



# Math-Net.Ru

Общероссийский математический портал

В. А. Федоров, И. Б. Коваленко, Влияние мутации в каталитическом сайте на форму и механику протофиламентов тубулина,  
*Матем. биология и биоинформ.*, 2024, том 19, выпуск 2, 393–401

<https://www.mathnet.ru/mbb566>

Использование Общероссийского математического портала Math-Net.Ru подразумевает, что вы прочитали и согласны с пользовательским соглашением

<https://www.mathnet.ru/rus/agreement>

Параметры загрузки:

IP: 18.97.14.80

14 мая 2025 г., 20:08:24



## **Влияние мутации в каталитическом сайте на форму и механику протофиламентов тубулина**

**Федоров В.А., Коваленко И.Б.\***

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

**Аннотация.** Альфа-бета-гетеродимеры белков тубулина являются основными строительными блоками микротрубочек — ключевых биополимеров, формирующих одну из главных систем цитоскелета клетки. Детальное изучение свойств этих строительных блоков, а также их изменений под влиянием точечных мутаций, способствует более глубокому пониманию физиологических и патологических процессов, связанных с цитоскелетом. В данной работе представлен анализ влияния точечной мутации E254N в каталитическом сайте  $\alpha$ -тубулина на изгибные конформации тетрамеров рекомбинантного тубулина человека с использованием методов молекулярной динамики. Модели были построены на основе данных криоэлектронной микроскопии высокого разрешения, что позволило реконструировать трехмерную структуру тетрамеров как дикого типа, так и с мутацией. На основе проведенных расчетов установлено, что основным отличием между тубулином дикого типа и мутантным является направление равновесного изгиба протофиламентов, тогда как амплитуда изгиба, скручивания и связанные с ними жесткости остаются практически неизменными. Мы предполагаем, что обнаруженные различия в направлениях изгиба могут быть связаны с наклонами протофиламентов в микротрубочках, что согласуется с ранее опубликованными данными криоэлектронной микроскопии и позволяет лучше понять принципы, лежащие в основе возникновения полимерной структуры микротрубочек из свойств отдельных строительных блоков.

**Ключевые слова:** тубулин, микротрубочка, динамическая нестабильность, молекулярная динамика, протофиламент, точечная мутация.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Тринадцать протофиламентов тубулина, состоящие из гетеродимеров  $\alpha\beta$ -тубулина, составляют цитоскелетные микротрубочки [1]. Микротрубочки находятся либо в фазе медленного роста (полимеризации), обусловленной присоединением димеров тубулина к ее (+)-концу, либо в фазе быстрой разборки (деполимеризации), когда составляющие микротрубочку протофиламенты теряют свои латеральные связи и расходятся на ее (+)-конце [2]. Это свойство микротрубочек называют динамической нестабильностью [3], и оно является ключевым для многих клеточных процессов, таких как деление клеток, поддержание их формы и т. д. Известно, что сборка и разборка микротрубочек связана с гидролизом молекулы гуанозинтрифосфата (ГТФ) в кармане  $\beta$ -тубулина [4]. Вскоре после включения в решетку микротрубочек молекулы ГТФ гидролизуются до гуанозиндифосфата (ГДФ), что приводит к конформационным изменениям в тубулинах, и фрагмент микротрубочки, состоящий из ГДФ-тубулинов, становится менее стабильным и более склонным к деполимеризации. Однако из-за задержки между присоединением ГТФ-тубулинов к растущему концу микротрубочки и гидролизом ГТФ, на растущем конце микротрубочки формируется так называемая ГТФ шапочка, то

---

\*ikovalenko78@gmail.com

есть имеется определенное количество ГТФ-тубулинов, предотвращающих разборку до тех пор, пока не будет потеряна стабилизирующая шапочка [5].

Во время включения в решётку микротрубочки гидролиз ГТФ запускается каталитической глутаминовой кислотой в  $\alpha$ -тубулине (E254), которая оказывается рядом с ГТФ в  $\beta$ -тубулине на продольном интерфейсе между димерами. Недавно было показано, что замена этой аминокислоты на аспарагин (N) блокирует гидролиз, что препятствует разборке микротрубочек [6]. Таким образом, вся микротрубочка становится подобна протяжённой ГТФ-шапочке. Такая структура удобна для изучения структурными методами, в отличие от естественной, короткой ГТФ-шапки в микротрубочках без мутации в каталитическом сайте.

В 2022 году методом криоэлектронной микроскопии были получены структуры фрагментов микротрубочек, состоящих из 13 протофиламентов рекомбинантного тубулина человека [7], при этом представлены структуры как микротрубочек дикого типа (PDB id 7SJ7), так и с изменяющей заряд мутацией E254N, заменяющей глутаминовую кислоту на аспарагин в 254 позиции аминокислотной последовательности  $\alpha$ -тубулина (PDB id 7SJA). Как следует из этого исследования, микротрубочки, собранные из тубулина с мутацией E254N, демонстрируют декомпактизованную решётку, то есть увеличенные расстояния между тубулинами вдоль протофиламента по сравнению с решёткой в ГТФ-состоянии [8]. Протофиламенты микротрубочек с мутацией E254N имеют "положительное" закручивание (отражающее наклон протофиламентов относительно оси микротрубочки) и низкую аффинность связывания с EB-белками, что делает их похожими на микротрубочки, стабилизированные аналогом ГТФ – GMPCPP (*guanylyl-( $\alpha,\beta$ )-methylene-diphosphonate*) [9]. Однако, в отличие от GMPCPP-микротрубочек, E254N-микротрубочки способны спонтанно переходить в состояние с высокой аффинностью связывания EB-белков, и этот переход стимулируется самими EB-белками.

Эти наблюдения позволяют предположить, что E254N микротрубочки (а значит, возможно, и ГТФ-микротрубочки) могут принимать как минимум два структурно различающихся состояния с декомпактизованной решёткой. В этом контексте представляет интерес исследование отдельных протофиламентов с мутацией E254N методом молекулярной динамики, чтобы выяснить, возникают ли подобные переключения вне решётки микротрубочек.

В настоящей работе мы применяем методы анализа конформационной подвижности и изгибных конформаций протофиламентов тубулина, разработанные нами ранее в работе [10], к структурам рекомбинантного тубулина человека, и выявляем роль мутации E254N  $\alpha$ -тубулина в динамическом поведении тетрамеров тубулина.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Создание молекулярно-динамических моделей

В работе созданы две молекулярно-динамические модели тетрамеров рекомбинантного тубулина человека: дикого типа и с мутацией E254N в  $\alpha$ -тубулине, на основе структурных данных высокого разрешения, полученных методом криоэлектронной микроскопии в лаборатории Евы Ногалес в 2022 году (США, PDB id 7SJ7, 7SJA). Визуализации структур тетрамеров тубулина, созданных на основе пространственных структур 7SJ7 и 7SJA, приведены на рисунках 1 и 2 (бледно-розовый цвет). Линейный размер представленных фибрилл – 16.3 нм и 16.7 нм, соответственно.

Неразрешенные аминокислоты тубулинов были достроены программой Modeller [11]. Состояния протонирования ионизируемых аминокислот были определены программой ProPKa [12]. Труднодоступные карманы в молекуле белка были сольватированы программой Dowser [13]. Тетрамер тубулина в начальный момент

времени находился в реакционном объеме в форме прямоугольного параллелепипеда так, что минимальное расстояние от границы объема до поверхности протофиламента составляло не менее 2 нм. Реакционный объем заполнялся водой модели TIP3P и ионами  $K^+$  и  $Cl^-$  с концентрацией 100 мМ. Молекулярно-динамическая модель тетрамера была создана в силовом поле CHARMM36m [14]. Молекулярно-динамические расчеты проводились в программе GROMACS версии 2022.4 [15].

Сначала была проведена минимизация энергии, затем двухступенчатое уравнивание молекулярно-динамической системы. На первом этапе минимизации проводился молекулярно-динамический расчет длительностью 1 нс с ограничением подвижности всех тяжелых атомов белка при постоянных давлении и температуре. На втором этапе уравнивания длительностью 5 нс была ограничена подвижность только атомов белкового остова. После уравнивания для каждой системы были проведены по три продуктивных расчета длительностью не менее 1 микросекунды каждый с шагом по времени 2 фс и использованием термостата V-rescale и баростата Паринелло – Рамана [16]. Для учета дальнедействующих электростатических взаимодействий был применен алгоритм PME [17]. Молекулярно-динамические модели состояли из примерно 330 тысяч атомов для системы дикого типа и 290 тысяч атомов для мутантной. Скорость расчетов на компьютере с гибридной вычислительной архитектурой Intel Core i9-13900KF CPU и Nvidia RTX4090 GPU составила примерно 170 нс в сутки с использованием опции «GPU-resident» [18]. Для каждой молекулярно-динамической модели было проведено три продуктивных расчета, длительность каждого составила не менее 1 мкс, что достаточно для получения равновесной изогнутой структуры протофиламента тубулина из прямой конфигурации.

### **Анализ конформационной динамики тетрамера тубулина**

Анализ полученных траекторий молекулярной динамики производился согласно разработанной нами ранее методике [10], заключающейся в определении конформации протофиламентов тубулина на основании вычисления модифицированных углов Эйлера. Поскольку тетрамер тубулина состоит из двух димеров, он три имеет сочленения: два внутримерных (между мономерами димера) и один междимерный (между двумя димерами). Анализ углов изгиба и скручивания на внутри- и междимерных сочленениях тубулина проводился с помощью программного обеспечения Rmol [19] с использованием программ на языке Python. Относительные положения соседних мономеров тубулина описывались с помощью трех углов поворота, по аналогии с работой [20]. Угол прецессии  $\phi$  определяет направление изгиба относительно радиального направления в микротрубочке, а угол нутации  $\theta$  характеризует величину изгиба протофиламента относительно прямой структуры в направлении, задаваемом углом  $\phi$  (углы Эйлера). Вместо угла собственного вращения  $\psi$  мы ввели угол скручивания  $\delta$  [10]. Для того, чтобы определить ориентацию одной субъединицы тубулина относительно другой субъединицы, фрагмент прямой микротрубочки (и связанная с ним декартова система координат) был выровнен сначала по одной субъединице тубулина, а потом по второй, таким образом задавая две декартовы системы координат. Далее рассчитывались углы изгиба  $\theta$ , его направления  $\phi$  и скручивания  $\delta$  поворота одной системы координат относительно другой. Для расчета средних значений углов использовались кадры после первых 0.5 мкс молекулярно-динамической траектории.

### **Анализ изгибной жесткости тетрамеров тубулина**

Изгибная жесткость протофиламентов  $k$  была рассчитана по теореме о равномерном распределении энергии в гармоническом приближении для каждого записанного кадра каждой молекулярно-динамической траектории (шаг записи 1 нс):

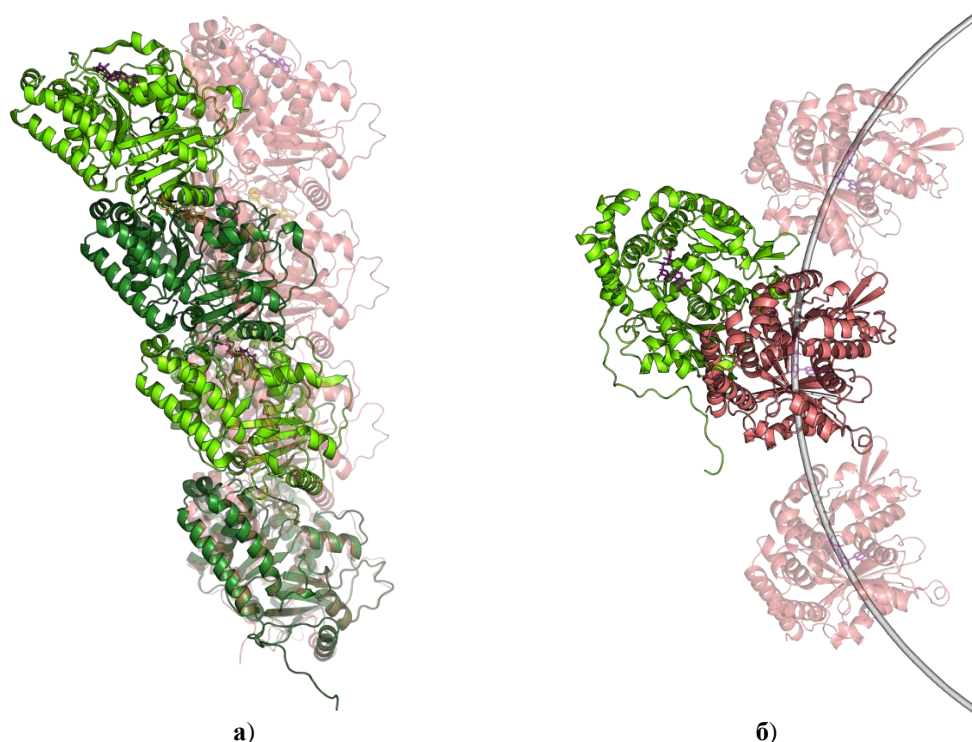
$$k = kT/\sigma^2,$$

где  $k$  – постоянная Больцмана;  $T$  – температура;  $\sigma^2$  – дисперсия угла изгиба или скручивания. Также были вычислены средние значения изгибной жесткости протофиламентов при изгибе и скручивании. Для расчета средних значений использовались кадры после первых 0.5 мкс расчета. Значения для внутримерных интерфейсов в тетрамерах усреднялись совместно для верхнего и нижнего димеров.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Визуализация исследуемых тетрамеров тубулина

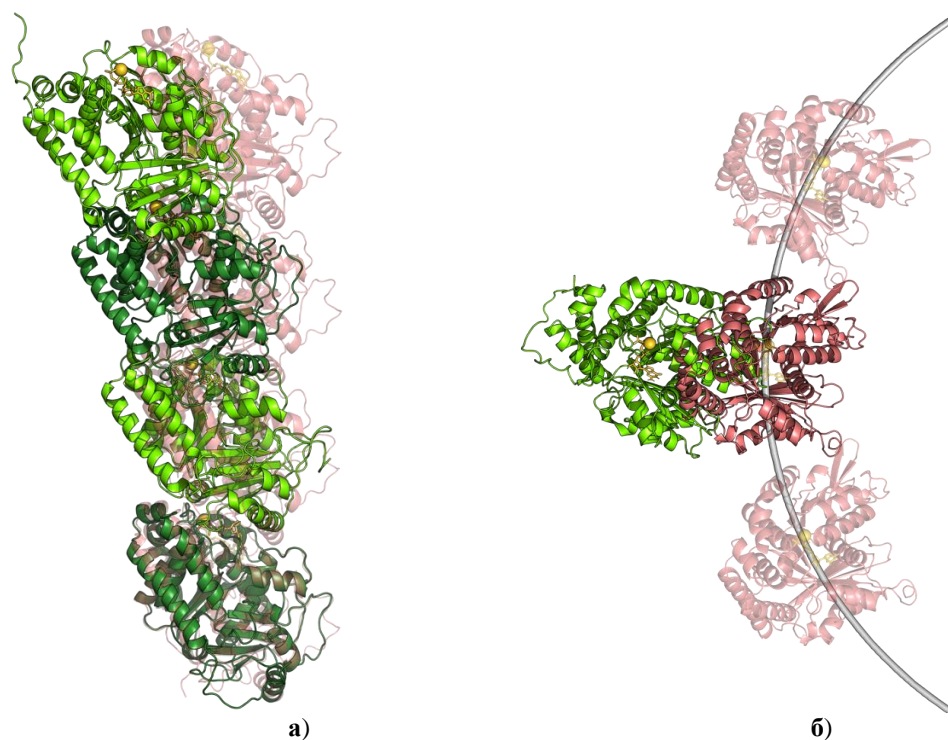
Были проведены по три расчета молекулярной динамики тетрамера тубулина дикого типа и с изменяющей заряд мутацией E254N в  $\alpha$ -тубулине из начального состояния, соответствующего прямой конформации протофиламента в теле микротрубочки. На рисунке 1 показаны начальное состояние протофиламента тубулина дикого типа и его состояние на 1148 нс молекулярно-динамического расчета в двух проекциях: луч зрения направлен по касательной к микротрубочке (рис. 1,а) и вдоль оси микротрубочки (рис. 1,б). В момент времени 1148 нс значения углов изгиба  $\theta$ , направления изгиба  $\varphi$  и скручивания  $\delta$  составляли  $3^\circ$ ,  $8.4^\circ$  и  $8.7^\circ$  для междимерного сочленения, а также  $14.8^\circ$ ,  $-43.6^\circ$  и  $7.3^\circ$ ;  $11.6^\circ$ ,  $-58.8^\circ$  и  $4.3^\circ$  для внутримерных сочленений, соответственно.



**Рис. 1.** Тетрамер рекомбинантного тубулина человека дикого типа. Бледно-розовым цветом показано начальное состояние протофиламента (соответствующее его прямой конформации в теле микротрубочки), зеленым – состояние на 1148 нс молекулярно-динамического расчета, темно-зеленым цветом покрашен  $\alpha$ -тубулин, светло-зеленым –  $\beta$ -тубулин: **а)** вид по касательной к микротрубочке; **б)** вид вдоль оси микротрубочки.

На рисунке 2 показаны начальное состояние протофиламента и его состояние на 1080 нс молекулярно-динамического расчета в двух проекциях: луч зрения направлен по касательной к микротрубочке (рис. 2,а) и вдоль оси микротрубочки (рис. 2,б). В момент времени 1080 нс значения углов изгиба  $\theta$ , направления изгиба  $\varphi$  и скручивания

$\delta$  составляли  $13^\circ$ ,  $36^\circ$  и  $10.3^\circ$  для междимерного сочленения, а также  $8.5^\circ$ ,  $-37.8^\circ$  и  $10^\circ$ ;  $7^\circ$ ,  $-16.7^\circ$  и  $6^\circ$  для внутридимерных интерфейсов, соответственно.



**Рис. 2.** Тетрамер рекомбинантного тубулина человека с мутацией E254N в  $\alpha$ -тубулине. Бледно-розовым цветом показано начальное состояние протофиламента (соответствующее его прямой конформации в теле микротрубочки), зеленым – состояние на 1080 нс молекулярно-динамического расчета, темно-зеленым цветом покрашен  $\alpha$ -тубулин, светло-зеленым –  $\beta$ -тубулин: **а)** вид по касательной к микротрубочке; **б)** вид вдоль оси микротрубочки.

### Конформационные изменения тетрамеров тубулина

Были рассчитаны значения углов изгиба  $\theta$  и скручивания  $\delta$  на каждом кадре молекулярно-динамической траектории для внутридимерных и междимерных интерфейсов в тетрамере тубулина. Угол междимерного изгиба  $\theta$  варьировал от  $2^\circ$  до  $25^\circ$  для структуры с  $\alpha$ -тубулином дикого типа, и от  $2^\circ$  до  $20^\circ$  – для структур с  $\alpha$ -тубулином мутантного типа. Среднее значение угла изгиба составило  $8.4 \pm 7.1^\circ$  для дикого типа и  $9.6 \pm 4.3^\circ$  для мутантного типа (табл. 1). Углы скручивания в обоих случаях варьировали в пределах  $0$ – $20^\circ$ , и их средние значения практически не различались.

Внутридимерные углы как для дикого, так и для мутантного протофиламентов тубулина варьировали заметно меньше, от  $4^\circ$  до  $16^\circ$  при изгибе и от  $0^\circ$  до  $12^\circ$  – при скручивании. Заметно меньший разброс значений углов для внутридимерных сочленений тубулинов виден и из их среднеквадратичных отклонений (табл. 1). Среднее значение внутридимерных углов изгиба как для дикого, так и для мутантного типов практически не отличалось от таковых для междимерных сочленений. Напротив, и для дикого, и для мутантного типов средние значения внутридимерных углов скручивания (около  $6^\circ$ ) были почти в два раза меньше, чем на междимерном сочленении (табл. 1). Это говорит о том, что в общий изгиб протофиламента вносят свой вклад как внутри-, так и междимерные сочленения тубулинов, тогда как в скручивание вносит наибольший вклад междимерное сочленение.

Изгиб тетрамера тубулина и направление этого изгиба наглядно видно из рисунка 3, показывающего проекции центров масс верхнего мономера на плоскость, перпендикулярную оси микротрубочки. Видно, что тетрамеры тубулина отклоняются

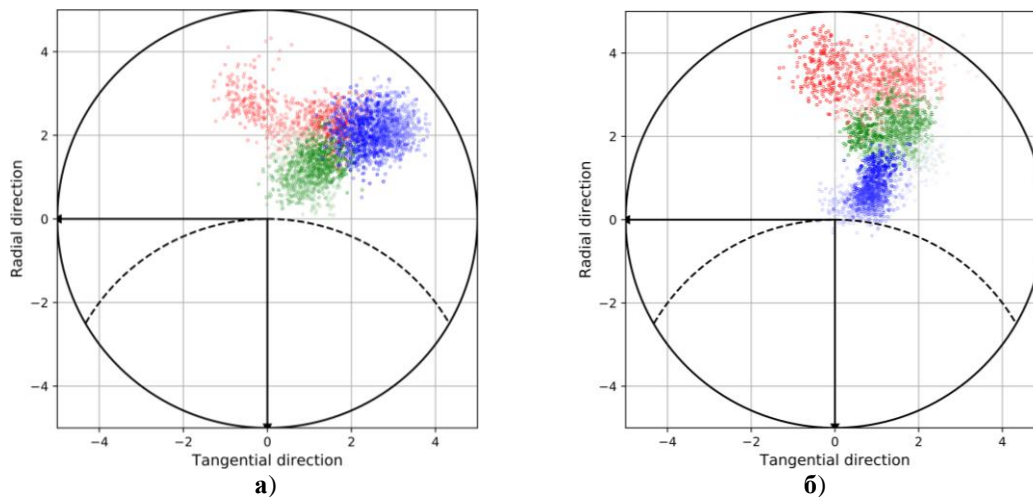


не в строго радиальном направлении по отношению к микротрубочке, а несколько вправо. Однако, отклонение для мутантной формы от радиального направления заметно меньше, чем для протофиламента дикого типа.

**Таблица 1.** Углы изгиба и скручивания (в градусах) на внутри- и междимерном сочленениях тетрамера тубулина дикого типа и с мутацией E254N в  $\alpha$ -тубулине

Сочленение	Тетрамер тубулина дикого типа		Тетрамер тубулина с мутацией E254N в $\alpha$ -тубулине	
	изгиб	скручивание	изгиб	скручивание
Междимерное	$8.4 \pm 7.1$	$11.2 \pm 4.3$	$9.6 \pm 4.3$	$11.5 \pm 2.7$
Внутридимерное	$9.8 \pm 1.3$	$6.3 \pm 1.8$	$9.0 \pm 2.5$	$6.1 \pm 2.1$

Направление изгиба относительно радиального направления в микротрубочке определяется углом прецессии  $\phi$ . Если средние значения этого угла для внутридимерных сочленений в тетрамере тубулина составляют примерно  $45^\circ$  как для дикого, так и для мутантного типа тубулинов, то его среднее значение для междимерного сочленения, особенно в конце траектории, после 800 нс молекулярно-динамических расчетов, для мутантного типа становится довольно мало, около  $5^\circ$ , тогда как у дикого типа угол направления изгиба составляет около  $35^\circ$ . Таким образом, направление изгиба тетрамера с мутантной формой  $\alpha$ -тубулина со временем намного меньше отклоняется от радиального по отношению к оси микротрубочки, чем направление изгиба дикого типа, и эта разница определяется междимерным сочленением тубулинов.



**Рис. 3.** Проекция центров масс верхнего мономера в тетрамере на плоскость, перпендикулярную оси микротрубочки в молекулярно-динамических расчетах. Вид вдоль оси микротрубочки. Пунктирной линией схематически показана окружность стенки микротрубочки. Горизонтальная ось является касательной к стенке микротрубочки, вертикальная ось перпендикулярна ее оси. Для всех траекторий точки показаны градиентом от белого (начало) к цвету конкретной траектории (конец): **а)** тетрамер тубулина дикого типа; **б)** тетрамер с мутацией E254N в  $\alpha$ -тубулине.

### Жесткости тетрамеров тубулина

Были вычислены усредненные значения изгибной жесткости междимерного и внутридимерного сочленений в тетрамере тубулина по теореме равномерного распределения энергии по молекулярным степеням свободы (табл. 2). Видно, что жесткости внутридимерных сочленений в целом выше, чем междимерных сочленений. Это

представляется естественным и может быть объяснено более стабильной связью мономеров друг с другом в димере по сравнению с междимерным взаимодействием – в растворе тубулина существуют именно в форме  $\alpha\beta$ -гетеродимеров. Видно, что мутация E254N в  $\alpha$ -тубулине не вносит существенного вклада в жесткость протофиламентов тубулина.

**Таблица 2.** Гармоническая жесткость углов изгиба и скручивания (кТ/рад<sup>2</sup>)

Сочленение	Тетрамер тубулина дикого типа		Тетрамер тубулина с мутацией E254N в $\alpha$ -тубулине	
	изгиб	скручивание	изгиб	скручивание
Междимерное	630 ± 240	460 ± 210	550 ± 220	500 ± 330
Внутридимерное	830 ± 210	710 ± 240	740 ± 400	630 ± 200

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании молекулярно-динамических расчетов тетрамеров рекомбинантного тубулина человека, в том числе с мутацией E254N в  $\alpha$ -тубулине, был проведен анализ их изгибных конформаций. Анализ показал, что ключевое различие между тубулином дикого типа и с мутацией в каталитическом сайте заключается в направлении равновесного изгиба протофиламента при релаксации к равновесной форме в растворе. При этом амплитуда изгиба и скручивания, а также соответствующие жесткости, остаются схожими. Можно предположить, что различия в направлениях изгиба могут быть связаны с вариациями наклонов протофиламентов в структуре решетки микротрубочек, наблюдаемыми методом криоэлектронной микроскопии. Таким образом, даже точечная мутация способна вызвать достаточно существенные изменения структуры, оказывающие влияние на уровне целой микротрубочки, что, в свою очередь, способно влиять на связывание с микротрубочками эффекторных белков.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-74-00007, <https://rscf.ru/project/23-74-00007/>. Вычисления проводились с использованием Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами Московского университета.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Desai A., Mitchison T.J. Microtubule polymerization dynamics. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 1997. V. 13. P. 83–117.
2. Gudimchuk N.B., McIntosh J.R. Regulation of Microtubule Dynamics, Mechanics and Function through the Growing Tip. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2021. V. 22. P. 777–795.
3. Mitchison T., Kirschner M. Dynamic Instability of Microtubule Growth. *Nature.* 1984. V. 312. P. 237–242.
4. Weisenberg R.C., Deery W.J., Dickinson P.J. Tubulin-Nucleotide Interactions during the Polymerization and Depolymerization of Microtubules. *Biochemistry.* 1976. V. 15. P. 4248–4254.
5. Drechsel D.N., Kirschner M.W. The Minimum GTP Cap Required to Stabilize Microtubules. *Current Biology.* 1994. V. 4. P. 1053–1061.



6. Roostalu J., Thomas C., Cade N.I., Kunzelmann S., Taylor I.A., Surrey T. The Speed of GTP Hydrolysis Determines GTP Cap Size and Controls Microtubule Stability. *Elife*. 2020. V. 9. doi: [10.7554/eLife.51992](https://doi.org/10.7554/eLife.51992)
7. LaFrance B.J., Roostalu J., Henkin G., Greber B.J., Zhang R., Normanno D., McCollum C.O., Surrey T., Nogales E. Structural Transitions in the GTP Cap Visualized by Cryo-Electron Microscopy of Catalytically Inactive Microtubules. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2022. V. 119. doi: [10.1073/pnas.2114994119](https://doi.org/10.1073/pnas.2114994119)
8. Alushin G.M., Lander G.C., Kellogg E.H., Zhang R., Baker D., Nogales E. High-Resolution Microtubule Structures Reveal the Structural Transitions in  $\alpha\beta$ -Tubulin upon GTP Hydrolysis. *Cell*. 2014. V. 157. P. 1117–1129.
9. Müller-Reichert T., Chrétien D., Severin F., Hyman A.A. Structural Changes at Microtubule Ends Accompanying GTP Hydrolysis: Information from a Slowly Hydrolyzable Analogue of GTP, Guanylyl ( $\alpha,\beta$ )Methylenediphosphonate. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998. V. 95. P. 3661–3666.
10. Fedorov V.A., Orekhov P.S., Kholina E.G., Zhmurov A.A., Ataulakhanov F.I., Kovalenko I.B., Gudimchuk N.B. Mechanical Properties of Tubulin Intra- and Inter-Dimer Interfaces and Their Implications for Microtubule Dynamic Instability. *PLoS Comput. Biol.* 2019. V. 15. doi: [10.1371/journal.pcbi.1007327](https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1007327)
11. Webb B., Sali A. Comparative Protein Structure Modeling Using MODELLER. *Curr. Protoc. Bioinformatics*. 2016. V. 54. doi: [10.1002/cpbi.3](https://doi.org/10.1002/cpbi.3)
12. Olsson M.H.M., Søndergaard C.R., Rostkowski M., Jensen J.H. PROPKA3: Consistent Treatment of Internal and Surface Residues in Empirical  $pK_a$  Predictions. *J. Chem. Theory Comput.* 2011. V. 7. P. 525–537.
13. Morozenko A., Stuchebrukhov A.A. Dowser++, a New Method of Hydrating Protein Structures. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. 2016. V. 84. P. 1347–1357.
14. Huang J., Rauscher S., Nawrocki G., Ran T., Feig M., de Groot B.L., Grubmüller H., MacKerell A.D. CHARMM36m: An Improved Force Field for Folded and Intrinsically Disordered Proteins. *Nat. Methods*. 2017. V. 14. P. 71–73.
15. Abraham M.J., Murtola T., Schulz R., Páll S., Smith J.C., Hess B., Lindahl E. GROMACS: High Performance Molecular Simulations through Multi-Level Parallelism from Laptops to Supercomputers. *SoftwareX*. 2015. V. 1–2. P. 19–25.
16. Parrinello M., Rahman A. Polymorphic Transitions in Single Crystals: A New Molecular Dynamics Method. *J. Appl. Phys.* 1981. V. 52. P. 7182–7190.
17. Essmann U., Perera L., Berkowitz M.L., Darden T., Lee H., Pedersen L.G. A Smooth Particle Mesh Ewald Method. *J. Chem. Phys.* 1995. V. 103. P. 8577–8593.
18. Fedorov V., Kholina E., Gudimchuk N., Kovalenko I. High-Performance Computing of Microtubule Protofilament Dynamics by Means of All-Atom Molecular Modeling. *Supercomput. Front. Innov.* 2023. V. 10. P. 62–68.
19. *The PyMOL Molecular Graphics System*, Version 2.5 Schrödinger, LLC. URL: <https://www.pymol.org> (accessed 20.11.2024).
20. Grafmüller A., Voth G.A. Intrinsic Bending of Microtubule Protofilaments. *Structure*. 2011. V. 19. P. 409–417.

Рукопись поступила в редакцию 20.09.2024, переработанный вариант поступил 20.11.2024.  
Дата опубликования 28.11.2024.

# The Impact of a Catalytic Site Mutation on the Shape and Mechanics of Tubulin Protofilaments

Fedorov V.A., Kovalenko I.B.

*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

**Abstract.** Alpha-beta heterodimers of tubulin proteins serve as the building blocks of microtubules, which are key biopolymers forming one of the principal systems of the cellular cytoskeleton. A detailed study of these building blocks, as well as their alterations caused by point mutations, contributes to a deeper understanding of physiological and pathological processes related to the cytoskeleton. This study presents an analysis of the impact of the E254N point mutation in the catalytic site of  $\alpha$ -tubulin on the bending conformations of human recombinant tubulin tetramers using molecular dynamics methods. The models were constructed based on high-resolution cryo-electron microscopy data, allowing the reconstruction of three-dimensional structures of both wild-type and mutant tetramers. The simulations revealed that the primary difference between wild-type and mutant tubulin lies in the equilibrium bending direction of the protofilaments, while the bending amplitude, twisting, and associated stiffness remain largely unchanged. We propose that the observed differences in bending directions may be related to variations in protofilament tilts within microtubules, which aligns with previously published cryo-electron microscopy data. These findings provide valuable insights into the principles underlying the formation of the polymeric structure of microtubules based on the properties of their individual building blocks.

**Key words:** *tubulin, microtubule, dynamic instability, molecular dynamics, protofilament, point mutation.*