

УДК 577.3

ТЕРМОДИНАМИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ОБРАЗОВАНИЯ БЕЛКОВЫХ ЛИНЕЙНЫХ АГРЕГАТОВ НА МАТРИЦЕ

© 2023 г. Е.О. Василенко*, **, ##, С.А. Козин*, В.А. Митькевич*,
А.С. Бучельников***, ###, Ю.Д. Нечипуренко*, ***, #

*Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, ул. Вавилова, 32, Москва, 119991, Россия
#E-mail: nech99@mail.ru

**Московский физико-технический институт, 117303, Москва, ул. Керченская, 1а, корп. 1
##E-mail: vasilenko.eo@phystech.edu

***Севастопольский государственный университет, 299053, Севастополь, Университетская ул., 33
###E-mail: tolybas@rambler.ru

Поступила в редакцию 20.09.2023 г.

После доработки 31.10.2023 г.

Принята к публикации 01.11.2023 г.

Развитие многих нейродегенеративных заболеваний связано с образованием патологических белковых агрегатов. В ряде случаев эти агрегаты могут быть образованы посредством многослойной адсорбции лигандов на матрице, в роли которой выступают рецепторы мембранных белков. В работе предложена термодинамическая модель, описывающая формирование линейных агрегатов, в которых лиганды могут складываться в стопки. Рассматриваются случаи, когда эти стопки состоят из комплексов одного или двух разных типов. Областью использования разработанной модели является исследование патологической агрегации белков разной природы, в первую очередь, бета-амилоида и его изоформ. Рассчитаны среднее, дисперсия и энтропия теоретических распределений размеров агрегатов. Проводится сравнение с другими теоретическими моделями образования амилоидных агрегатов.

Ключевые слова: амилоидные агрегаты, математическое моделирование агрегации, самоассоциация, статистическая термодинамика, энергии связывания, бета-амилоид.

DOI: 10.31857/S0006302923060042, EDN: RVOCJF

Прионные заболевания и амилоидоз становятся все более социально значимыми в связи со старением населения Земли, существенно влияя на качество жизни лиц пожилого возраста. Считается, что амилоидоз и прионные патологии развиваются из-за образования агрегатов из пептидов или белков. Известно [1], что если даже небольшая часть пептидов или белков, которые в норме выполняют свои функции, приобретает патологическую конформацию, они могут индуцировать патологическую агрегацию, в которую вовлекаются другие белки или пептиды. Для физико-химического описания таких процессов используются два подхода: термодинамический, позволяющий оценивать энергии равновесного связывания молекул между собой и с поверхностями, и кинетический, позволяющий описывать формирование молекулярных агрегатов во времени. Исследования в обоих направлениях осложняются наличием на молекулах нескольких сайтов связывания и различных их конформаций [2], что увеличивает число параметров моделей. На

сегодняшний день предложен ряд моделей, описывающих агрегацию белков и пептидов (см., например, работу [1]). Подобные модели развиты для описания ассоциации лигандов [3–5]. Т. Хилл [6] применял для описания агрегации метод статистических сумм (см. также работы [7–9]) и представления физической адсорбции, которые позволяют рассматривать образование линейных агрегатов как простейший пример многослойной адсорбции (теория Брунауэра–Эммета–Теллера [10]).

К настоящему времени накоплено большое количество экспериментальных данных об агрегации пептидов и белков с использованием методов флуоресценции [11], атомно-силовой микроскопии [12], иммуноферментного анализа [13], анализа кинетических кривых [14] и метода молекулярной динамики [2]. Можно выделить группы биомолекул, агрегация которых происходит по схожим механизмам. Для их описания можно применять единый математический аппарат.

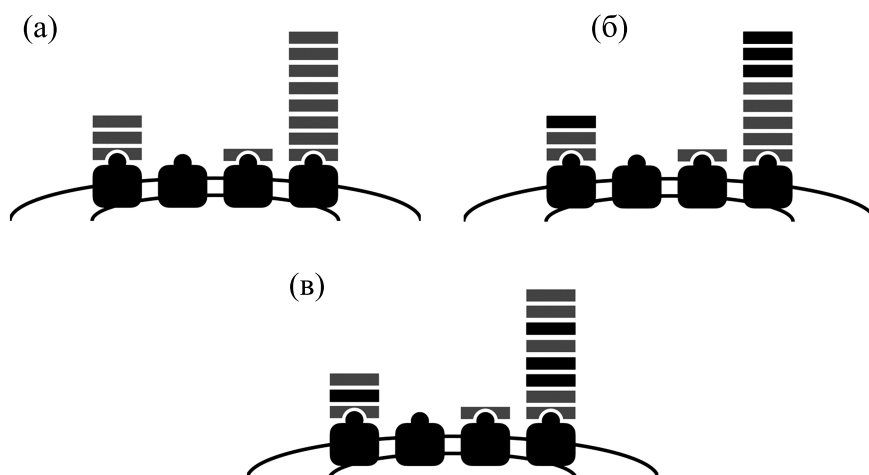


Рис. 1. Схематические изображения, соответствующие трем моделям многослойной адсорбции на матрице: (а) — однородной, (б) — двухфрагментной, (в) — произвольного порядка типов связей.

Большая часть работ на тему образования патологических белковых агрегатов развивает кинетический подход (см., например, [12, 15]). Для описания образования агрегатов можно применить количественную теорию полимеризации, в которой агрегаты считаются линейными цепочками; ключевые результаты в этом направлении получил в своих классических работах П. Флори [16]. В работах [2, 13, 17, 18] по установлению механизмов агрегации бета-2-микроглобулина показано, что связи между мономерами в его агрегатах могут быть разными. Поэтому возникает задача о построении неоднородных моделей.

В данной работе представлены и исследованы термодинамические модели линейного роста по прионному механизму агрегатов, состоящих из одного или двух однородных фрагментов. Предполагается, что агрегаты растут на матрице, например, белковом рецепторе внешней стороны клеточной мембраны. Модели учитывают энтропийные и энергетические факторы агрегации и будут востребованы для интерпретации экспериментальных распределений размеров белковых агрегатов, в частности, для оценки энергий ассоциации и их сравнения с экспериментом (см., например, работу [19]).

Особенность предлагаемого подхода — ориентационная асимметрия: агрегат не формируется в изотропном растворе, а растет в направлении от сайта связывания на некоторой матрице, образуя «стопку», а для роста агрегата необходимо образование первичного комплекса лиганда с рецептором [20]. Рассматриваются теоретические распределения размеров агрегатов в качестве ключевой характеристики моделей для сравнения их с экспериментом.

МОДЕЛЬ ОДНОРОДНОЙ АГРЕГАЦИИ

Рассмотрим термодинамическую систему, в которой на матрицу из раствора могут адсорбироваться лиганды в мономерной форме. В растворе при постоянных давлении, температуре и химическом потенциале свободных мономеров в равновесии находятся мономер и агрегаты, связанные с матрицей. Линейные агрегаты разных размеров образуются посредством присоединения мономеров к уже образованным на матрице первичным комплексам [21]. В качестве матрицы могут выступать сайты связывания белков с рецепторами на поверхности мембраны нервной клетки, как это происходит при многих нейродегенеративных заболеваниях [22]. В частности, подобный механизм реализуется в случае агрегации бета-амилоида при взаимодействии с никотиновым ацетилхолиновым рецептором на поверхности клеток [20]. Агрегаты в простейшем приближении можно считать однородными линейными цепями, состоящими из одинаковых мономеров, соединенных одинаковыми связями (см. рис. 1). При этом первая связь может быть особой и соответствовать образованию первичного комплекса «сайт–лиганд» [20]. Заметим, что в качестве мономеров при образовании агрегатов может выступать не только бета-амилоид, но и его комплекс с ионом цинка [23].

Обозначим константу связывания мономера L с матрицей S (реакция $S + L \rightleftharpoons SL$) через K , константу ассоциации мономеров, которые формируют агрегаты (реакция $SL_n + L \rightleftharpoons SL_{n+1}$) через a , концентрацию свободных лигандов в объеме раствора — через c . Все связи, кроме первой, в агрегатах одинаковы. Такой линейной однородной модели агрегации соответствует большая статистическая сумма системы, представляющая собой сумму геометрической прогрессии:

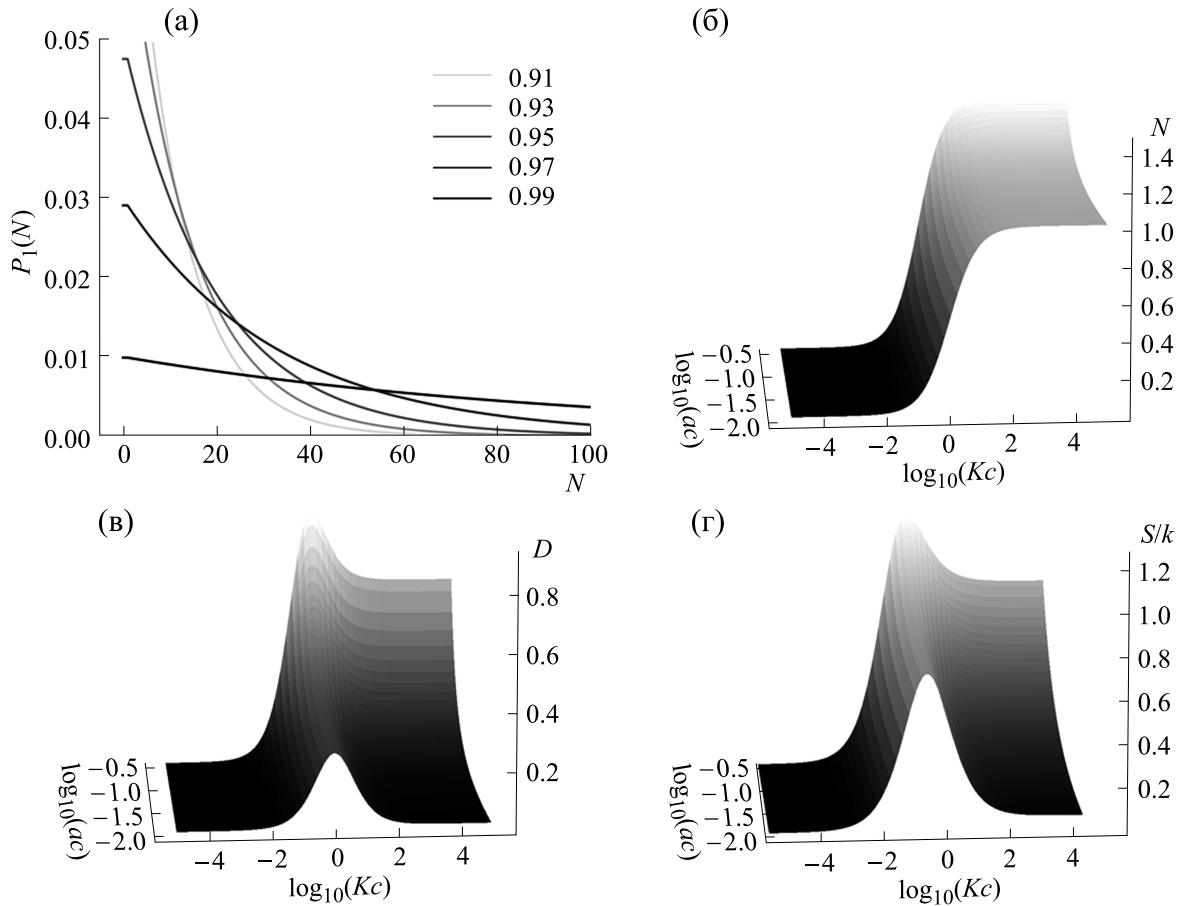


Рис. 2. Теоретические распределения размеров агрегатов $P_1(N)$ для однородной модели агрегации, где N – число мономеров, и их статистические характеристики: (а) – распределения размеров агрегатов при $Kc = 1$ и разных значениях параметра ac , (б) – средний размер агрегата, (в) – дисперсия, (г) – энтропия.

$$\Upsilon_1 = 1 + Kc \sum_{N=0}^{\infty} (ac)^N = 1 + \frac{Kc}{1 - ac}, 0 < ac < 1.$$

Введем в рассмотрение $P_1(N \in N_0)$ – вероятность обнаружить на сайте связывания агрегат,

состоящий из N мономеров. В однородной модели распределение агрегатов такое:

$$P_1(0) = \frac{1}{\Upsilon_1}, P_1(N \geq 1) = \frac{1}{\Upsilon_1} Kc(ac)^{N-1}.$$

На рис. 2а показаны распределения размеров агрегатов, соответствующие однородной модели; они соответствуют классическому распределению Шульца–Флори из теории полимеризации [16], то есть доля агрегатов или полимеров экспоненциально падает при увеличении длины из-за энергетических затрат на образование связей между мономерами. Распределения длин многих органических полимеров действительно имеют такой вид [16]. Заметна чувствительность распре-

деления к малым изменениям ac при значениях, близких к единице.

Однако распределения длин агрегатов многих важных для медицины биомолекул, например, фибрилл из молекул бета-амилоида, ассоциированных с болезнью Альцгеймера, имеют характерный пик [12], то есть не убывают монотонно, а сначала возрастают и затем убывают. Качественно это можно объяснить полиморфизмом агрегатов, а именно, можно предположить, что агрегаты из одного и того же числа мономеров могут об-

разовываться разными способами из-за наличия на мономере разных сайтов связывания. В результате доля длинных агрегатов увеличивается. Именно этот эффект призвана учесть предлагаемая далее двухфрагментная модель.

Статистический подход удобен тем, что по известным выражениям статистических сумм можно вычислять статистические характеристики термодинамических систем (см., например, работу [24]). Из рис. 2б видно, что среднее заполнение сайта матрицы лигандами монотонно возрастает при увеличении Kc , при этом для каждого фиксированного значения ac зависимость математического ожидания от Kc выглядит как сигмоида — для каждого $ac > 0$ существует довольно узкий интервал значений Kc , на котором происходит резкий переход от почти полного отсутствия лигандов на матрице до насыщения. Заполнение при фиксированном значении ac стремится к насыщению, потому что при устремлении Kc к бесконечности на каждом сайте адсорбируется «первичный» лиганд, дальнейший же рост цепи регулируется только фиксированным ac . Также на рис. 2в заметна корреляция между дисперсией распределения размеров агрегатов и энтропией ансамбля агрегатов, которая объясняется тем, что соответствующее энтропии разнообразие в однородной модели агрегации достигается только за счет разнообразия размеров агрегатов. В следующей, двухфрагментной, модели присутствует еще один фактор разнообразия — соотношение между количествами комплексов двух типов в агрегате.

МОДЕЛЬ ДВУХФРАГМЕНТНОЙ АГРЕГАЦИИ

Пусть, как и в предыдущей модели, в растворе при постоянной температуре и постоянном давлении находятся одинаковые свободные лиганды и адсорбированные молекулы лигандов, формирующие агрегаты на матрице. Дополнительно предположим также, что связывание соседних лигандов возможно не по единственному, а по одному из двух механизмов, которые соответствуют образованию двух типов комплекса; об этом свидетельствуют результаты молекулярно-динамического моделирования [2] и исследования механизмов образования амилоидных агрегатов [25]. В любом агрегате по направлению его роста от матрицы лиганды сначала связываются между собой по первому механизму, образуя первый тип комплекса. На одном из лигандов может происходить «переключение», начиная с которого об-

разуются комплексы только второго типа. Этот тип комплекса далее индуцирует по прионному механизму образование таких же комплексов при адсорбции следующих лигандов. В результате агрегат, который формируется на матрице, может состоять из двух различных последовательных однородных фрагментов.

На рис. 1б схематически показаны примеры таких агрегатов. Ранее были получены и подробно исследованы статистические суммы для различных гетерогенных моделей агрегатов [4, 5, 26], однако в предлагаемой двухфрагментной модели играет роль асимметрия: ориентация каждого агрегата задана однозначно, а именно, в направлении от матрицы, через первичный комплекс, рост идет в следующем порядке: изначально образуется первичный комплекс с константой связывания K , который продолжается формированием цепочки комплексов первого типа с константой ассоциации a , затем — второго типа с константой ассоциации b . Эта асимметрия, как будет показано далее, наделяет модель важными для объяснения экспериментальных распределений размеров агрегатов свойствами.

Пусть c , как и ранее, — равновесная концентрация свободных мономеров в растворе, a и b — константы ассоциации для двух механизмов связывания мономеров между собой, K — константа связывания мономера с сайтом матрицы, т.е. инициации роста агрегата на сайте матрицы (образования первичного комплекса). Все величины в данной теоретической работе безразмерны. Предполагается, что $0 < ac, bc < 1$; эти ограничения, с одной стороны, естественны, потому что концентрация свободного лиганда обычно очень низкая, а константы ассоциации также не очень велики, иначе наблюдалась бы очень быстрая агрегация почти всех мономеров. С другой стороны, эти ограничения позволяют вычислять суммы геометрических прогрессий. А именно, при данных ограничениях выполняются условия теоремы Мертенса:

$$\sum_{i,j \geq 0} (ac)^i (bc)^j = \sum_{i=0}^{\infty} (ac)^i \sum_{j=0}^{\infty} (bc)^j$$

Это тождество сводит задачу вычисления рассматриваемой ниже статистической суммы к вычислению сумм двух бесконечных геометрических прогрессий, в результате получается конечное выражение:

$$\Upsilon_2 = 1 + Kc \left\{ 1 + ac \sum_{i,j \geq 0} (ac)^i (bc)^j \right\} = 1 + Kc \left\{ 1 + \frac{ac}{(1-ac)(1-bc)} \right\}.$$

Двухфрагментная модель — в некотором смысле простейшая после однородной, потому что получена добавлением к ней лишь одного дополнительного параметра b , порождающего один дополнительный однородный фрагмент, а Υ_2

сводится к произведению двух статистических сумм вида Υ_1 , причем во второй из них ac играет для bc ту же роль, что и Kc для ac в первой — это и есть двухфрагментность. Соответствующее распределение размеров агрегатов при $b < a$:

$$P_2(0) = \frac{1}{\Upsilon_2}, P_2(1) = \frac{1}{\Upsilon_2} Kc, P_2(N \geq 2) = \frac{1}{\Upsilon_2} Kac^2 \sum_{j=0}^{N-2} (ac)^{N-2-j} (bc)^j = \frac{1}{\Upsilon_2} Kac^2 (ac)^{N-2} \frac{1 - r^{N-1}}{1 - r}.$$

при $b > a$:

$$\frac{1}{\Upsilon_2} Kac^2 (bc)^{N-2} \frac{1 - r^{N-1}}{1 - r},$$

при $a = b$:

$$P_2(N \geq 2) = \frac{N - 2}{\Upsilon_2} Kc(ac)^{N-1}.$$

Такое выражение может описывать почти однородные агрегаты, в каждом из которых есть единственная неоднородность (ядро) (см., например, работу [13]).

Выражение $r = \min\{a, b\} / \max\{a, b\}$ можно назвать параметром разнообразия, эта величина характеризует степень равноправия механизмов. Если, например, $b < a$, то по мере увеличения b от 0 до a разнообразие растет.

$P_2(N)$ представляется в виде произведения убывающей и возрастающей функций. При $a = 0.9$, $b = 0.9$ подавляющая часть агрегатов состоит не более чем из 40 мономеров (см. рис. 3), а наиболее частый размер агрегата не превышает 10 мономеров, далее плотность вероятности убывает. Это говорит о том, что взаимодействия между энергетическими и энтропийными факторами проявляют себя для не очень больших агрегатов, заметную часть каждого из которых может составлять ядро, отличное от остальной части агрегата, что является одним из характерных свойств двухфрагментной модели.

При заданной температуре распределение размеров агрегатов в двухфрагментной модели однозначно задается всего двумя параметрами: приведенным химическим потенциалом $\mu_{\text{прив}} = \mu - \epsilon$ мономера (энергетическим параметром) и параметром разнообразия r (энтропийным параметром). Необходимое условие сходимости статистической суммы дает ограничение $\mu_{\text{прив}} < 0$, а предположение о преобладании связывания по первому механизму — $0 \leq r \leq 1$.

Видно, что пик распределения изменяется при варьировании энтропийного параметра намного

заметнее, чем при варьировании энергетического параметра. Это связано с тем, что пик у кривой существует только в достаточно узком диапазоне значений приведенного химического потенциала, то есть при разложении в ряд Маклорена $P(N) \sim \{1 + N(\mu - \epsilon)/RT\} \{1 + \beta + \dots + \beta^{N-1}\}$, где $(\mu - \epsilon)/RT$ — небольшое отрицательное число, поэтому поведение функции распределения при не слишком больших N определяется в основном энтропийным множителем. Другое объяснение приведено на последней странице Приложения, оно использует явное выражение для положения пика теоретического распределения.

Как и в однородной модели, существует корреляция между дисперсией и энтропией ансамбля агрегатов. «Хребет» максимумов остается при $Kc = 1$. И дисперсия, и энтропия ансамбля при увеличении bc увеличиваются. Важное изменение при росте bc — увеличение среднего размера агрегата при увеличении ac , что связано с индукцией: даже при небольших значениях ac (порядка 0.2) индуцируется рост второго фрагмента. В этом состоит одно из существенных отличий двухфрагментной модели от однородной.

СВОЙСТВА ФРАГМЕНТОВ АГРЕГАТОВ

В двухфрагментной модели можно выделить два режима агрегации. При $b \ll a$ целесообразно назвать режим «кэпированием», потому что если у агрегата и есть второй фрагмент, то, в среднем, не очень большой, то есть он напоминает «шапочку» (англ. cap) на первом фрагменте. При $b \gg a$ можно считать конформацию лигандов первого типа индуцирующей быстрый рост агрегатов по второму механизму и, соответственно, такой режим можно назвать «индукцией». Минимумы при $N = 1$ объясняются отсутствием энтропийного эффекта из-за возможности связывания непосредственно с сайтом только лиганда первого типа. Это можно понимать как нестабильность состояния инициации: если на сайте адсорбировался первый лиганд, он вряд ли останется на нем единственным, скорее он либо вернется в раствор, либо положит начало агрегату. Таким образом, в двухфрагментной модели можно выделить

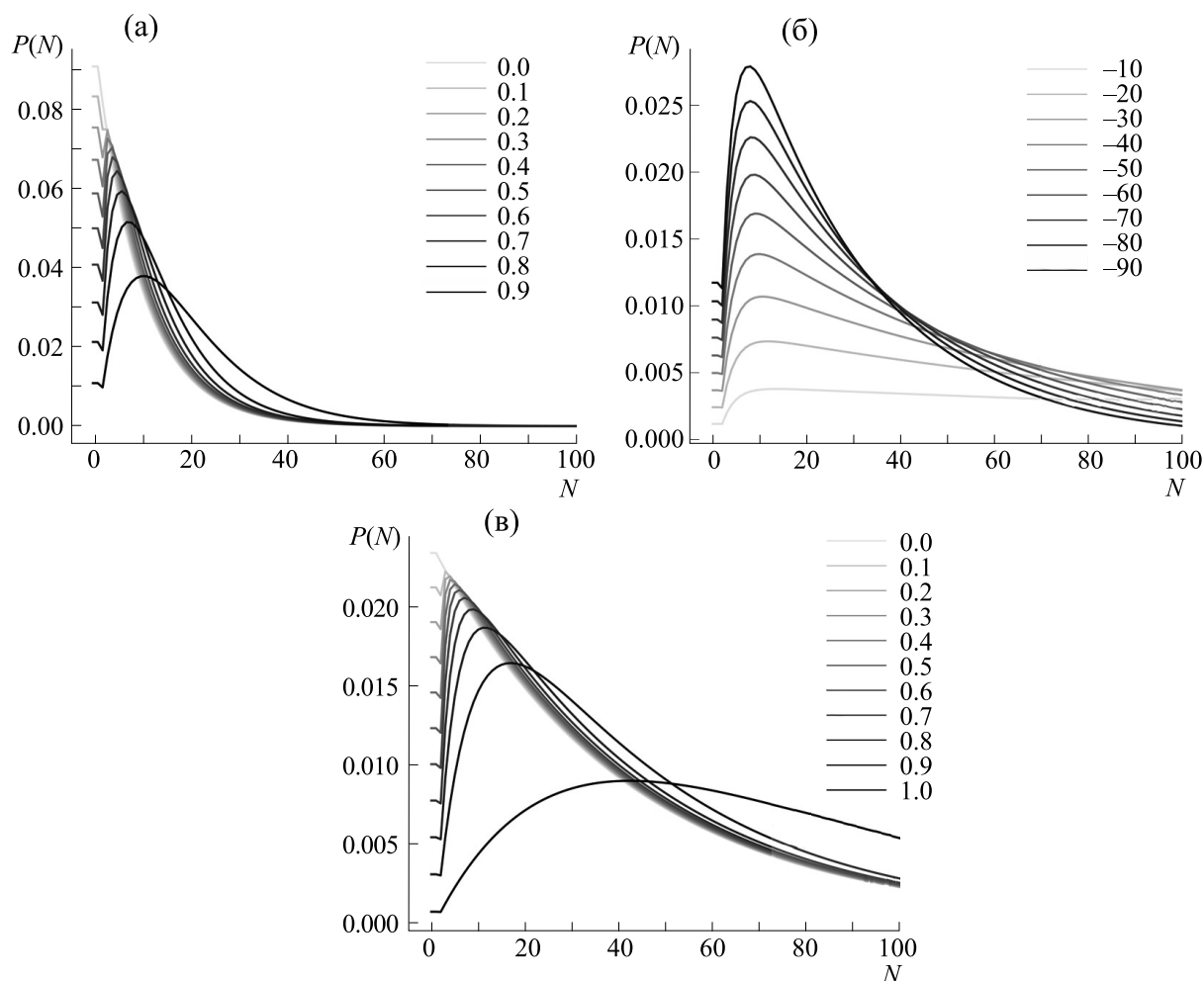


Рис. 3. Теоретические распределения размеров двухфрагментных агрегатов при различных значениях параметров: (а) – варьируется величина bc ($ac = 0.9$, $Kc = 1$), (б) варьируется величина энергетического параметра $\mu_{\text{прив}} = \mu - \epsilon$ (Дж/моль) ($r = 0.7$), (в) варьируется величина энтропийного параметра $r = b/a$ ($\mu_{\text{прив}} = -60$ Дж/моль).

два режима агрегации: «фундамент–наращивание» при $a \ll b$ и «наращивание–кэпирование» при $b \ll a$. Из рис. 6 можно заметить, что при больших значениях Kc , но малых значениях ac вторые фрагменты почти не формируются.

На рис. 5а прослеживается близкая к линейной зависимость $\langle N_b \rangle$ от a . На рис. 5б при малых значениях ac и при $bc = 0.9$ первый (индуцирующий) фрагмент значительно меньше второго фрагмента, что можно понимать как индукцию второго механизма первым, которая происходит при $b \gg a$. Это может быть важным для понимания развития болезней, а именно: константа b изначально большая, однако рост патологических агрегатов возможен только при росте ac , например, при появлении индуцирующих агрегацию прионов. При увеличении r средняя длина верхнего фрагмента растет много быстрее средней длины нижнего фрагмента, что позволяет интерпретировать при таких соотношениях констант

ассоциации эту модель как модель с индукцией, а именно: относительно небольшое число лигандов первого типа формирует «фундамент» агрегата, далее растет длинный агрегат по второму механизму.

МОДЕЛЬ ПРОИЗВОЛЬНОГО ПОРЯДКА ТИПОВ СВЯЗЕЙ В АГРЕГАТАХ

Предположим, что к первичному комплексу мономеры двух типов могут присоединяться в произвольном порядке. Тогда на первичном комплексе агрегат с i связями первого типа и j связями второго типа может образоваться C_{i+j}^i способами, то есть энергетические состояния вырождены. Статистическая сумма для ансамбля таких агрегатов:

$$Y_{\infty} = 1 + Kc \sum_{i,j \geq 0} C_{i+j}^i (ac)^i (bc)^j ..$$

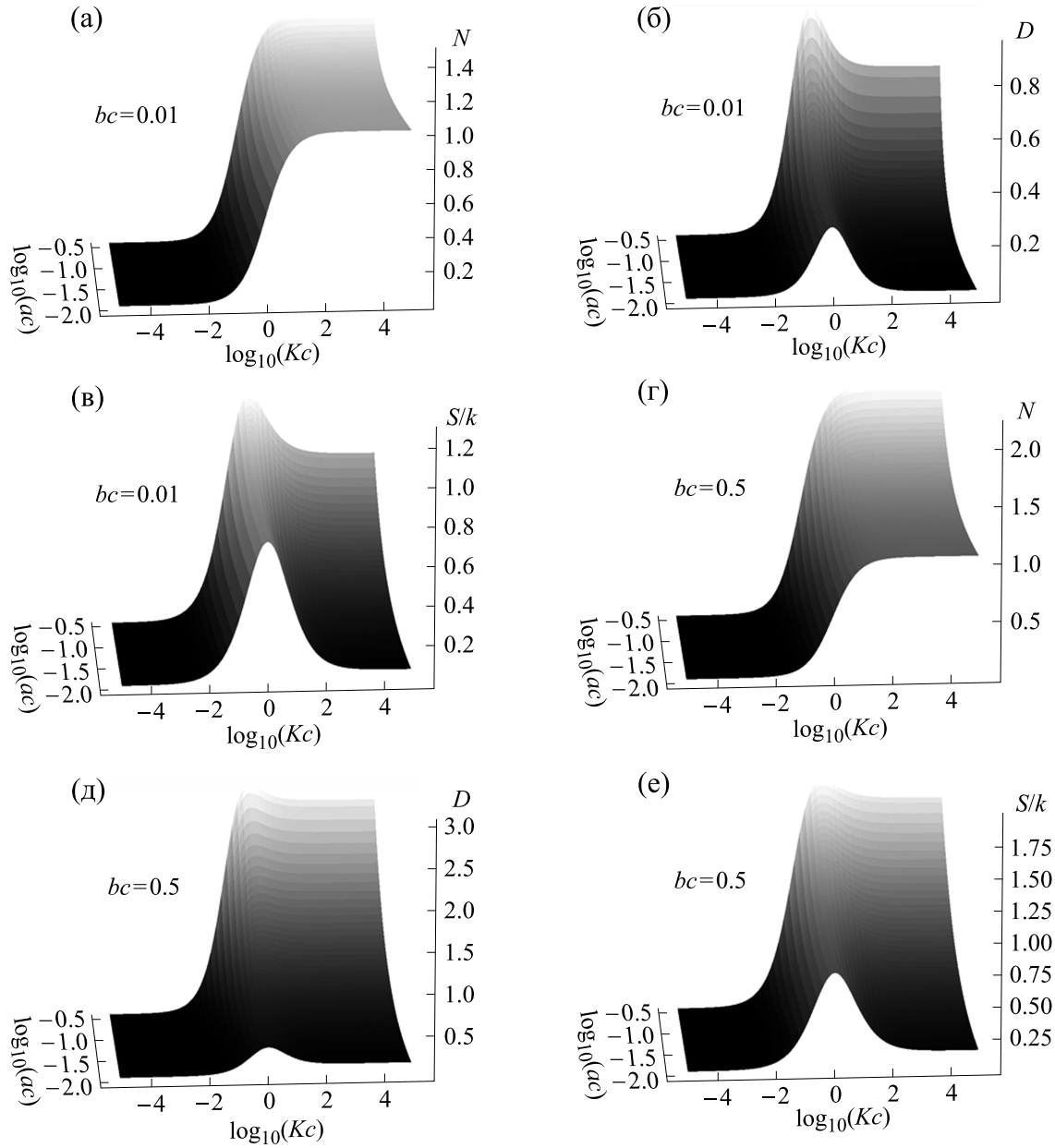


Рис. 4. Зависимости статистических характеристик ансамбля двухфрагментных агрегатов от Kc и ac : (а), (б), (в) — соответственно среднее, дисперсия и энтропия при $bc = 0.1$; (г), (д), (е) — соответственно среднее, дисперсия и энтропия при $bc = 0.5$.

Обозначения Υ_1 , Υ_2 и Υ_∞ соответствуют наличию всего одного фрагмента в однородной модели, двух фрагментов в двухфрагментной и бесконечного количества возможных фрагментов в последней рассматриваемой здесь модели.

Вычисление такой статистической суммы уже не сводится напрямую к вычислению двух геометрических прогрессий, однако сводится к биному Ньютона:

$$P_\infty(0) = \frac{1}{\Upsilon_\infty}, P_\infty(N \geq 1) = \frac{1}{\Upsilon_\infty} Kc \sum_{i=0}^{N-1} C_{N-1}^i (ac)^i (bc)^{N-1-i} = \frac{1}{\Upsilon_\infty} Kc (ac + bc)^{N-1}.$$

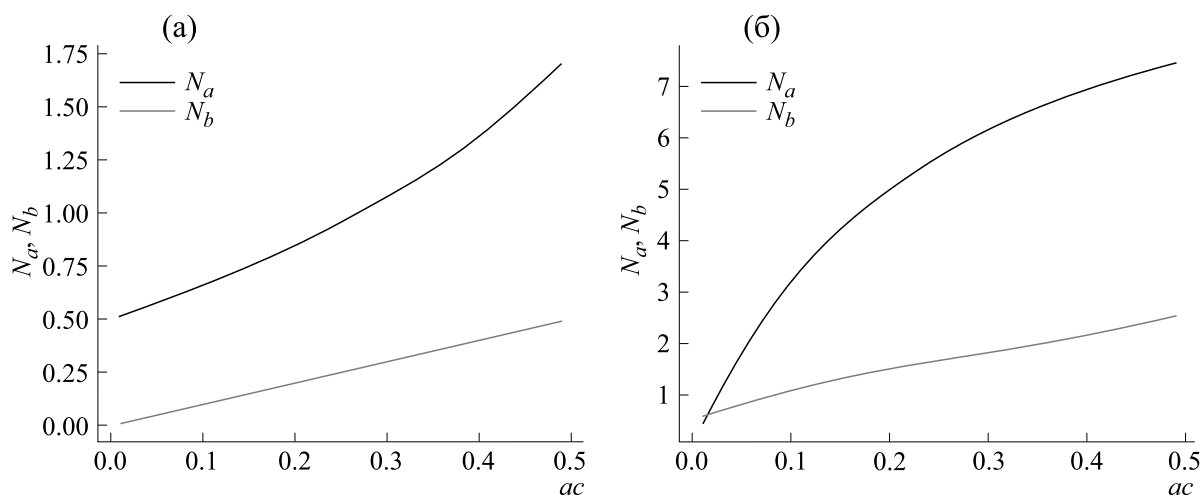


Рис. 5. Зависимости средних размеров каждого из двух фрагментов от ac при $Kc = 1$: (а) – $bc = 0.5$ (кэпирование), (б) – $bc = 0.9$ (индукция).

следовательно, при произвольном порядке типов связей в агрегатах функция распределения обязательно либо при $ac + bc \geq 1$ строго возрастает или постоянна (статистическая сумма не сходит-

ся), что противоречит конечности количества мономеров в растворе, либо строго убывает при $ac + bc < 1$. Следовательно, произвольный порядок типов связей в агрегатах рассматриваемых

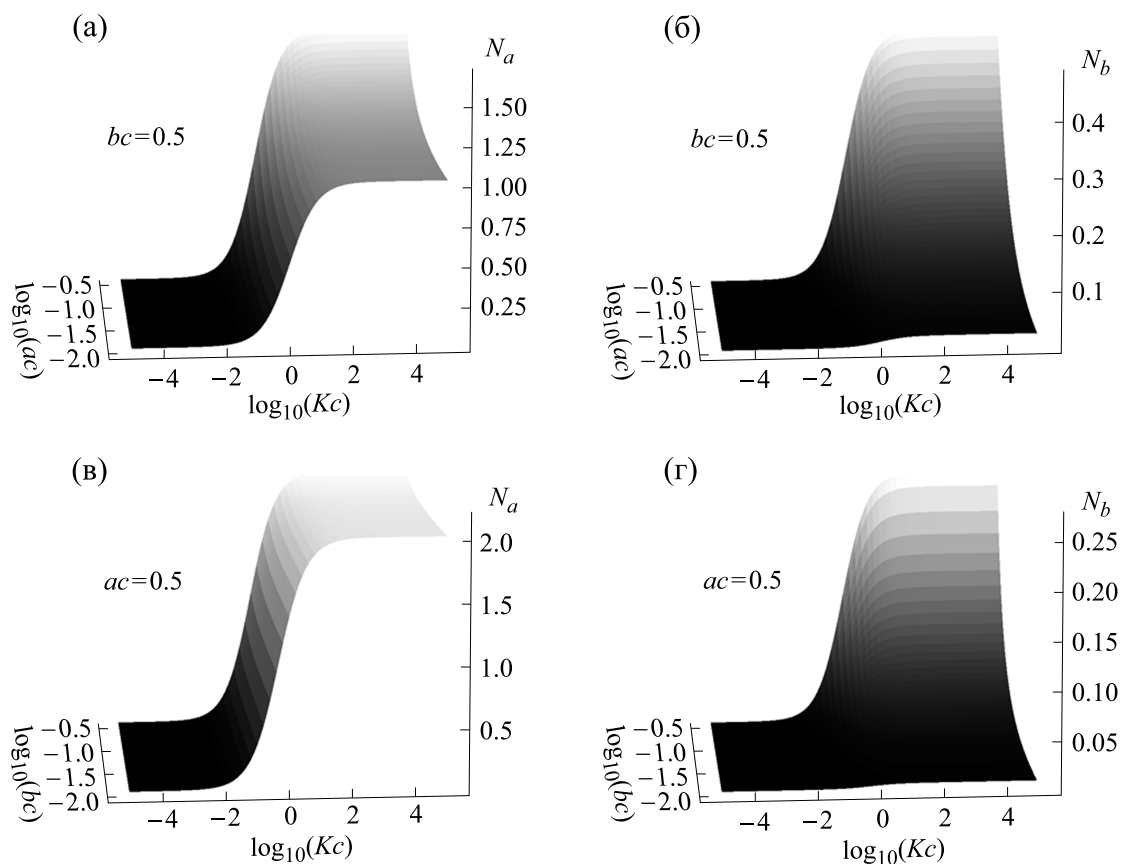


Рис. 6. Средние размеры фрагментов при фиксированном bc (верхний ряд) и фиксированном ac (нижний ряд).

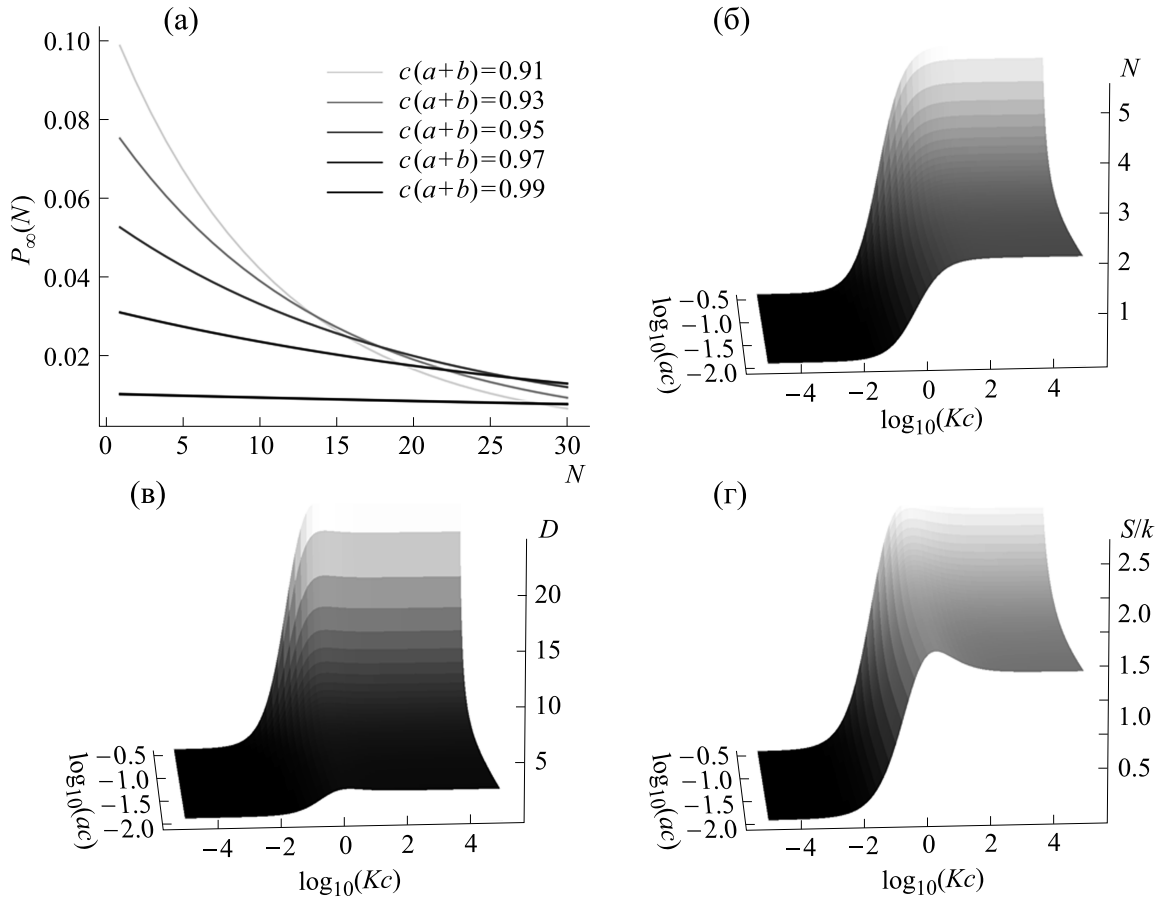


Рис. 7. Свойства распределения размеров агрегатов для модели произвольного порядка типов связей. (а) — Распределения, даваемые моделью с произвольным порядком связей. Зависимость статистических характеристик модели произвольного порядка лигандов двух типов от $\ln(Kc)$ и $\ln(ac)$ при $bc = 0.5$: (б) — среднее, (в) — дисперсия, (г) — энтропия.

биомолекул запрещен. Те же рассуждения показывают невозможность произвольного порядка различных мономеров в агрегатах.

Запрет на образование произвольного порядка связей в агрегатах может говорить о наличии кооперативных эффектов, которые делают некоторые подпоследовательности связей в агрегатах очень энергетически невыгодными, ограничивая тем самым разнообразие агрегатов.

Модель произвольного порядка лигандов математически идентична однородной модели, хотя они и могут изначально показаться противоположными, ведь однородная модель предполагает лишь один тип структуры агрегата, а модель произвольного порядка — бесконечно много. Однако модель Y_1 переходит в модель Y_∞ при замене a на $a_{\text{эфф}} = a + b$. Статистический смысл этой похожести состоит в том, что любые два макроскопических фрагмента модели произвольного порядка связей будут неотличимы друг от друга, в отличие от двухфрагментной модели, которая разбивается на два макроскопически различных фрагмента.

Выражения для среднего размера агрегата, дисперсии и энтропии ансамбля совпадают с таковыми для однородной модели при замене ac на $a_{\text{эфф}}c$.

Таким образом, если зафиксировать bc и построить графики статистических характеристик в координатах (Kc, ac) , то получатся сдвинутые в сторону больших значений ac соответствующие графики для однородной модели (ср. с рис. 2б–г). Соответственно, задание bc в такой модели — это, по сути, задание минимального значения константы ассоциации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Следуя подходу, разработанному в работах Т. Хилла [6], мы применили для описания образования амилоидных агрегатов теорию многослойной адсорбции. Однородная модель агрегации (аналогичная классической теории Брунауэра–Эммета–Теллера) и модель произвольного порядка связей в агрегатах дают кривые, качественно противоречащие экспериментальным

распределениям размеров агрегатов [12]. Предложенная в нашей работе двухфрагментная модель агрегации позволяет получать распределения размеров агрегатов, близкие к экспериментальным. Физические свойства этой модели включают в себя рост энтропии ансамбля агрегатов при увеличении как энергетического, так и энтропийного параметра. Распределение размеров агрегатов имеют пик только при значениях ac , немного меньших единицы.

По аналогии с двухфрагментной моделью агрегации можно предложить модели с любым количеством фрагментов. Ключевая задача при разработке таких моделей – оценка количества однородных фрагментов, из которых может состоять агрегат, например, из данных о механизмах образования агрегатов. Предложенный подход может помочь оценить количество допустимых механизмов связывания. Помимо энтропийных эффектов, смещающих максимум распределения размеров агрегатов в сторону более длинных, можно рассмотреть и энергетические кооперативные эффекты [27], также потен-

циально благоприятствующие образованию длинных агрегатов.

Областью использования разработанной нами двухфрагментной термодинамической модели является анализ распределений длин агрегатов, образующихся из адсорбированных на матрице лигандов при амилоидозе и других заболеваниях, в которых конформации пептидов и белков меняются по прионному механизму.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Вывод выражений для энтропий ансамблей агрегатов. Исходя из формулы, известной из статистической механики и применимой ко всем моделям, можно найти значение конфигурационной энтропии, приходящейся на один сайт связывания матрицы:

$$S = k \left(\frac{\partial \ln \Upsilon}{\partial \ln T} + \ln \Upsilon \right). \tag{П1}$$

В это выражение входит производная:

$$\frac{\partial \ln \Upsilon_1}{\partial \ln T} = \frac{1}{(1 + Kc - ac)(1 - ac)} \left\{ c(1 - ac) \frac{\partial K}{\partial \ln T} + Kc^2 \frac{\partial a}{\partial \ln T} + K \frac{\partial c}{\partial \ln T} \right\} \tag{П2}$$

Пусть ΔG_K и ΔG_a – изменения энергии Гиббса связывании лиганда с сайтами и между собой соответственно, $\Delta \mu$ – изменение химического потенциала лиганда при связывании. Тогда константы равновесия выражаются через температуру (раствор мономеров считается идеальным):

$$K = e^{-\frac{\Delta G_K}{kT}}, \quad a = e^{-\frac{\Delta G_a}{kT}} \quad \text{и} \quad c = e^{-\frac{\Delta \mu}{kT}}$$

а искомые производные:

$$\frac{\partial K}{\partial \ln T} = T \frac{\partial}{\partial T} e^{-\frac{\Delta G_K}{kT}} = \frac{\Delta G_K}{kT} e^{-\frac{\Delta G_K}{kT}} = -K \ln K,$$

$$\frac{\partial a}{\partial \ln T} = T \frac{\partial}{\partial T} e^{-\frac{\Delta G_a}{kT}} = \frac{\Delta G_a}{kT} e^{-\frac{\Delta G_a}{kT}} = -a \ln a,$$

$$\frac{\partial c}{\partial \ln T} = T \frac{\partial}{\partial T} e^{-\frac{\Delta \mu}{kT}} = -\frac{\Delta \mu}{kT} e^{-\frac{\Delta \mu}{kT}} = -c \ln c.$$

Подставляя найденные производные в выражение (2), получим:

$$\frac{\partial \ln \Upsilon_1}{\partial \ln T} = -\frac{Kc}{1 + Kc - ac} \left\{ \ln(Kc) + \frac{ac}{1 - ac} \ln(ac) \right\}$$

Подстановка этой производной и статистической суммы (1) в (A1) дает энтропию ансамбля однородных агрегатов:

$$\frac{S_1}{k} = \ln \left(1 + \frac{Kc}{1 - ac} \right) - \frac{Kc}{1 + Kc - ac} \left\{ \ln(Kc) + \frac{ac}{1 - ac} \ln(ac) \right\} \tag{П3}$$

Аналогично получаются выражение для энтропии ансамбля двухфрагментных агрегатов

$$\frac{S_2}{k} = \ln \{\Upsilon_2\} + \frac{Kc \{ac [bc^2(ac-1) + ac(bc-1)] - Kc(ac-1)(bc-1)(abc^2 - bc + 1)\}}{T\Upsilon_2(1-ac)^2(1-bc)^2}$$

и ансамбля агрегатов с произвольным порядком типов связей

$$\frac{S_\infty}{k} = \ln \left\{ 1 + \frac{Kc}{1-c(a+b)} \right\} - \frac{Kc}{1+c(K-a-b)} \left\{ \ln(Kc) + \frac{c(a+b)}{1-c(a+b)} \ln [c(a+b)] \right\}.$$

Вывод средних и дисперсий распределений размеров агрегатов. Из статистической механики известно, что среднее число частиц может быть най-

дено, если задана большая статистическая сумма системы:

$$\Upsilon = \sum_{N=0}^{\infty} Q(N, P, T) \exp \left(\frac{\mu N}{kT} \right) = \sum_{N=0}^{\infty} \sum_i \exp \left(\frac{-E_i + \mu N}{kT} \right). \quad (\text{П4})$$

Здесь i соответствуют возможным состояниям агрегата из N мономеров следующим образом:

$$\langle N \rangle = \frac{1}{\Upsilon} \sum_{N=0}^{\infty} \sum_i N \exp \left(\frac{\mu N - E_i}{kT} \right) = \frac{1}{\Upsilon} \frac{\partial \Upsilon}{\partial \left(\frac{\mu}{kT} \right)} = \frac{\partial \ln \Upsilon}{\partial \ln c} \quad (\text{П5})$$

где $c = e^{\frac{\mu}{kT}}$ – концентрация частиц.

Дисперсия числа частиц равна, по определению:

$$D = \langle N^2 \rangle - \langle N \rangle^2 = \frac{1}{\Upsilon} \frac{\partial^2 \Upsilon}{\partial (\ln c)^2} - \left(\frac{\partial \ln \Upsilon}{\partial \ln c} \right)^2 = \frac{\partial^2 \ln \Upsilon}{\partial (\ln c)^2} \quad (\text{П6})$$

Заметим, что выражения для среднего и дисперсии распределения размеров агрегатов применимы к любой модели, в которой энергия агрегации не зависит от химического потенциала свободного лиганда. Действительно, если в статистической сумме

E_i не зависит от μ , то при дифференцировании по μ/kT каждое из слагаемых домножится на N . Так могут быть получены, в том числе, статистические характеристики двухфрагментной модели. Средние размеры агрегатов в двухфрагментной модели:

$$\langle N \rangle_2 = \frac{1}{\Upsilon_2} \frac{Kc}{(1-ac)^2(1-bc)^2} \left\{ 1 + bc(-2 + 3ac - 2(ac)^2) + (bc)^2(1-ac)^2 \right\}. \quad (\text{П7})$$

Для модели с произвольным порядком типов связей средний размер равен

$$\langle N \rangle_{\infty} = \frac{Kc}{(1 + Kc - ac - bc)(1 - ac - bc)}. \quad (\text{П8})$$

Вторая производная статистической суммы двухфрагментной модели описывается слишком громоздким выражением, поэтому выражение

для дисперсии размеров двухфрагментных агрегатов удобнее получить прямым суммированием ряда, которое дает

$$D_2 = \begin{cases} \frac{1}{T_2} \left\{ Kc + \frac{Kac^2}{1-b/a} \left[\frac{4-3ac+(ac)^2}{(1-ac)^3} - \frac{b}{a} \frac{4-3bc+(bc)^2}{(1-bc)^3} \right] \right\} - \langle N \rangle_2^2, & a \neq b \\ \frac{1}{T_2} \left\{ Kc + \frac{Kac^2(4+2ac)}{(1-ac)^4} \right\} - \langle N \rangle_2^2, & a = b. \end{cases} \quad (\text{П9})$$

Для модели с произвольным порядком типов связей имеем

$$D_{\infty} = \frac{Kc\{1 + (ac + bc)(Kc - ac - bc)\}}{(1 + Kc - ac - bc)^2(1 - ac - bc)^2}. \quad (\text{П10})$$

Так как у распределений размеров, даваемых двухфрагментной моделью, в отличие от двух других рассмотренных в этой работе моделей, есть

еще и пики, их положения тоже характеризуют кривые распределений и находятся приравнованием к нулю производной:

$$0 = \frac{dP_2}{dN}(N_{max}) = \frac{(ac)^{N-2} \{ (r - r^N) \ln(ac) - r^N \ln(r) \}}{r} \Rightarrow N_{max} = 1 - \frac{\ln \{ \ln(acr) / \ln(ac) \}}{\ln(r)} \\ = 1 - \frac{\ln \left\{ 1 + \frac{\ln(r)}{\ln(ac)} \right\}}{\ln(r)}$$

Отсюда понятно, почему на рис. 3в параметр разнообразия влияет на положение значительнее, чем энергетический параметр: ac стоит в логарифме от логарифма, а r – в логарифме, скорость же изменения логарифма много больше, чем логарифма от логарифма.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 19-74-30007).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит экспериментов с использованием людей и животных в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A. M. Morris, M. A. Watzky, and R. G. Finke, *Biochimica et Biophysica Acta – Proteins and Proteomics*, **1794** (3), 375 (2009).
2. R. J. Loureiro, et al., In *Proc. of Int. Conf. on Multidisciplinary Sciences MOL2NET 2018*, 4th edition (MD-PI, 2018), p. 1.
3. R. B. Martin, *Chem. Rev.*, **96** (8), 3043 (1996).
4. V. P. Evstigneev, et al., *J. Chem. Phys.*, **134** (19) (2011).
5. A. S. Buchelnikov, V. P. Evstigneev, and M. P. Evstigneev, *Chem. Phys.*, **421**, 77 (2013).
6. T. L. Hill, *Thermodynamics of Small Systems* (Courier Corp., 1994).
7. S. Lifson, *J. Chem. Phys.*, **40** (12), 3705 (1964).
8. M. P. Heyn and R. Bretz, *Biophys. Chem.*, **3** (1), 35 (1975).
9. J. Spouge, *Macromolecules*, **16** (1), 121 (1983). DOI: 10.1021/ma00235a024
10. S. Brunauer, P. H. Emmett, and E. Teller, *J. Am. Chem. Soc.*, **60** (2), 309 (1938).

11. Z. L. Almeida, R. M. M. Brito, *Molecules*, **25** (5), 1195 (2020).
12. W. F. Xue, S. W. Homans, and S. E. Radford, *Prot. Engineering, Design & Selection*, **22** (8), 489 (2009). DOI: 10.1093/protein/gzp026
13. J. Hinz, L. M. Gierasch, and Z. Ignatova, *Biochemistry*, **47** (14), 4196 (2008).
14. W. F. Xue, S. W. Homans, and S. E. Radford, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105** (26), 8926 (2008).
15. W. F. Xue and S. E. Radford, *Biophys J.*, **105** (12), 2811 (2013).
16. P. J. Flory, *J. Am. Chem. Soc.*, **58** (10), 1877 (1936).
17. G. W. Platt, et al., *J. Mol. Biol.*, **378** (1), 251 (2008).
18. M. I. Ivanova, et al., *Biophys. Chem.*, **269**, 106507 (2021).
19. W. Zheng, M. Y. Tsai, and P. G. Wolynes, *J. Am. Chem. Soc.*, **139** (46), 16666 (2017).
20. S. A. Kozin, et al., *Biochemistry (Moscow)*, **83**, 1057 (2018).
21. В. В. Аристов и др., *Применение понятий энтропии и информации для исследования биосистем: от молекул до организмов* (2023).
22. L. M. Smith and S. M. Strittmatter, *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, **7** (5), a024075 (2017).
23. V. A. Mitkevich, et al., *Aging and Disease*, **14** (2), 309 (2023).
24. V. V. Aristov, A. S. Buchelnikov, and Y. D. Nechipurenko, *Entropy*, **24** (2), 172 (2022).
25. S. A. Kozin, *Biochemistry (Moscow)*, **88** (Suppl. 1), S75 (2023). DOI: 10.1134/S0006297923140055
26. Y. Kong, *J. Chem. Phys.*, **135** (15) (2011).
27. Ю. Д. Нечипуренко, *Анализ связывания биологически активных соединений с нуклеиновыми кислотами* (Ин-т компл. исслед., Москва - Ижевск, 2015).

A Thermodynamic Model for the Formation of Protein Aggregates on a Matrix

E.O. Vasilenko*, **, S.A. Kozin*, V.A. Mitkevich*,
A.S. Buchelnikov***, and Yu.D. Nechipurenko*, ***

**Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 32, Moscow, 119991 Russia*

***Moscow Institute of Physics and Technology, Kerchenskaya ul. 1a/1, Moscow, 117303 Russia*

****Sevastopol State University, Universitetskaya ul. 33, Sevastopol, 299053 Russia*

The development of many neurodegenerative diseases is associated with the formation of pathological protein aggregates. In some cases, these aggregates can be formed by multilayer adsorption of ligands on a matrix, for example, the set of membrane protein receptors. The paper proposes a thermodynamic model describing the formation of linear aggregates in which ligands can be stacked. The cases when these stacks consist of complexes of one or two different types are considered. The developed model can be applied to the study of pathological aggregation of proteins of different nature, primarily beta-amyloid and its isoforms. The mean, variance and entropy of the theoretical distributions of aggregate sizes are calculated. A comparison with other theoretical models of the formation of amyloid aggregates is made.

Keywords: amyloid aggregates, mathematical modeling of aggregation, self-association, statistical thermodynamics, binding energies, beta-amyloid