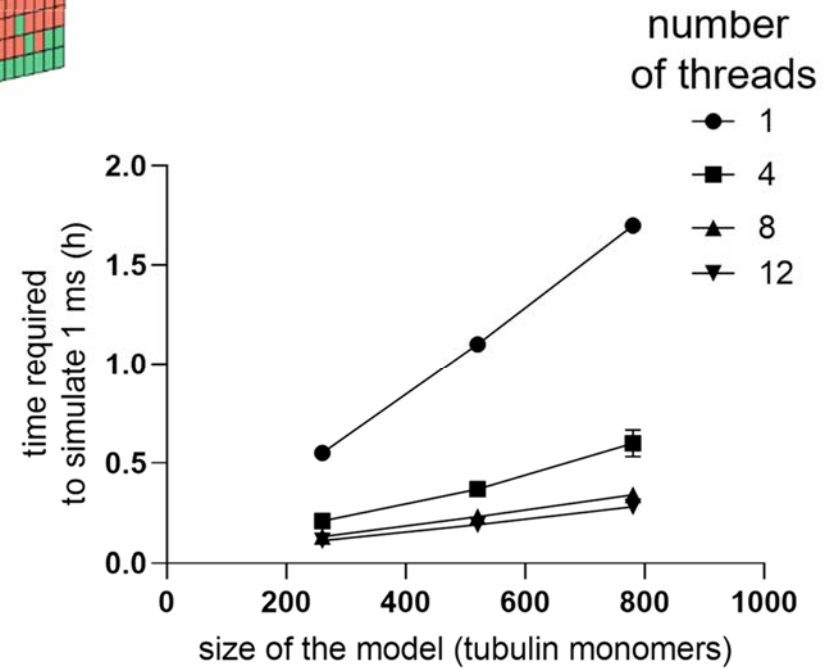
Общая схема исследований

Многомасштабная модель динамики микротрубочек

Олигомер тубулина (молекулярная динамика) Конец микротрубочки (броуновская динамика) Целая микротрубочка (метод Монте-Карло)



Gudimchuk et al., JSFI 2024

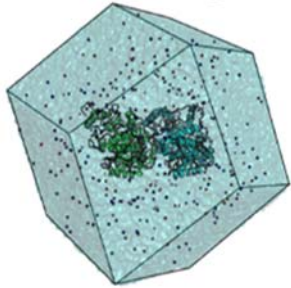


Общая схема исследований

Многомасштабная модель динамики микротрубочек

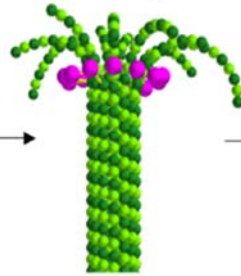
Олигомер тубулина
(молекулярная динамика)

~1 мкс



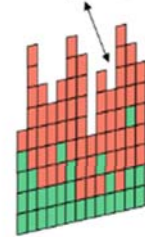
Конец микротрубочки
(броуновская динамика)

~1 с



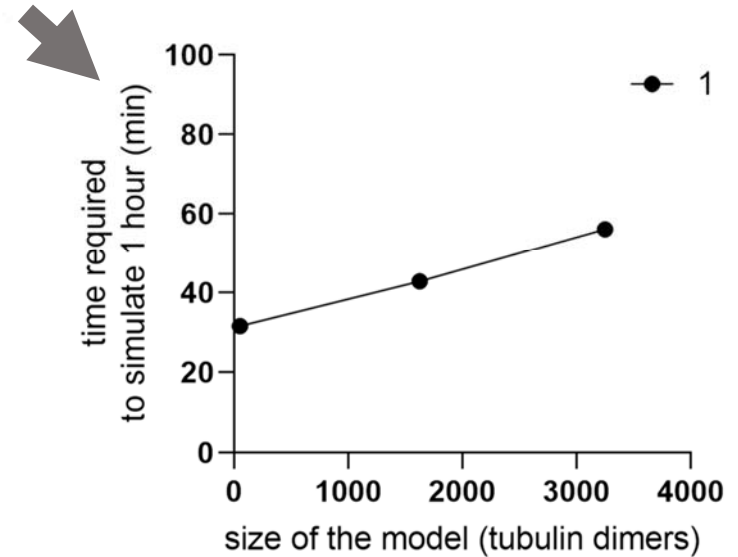
Целая микротрубочка
(метод Монте-Карло)

~1 ч



Gudimchuk et al., JSFI 2024

number
of threads

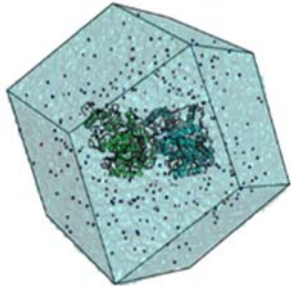


Общая схема исследований

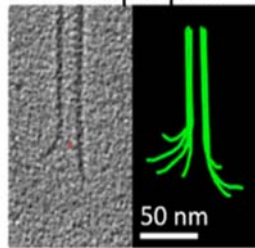
Многомасштабная модель динамики микротрубочек

Олигомер тубулина
(молекулярная динамика)

~1 мкс

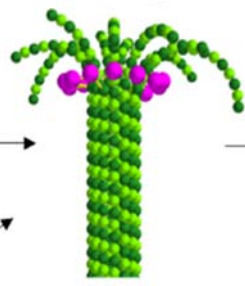


Анализ конформации
протофиламентов по
данным
криоэлектронной
томографии

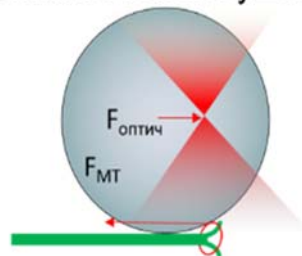


Конец микротрубочки
(броуновская динамика)

~1 с

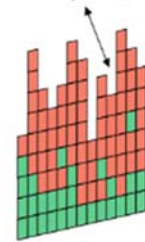


Измерения сил,
развиваемых
микротрубочками, с
помощью
оптической ловушки

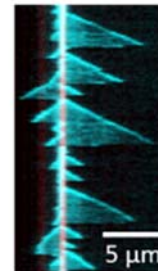


Целая микротрубочка
(метод Монте-Карло)

~1 ч



Исследования динамики
микротрубочек
методами TIRF/DIC
микроскопии in vitro

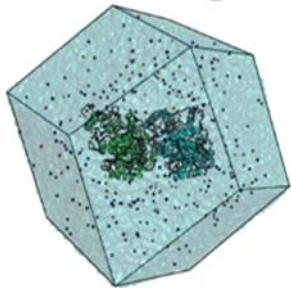


Общая схема исследований

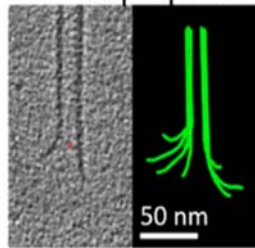
Многомасштабная модель динамики микротрубочек

Олигомер тубулина
(молекулярная динамика)

~1 мкс

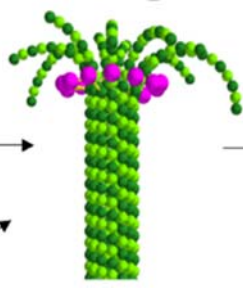


Анализ конформации
протофиламентов по
данным
криоэлектронной
томографии

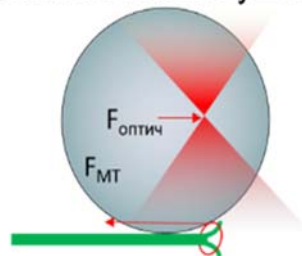


Конец микротрубочки
(броуновская динамика)

~1 с

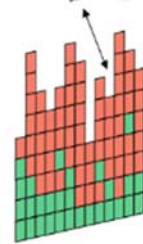


Измерения сил,
развиваемых
микротрубочками, с
помощью
оптической ловушки

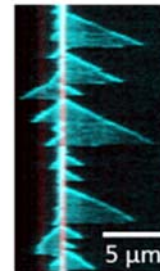


Целая микротрубочка
(метод Монте-Карло)

~1 ч

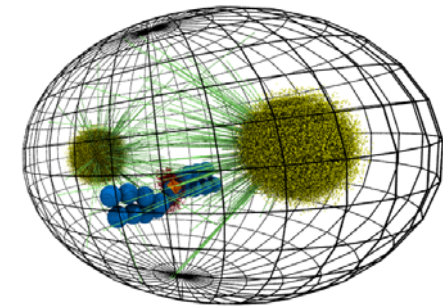


Исследования динамики
микротрубочек
методами TIRF/DIC
микроскопии in vitro

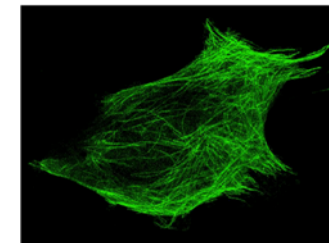


Вся клетка

~1 ч



Конфокальная микроскопия
с супер-фотостабильными
красителями



Блок 1: динамика микротрубочек

Блок 2: микротрубочка как молекулярная машина

Блок 3: модель митотического деления клеток

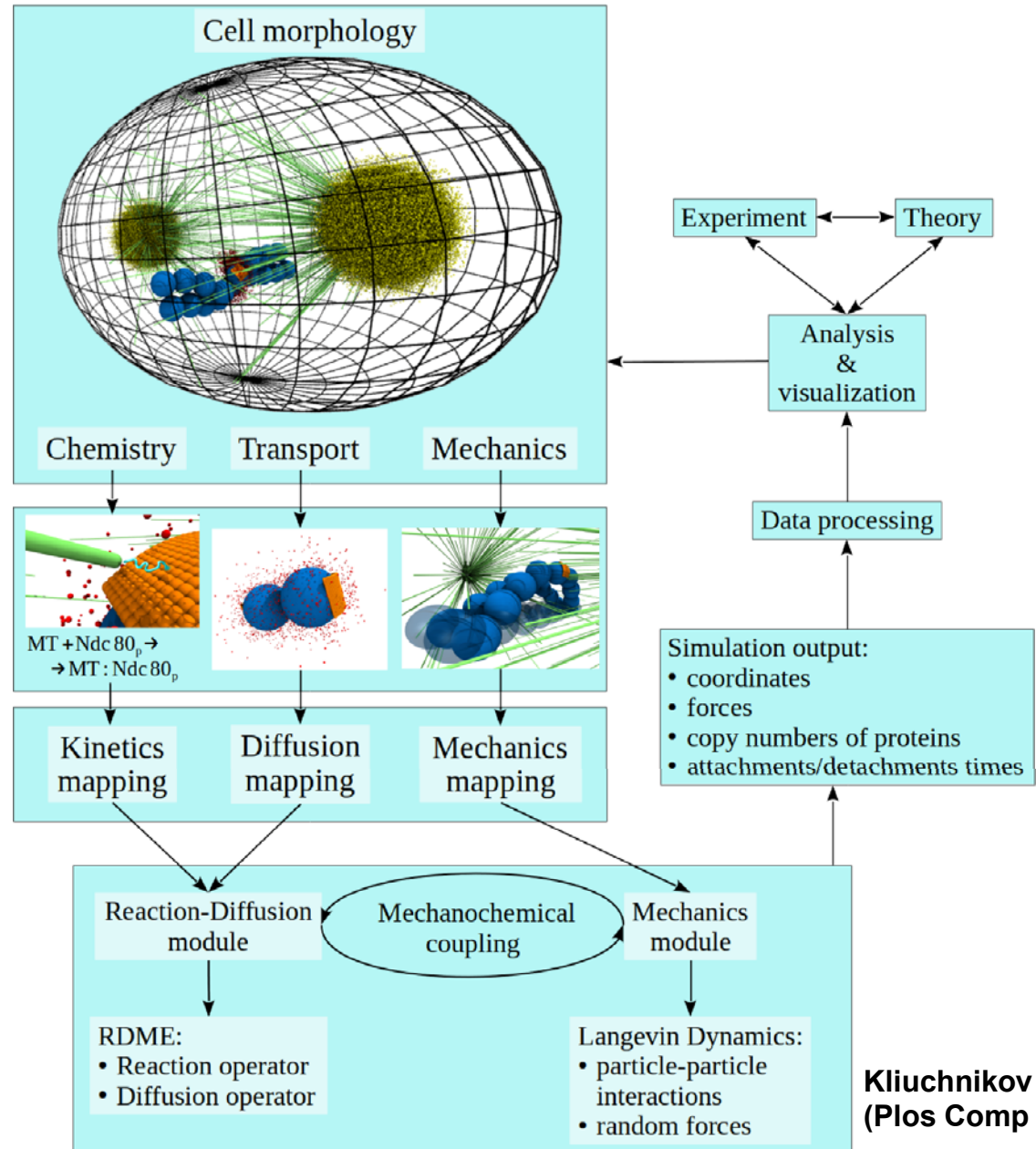
CellDynamo: Stochastic Reaction Diffusion-Dynamics Model



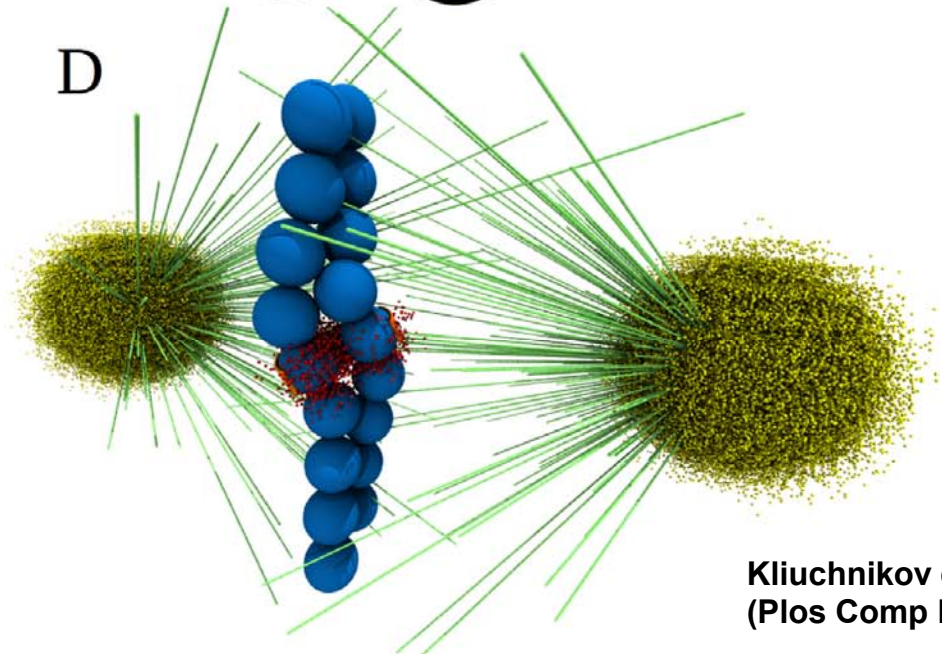
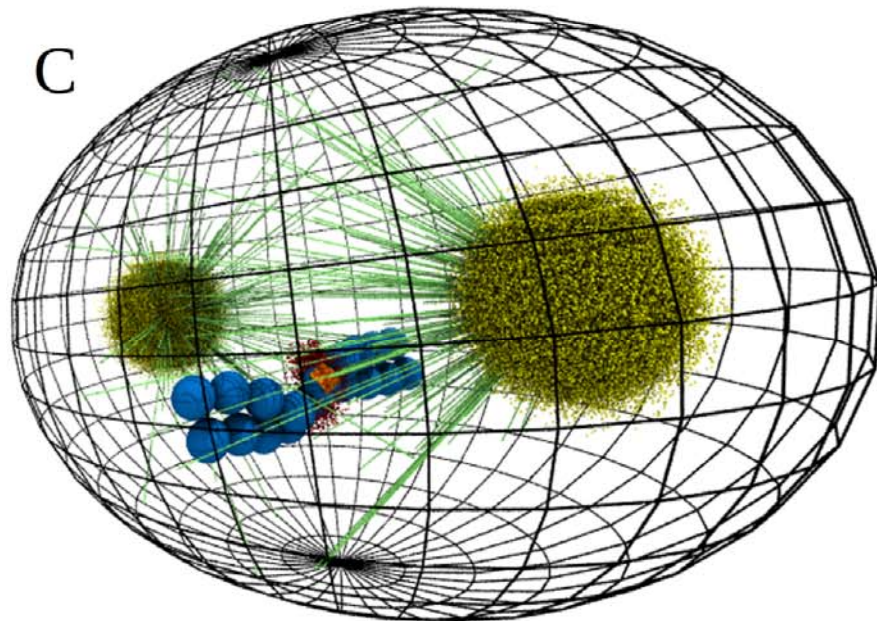
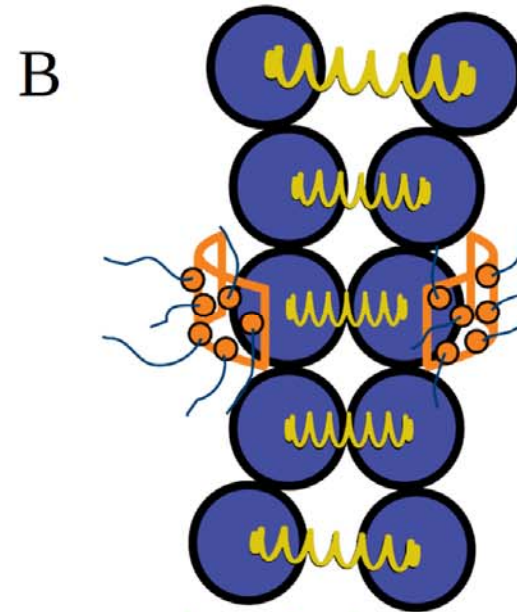
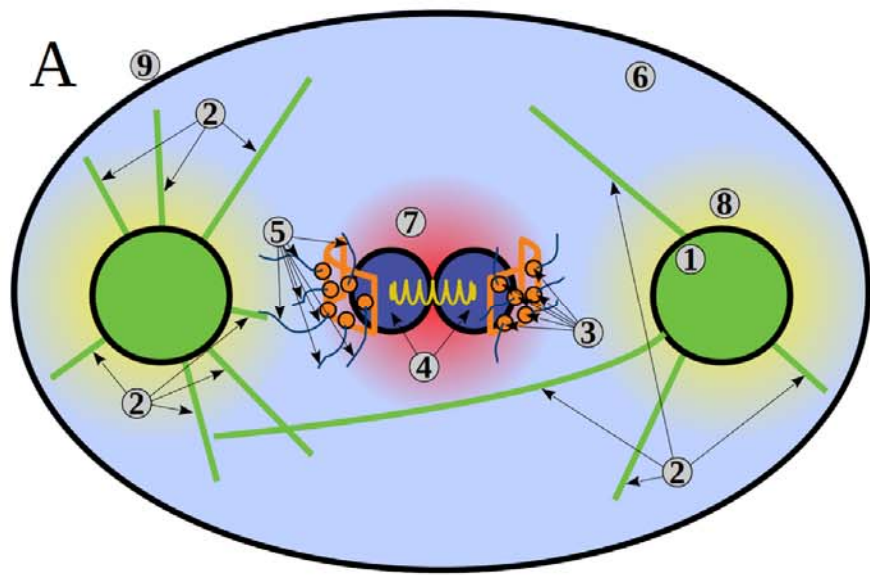
Валерий Барсегов

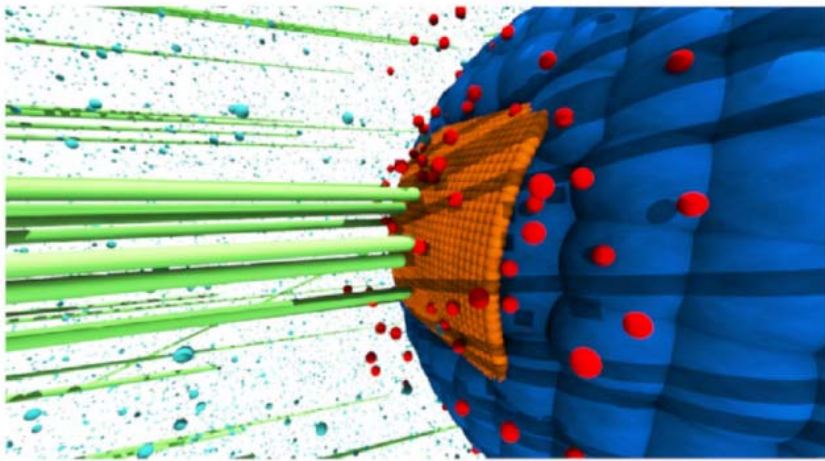
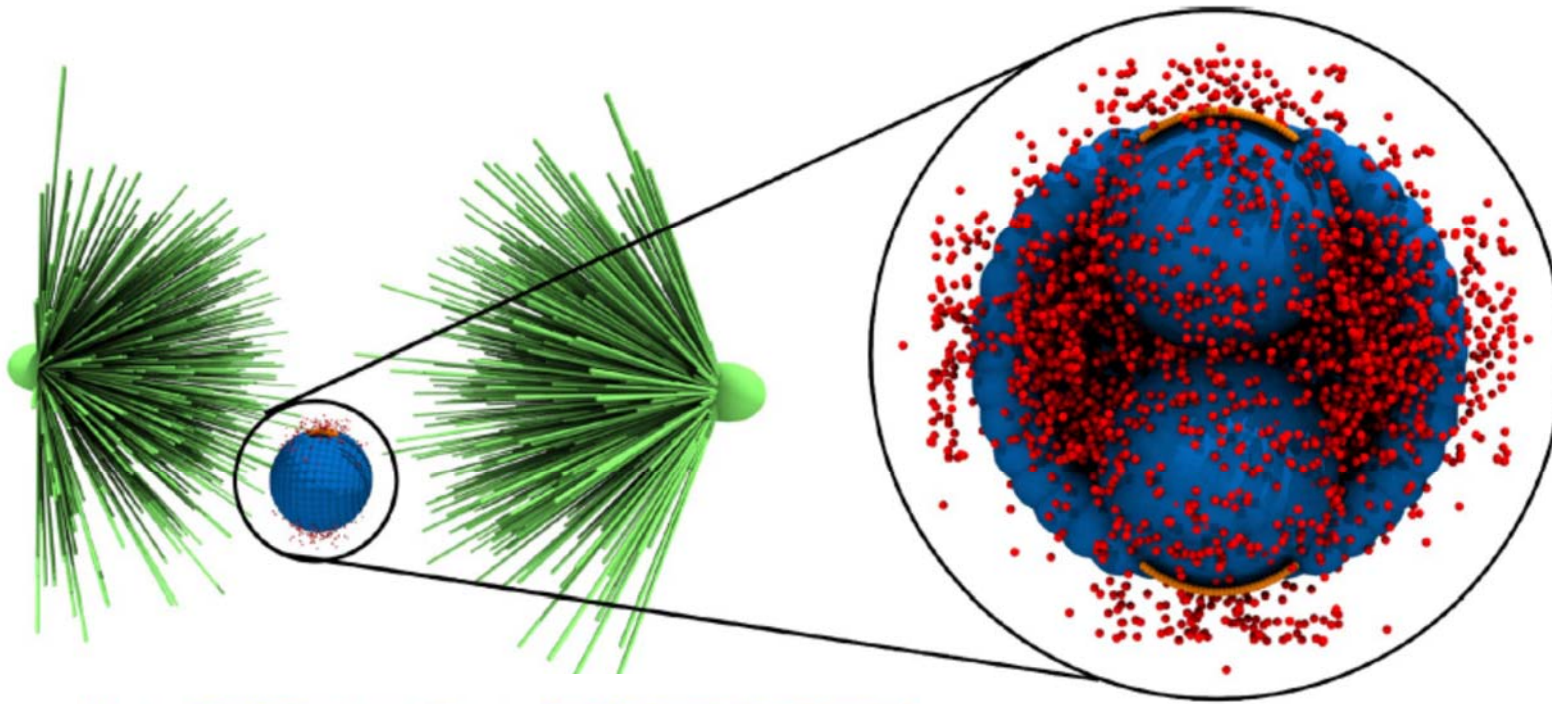


Фазли
Атауллаханов



Kliuchnikov et al.
(Plos Comp Biol 2022)





Reaction-Diffusion Master Equation

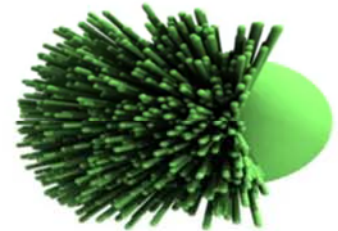
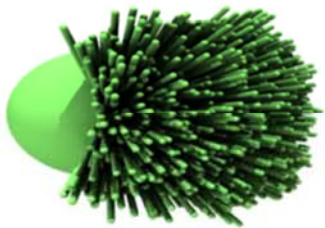
$$\begin{aligned}\frac{dP(\mathbf{X}, t)}{dt} &= \mathbf{R}P(\mathbf{X}, t) + \mathbf{D}P(\mathbf{X}, t) \\ &= \sum_v^V \sum_\mu^M [\alpha_\mu(\mathbf{x}_v - \mathbf{S}_\mu)P(\mathbf{x}_v - \mathbf{S}_\mu, t) - \alpha_\mu(\mathbf{x}_v)P(\mathbf{x}_v, t)] \\ &\quad + \sum_v^V \sum_\xi^{\pm i, j, k} \sum_j^J [d_j(\mathbf{x}_{j, v+\xi} + 1)P((\mathbf{x} + 1)_{j, v+\xi} - 1_{j, v}, t) - d_j \mathbf{x}_{j, v} P(\mathbf{x}_{j, v}, t)]\end{aligned}$$

Langevin Equation

$$\frac{d\mathbf{r}_i}{dt} = \frac{1}{\gamma} \frac{\partial U(\mathbf{r})}{\partial \mathbf{r}_i} + \sigma \mathbf{g}_i(t)$$

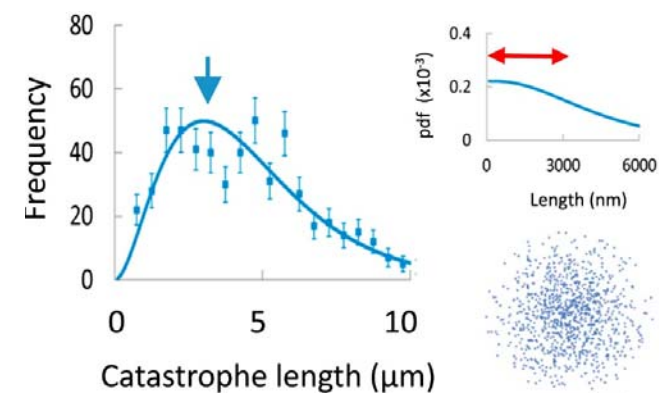
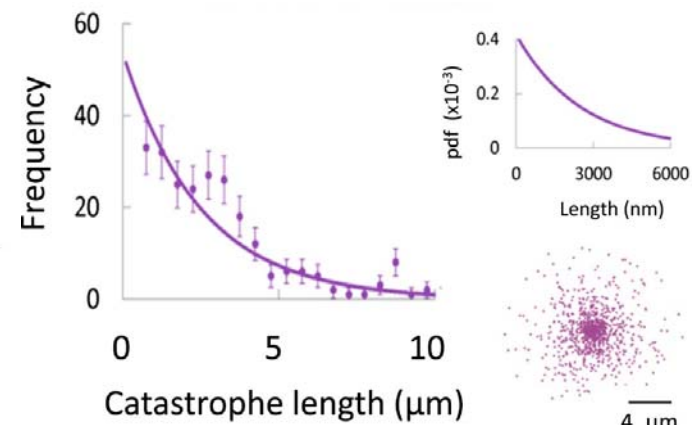
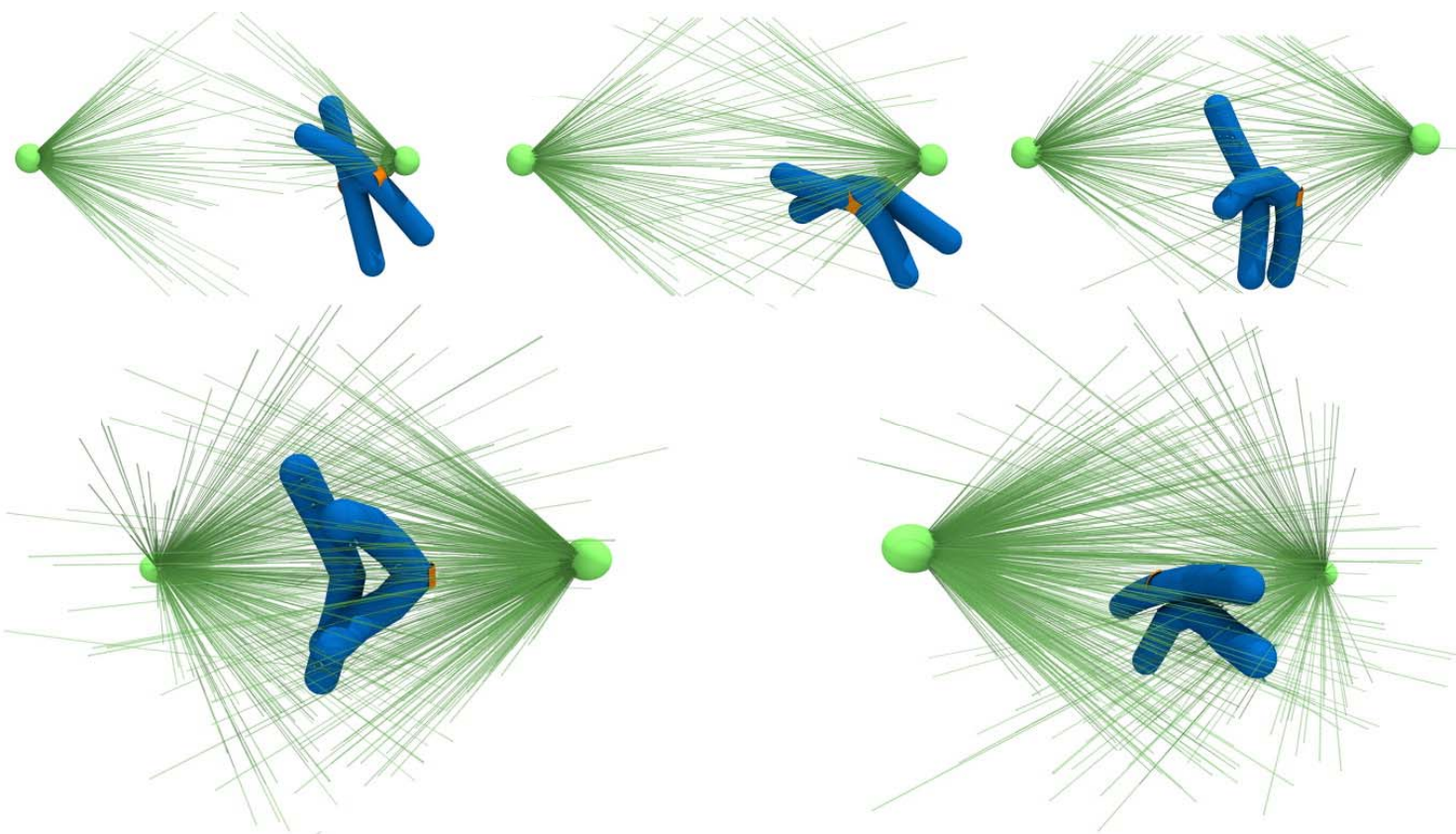
~72 hours of wall-clock time to generate a few ~30 min trajectories of cell dynamics on a contemporary graphics card GeForce GTX 1080

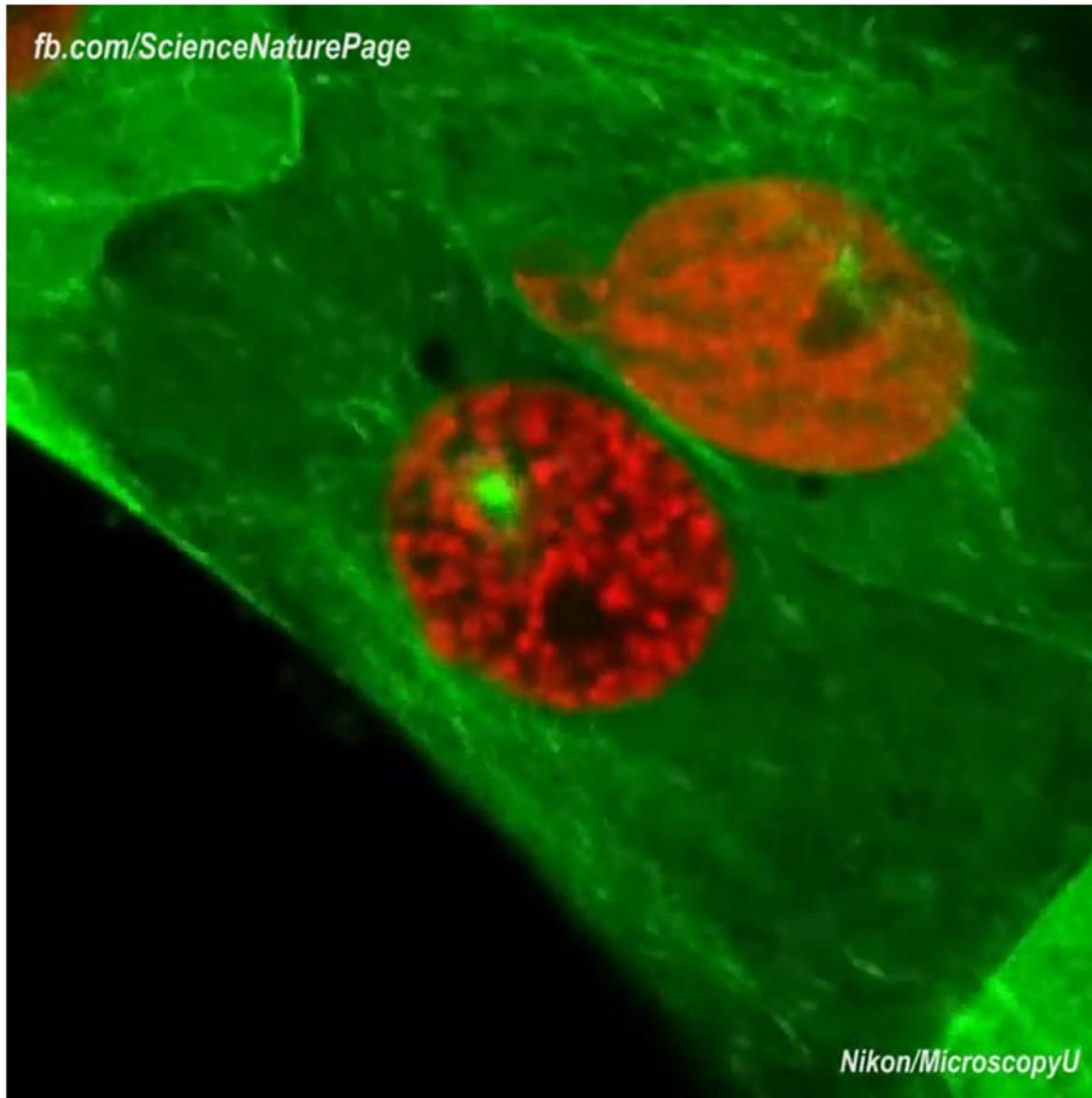
S3 Movie:



Modeling flexible KT surface

Поиск и захват хромосом в митозе





Выводы

- 1) Многомасштабные модели позволяют объединить разнородные данные в единую картину для объяснения свойств микротрубочек – важнейших внутриклеточных биополимеров
- 2) Многомасштабные модели позволяют выявить противоречия в существующих данных и «подсветить» области для экспериментального исследования
- 3) Моделирование работы цитоскелета на уровне целой клетки представляет уникальные возможности для исследования физиологически важных вопросов

Спасибо!

СryoET



J. Richard McIntosh



Eileen O'Toole

Броуновская динамика



Евгений Ульянов



Дмитрий
Виноградов



Фазли
Атауллаханов



Молекулярная динамика



Владимир
Федоров



Илья
Коваленко



Екатерина
Холина

Монте-Карло



Вероника
Александрова

CellDynamo



Валерий
Барсегов

