

ISSN 2071-2898 (Print)
ISSN 2071-2901 (Online)

Данилкович А.В., Тихонов Д.А.

Биогели. Структурные особенности комплексов антипараллельных и параллельных пептидов $H-(RADA)_4-OH$ со слоями в *syn*-ориентации

Рекомендуемая форма библиографической ссылки: Данилкович А.В., Тихонов Д.А. Биогели. Структурные особенности комплексов антипараллельных и параллельных пептидов $H-(RADA)_4-OH$ со слоями в *syn*-ориентации // Препринты ИПМ им. М.В.Келдыша. 2019. № 72. 24 с. doi:[10.20948/prepr-2019-72](https://doi.org/10.20948/prepr-2019-72)
URL: <http://library.keldysh.ru/preprint.asp?id=2019-72>

О р д е н а Л е н и н а
ИНСТИТУТ ПРИКЛАДНОЙ МАТЕМАТИКИ
имени М.В.Келдыша
Р о с с и й с к о й а к а д е м и и н а у к

А.В. Данилкович, Д.А. Тихонов

**Биогели. Структурные особенности
комплексов антипараллельных и
параллельных пептидов $H-(RADA)_4-OH$
со слоями в *syn*-ориентации.**

Москва— 2019

А.В. Данилкович, Д.А. Тихонов

Биогели. Структурные особенности комплексов антипараллельных и параллельных пептидов $H-(RADA)_4-OH$ со слоями в суп-ориентации.

Аннотация: В водно-солевых растворах молекулы пептида $H-(RADA)_4-OH$ самоорганизуются в фибриллы длиной в сотни нанометров, образуя биогель, пригодный для создания оптимальной среды роста и дифференцировки клеток позвоночных. Филаменты фибрил сложены из пептидов в β -конформации так, что два внешних слоя сформированы заряженными группами остатков *Arg, Asp*, а внутренний - состоит из метильных групп остатков *Ala*. Взаимная ориентация пептидов $H-(RADA)_4-OH$ в составе филамента не определена и этому вопросу посвящена данная работа. Методом молекулярной динамики исследованы структурные особенности двух комплексов с β -слоями из параллельных или антипараллельных пептидов. Определено, что комплекс антипараллельных пептидов характеризуется наименьшими величинами свободной энергии и среднеквадратичного отклонения координат атомов при 300К, что, очевидно, отражает особенности самоорганизации пептидов $H-(RADA)_4-OH$.

Ключевые слова: Биогели; структура филамента; самоорганизация; ионные пептиды.

Alexey Danilkovich, Dmitrii Anatol'evich Tikhonov

Biogels. On comparison of structure differences in anti-parallel and parallel complexes of the $H-(RADA)_4-OH$ peptides.

Abstract: Water based solution of the $H-(RADA)_4-OH$ peptide tend to self-assemble into bi-layered fibrils composed of two hydrophilic layers and hydrophobic one between of them. Bio gels of the $H-(RADA)_4-OH$ peptides are considered as an extra cellular matrix for culturing cells of different types, a prominent source of synthetic scaffolds for regenerative medicine and tissue engineering. We have designed two types of bi-layered protofilament structure, which layers are formed either of parallel or anti-parallel peptide chains and used the method of molecular dynamics to study these peptide complexes (AMBER package v.11 and ff03 force field at 300K). It was pointed, that the most stable complex consists of anti-parallel peptides with the lowest free energy estimated by generalized Born approach and the least deviation of atoms coordinates values. Analysis of the results gave insight into the factors, which influence on the initial stage of the $H-(RADA)_4-OH$ self-assembly mechanism.

Key words: Biogels; Ionic peptides; self-assembly; filament structure.

1. ВВЕДЕНИЕ

1.1. Биогели

Самоорганизующиеся полярные пептиды представляют собой амфифильные структуры, нековалентно взаимодействующие друг с другом и образующие сложные надмолекулярные комплексы. Учитывая растущий интерес к получению новых материалов для биомедицины, искусственный матрикс рассматривается в качестве возможной основы для эмулирования тканеспецифичной среды для определённого типа клеток эукариот в ходе направленного формирования замещающих компонентов тканей при воссоздании трёхмерных участков органов. Известны несколько примеров подобных функциональных материалов, созданных на базе структур самоорганизующихся пептидов [1]. В этой связи пептид $H_2N\text{-ArgAlaAspAlaArgAlaAspAlaArgAlaAspAla-COOH}$ или же в другой форме записи его первичной структуры $H\text{-(RADA)}_4\text{-OH}$, способный к самоорганизации в водных средах при физиологических условиях [2], занимает особое место, являясь исторически первым примером синтетического соединения, способного формировать филаменты шириной около 5 нм и длиной в сотни нанометров, которые образуют биогель в высокой степени обводнённости (свыше 98%). Примечательно, что материал, полученный на основе самоорганизующихся пептидов типа $H\text{-(RADA)}_4\text{-OH}$, обладает высокой устойчивостью с температурным и механическим воздействиям в широком диапазоне значений pH от 2 до 10. Кроме того, искусственный матрикс (биогель) характеризуется примечательной биогенностью в отношении клеток эукариот разных типов, в том числе — стволовых клеток [3]. Таким образом, биогель, формируемый пептидами $H\text{-(RADA)}_4\text{-OH}$, может быть использован не только в медицине для регенерации тканей, но и в качестве «подложки-носителя» в системе для культивирования клеток-продуцентов на биотехнологических производствах, использующих клеточные культуры эукариот для наработки разнообразных веществ [4]. Кроме того, смесь самоорганизующихся пептидов с химическими веществами, имеющими ограниченную растворимость в воде, позволяет получать биогель с функцией «хранилища» слаборастворимой субстанции лекарственной формы, обеспечивая сравнительно низкую скорость диффузии ограниченных количеств активного вещества в окружающее пространство или ткани. Это свойство определяет подобную систему биогеля, как искусственное «депо» лекарственных

средств применительно к комбинированной клеточной терапии [5, 1]. Пептиды $H-(RADA)_4-OH$ получают в результате химического синтеза, что подразумевает возможность произвольной модификации последовательности остатков аминокислот, дополняя молекулу пептида функциональными участками типа $-RGD$, $-YIGSR$ или $-IKVAV$, которые соответствуют элементам контактных структур белков внешней мембраны клетки, определяющим определённые клеточные взаимодействия [1]. Подобная модификация структуры позволяет направленно создавать функциональные элементы на латеральной поверхности филаментов и получать искусственный матрикс с выраженным тропизмом в отношении клеток позвоночных, экспрессирующих на внешней мембране соответствующие структуры рецепторов [4]. Амфифильный синтетический пептид $H-(RADA)_4-OH$ состоит из N - и C -концевых групп на крайних флангах молекулы, а также центральной части, которая участвует в формировании β -складчатой структуры, стабилизированной водородными связями пептидных остовов соседних молекул, которые образуют сплошное полотно по всей длине комплекса филамента [6, 7]. Поскольку биогель

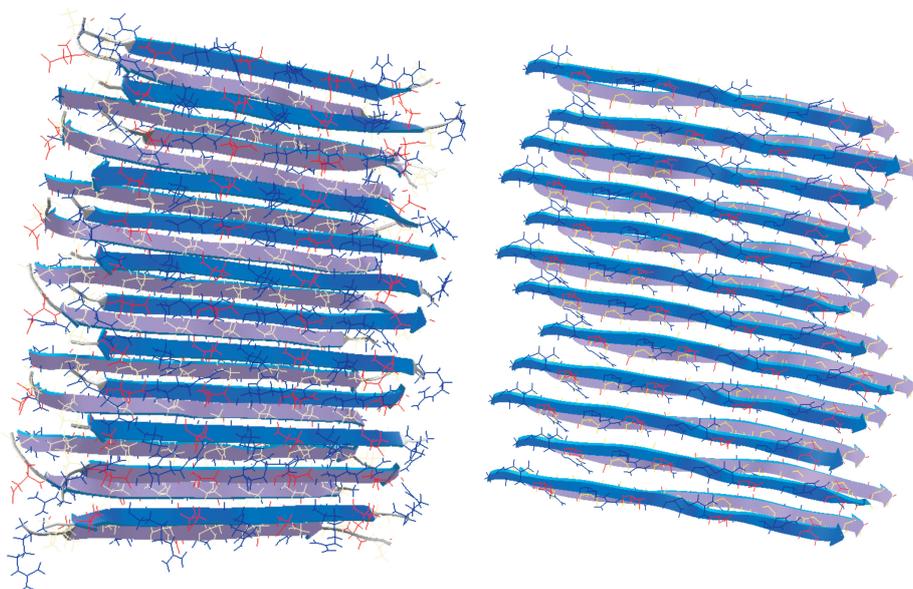


Рис. 1. Комплексы, созданные в результате молекулярного докинга 24 структур $H-(RADA)_4-OH$, находящихся в β -конформации; слева на рисунке — комплекс пептидов в анти-параллельной ориентации.

Условные направления от N - к C -концам пептидов обозначены стрелками; справа на рисунке — комплекс пептидов с двумя β -слоями в суп-ориентации. Стрелками обозначены условные направления пептидных остовов от N - к C -концам.

на основе самоорганизующихся пептидов типа $H-(RADA)_4-OH$ способен удерживать более 99% жидкости, представляется крайне перспективным изучение возможности его использования, в том числе — в качестве искусственного матрикса для формирования разных типов клеточных культур с возможностью применения в тканевой инженерии либо регенеративной медицине для выполнения восстановительных операций.

1.2. Самоорганизующиеся пептиды

Участки белка с чередующимися заряженными и гидрофобными остатками аминокислотных остатков были обнаружены у дрожжей более 30 лет назад [8]. Следует отметить, что, несмотря на сравнительно долгую историю изучения полярных самоорганизующихся пептидов, тонкая организация филамента, сформированного пептидами $H-(RADA)_4-OH$, на данный момент до конца не выяснена. Первичная структура пептида $H-(RADARADARADARADA)-OH$ указывает на его принадлежность к группе полярных комплементарных пептидов, содержащих в данном случае чередующиеся, противоположно заряженные аминокислотные остатки, разделённые гидрофобными остатками аланина. Эта особенность строения пептидов, а именно, чередование гидрофильных и гидрофобных групп, определяет возможность образования внутри- и межмолекулярных электростатических взаимодействий по типу ионных пар или так называемых «солевых мостиков». В воде молекулы пептида $H-(RADA)_4-OH$ существуют преимущественно в конформации α -спирали [9], но способны быстро агрегировать при добавлении соли, образуя стабильные комплексы, из которых сложены протяженные филаменты. Показано, что в результате процесса самоорганизации полярных пептидов типа $H-(RADA)_4-OH$ образуются водородные связи между пептидными остовами соседних по вертикали молекул [6], находящихся в β -конформации, при этом заряженные боковые заместители аминокислотных остатков *Arg* и *Asp* оказываются экспонированными по одну сторону β -листа, а гидрофобные *Ala* — по другую [7]. Очевидно, что в этом случае на одной стороне β -складки формируется обширная гидрофобная поверхность, сформированная метильными группами боковых заместителей остатков аланина, существование которой в полярном окружении затруднено, исходя из физико-химических свойств, поэтому в водном растворе гидрофобные поверхности двух β -слоёв пептидов $H-(RADA)_4-OH$ замыкаются друг на друга так, что образуется филамент с трёхслойной структурой, где заряженные боковые заместители аминокислотных остатков экспонированы наружу, в то время как гидрофобные метильные группы формируют

внутреннюю прослойку филамента, практически изолированную от контактов с полярным растворителем. Детали процесса перехода мономеров пептидов $H-(RADA)_4-OH$ из раствора в состав комплекса, а также молекулярное строение каждого β -слоя филамента, в частности - взаимное расположение пептидных остовов, до конца не выяснены. Тем не менее известно, что наиболее протяженные филаменты образуются при физиологических значениях pH и концентрации соли, причём не только в простых водных растворах, но и биогенных жидкостях, в том числе таких, как плазма крови или цереброспинальная жидкость [10, 11]. Механические свойства биогелей, получаемых на основе полярных

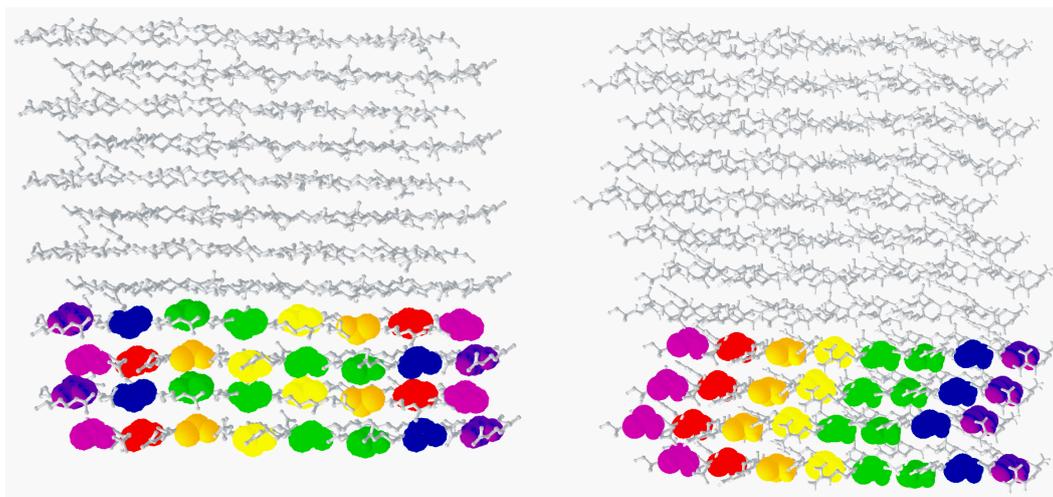


Рис. 2. Схема относительного расположения остатков *Ala* в двуслойных комплексах ионных пептидов. Остатки *Ala* на позициях 2,4,6,8,10,12,14 в молекулах пептидов $H-(RADA)_4-OH$ (на 4 из 12 уровней) обозначены цветами: фиолетовый, синий, темно-зелёный, салатовый, желтый, оранжевый, красный и розовый соответственно. Слева представлен двуслойный комплекс с β -слоями по 12 пептидов в антипараллельной ориентации; справа - комплекс с двумя суп - β -слоями по 12 пептидов.

В комплексе антипараллельных пептидов (на рисунке — слева) попарные расстояния измеряли между атомами остатков *Ala*, находящихся в разных позициях. В комплексе параллельных пептидов попарные расстояния измеряли между атомами остатков *Ala*, обозначенных идентичным цветом.

комплементарных пептидов, несколько различаются, в зависимости от типа аниона, добавляемого в раствор пептида для инициации гелеобразования, что косвенно подтверждается данными о важной роли, которую анионы играют в процессах формирования пространственных структур молекулами полипептидов и белков [12]. В настоящей работе

были исследованы структурные особенности двух типов комплексов, сложенных из β -слоёв пептидов $H-(RADA)_4-OH$ в параллельной или антипараллельной ориентации. Для вычисления термодинамических характеристик комплексов пептидов были использованы методы молекулярной динамики, реализованный в пакете программ AMBER v.11, и силовое поле ff03. Были сконструированы два типа комплексов с различным расположением 24 пептидных остовов в составе двух β -слоёв, моделирующей участок филамента (рисунок 1). Для созданных структур вычисляли молекулярные траектории (2 нс) в континуальной модели растворителя. Использованный подход позволил сравнить изменение энергии Гиббса, полученной обобщённым методом Борна, и вычислить средние отклонения атомов пептидных остовов от начальных координат. Подробно приведены средние величины и дисперсии расстояний между C_α -атомами остатков аланина в двух слоях обоих комплексов. В каждом слое комплекса вычислены средние расстояния между атомами углерода остатков аланина пептидного остова и метильных групп по каждому слою (рисунок 2). Поскольку расстояния между C_α атомами остатков аланина соседних пептидов различаются больше, чем между атомами C_β , результаты по каждой позиции остатков аланина в каждом слое протофиламента приведены в четырёх таблицах, т.е. только для атомов пептидного остова C_α (см. Результаты). Полученный результат позволяет соотнести геометрии исследуемых структур. Более того, он позволяет сравнить их с другими моделями, разработанными на основании экспериментальных данных, полученных с использованием физико-химических методов, в том числе ЯМР [13]. Поскольку чувствительность физико-химических методов не позволяет обеспечить разрешение, достаточное для детального рассмотрения внутреннего строения пептидного комплекса, опубликованные выводы несколько противоречивы, относительно взаимной ориентации пептидных остовов в составе двуслойного комплекса, состоящего из β -слоёв [14]. Руководствуясь перечисленными выше причинами, мы решили применить метод молекулярной динамики для оценки характеристик возможной структуры протофиламента. Результаты, полученные в данной работе, указывают на то, что антипараллельная укладка пептидных остовов в составе комплекса обеспечивает не только минимальную свободную энергию структуры, но и наименьшую среднеквадратичную величину (rms) отклонения координат атомов от начальной позиции при 300К. Принимая во внимание результат вычисления расстояний между атомами остатков аланина соседних пептидных цепочек в каждом слое комплекса в итоге сделан вывод о более высокой стабильности структуры, сложенной из антипараллельных пептидов. Очевидно, что данный факт необходимо учитывать при

рассмотрении особенностей начальных этапов процесса образования филамента в ходе самоорганизации молекул пептида $H-(RADA)_4-OH$.

2. МЕТОДЫ

2.1. Конструирование пространственных моделей наноструктур филамента

Для данного исследования были созданы два прототипа структуры филамента, в виде двуслойного комплекса пептидов $H-(RADA)_4-OH$ в β -конформации, состоящего из 24 параллельных пептидных остовов и β -слоёв в *syn*-ориентации, а также 24 антипараллельных пептидов и β -слоёв в *anti*-ориентации **1**. Во всех случаях боковые гидрофобные заместители аланинов находились внутри двуслойного филамента, формируя своеобразную гидрофобную «начинку». Процесс моделирования происходил поступательно, с использованием пакета программ HyperChem v.8 [15], начиная с конструирования единичной структуры пептида $H-(RADA)_4-OH$ в β -конформации и сохранением данных о координатах атомов модели в PDB файле. Далее созданную модель пептида последовательно использовали в процедуре молекулярного докинга, которую осуществляли с использованием программного пакета HEX v6.1 [16] с учётом кулоновских взаимодействий для получения пар молекул, затем тетрамеров и в последующем — комплексов более высокого порядка с соответствующей взаимной ориентацией пептидных остовов таким образом, чтобы расстояние между соседними цепочками пептидов в среднем по каждому слою было не больше 0,6 нм, а расстояние между двумя соседними β -слоями комплекса — не более 0,7 нм. Процедуру молекулярного докинга также выполнили с использованием альтернативного программного продукта GRAMM-X [17], но уже с учётом только геометрии контактирующих субстратов, а не поверхностных зарядов. Результаты молекулярного докинга, полученные двумя способами, оказались практически идентичными. Построенные модельные структуры с минимальной энергией использовали в дальнейших экспериментах в виде PDB файлов координат атомов соответствующих комплексов в качестве исходных объектов исследования.

2.2. Подготовка проб

Состояние протонирования заряженных аминокислотных остатков было выбрано соответствующим рН7. Модельные структуры пептидов минимизировали, осуществляя три последовательные серии оптимизации с учётом кулоновских взаимодействий. Каждая серия

состояла из 500 итераций, с промежуточным «встряхиванием» атомов перед началом следующей процедуры. Минимизацию продолжали до точки «отсечки», когда величина ΔE от двух последовательных итераций процедуры минимизации становилась меньше выбранного значения -1.0 кДж/моль. Таким образом, минимальные значения молекулярно-механической (ММ) энергии для модельных структур были достигнуты в вакууме с использованием параметрического силового поля GROMOS96-43B [18], реализованного в программе Swiss-PdbViewer v.4.1.0 [19]. Файлы координат атомов, соответствующие полученным моделям, в формате PDB были использованы в качестве данных о начальном состоянии объекта для последующего проведения термодинамических расчётов и осуществления молекулярно-динамических экспериментов.

2.3. Молекулярная динамика

Моделирование молекулярной динамики комплекса белков и лиганда, а также последующий анализ результатов осуществляли с использованием пакета программ Amber11 [20]. Моделирование динамики комплексов проводилось без учета явного водного окружения, в силовом поле AMBER ff03 [21] при 300K. В результате исполнения протокола, аналогичного использованному нами ранее [22], были рассчитаны молекулярные траектории для экспериментальных структур и комплексов пептидов. В каждом случае сначала минимизировали энергию системы при фиксированном положении координат атомов полипептидов, чтобы упорядочить атомарные взаимодействия. Управляющий файл параметров пакета AMBER11 [20] для минимизации молекулярной системы приведен ниже:

```
% Initial minimisation of complex
&cctrl
imin=1,dx0=0.00001 , drms=0.05 , maxcyc=1000000,
ncyc=500000, ibelly=0, ntr=0, cut=99, ntb=0, igb=2,
/
```

Затем молекулярная система разогревалась до выбранной температуры и генерировалась молекулярно динамическая траектория длительностью 2.4 наносекунды. Приведем управляющий файл параметров:

```
% MD heating , equilibration and production
&cctrl
imin=0, irest=0, nstlim=2400000, dt=0.001 , ntc=1, ntp=100, ntwx=100,
cut=99, ntb=0, igb=2, ntt=3, gamma_ln=1.0 , tempi=0.0 , temp0=300.0 ,
/
```

Полученные молекулярные траектории визуализировали с помощью

пакета программ VMD v1.9.1 [23]. Свободную энергию комплексов вычисляли с использованием обобщённого метода Борна [24], точность которого оказалась приемлемой, с учётом условий моделирования динамики молекул и относительно стабильной конформации структур, изучаемых в эксперименте. Вычисление расстояний между атомами аминокислот пептидов выполнялось в пакете CPPTRAJ, который является частью пакета AMBER v11. Геометрию пептидных остовов (вторичную структуру) характеризовали согласно общепринятому способу классификации, предложенному Kabsch и Sander [25]. Соответствующие расчеты проводили на кластере К-60 Института прикладной математики им. М.В. Келдыша РАН.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Результаты

Как показали результаты молекулярной динамики, геометрия комплекса 24 антипараллельных (противоположно ориентированных остовов) пептидов при 300К весьма консервативна, что определяется устойчивым положением атомов пептидных остовов в составе β -слоёв, стабилизированных межмолекулярными водородными связями внутри каждого слоя. Несколько более лабильны фланговые остатки *Ala* в положениях 14 – 4 у пар пептидов 1 – 2, 2 – 3, 3 – 4 слоя *L1* и в положениях 2 – 14 остатков *Ala* пары пептидов 11 – 12 слоя *L2*. Структура комплекса характеризуется неравномерным распределением по вертикали расстояний между пептидными парами для двух слоёв комплекса. При этом, сближенными в вертикальной плоскости оказываются остовы пар пептидов 1 – 2, 3 – 4, 5 – 6, 7 – 8, 9 – 10, 11 – 12, в результате чего структура комплекса протофиламента напоминает сборку из 6 двуслойных тетрамеров антипараллельных пептидов, см. таблицы 1, 2. Примечательно, что расстояния между C_α атомами остатков *Ala* комплекса 24 параллельных пептидов демонстрируют отсутствие признаков межмолекулярной кластеризации пептидных остовов в составе двух β -слоёв в *syn*-ориентации (таблицы 3,4), как это наблюдалось для комплекса анти-параллельных пептидов (таблицы 1, 2), которые характеризуются более значительными отклонениями положений остатков *Ala* на флангах пептидных остовов. Кроме того, значительную подвижность демонстрируют группы атомов остатков *Ala* на поперечных торцах комплекса. В то же время выявленная кластеризация пептидных остовов, как особенность внутреннего строения комплекса анти-параллельных пептидов, подтверждается данными о расстояниях между C_β -атомами в составе метильных групп боковых заместителей остатков *Ala* соседних по вертикали цепочек пептидов, хоть и в меньшей

Таблица 1

Расстояния между C_α атомами углерода в каждой позиции остатков *Ala* соседних остовов комплекса из 24 антипараллельных пептидов (см. рисунок 2). Первая строка указывает позиции остатков *Ala* в соседних по вертикали пептидах, между которыми измеряется расстояние. Первый столбец обозначает пептидные молекулы в том слое, между остатками *Ala* которого определяется расстояние. Приведены средние величины, в скобках - дисперсии (все в ангстремах). Слой *L1*, 300К

№ пп.	4-14	6-12	8-10	10-8	12-6	14-4
1-2	6.52(0.2)	6.49(0.2)	6.51(0.2)	6.50(0.2)	6.51(0.2)	6.56(0.2)
2-3	4.97(0.2)	4.87(0.1)	4.87(0.1)	4.89(0.1)	4.84(0.1)	5.45(0.4)
3-4	6.57(0.2)	6.55(0.2)	6.50(0.1)	6.54(0.2)	6.49(0.2)	5.64(0.6)
4-5	4.88(0.2)	4.87(0.1)	4.87(0.1)	4.87(0.1)	4.89(0.1)	4.95(0.2)
5-6	6.62(0.2)	6.52(0.1)	6.49(0.1)	6.52(0.1)	6.48(0.1)	6.54(0.2)
6-7	4.88(0.2)	4.90(0.1)	4.87(0.1)	4.86(0.1)	4.91(0.1)	4.86(0.2)
7-8	6.62(0.2)	6.53(0.2)	6.49(0.1)	6.53(0.1)	6.49(0.1)	6.51(0.2)
8-9	4.93(0.2)	4.90(0.1)	4.89(0.1)	4.86(0.1)	4.89(0.1)	4.86(0.2)
9-10	6.57(0.2)	6.53(0.2)	6.51(0.1)	6.51(0.1)	6.47(0.1)	6.50(0.2)
10-11	4.86(0.2)	4.83(0.2)	4.89(0.1)	4.91(0.2)	4.94(0.2)	4.95(0.2)
11-12	6.58(0.2)	6.60(0.2)	6.45(0.2)	6.56(0.2)	6.42(0.2)	6.38(0.3)

степени по сравнению с расстоянием между C_α -атомами остатков *Ala* пептидных остовов. В комплексе 24 параллельных пептидов большей подвижностью характеризуются группы атомов, принадлежащие аминокислотным остаткам, расположенным на фланговых участках параллельных пептидных остовов. Это следует из результатов определения расстояний между остатками *Ala* в положениях 4, 12, 14 пептидов слоя *L1* (таблица 3), а также между остатками *Ala* в положениях 4, 6, 14 слоя *L2* (таблица 4). Кроме того, наименьшей устойчивостью остова в β -конформации характеризуются параллельные пептиды в *syn*-ориентации с порядковыми номерами 1, 2, 3, 11, 12 в слое *L1*, а также

Таблица 2

Расстояния между C_{α} атомами остатков *Ala* соседних остовов в комплексе 24 антипараллельных пептидов (см. рисунок 2). Первая строка указывает позиции остатков *Ala* в соседних по вертикали пептидах, между которыми измеряется расстояние. Первый столбец обозначает пептидные молекулы в том слое, между остатками *Ala* которого определяется расстояние. Приведены средние величины, в скобках – дисперсии (все в ангстремах). Слой *L2*, 300K

№ пп.	12-4	10-6	8-8	6-10	4-12	2-14
1-2	4.61(0.4)	4.88(0.4)	4.37(0.4)	4.78(0.4)	4.26(0.4)	4.11(0.4)
2-3	5.14(0.4)	4.75(0.4)	5.24(0.4)	5.01(0.4)	5.45(0.4)	5.85(0.5)
3-4	4.23(0.4)	4.85(0.4)	4.34(0.4)	4.76(0.4)	4.19(0.4)	4.11(0.4)
4-5	5.25(0.4)	5.04(0.4)	5.23(0.4)	4.93(0.4)	5.35(0.4)	5.42(0.5)
5-6	4.13(0.4)	4.73(0.4)	4.35(0.4)	4.63(0.4)	4.34(0.4)	4.62(0.5)
6-7	5.49(0.4)	4.89(0.3)	5.16(0.4)	5.01(0.4)	5.28(0.4)	5.12(0.5)
7-8	4.66(0.5)	4.82(0.4)	4.42(0.4)	4.68(0.4)	4.35(0.5)	4.39(0.5)
8-9	5.33(0.5)	4.84(0.3)	5.28(0.4)	5.12(0.4)	5.40(0.6)	5.11(0.5)
9-10	4.30(0.4)	4.84(0.4)	4.34(0.4)	4.73(0.5)	4.30(0.5)	4.68(0.6)
10-11	5.33(0.5)	4.94(0.4)	5.35(0.4)	4.84(0.3)	4.94(0.4)	4.92(0.5)
11-12	4.17(0.4)	4.32(0.4)	4.13(0.3)	4.42(0.5)	4.20(0.4)	5.87 (2.0)

пептиды 1, 2, 3, 4 в слое *L2* соответствующего комплекса (рисунок 1, справа), по-видимому, из-за расположения на противоположных торцах лентовидного двуслойного комплекса протофиламента. Распределение расстояний между C_{β} атомами остатков *Ala* в комплексе 24 параллельных пептидов, в значительной мере повторяет ситуацию, определённую для C_{α} атомов аминокислотных остатков, формирующих пептидные остовы (таблицы 3, 4), с наибольшей девиацией положений атомов на флангах пептидов и поперечных торцах двуслойного комплекса протофиламента, поэтому данные не приведены во избежание громоздкости однотипного материала. Анализ углов Φ - Ψ аминокислотных остатков, сопряженных пептидной связью, позволяет охарактеризовать конформационные особенности и дополнительно сравнить стабильность исходной

конфигурации комплексов [25]. Мы использовали данный инструмент

Таблица 3

Расстояния между C_α атомами остатков Ala соседних остовов в комплексе из двух β -слоёв в *syn*-ориентации по 12 пептидов в параллельной ориентации (см. рисунок 2). В первой строке указаны позиции остатков Ala в пептидах, соседних пар, между которыми измеряется расстояние. Первый столбец обозначает пептидные молекулы в том слое, между остатками Ala которого определяется расстояние. Приведены средние величины, в скобках — дисперсии (все в ангстремах). Слой L1, 300К.

№ пп.	4	6	8	10	12	14
1-2	5.34(0.7)	4.86(0.2)	4.93(0.2)	4.96(0.2)	4.88(0.4)	7.77(0.9)
2-3	5.78(0.1)	4.84(0.2)	4.85(0.2)	4.86(0.2)	5.11(0.4)	8.89(1.7)
3-4	4.93(0.2)	4.81(0.1)	4.90(0.1)	4.96(0.1)	4.91(0.2)	8.58 (2.4)
4-5	4.93(0.2)	4.87(0.1)	4.87(0.1)	4.87(0.1)	4.99(0.2)	6.80(1.3)
5-6	4.91(0.2)	4.88(0.1)	4.85(0.1)	4.88(0.2)	4.97(0.2)	6.27 (1.0)
6-7	4.97(0.2)	4.88(0.2)	4.85(0.2)	4.85(0.1)	4.87(0.2)	5.85(0.5)
7-8	4.92(0.2)	4.88(0.2)	4.84(0.1)	4.85(0.1)	4.94(0.2)	4.93(0.2)
8-9	5.38(0.5)	4.87(0.1)	4.90(0.2)	4.87(0.2)	4.94(0.2)	5.04(0.3)
9-10	4.98(0.4)	4.91(0.2)	4.88(0.1)	4.88(0.2)	4.91(0.2)	5.03(0.3)
10-11	5.55(0.9)	4.89(0.2)	4.85(0.2)	4.90(0.2)	4.85(0.2)	5.81 (1.0)
11-12	6.55(1.2)	4.90(0.2)	5.11(0.2)	4.94(0.2)	6.61(0.8)	13.28 (2.8)

для сравнения устойчивости исходной β -конформации пептидов в составе комплексов двух типов на завершающем этапе моделирования динамики. На диаграмме (рисунок 3) отображены Карты Рамачандрана, отражающие конформационное состояние (величины углов Φ , Ψ) аминокислотных остатков двух видов комплексов в начальной и конечной точке молекулярной траектории, при этом величины пиков указывают на количество аминокислотных остатков с указанными характеристиками. Сектора А и Б характеризуют аминокислотные остатки в составе комплекса 24 антипараллельных пептидов $H-(RADA)_4-OH$ слоя L1. Видно, что практически все значения анализируемых углов Φ - Ψ в начальной (рисунок 3, сектор А) и

Таблица 4

Расстояния между C_α атомами остатков *Ala* соседних остовов в комплексе из двух β -слоёв в *syn*-ориентации по 12-ть пептидов в параллельной ориентации (см. рисунок 2). В первой строке указаны позиции остатков *Ala* в пептидах, соседних пар, между которыми измеряется расстояние. Первый столбец обозначает пептидные молекулы в том слое, между остатками *Ala* которого определяется расстояние. Приведены средние величины, в скобках — дисперсии (все в ангстремах). Слой *L2*, 300К.

№ пп.	4	6	8	10	12	14
1-2	18.15(4.3)	14.47(2.2)	6.92(0.7)	4.90(0.2)	5.01(0.2)	4.71(0.3)
2-3	9.85(2.6)	5.71(0.8)	4.98(0.2)	4.91(0.2)	4.82(0.2)	5.82(0.7)
3-4	11.41(1.6)	5.59(0.9)	4.97(0.2)	4.87(0.2)	4.90(0.2)	4.85(0.4)
4-5	13.32(2.0)	7.15(0.8)	4.85(0.2)	4.88(0.2)	4.90(0.2)	4.90(0.2)
5-6	6.12(1.0)	5.01(0.3)	4.84(0.2)	4.87(0.2)	4.85(0.2)	4.91(0.2)
6-7	7.96(1.9)	4.92(0.3)	4.90(0.2)	4.88(0.2)	4.90(0.2)	4.83(0.2)
7-8	5.29(0.7)	4.94(0.2)	4.88(0.2)	4.90(0.2)	4.86(0.2)	4.90(0.2)
8-9	4.91(0.3)	4.87(0.2)	4.95(0.2)	4.86(0.2)	4.88(0.2)	4.85(0.2)
9-10	4.99(0.3)	4.92(0.2)	4.85(0.2)	4.88(0.2)	4.87(0.2)	4.92(0.2)
10-11	5.12(0.3)	4.92(0.2)	4.84(0.2)	4.89(0.2)	4.89(0.2)	4.87(0.2)
11-12	4.90(0.4)	4.88(0.2)	4.90(0.2)	4.86(0.2)	4.95(0.2)	4.81(0.2)

конечной (рисунок 3, сектор Б) фазах молекулярной динамики локализованы в левом верхнем квадранте, что соответствует общему признаку пептидных структур, находящихся в β -конформации. Это указывает на высокую конформационную стабильность данной структуры комплекса пептидов в условиях эксперимента по моделированию молекулярной динамики. Отличные результаты, как видно из графика 3 (сектора В,Г), получены для комплекса 24 пептидов $H-(RADA)_4-OH$ в *syn*-ориентации. Можно заметить, что в процессе моделирования молекулярной динамики значительное количество аминокислотных остатков изменяет начальную β -конформацию. Таким образом, процедура молекулярного докинга, использованная для

конструирования комплексов двух типов, не влияла кардинальным образом на изменение исходной β -конформации пептидных остовов, из которых сформированы комплексы для исследования методом молекулярной динамики (рисунок 3, сектора А и В). В то же время, результаты моделирования динамики пептидных комплексов при 300К показали (см. рисунок 3, сектора Б и Г), что пептидный комплекс, состоящий из молекул в *syn*-ориентации подвержен существенным изменениям исходной β -конформации, что позволяет охарактеризовать его структуру как менее стабильную. Таким образом, созданный в результате молекулярного докинга комплекс, состоящий из пептидов в антипараллельной ориентации характеризуется сохранением исходной β -конформации практически всеми пептидами. Этот же вывод подтверждается мониторингом величин среднеквадратичного отклонения координат атомов анализируемого комплекса в ходе эксперимента по моделированию молекулярной динамики (рисунок 4). Величины среднеквадратичного отклонения координат центров масс атомов однозначно указывают на большую конформационную стабильность комплекса, сформированного антипараллельными пептидами $H-(RADA)_4-OH$ (рисунок 4). Дополнительной характеристикой стабильности структуры является величина свободной энергии комплекса. На рисунке 5 (слева) приведены графики изменения свободных энергий комплексов из 24 антипараллельных пептидов $H-(RADA)_4-OH$ и 24 параллельных пептидов с двумя слоями в *syn*-ориентации (на рисунке 5 (справа)) в ходе моделирования молекулярной динамики.

3.2. Обсуждение

Анализ данных молекулярной динамики, приведённых в таблицах 1, 2, показал, что наиболее компактная структура комплекса сформирована антипараллельными пептидами $H-(RADA)_4-OH$ в *anti*-ориентированных β -слоях. Наибольшее изменение начальной конформации пептидных остовов при 300К характерно для участков, расположенных на торцах лентовидного филамента, где срединный гидрофобный слой, сформированный боковыми заместителями остатков аланина, экспонирован наружу. По мере удаления от краёв лентовидного комплекса значения межатомных расстояний соседних пептидных остовов уменьшаются, что указывает на снижение степени деформации начальной геометрии молекул. Это правило, как общий случай, выполняется для обоих типов комплекса пептидов $H-(RADA)_4-OH$ и может быть проиллюстрировано данными изменения попарных расстояний между атомами углерода остатков аланина в соседних

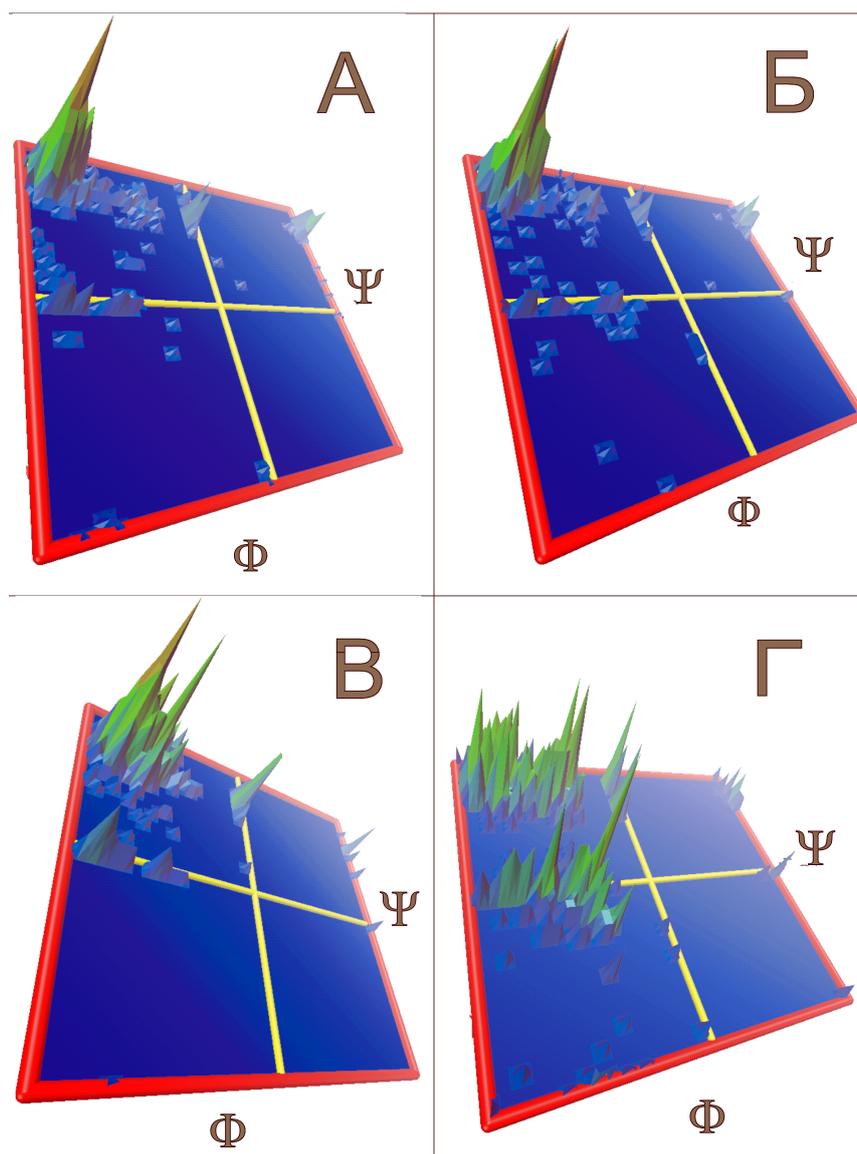


Рис. 3. Карты Рамачандрана для аминокислотных остатков, входящих в состав комплексов двух типов. Секторы А и Б характеризуют изменения состояния комплекса из 2 β -слоёв, по 12 пептидов в антипараллельной ориентации от начального (А) — к итоговому (Б) в ходе моделирования динамики; В и Г — аналогичные изменения структуры комплекса из 2 β -слоёв в *sup*-ориентации, по 12 пептидов в параллельной ориентации.

цепочках пептидов каждого β -слоя, приведенным в таблицах 1 - 4. Можно видеть, что в результате молекулярной динамики структура исследуемых комплексов пептида $H-(RADA)_4-OH$ изменяется с некоторыми особенностями. Анализ величин расстояний между α -атомами углерода остатков аланина в соседних по каждому β -слою цепочках пептидов показал, что комплекс антипараллельных пептидов изменяет внутреннюю структуру так, что относительное расстояние между четными и нечетными парами пептидов в составе двуслойного протофиламента оказывается больше, чем расстояние

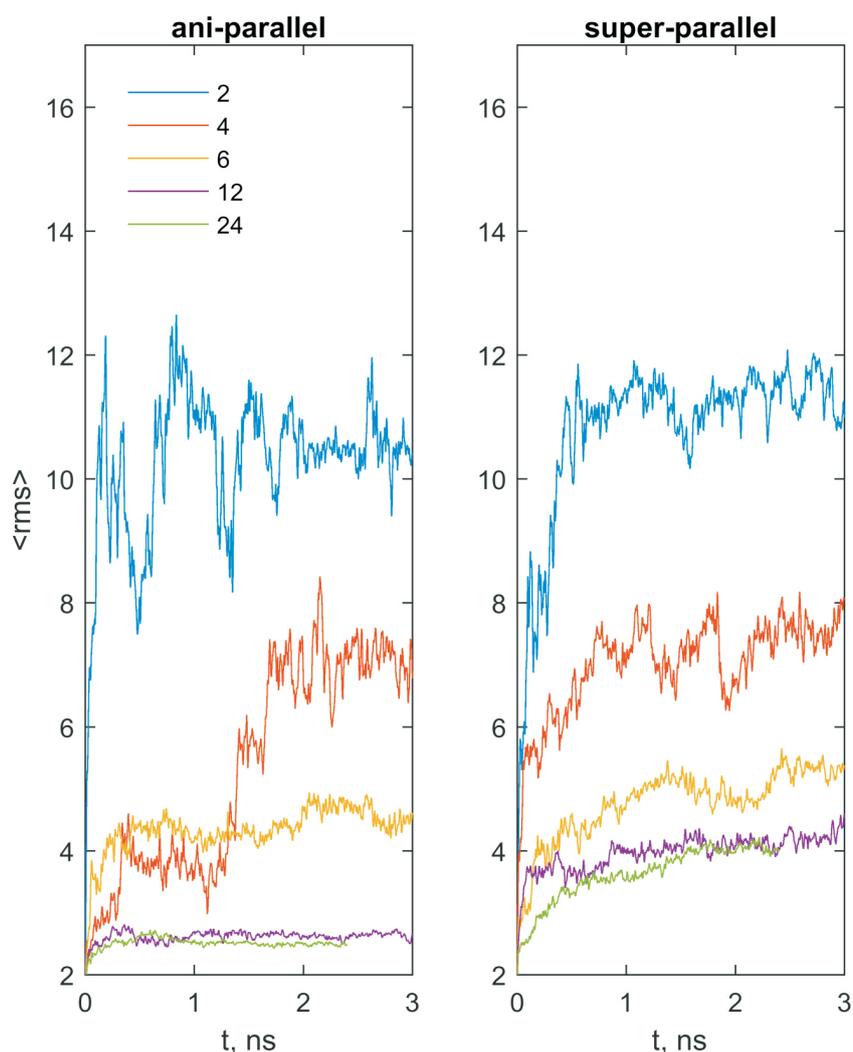


Рис. 4. Среднеквадратичное отклонение координат центров масс (rms) атомов аминокислотных остатков для комплексов, состоящих из 24 антипараллельных пептидов $H-(RADA)_4-OH$ (на рисунке — слева) и комплекса из 24 параллельных пептидов с двумя слоями в суп-ориентации (на рисунке — справа) за время эксперимента по данным молекулярной динамики. Для сравнения разным цветом обозначены данные, соответствующие комплексам, состоящим из 2, 4, 6, 12, 24 пептидов.

между нечётными и чётными парами, см. таблицы 1, 2. Таким образом, можно предположить, что структура протофиламента при 300K приобретает признаки суперкомплекса, сложенного из тетрамеров пептидов $H-(RADA)_4-OH$, которые оказываются наиболее компактными агломератами в составе филамента. Заметим, что об уникальности структуры тетрамеров антипараллельных полярных

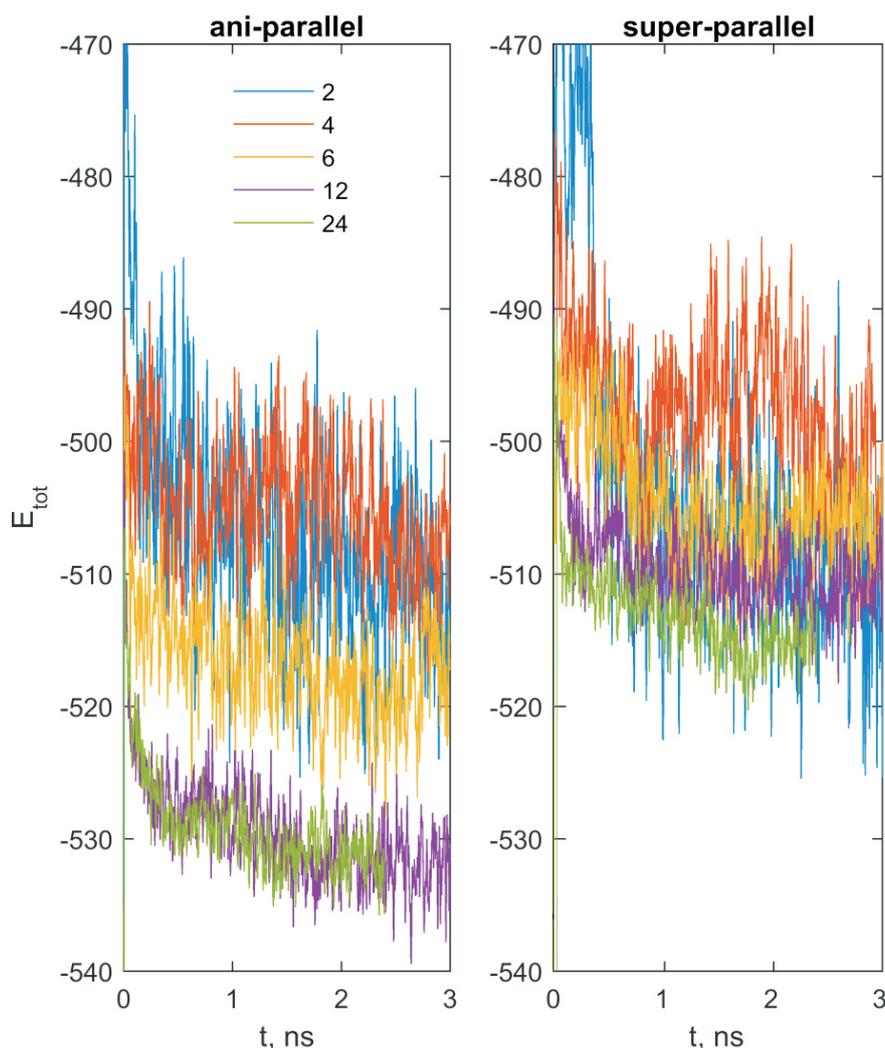


Рис. 5. Изменение энергии комплекса в виде двух β -листов по 12 пептидов $H-(RADA)_4-OH$ в антипараллельной ориентации (на рисунке — слева) и комплекса из двух β -листов в суп-ориентации по 12 пептидов $H-(RADA)_4-OH$ в параллельной ориентации (на рисунке — справа) за время эксперимента по молекулярной динамике. Для сравнения разным цветом обозначены данные, соответствующие комплексам, состоящим из 2, 4, 6, 12, 24 пептидов.

самоорганизующихся пептидов в плане стабильности их комплекса мы сообщали ранее [22, 26]. Согласно нашим предварительным данным именно тетрамеры антипараллельных пептидов могут выступать в качестве минимальной структуры, достаточной для сборки протяженного филамента. Эти результаты подтверждаются известной способностью продуктов, получаемых в результате дезинтеграции протяженного филамента из пептидов $H-(RADA)_4-OH$, по данным

спектрометрии кругового дихроизма, сохранять характеристические признаки протофиламентов как β -структур пептидов, способных к восстановлению исходного филамента после возвращения к нормальным условиям [27]. В общем случае, изменение геометрии протофиламента, сложенного из антипараллельных пептидов в β -конформации, по результатам молекулярной динамики оказывается существенно меньшим, по сравнению с комплексом двух β -слоёв параллельных пептидов в *sup*-ориентации, см. таблицы 3 - 4. Характерно, что для такого комплекса пептидов $H-(RADA)_4-OH$ не зафиксирован устойчивый паттерн расположения пептидных остовов в составе протофиламента, как это отмечено для комплекса пептидов в антипараллельной ориентации. В то же время, в комплексе пептидов в *sup*-ориентации отмечено увеличение девиации координат атомов аминокислотных остатков *Ala*, расположенных на флангах пептидов. Данное обстоятельство не может не влиять на термодинамику комплекса и его стабильность. Дополнительно, мы вычислили расстояния между β -атомами углерода остатков аланина в соседних по каждому β -слою цепочках пептидов (см. рисунок 2). Поскольку полученный результат повторяет картину, полученную для α -атомов углерода остатков аланина, данные не приведены, во избежание перегруженности статьи однотипными таблицами. Можно видеть (рисунок 5), что для обоих типов анализируемых комплексов разного размера наиболее энергетически выгодны структуры, состоящие из 24 пептидов. Тем не менее, величины свободных энергий для структур комплексов двух типов различаются. Более низкая величина, при этом, соответствует комплексу пептидов в антипараллельной ориентации. В пользу большей стабильности этой структуры говорит и то, что в ходе эксперимента по молекулярной динамике величина свободной энергии комплекса 24 пептидов в анти-параллельной ориентации понижается, достигая устойчивого локального минимума с примерным значением -527 ккал/моль. В то же время, величины свободных энергий комплексов 24 или 12 пептидов $H-(RADA)_4-OH$ в *sup*-ориентации за время эксперимента не только не достигают таких значений (рисунок 5), но, в отличие от комплекса пептидов в антипараллельной ориентации, существенно больше различаются в абсолютном выражении. Это указывает на менее устойчивую структуру данного комплекса по сравнению с комплексом пептидов в антипараллельной ориентации (см. рисунок 5). Несмотря на то, что комплекс пептидов в *sup*-ориентации имеет относительно большее значение свободной энергией, чем комплекс пептидов в анти-параллельной ориентации, в абсолютном выражении величина свободной энергии комплекса 24 пептидов в *sup*-ориентации составляет порядка $-2,3$ (кДж/моль), что допускает возможность

формирования пептидных комплексов данного типа. Кроме того, теоретически возможно формирование структур комплексов, сложенных из параллельных $H-(RADA)_4-OH$ или подобных полярных пептидов [28] в составе двух *anti*-ориентированных β -слоёв, поскольку такие структуры тоже могут оказаться сравнительно устойчивыми системами, учитывая, в частности, взаимную компенсацию зарядов на флангах молекул пептидов в составе комплекса.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что оба комплексов, состоящих из 2-х β -слоёв по 12 пептидов $H-(RADA)_4-OH$, имеют более низкую свободную энергию по сравнению с комплексами меньшего размера. При этом, комплекс из двух β -слоёв пептидов в антипараллельной ориентации характеризуется меньшими величинами относительных смещений центров масс атомов по сравнению с комплексом пептидов в *syn*-ориентации (рисунки 4, 5). Кроме того, комплекс пептидов в антипараллельной ориентации, отличается более равномерным распределением метильных групп остатков *Ala* в центральном гидрофобном слое. В то же время, атомы углерода метильных групп характеризуются большими величинами дисперсии расстояний между атомами C_β остатков *Ala* по сравнению с C_α атомами пептидного остова, что может отражать увеличение амплитуд относительных смещений C_β атомов остатков *Ala* в составе центрального гидрофобного слоя филамента. Всё вместе, это указывает на более высокую лабильность групп атомов гидрофобного слоя по сравнению с атомами C_α пептидных остовов. Таким образом, центральный гидрофобный слой филамента может характеризоваться сравнительно высокой пластичностью, что, видимо, способствует обеспечению целостности структуры филамента, компенсируя те напряжения, которые вызваны конформационным смещением групп атомов внешних слоёв комплекса вследствие термического или химического воздействий.

Благодарности

Авторы выражают искреннюю признательность за глубокую и плодотворную дискуссию Балабаеву Н. К.

Библиографический список

1. J.P. Jung, J.Z. Gasiorowski, J.H. Collier. Fibrillar peptide gels in biotechnology and biomedicine // *Peptide Science*. — 2010. — Vol. 94. — P. 49–59.
2. M.S. Seyedkarimi, H. Mirzadeh, S. Bagheri-Khoulenjani. On the analysis of microrheological responses of self-assembling RADA16-I peptide hydrogel // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. — 2019. — Feb. — Vol. 107, no. 2. — P. 330–338. — 10.1002/jbm.a.36495. — URL: <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36495>.
3. S.G. Zhang, T.C. Holmes, C.M. Dipersio, R.O. Hynes, X. Su, A. Rich. Self-Complementary Oligopeptide Matrices Support Mammalian-Cell Attachment // *Biomaterials*. — 1995. — Vol. 16. — P. 1385–1393.
4. Y. Kumada, S. Zhang. Significant Type I and Type III Collagen Production from Human Periodontal Ligament Fibroblasts in 3D Peptide Scaffolds without Extra Growth Factors // *PLoS ONE*. — 2010. — Vol. 5, no. 4. — P. e10305. — URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010305>.
5. N. Naotaro Akiyama, T. Yamamoto-Fukuda, H. Takahashi, T. Koji. In situ tissue engineering with synthetic self-assembling peptide nanofiber scaffolds, PuraMatrix, for mucosal regeneration in the rat middle-ear // *International journal of nanomedicine*. — 2013. — Vol. 8. — P. 2629–2640. — 10.2147/IJN.S47279. — URL: <https://doi.org/10.2147/IJN.S47279>.
6. L. Pauling, R.B. Corey. The pleated sheet, a new layer configuration of polypeptide chains // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. — 1951. — Vol. 37. — P. 251–256.
7. S. Zhang, T. Holmes, C. Lockshin, A. Rich. Spontaneous assembly of a self-complementary oligopeptide to form a stable macroscopic membrane // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. — 1993. — Vol. 90, no. 8. — P. 3334–3338. — 10.1073/pnas.90.8.3334. — <https://www.pnas.org/content/90/8/3334.full.pdf>.
8. S.G. Zhang, C. Lockshin, A. Herbert, E. Winter, A. Rich. Zuotin, a Putative Z-DNA Binding-Protein in *Saccharomyces cerevisiae* // *EMBO Journal*. — 1992. — Vol. 11. — P. 3787–3796.
9. H. Zarei, A. Aramvash, M.S. Seyedkarimi. Investigating the Stability of RADA16 Peptide Nanofibers Using CD Spectra // *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*. — 2019. — March. — Vol. 25,

- no. 1. — P. 265–272. — [10.1007/s10989-017-9669-2](https://doi.org/10.1007/s10989-017-9669-2). — URL: <https://doi.org/10.1007/s10989-017-9669-2>.
10. M. Altman, P. Lee, A. Rich, S.G. Zhang. Conformational Behavior of Ionic Self-Complementary Peptides // *Protein Sci.* — 2000. — Vol. 9. — P. 1095–1105.
 11. E.M. Marcotte, M. Pellegrini, T.O. Yeates, D.A. Eisenberg. Census of Protein Repeats // *Journal of Molecular Biology.* — 1999. — Vol. 293. — P. 151–160.
 12. Y.W. Chen, F. Ding, H.F. Nie, A.W. Serohijos, S. Sharma, K.C. Wilcox, Y. Yin S., N.V. Dokholyan. Protein Folding:Then and Now. // *Arch. Biochem. Biophys.* — 2008. — Vol. 469. — P. 4–19.
 13. A.R. Cormier, X. Pang, M.I. Zimmerman, H.-X. Zhou, A.K. Paravastu. Molecular Structure of RADA16-I Designer Self-Assembling Peptide Nanofibers // *ACS Nano.* — 2013. — Vol. 7, no. 9. — P. 7562–7572. — [10.1021/nn401562f](https://doi.org/10.1021/nn401562f).
 14. D. Huang, M.I. Zimmerman, P.K. Martin, A.J. Nix, T.L. Rosenberry, A.K. Paravastu. Antiparallel β -Sheet Structure within the C-Terminal Region of 42-Residue Alzheimers Amyloid- β Peptides When They Form 150-kDa Oligomers // *Journal of molecular biology.* — 2015. — Vol. 427, no. 13. — P. 2319–2328. — [10.1016/j.jmb.2015.04.004](https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.04.004).
 15. HyperChem - Computational Chemistry. Practical Guide - Theory and Method HC 70-00-04-00. — Gainesville : Hypercube Inc, 2002. — P. 350.
 16. G. Macindoe, L. Mavridis, V. Venkatraman, M-D. Devignes, D.W. Ritchie. HexServer:an FFT-based protein docking server powered by graphics processors // *Nucleic Acids Research.* — 2010. — Vol. 38. — P. 445–449.
 17. A. Tovchigrechko, I. Vakser. Development and testing of an automated approach to protein docking // *Proteins.* — 2005. — Vol. 60, no. 2. — P. 296–301. — [10.1002/prot.20573](https://doi.org/10.1002/prot.20573). — URL: <https://doi.org/10.1002/prot.20573>.
 18. W.F. VanGunsteren, S.R. Billeter, A.A. Eising, P.H. Hunenberger, P. Kruger, A.E. Mark, W.R.P. Scott, I.G. Tironi. Biomolecular Simulation. — Zurich : Vdf Hochschulverlag AG an der ETH Zurich, 1996. — P. 1042.
 19. N. Guex, M.C. Peitsch. SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: An environment for comparative protein modeling // *Electrophoresis.* — 1997. — Vol. 18. — P. 2714–2723.

20. C. Simmerling, B. Wang, R.J. Woods. The Amber biomolecular simulation programs // *Journal of Computational Chemistry*. – 2005. – Vol. 26. – P. 1668–1688.
21. Y. Duan, C. Wu, S. Chowdhury, M.C. Lee, G. Xiong, W. Zhang, R. Yang, P. Cieplak, R. Luo, T. Lee, J. Caldwell, J. Wang, P. Kollman. A point-charge force field for molecular mechanics simulations of proteins based on condensed phase quantum mechanical calculations // *Journal of Computational Chemistry*. – 2003. – Vol. 24. – P. 1999–2012.
22. A.V. Danilkovich, E.V. Sobolev, D.A. Tikhonov, T.E. Shadrina, I.P. Udovichenko. Molecular dynamics of the complexes of $(RADA)_4$ - the self-organizing ionic peptides // *Mathematical Biology and Bioinformatics*. – 2011. – Vol. 6, no. 1. – P. 92–101. – [10.17537/2011.6.92](https://doi.org/10.17537/2011.6.92). – URL: <https://doi.org/10.17537/2011.6.92>.
23. W. Humphrey, A. Dalke, K. Schulten. VMD - Visual molecular dynamics // *Journal of Molecular Graphics*. – 1996. – Vol. 14, no. 1. – P. 33–38.
24. A. Onufriev, D. Bashford, D. Case. Modification of the Generalized Born Model Suitable for Macromolecules // *Journal of Physical Chemistry part B*. – 2000. – March. – Vol. 104, no. 15. – P. 3712–3720. – [10.1021/jp994072s](https://doi.org/10.1021/jp994072s). – URL: <https://doi.org/10.1021/jp994072s>.
25. W. Kabsch, C. Sander. Dictionary of protein secondary structure: pattern recognition of hydrogen-bonded and geometrical features // *Biopolymers*. – 1983. – Vol. 12. – P. 2577–2637.
26. A.V. Danilkovich, E.V. Sobolev, D.A. Tikhonov, I.P. Udovichenko, V.M. Lipkin. Distinctive $H - (RLDL)_4$ -OH peptide complexes potentiate nanostructure self-assembling in water // *Doklady Biochemistry and Biophysics*. – 2012. – Apr. – Vol. 443, no. 1. – P. 96–99. – [10.1134/S160767291202010X](https://doi.org/10.1134/S160767291202010X). – URL: <https://doi.org/10.1134/S160767291202010X>.
27. H. Yokoi, T. Kinoshita, S. Zhang. Dynamic reassembly of peptide RADA16 nanofiber scaffold // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 2005. – Vol. 102, no. 24. – P. 8414–8419. – [10.1073/pnas.0407843102](https://doi.org/10.1073/pnas.0407843102). – <https://www.pnas.org/content/102/24/8414.full.pdf>.
28. S. Zhang, C. Lockshin, R. Cook, A. Rich. Unusually stable β -sheet formation in an ionic self-complementary oligopeptide // *Biopolymers*. – 1994. – Vol. 34, no. 5. – P. 663–672. – [10.1002/bip.360340508](https://doi.org/10.1002/bip.360340508). – URL: <https://doi.org/10.1002/bip.360340508>.

Содержание

1. ВВЕДЕНИЕ	3
2. МЕТОДЫ	8
3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	10
4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	20
Благодарности	20