

УДК 538.911

МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЧЕЛОВЕЧЕСКОЙ ЛИПОКСИГЕНАЗЫ LOX 15 СО СВОБОДНОЙ АРАХИДОНОВОЙ КИСЛОТОЙ

© 2022 г. П. Д. Короткова^{a, *}, А. А. Юрченко^b, В. И. Тимофеев^{c, d, **},
А. Б. Шумм^{a, e}, Ю. А. Владимиров^{a, b, c}

^aМосковский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, 119991 Россия

^bРоссийский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, 117997 Россия
^cИнститут кристаллографии им. А.В. Шубникова ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН,
Москва, 119333 Россия

^dНациональный исследовательский центр “Курчатовский институт”,
Москва, 123182 Россия

^eФизический институт им. П.Н. Лебедева Российской академии наук,
Москва, 119991 Россия

*e-mail: korotkovapol@gmail.com

**e-mail: tostars@mail.ru

Поступила в редакцию 14.01.2021 г.

После доработки 22.02.2022 г.

Принята к публикации 28.02.2022 г.

Человеческая липоксигеназа ассоциирована с процессом ферроптоза — одного из путей запрограммированной смерти клетки. Это делает изучение механизма функционирования данного фермента крайне значимым, так как процесс ферроптоза связан с рядом заболеваний, прежде всего, злокачественных новообразований. Вместе с тем экспериментальное исследование этого фермента является затруднительным, так как липоксигеназа человека является мембранноассоциированным белком. В настоящей работе для изучения липоксигеназы были применены методы, основанные на молекулярном моделировании. Методом молекулярного докинга получена модель комплекса человеческой липоксигеназы с арахидоновой кислотой. С помощью моделирования на основе молекулярной механики изучена динамика полученного комплекса. Получены значения среднеквадратичных отклонений атомов C- α , а также значения среднеквадратичных флуктуаций атомов C- α , что позволило сделать вывод об устойчивости модельного комплекса. Описаны подвижные участки молекулы. Методом MM/GBSA, основанным на комбинации молекулярной механики и решения обобщенного уравнения Борна, рассчитано изменение свободной энергии при взаимодействии человеческой липоксигеназы с арахидоновой кислотой. Показано, что значение изменения свободной энергии соответствует неспецифическому связыванию лиганда, что объясняет относительно слабую каталитическую активность человеческой липоксигеназы по отношению к свободной арахидоновой кислоте.

Ключевые слова: молекулярная динамика, липоксигеназа, арахидоновая кислота, ферроптоз, субстратная специфичность.

DOI: 10.31857/S1028096022100089

ВВЕДЕНИЕ

Программируемая смерть клеток — один из важнейших регуляторных механизмов в организме млекопитающих. В 2008 г. были идентифицированы соединения RSL3 и RSL5, которые повышали смертность клеток в присутствии активных форм кислорода. Было показано, что эти соединения активировали особый механизм смерти

мутировавших раковых клеток, который оказался связанным с клеточными хранилищами железа и отличался от апоптотического [1]. В 2012 г. введено понятие “ферроптоз” для обозначения железо-зависимой формы неапоптотической смерти клеток [2].

В дальнейшем проблеме ферроптоза было посвящено значительное количество обзорных статей [3–6]. Гибель клеток при ферроптозе свя-

зывают с нарушением их функционирования в результате пероксидации липидов в мембранах эндоплазматического ретикулума, но механизм этой гибели, в отличие от механизмов апоптоза, до сих пор окончательно не выяснен. Немногим яснее на данный момент представляется механизм самих реакций липидной пероксидации, вовлеченных в ферроптоз. В обзоре [7] указаны два потенциальных химических пути: ферментативное окисление арахидоновой кислоты (AA), входящей в состав фосфатидилэтаноламина, с образованием гидропероксида AOOH с пероксидной группой в пятнадцатом положении при помощи липоксигеназ и неферментативное цепное окисление полиненасыщенных жирных кислот, катализируемое ионами железа, не входящего в активный центр гемопroteинов. В пользу первого предположения говорят данные хромато-масс-спектрометрии, в пользу второго – ферроптоз комплексами железа [3] и активация ферроптоза при нарушении гомеостаза железа, в частности, при его избытке в организме [2, 7, 8]. Таким образом, построение модели взаимодействия человеческой 15-липоксигеназы (LOX 15) с арахидоновой кислотой и исследование ее свойств представляет несомненную важность для исследования механизма ферроптоза.

В настоящей работе методом молекулярного докинга получена модель LOX 15 с арахидоновой кислотой, исследована молекулярная динамика полученного комплекса. Методом молекулярной механики MM/GBSA, сочетающим молекулярную механику и решение обобщенного уравнения Борна, показано, что изменение свободной энергии соответствует неспецифическому связыванию лиганда.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Молекулярный докинг

Начальная модель системы была получена путем молекулярного докинга с использованием программы HADDOCK [9, 10]. Топология арахидоновой кислоты сгенерирована с использованием сервиса PRODRG [11]. В качестве модели LOX 15 использована модель кристалла [12].

Алгоритм докинга состоит из трех этапов. На первом этапе выполняли докинг твердых тел, при котором взаимодействующие молекулы вращали и перемещали случайным образом, чтобы минимизировать межмолекулярную энергию. После этого следовала вторая стадия, на которой выполняли оптимизацию пространства торсионных углов для уточнения ориентации лиганда и взаимодействующих с ним аминокислотных остатков белка. Последним этапом было уточнение структуры в явном растворителе.

На первом этапе было получено 1000 конфигураций структуры, из которых только 200 наиболее энергетически выгодных были проанализированы на третьем этапе. На третьем этапе 10 лучших структур уточняли в модельной сфере, заполненной водой. В качестве модели воды была выбрана TIP3P, которая представляет собой жесткую молекулу, состоящую из трех атомов. Каждый атом этой модели имеет свой заряд и свои параметры Леннарда-Джонса [13].

Молекулярная динамика

Для моделирования молекулярной динамики в качестве стартовой модели была выбрана наилучшая согласно оценочной функции конфигурация комплекса LOX 15 и арахидоновой кислоты. Для параметризации лиганда использовали программу Antechamber [14]. Моделирование проводили с помощью программы GROMACS 2020.3 [15]. Одним из способов описания взаимодействия между атомами является силовое поле. В настоящей работе было выбрано одно из стандартных полей – ff14SB: в нем существенно улучшена точность моделирования боковых цепей аминокислотных остатков по сравнению с альтернативным вариантом ff99SB [16]. Кроме того, выбранная модель воды является наиболее подходящей для использования с силовым полем ff14SB.

Молекула белка была помещена в ячейку в форме параллелепипеда таким образом, чтобы расстояние от молекулы белка до краев ячейки составляло 1.5 нм. Свободное пространство ячейки было заполнено молекулами воды. Кроме того, в систему было добавлено 0.15 моль/л KCl, а также несколько ионов калия для уравнивания заряда системы.

На первом этапе для каждой из систем была проведена минимизация энергии с шагом 1 фс до максимальной силы 1000.0 кДж/моль · нм. Далее системы были уравновешены в условиях ограниченной подвижности тяжелых атомов при температуре 298 К и давлении 1 атм путем моделирования в “каноническом” (NVT) и изотермоизобарическом (NTP) ансамблях (100 пс в каждом) соответственно. Температура и давление в системах контролировали с использованием модифицированного термостата Берендсена [17] и баростата Паринелло–Рахмана [18]. Продуктивную симуляцию молекулярной динамики длительностью 20 нс для каждой из систем проводили в изотермоизобарическом ансамбле с шагом в 2 фс. Алгоритм LINCS [19] использовали для ограничения связей с участием атомов водорода. Дальнейшие электростатические взаимодействия рассчитывали с использованием схемы суммирования по Эвальду [20]. Ван-дер-Ваальсовские и кулоновские взаимодействия были усечены до 1.4 нм, что является наиболее опти-

мальным для используемого силового поля [16]. Расчет молекулярной динамики проводили три раза.

*Расчет изменения свободной энергии
при образовании комплекса LOX 15
с арахидоновой кислотой*

Для расчета энергии взаимодействия липоксигеназы с арахидоновой кислотой использовали (на основе вычисления свободной энергии образования комплекса) метод ММ/GBSA [21]. Изначально для биомолекул использовали метод ММ/PBSA, предполагающий решение уравнения Пуассона–Больцмана [21], но в дальнейшем нашел широкое применение метод ММ/GBSA с использованием обобщенного уравнения Борна, что позволило на порядок увеличить скорость расчетов, что особенно важно в случае биомолекул [22, 23]. Суть метода заключается в том, чтобы сравнить свободную энергию сольватированной молекулы в двух разных состояниях (связанном и свободном). Известны различные модификации этого метода [24, 25]. В настоящей работе применили модификацию метода ММ/GBSA, описанную в [26, 27].

Примененный модуль gmx_MMPBSA [28] версии 1.4.0, который используют для адаптации скрипта MMPBSA.py [29] и пакета AmberTools20 [30] к формату GROMACS, предоставляет возможность использовать метод ММ/GBSA с обобщенной моделью Борна [26] при обработке результатов моделирования молекулярной динамики, проведенного с помощью программы GROMACS 2020.3 [15]. Вычисление свободной энергии для каждой траектории проводили на 1000 фреймах.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате молекулярного докинга было получено 10 моделей комплекса липоксигеназы с арахидоновой кислотой. Их кластеризация с использованием алгоритма FCC [31] показала, что все модели принадлежат одному кластеру, что говорит об их пространственной схожести. Критерием качества модели служит оценочная функция, которая представляет собой взвешенную сумму функций, учитывающих энергии различной природы, включая энергии Ван-дер-Ваальса, электростатического взаимодействия, десольватацию и энергию нарушения ограничений, задаваемых при докинге [9, 10]. По значению этой функции была выбрана наилучшая модель (рис. 1) для дальнейшего молекулярно-динамического исследования. Видно, что молекула липоксигеназы состоит из двух доменов: малый β -домен (аминокислотные остатки 1–120) и большой α -спиральный домен (аминокислотные остатки 121–676).

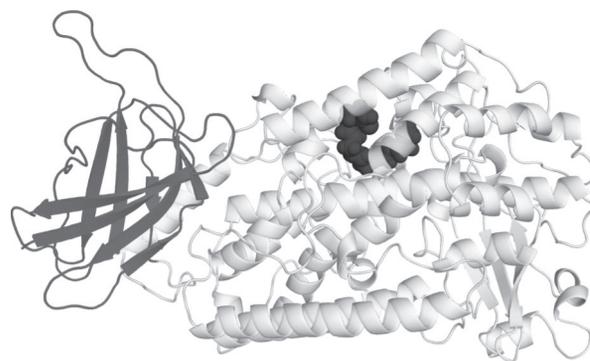


Рис. 1. Модель молекулы липоксигеназы LOX 15: темно-серым выделен малый β -домен (аминокислотные остатки 1–120); светло-серым – большой α -спиральный домен (аминокислотные остатки 121–676). Черным – молекула арахидоновой кислоты.

Активный центр фермента расположен в “кармане” α -спирального домена [32].

Анализ траектории проводили при длительности симуляции 20 нс. При выполнении периодических граничных условий во время расчетов некоторые части белковых молекул оказывались в соседних ячейках, что приводило к усложнению вычислений, это потребовало повторной центрировки молекул и возвращения в ячейку моделирования. Для улучшения точности полученных данных расчеты проводили три раза, после чего результат был усреднен. Затем был проведен первоначальный анализ траекторий, включая расчет среднеквадратичного отклонения, радиуса инерции и среднеквадратичных колебаний. Соответствующие графики показаны на рис. 2. Из рис. 2а видно, что среднеквадратичное отклонение быстро стабилизируется на уровне 0.2 нм. При таком размере системы быстрый выход значения на плато и низкий уровень флуктуации значения этой величины свидетельствует о высокой стабильности системы в процессе моделирования. На рис. 2б показано, что радиус инерции для моделируемого комплекса находится в диапазоне от 2.79 до 2.84 нм, другими словами, практически не меняется в процессе симуляции. Это указывает на то, что компактность системы существенно не изменяется во время моделирования. Было отмечено, что наибольшие значения среднеквадратичных колебаний атомов C- α моделируемых комплексов соответствуют малому домену фермента, что можно объяснить наличием относительно длинных, порядка 20–30 аминокислотных остатков, подвижных петель в малом домене. На рис. 2в также видно наличие подвижных участков и в большом домене. Следует отметить, что липоксигеназа является мембранно-ассоциированным белком. Кроме того, как следует из базы данных ОРМ [33], фрагменты молекулы, предположительно, взаимодействующие с мембра-

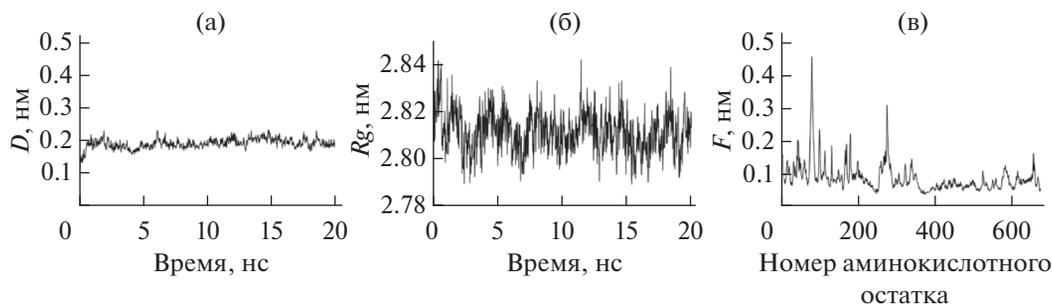


Рис. 2. Графики временных зависимостей среднеквадратичного отклонения D (а) и радиуса инерции R_g (б); среднеквадратичной величины колебаний F атомов C- α в зависимости от номера аминокислотного остатка (в).

ной, встречаются как в малом, так и в большом домене [34]. Учитывая, что вычисление молекулярной динамики проводили в водном растворе, такое поведение мембранно-ассоциированных участков поверхности фермента объяснимо. Как бы то ни было, участок активного центра фермента является достаточно стабильным для проведения расчетов методом ММ/GBSA. Для улучшения статистики расчет свободной энергии проводили три раза. Полученные значения изменения свободной энергии приведены в табл. 1.

Известно, что связывание субстратов с ферментами обычно сопровождается большим изменением свободной энергии [35–37]. Напротив, значения энергии связывания около 5–6 ккал/моль соответствуют непродуктивному связыванию субстрата. В качестве примера можно привести белковые кристаллы. Известно, что они образуются в специфических условиях и крайне нестабильны, что соответствует тому факту, что изменение свободной энергии при формировании связей в кристалле мало [38]. С другой стороны, известно, что человеческая липоксигеназа в природных условиях работает в комплексе с белком-партнером и липидным бислоем, а также характеризуется наличием малого β -домена [34], что отличает ее от растительных и бактериальных липоксигеназ [39, 40]. Вероятно, эти особенности объясняют слабую каталитическую активность свободной человеческой липоксигеназы.

Таблица 1. Изменения свободной энергии при образовании комплекса арахидоновой кислоты

Номер эксперимента	Расчетное значение изменения свободной энергии, ккал/моль
1	-5 ± 2
2	-5 ± 2
3	-5.4 ± 1.9
Среднее значение	-5 ± 2

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе установлено, что изменение свободной энергии при связывании человеческой липоксигеназой арахидоновой кислоты говорит о непродуктивном связывании. Полученные данные объясняют тот факт, что свободная арахидоновая кислота является очень слабым субстратом для каталитического окисления в присутствии человеческой липоксигеназы и позволяют прояснить связанный с этим аспект механизма реакций липидной перекисидации, вовлеченных в ферроптоз.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке РФФ № 19-14-00244 в части моделирования МД и при поддержке Министерства науки и высшего образования в рамках выполнения работ по Государственному заданию ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН в части анализа результатов молекулярного моделирования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yang W.S., Stockwell B.R. // Chem. Biol. 2008. V. 15. № 3. P. 234. <https://www.doi.org/10.1016/j.chembiol.2008.02.010>
2. Dixon S.J., Lemberg K.M., Lamprecht M.R., Skouta R., Zaitsev E.M., Gleason C.E., Patel D.N., Bauer A.J., Cantley A.M., Yang W.S., Morrison B., Stockwell B.R. // Cell. 2012. V. 149. № 5. P. 1060. <https://www.doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.042>
3. Dixon S.J., Stockwell B.R. // Nat. Chem. Biol. 2014. V. 10. № 1. P. 9. <https://www.doi.org/10.1038/nchembio.1416>
4. Wu D., Chen L. // Acta Biochim. Biophys. Sin. 2015. V. 47. № 10. P. 857. <https://www.doi.org/10.1093/abbs/gmv086>
5. Xie Y., Hou W., Song X., Yu Y., Huang J., Sun X., Kang R., Tang D. // Cell Death Differ. 2016. V. 23. № 3. P. 369. <https://www.doi.org/10.1038/cdd.2015.158>

6. *Seibt T.M., Proneth B., Conrad M.* // Free Radical Biol. Med. 2019. V. 133. P. 144.
<https://www.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.014>
7. *Stoyanovsky D.A., Tyurina Y.Y., Shrivastava I., Bahar I., Tyurin V.A., Protchenko O., Jadhav S., Bolevich S.B., Kozlov A.V., Vladimirov Y.A., Shvedova A.A., Philpott C.C., Bayir H., Kagan V.E.* // Free Radical Biol. Med. 2019. V. 133. P. 153.
<https://www.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.008>
8. *Latunde-Dada G.O.* // Biochim. Biophys. Acta. Gen. Subj. 2017. V. 1861. № 8. P. 1893.
<https://www.doi.org/10.1016/j.bbagen.2017.05.019>
9. *Dominguez C., Boelens R., Bonvin A.M.J.J.* // J. Am. Chem. Soc. 2003. V. 125. № 7. P. 1731.
<https://www.doi.org/10.1021/ja026939x>
10. *De Vries S.J., van Dijk A.D.J., Krzeminski M., van Dijk M., Thureau A., Hsu V., Wassenaar T., Bonvin A.M.J.J.* // Proteins: Struct. Funct. Bioinf. 2007. V. 69. № 4. P. 726.
<https://www.doi.org/10.1002/prot.21723>
11. *Schüttelkopf A.W., van Aalten D.M.F.* // Acta Crystallogr. D: Biol. Crystallogr. 2004. V. 60. № 8. P. 1355.
<https://www.doi.org/10.1107/S0907444904011679>
12. *Kobe M.J., Neau D.B., Mitchell C.E., Bartlett S.G., Newcomer M.E.* // J. Biol. Chem. 2014. V. 289. № 12. P. 8562.
<https://www.doi.org/10.1074/jbc.M113.543777>
13. *Jorgensen W.L., Chandrasekhar J., Madura J.D., Impney R.W., Klein M.L.* // J. Chem. Phys. 1983. V. 79. № 2. P. 926.
<https://www.doi.org/10.1063/1.445869>
14. *Salomon-Ferrer R., Case D.A., Walker R.C.* // Wiley Interdiscip. Rev.: Comput. Mol. Sci. 2013. V. 3. № 2. P. 198.
<https://www.doi.org/10.1002/wcms.1121>
15. *Abraham M.J., Murtola T., Schulz R., Páll S., Smith J.C., Hess B., Lindahl E.* // SoftwareX. 2015. V. 1–2. P. 19.
<https://www.doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001>
16. *Maier J.A., Martinez C., Kasavajhala K., Wickstrom L., Hauser K.E., Simmerling C.* // J. Chem. Theory Comput. 2015. V. 11. № 8. P. 3696.
<https://www.doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00255>
17. *Berendsen H.J.C., Postma J.V., van Gunsteren W.F., DiNola A.R.H.J., Haak J.R.* // J. Chem. Phys. 1984. V. 81. № 8. P. 3684. <https://www.doi.org/10.1063/1.448118>
18. *Parrinello M., Rahman A.* // J. Chem. Phys. 1982. V. 76. № 5. P. 2662. <https://www.doi.org/10.1063/1.443248>
19. *Hess B., Bekker H., Berendsen H.J.C., Fraaije J.G.E.M.* // J. Comput. Chem. 1997. V. 18. № 12. P. 1463. [https://www.doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(199709\)18:12<1463::AID-JCC4>3.0.CO;2-H](https://www.doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(199709)18:12<1463::AID-JCC4>3.0.CO;2-H)
20. *Darden T., York D., Pedersen L.* // J. Chem. Phys. 1993. V. 98. № 12. P. 10089.
<https://www.doi.org/10.1063/1.464397>
21. *Kollman P.A., Massova I., Reyes C., Kuhn B., Huo S., Chong L., Lee M., Lee T., Duan Y., Wang W., Donini O., Cieplak P., Srinivasan J., Case D.A., Cheatham T.E.* // Acc. Chem. Res. 2000. V. 33. № 12. P. 889.
<https://www.doi.org/10.1021/ar000033j>
22. *Dominy B.N., Brooks C.L.* // J. Phys. Chem. B. 1999. V. 103. № 18. P. 3765.
<https://www.doi.org/10.1021/jp984440c>
23. *Srinivasan J., Trevathan M.W., Beroza P., Case D.A.* // Theor. Chem. Acc. 1999. V. 101. № 6. P. 426.
<https://www.doi.org/10.1007/s002140050460>
24. *Foloppe N., Hubbard R.* // Curr. Med. Chem. 2006. V. 13. № 29. P. 3583.
<https://www.doi.org/10.2174/092986706779026165>
25. *Wang J., Hou T., Xu X.* // Curr. Comput.-Aided Drug Des. 2006. V. 2. № 3. P. 287.
<https://www.doi.org/10.2174/157340906778226454>
26. *Onufriev A., Bashford D., Case D.A.* // Proteins: Struct. Funct. Bioinf. 2004. V. 55. № 2. P. 383.
<https://www.doi.org/10.1002/prot.20033>
27. *Onufriev A., Bashford D., Case D.A.* // J. Phys. Chem. B. 2000. V. 104. № 15. P. 3712.
<https://www.doi.org/10.1021/jp994072s>
28. *Valdés-Tresanco M.S., Valdés-Tresanco M.E., Valiente P.A., Moreno E.* // J. Chem. Theory Comput. 2021. V. 17. № 10. P. 6281.
<https://doi.org/10.5281/zenodo.4569307>
29. *Müller III B.R., McGee Jr. T.D., Swails J.M., Homeyer N., Gohlke H., Roitberg A.E.* // J. Chem. Theory Comput. 2012. V. 8. № 9. P. 3314.
<https://www.doi.org/10.1021/ct300418h>
30. *Case D.A., Belfon K., Ben-Shalom I.Y., Brozell S.R., Cerutti D.S., Cheatham III T.E., Cruzeiro V.W.D., Darden T.A., Duke R.E., Giambasu G., Gilson M.K., Gohlke H., Goetz A.W., Harris R., Izadi S., Izmailov S.A., Kasavajhala K., Kovalenko A., Krasny R., Kurtzman T., Lee T.S., LeGrand S., Li P., Lin C., Liu J., Luchko T., Luo R., Man V., Merz K.M., Miao Y., Mikhailovskii O., Monard G., Nguyen H., Onufriev A., Pan F., Pantano S., Qi R., Roe D.R., Roitberg A., Sagui C., Schott-Verdugo S., Shen J., Simmerling C.L., Skrynnikov N.R., Smith J., Swails J., Walker R.C., Wang J., Wilson L., Wolf R.M., Wu X., Xiong Y., Xue Y., York D.M., Kollman P.A.* Amber 2020. San Francisco: University of California, 2020. 918 p.
31. *Rodrigues J.P.G.M., Trellet M., Schmitz C., Kastrius P., Karaca E., Melquiond A.S.J., Bonvin A.M.J.J.* // Proteins: Struct. Funct. Bioinf. 2012. V. 80. № 7. P. 1810.
<https://www.doi.org/10.1002/prot.24078>
32. *Kobe M.J., Neau D.B., Mitchell C.E., Bartlett S.G., Newcomer M.E.* // J. Biol. Chem. 2014. V. 289. № 12. P. 8562.
<https://www.doi.org/10.1074/jbc.M113.543777>
33. Orientation of Proteins in Membranes. University of Michigan, 2005.
<https://opm.phar.umich.edu/proteins/2345>
34. *Lomize M.A., Pogozheva I.D., Joo H., Mosberg H.I., Lomize A.L.* // Nucleic Acids Res. 2012. V. 40. № D1. P. D370.
<https://www.doi.org/10.1093/nar/gkr703>
35. *Fatriansyah J.F., Rizqillah R.K., Yandi M.Y., Fadilah, Sahlan M.* // J. King Saud Univ. Sci. 2022. V. 34. № 1. P. 101707.
<https://www.doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101707>

36. *Azam F., Eid E.E.M., Almutairi A.* // J. Mol. Struct. 2021. V. 1246. P. 131124.
<https://www.doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131124>
37. *Rants'o T.A., van der Westhuizen C.J., van Zyl R.L.* // J. Mol. Graphics Modell. 2022. V. 110. P. 108054.
<https://www.doi.org/10.1016/j.jmgm.2021.108054>
38. *Kordonskaya Y.V., Timofeev V.I., Dyakova Y.A., Marchenkova M.A., Pisarevsky Y.V., Kovalchuk, M.V.* // Crystals. 2021. V. 11. № 9. P. 1121.
<https://www.doi.org/10.3390/cryst11091121>
39. *Peng Y. L., Shirano Y., Ohta H., Hibino T., Tanaka K., Shibata D.* // J. Biol. Chem. 1994. V. 269. № 5. P. 3755.
[https://www.doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)41924-7](https://www.doi.org/10.1016/S0021-9258(17)41924-7)
40. *Jiang Y., Wang S., He F., Fan Q., Ma Y., Yan W., Tang Y., Yang R., Zhao W.* // Int. J. Food Sci. Technol. 2018. V. 53. № 12. P. 2738.
<https://www.doi.org/10.1111/ijfs.13885>

Modeling the Interaction of Human Lipoxygenase Lox 15 with Free Arachidonic Acid

P. D. Korotkova^{1, *}, A. A. Yurchenko², V. I. Timofeev^{3, 4, **}, A. B. Shumm^{1, 5}, Y. A. Vladimirov^{1, 2, 3}

¹Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

²Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997 Russia

³Shubnikov Institute of Crystallography of FSRC "Crystallography and Photonics" of Russian Academy of Sciences, Moscow, 119333 Russia

⁴National Research Center "Kurchatov Institute", Moscow, 123182 Russia

⁵P.N. Lebedev Physical Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

*e-mail: korotkovapol@gmail.com

**e-mail: tostars@mail.ru

Human lipoxygenase is associated with the process of ferroptosis, which is the one of the pathways of programmed cell death. It makes the study of the mechanism of functioning of this enzyme extremely important, since the process of ferroptosis is associated with a number of diseases, primarily malignant neoplasms. However, the experimental study of this enzyme is difficult, since human lipoxygenase is a membrane-associated protein. In this work, lipoxygenase were studied using methods based on molecular modeling. A model of the complex of human lipoxygenase with arachidonic acid was obtained by molecular docking. The dynamics of the complex was modeled using molecular mechanics method. The values of root-mean-square deviations of C- α atoms, as well as the values of root-mean-square fluctuations of C- α atoms, were obtained, which made it possible to conclude that the simulated complex is stable. The mobile parts of the molecule are described separately. The MM/GBSA method, based on a combination of molecular mechanics and the solution of the generalized Born equation, was used to calculate the change in free energy during the interaction of human lipoxygenase with arachidonic acid. It was shown that the value of the change in free energy corresponds to the nonspecific binding of the ligand, which explains the relatively weak catalytic activity of human lipoxygenase with respect to free arachidonic acid.

Keywords: molecular dynamics, lipoxygenase, arachidonic acid, ferroptosis, substrate specificity.