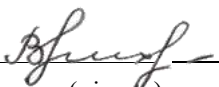


Міністерство освіти і науки України
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Навчально-науковий інститут «Фізико-технічний факультет»

Кафедра Медичної фізики та біомедичних нанотехнологій

До захисту допущено кафедрою Медичної фізики та біомедичних нанотехнологій
протокол № 13 від 15.06.2026

завідувач кафедри  Валерія ТРУСОВА
(підпис) (ім'я, прізвище)

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

здобувача першого (бакалаврського) рівня вищої освіти
(першого (бакалаврського) / другого (магістерського))

Комп'ютерне моделювання взаємодії важких металів з 7S-глобуліном сої

(тема роботи)

Спеціальність (спеціалізація) 105 «Прикладна фізика та наноматеріали»

(код та найменування спеціальності; спеціалізації спеціальності)

Освітня програма Біомедичні нанотехнології

(назва освітньої програми)

Здобувач  Дар'я ЛУГОВА
(підпис) (ім'я, прізвище)

Науковий керівник  Ольга ЖИТНЯКІВСЬКА
(підпис) (ім'я, прізвище)

Харків – 2026

АНОТАЦІЯ

Лугова Д.М. – Комп'ютерне моделювання взаємодії важких металів з 7S-глобуліном сої. – Рукопис.

Дипломна робота бакалавра за спеціальністю 105 «Прикладна фізика та наноматеріали» – Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна, Харків, 2026.

34 с., 8 рис., 1 табл., 39 джерел.

Забруднення довкілля важкими металами становить серйозну екологічну проблему через їхню токсичність і здатність взаємодіяти з біомолекулами. Дослідження зв'язування металів із білками є важливим для розуміння механізмів їхньої дії та розробки біоматеріалів на їхній основі для сорбції забруднювачів.

Кваліфікаційна робота присвячена дослідженню взаємодії іонів Cd^{2+} та Co^{3+} з β -конгліцініном методом молекулярної динаміки. За допомогою програмного пакета GROMACS, силового поля CHARMM General Force Field та 200-нс симуляцій проаналізовано структурні параметри білка (середньоквадратичне відхилення остову білка (RMSD), радіус інерції (Rg), площа поверхні, доступна для розчинника (SASA), та середньоквадратичні флуктуації (RMSF)).

Результати показали, що за низьких концентрацій металів структура β -конгліцініну залишається стабільною, тоді як їх підвищення спричиняє конформаційні зміни та часткову дестабілізацію вторинної структури, особливо β -ланцюгів. Отримані дані поглиблюють розуміння молекулярних механізмів взаємодії білків із важкими металами та можуть бути використані під час розробки білкових наноматеріалів для детекції й сорбції токсичних забруднювачів.

Ключові слова: β -конгліцінін, важкі метали, молекулярна динаміка, GROMACS.

ABSTRACT

Luhova D.M. – Computational Study of Heavy Metal Interactions with 7S Soybean Globulin.

Bachelor's Thesis in Speciality 105 "Applied Physics and Nanomaterials" – V.N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, 2026.

34 pages, 8 figures, 1 tables, 39 references.

Environmental contamination by heavy metals is a serious ecological problem due to their toxicity and ability to interact with biomolecules. The study of metal–protein interactions is essential for understanding their mechanisms of action and for the development of protein-based materials for pollutant adsorption.

This bachelor's thesis is devoted to the investigation of the interactions between Cd^{2+} and Co^{3+} ions and β -conglycinin using molecular dynamics simulations. Structural properties of the protein were analysed using the GROMACS software package, the CHARMM General Force Field, and 200-ns simulations, including root mean square deviation (RMSD), radius of gyration (Rg), solvent-accessible surface area (SASA), and root mean square fluctuation (RMSF).

The results indicated that at low metal ion concentrations, the structure of β -conglycinin remains stable, whereas increasing concentrations induce conformational changes and partial destabilisation of the secondary structure, particularly β -strands. The data obtained improve understanding of the molecular mechanisms underlying protein–heavy metal interactions and may be applied to the development of protein-based nanomaterials for the detection and adsorption of toxic metal pollutants.

Keywords: β -conglycinin, heavy metals, molecular dynamics, GROMACS.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	6
ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1. ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ ДОСЛІДЖЕННЯ	
1.1.Забруднення довкілля важкими металами та їхні токсикологічні ефекти на людину	9
1.2.Наносистеми для ідентифікації та очищення від іонів важких металів.	12
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	
2.1. Програмне забезпечення та бази даних	17
2.2. Отримання та підготовка структури білка	17
2.3. Молекулярна динаміка (МД-симуляція)	18
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ	
3.1. Аналіз RMSD — стабільність структури	19
3.2. Аналіз RMSF — гнучкість амінокислотних залишків	22
3.3.Аналіз радіусу інерції та площі поверхні, доступної для розчинника (SASA)	25
3.4. Аналіз вторинної структури	28
ВИСНОВКИ	30
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	32

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

Скорочення	Повна назва
7S-глобулін	β -конгліцинін – основна запасна фракція білка сої (150–180 кДа)
CHARMM	Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics – силове поле для МД
GROMACS	Groningen Machine for Chemical Simulations – програма МД-симуляцій
ГДК	Гранично допустима концентрація
МД	Молекулярна динаміка
PDB	Protein Data Bank – міжнародна база даних структур білків
Rg	Radius of Gyration – радіус інерції (гірації) білка
RMSD	Root Mean Square Deviation – середньоквадратичне відхилення
RMSF	Root Mean Square Fluctuation – середньоквадратична флуктуація
SASA	Solvent-Accessible Surface Area – площа поверхні, доступна для розчинника

ВСТУП

Проблема забруднення довкілля важкими металами набуває дедалі більшої гостроти у XXI столітті внаслідок стрімкого розвитку промисловості та інтенсифікації сільськогосподарського виробництва [1]. Важкі метали — свинець (Pb), кадмій (Cd), мідь (Cu), цинк (Zn), ртуть (Hg) — широко розповсюджені у навколишньому середовищі та здатні акумулюватися в організмах рослин, тварин і людини [2]. Особливістю важких металів є їхня здатність до тривалого збереження в навколишньому середовищі та накопичення у харчових ланцюгах. На молекулярному рівні вони взаємодіють із білками, нуклеїновими кислотами та мембранними структурами, спричиняючи порушення їхньої функції [3]. Наприклад, іони кадмію можуть заміщувати життєво важливі метали в активних центрах ферментів, тоді як іони ртуті утворюють міцні зв'язки з тіоловими групами білків, що призводить до їх денатурації [4]. Таким чином, дослідження механізмів взаємодії металів із біомолекулами є ключовим для розуміння токсикологічних процесів та розробки методів їх нейтралізації.

Водночас білкові наноматеріали все частіше розглядаються як ефективні наноструктуровані платформи для вилучення важких металів завдяки наявності різноманітних функціональних груп амінокислот та здатності білків до самоорганізації у складні супрамолекулярні архітектури, зокрема фібрили, гелі та сферичні агрегати [4]. Останні дослідження адсорбентів на основі білків і пептидів свідчать про їхню високу ефективність у зв'язуванні іонів металів [5]. У цьому аспекті, численні дослідження свідчать про перспективність соєвих білків для створення наносистем для детекції та сорбції іонів металів завдяки багатому набору функціональних груп амінокислот, здатних до ефективної координації іонів металів [6,7]. Зокрема, Юу та співавтори [9] запропонували каркас на основі соєвих білкових волокон (SPF) для регулювання осадження літію та підвищення стабільності літєвих металевих акумуляторів. Зокрема, вони продемонстрували, що під час

циклювання такої батареї білок сприяє формуванню інтерфейсу, збагаченого нанокристалами фториду літію (LiF), що знижує міжфазний опір і покращує кінетику перенесення заряду [6,7] .

У сфері вилучення важких металів гідрогелі на основі соєвого білка та поліетиленіміну демонструють високу ефективність адсорбції іонів Cu(II) навіть у присутності конкуруючих іонів Zn(II), Cd(II) та Pb(II) [8]. Подібно, мікропористі структури соєвого білка показали надзвичайно високу здатність до зв'язування Pb(II) [9]. Ямада та співавтори [10] дослідили неорганічний композит на основі соєвого білка та 3-гліцидоксипропілтриметоксисилану для вилучення іонів важких металів із стічних вод, виявивши селективність матеріалу до двовалентних легких металів, що було підтверджено порівняльним аналізом швидкостей накопичення різних іонів.

Попри значну кількість робіт, що підтверджують перспективність соєвих білків як основи для створення нанокомпозитів для вилучення та акумулювання важких металів, механізми, які визначають селективність таких наносистем, залишаються недостатньо з'ясованими. Зокрема, бракує детальних уявлень про специфічні сайти зв'язування та характер міжмолекулярних взаємодій між іонами металів і білками. Детальне розуміння молекулярних механізмів взаємодії металів із соєвими білками є необхідною передумовою для раціонального проєктування наносистем для сорбції та детектування іонів важких металів.

Метою даної роботи є з'ясування молекулярних механізмів зв'язування іонів важких металів (Cd^{2+} та Co^{3+}) з β -конгліциніном сої та дослідження структурно-динамічних ефектів цього зв'язування методом молекулярної динаміки. Для виконання роботи було сформульовано та вирішено наступні завдання:

- 1) Оптимізувати кристалічну структуру β -конгліциніну (PDB ID: 1UIK) доступну в Protein Data Bank та провести молекулярно-динамічне

моделювання комплексів Cd^{2+} та Co^{3+} з β -конгліциніном у програмному пакеті GROMACS із застосуванням силового поля CHARMM36m

- 2) Оцінити вплив різних концентрацій металу на стабільність β -конгліциніну .
- 3) Виконати аналіз ключових структурно-динамічних параметрів, зокрема середньоквадратичного відхилення (RMSD), радіуса інерції (R_g), середньоквадратичних флуктуацій (RMSF), площі поверхні, доступної для розчинника (SASA), а також змін у вторинній структурі білка.

III використовувався для перевірки орфографії.

РОЗДІЛ 1. ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ ДОСЛІДЖЕННЯ

1.1. Забруднення довкілля важкими металами та їхні токсикологічні ефекти на людину

Забруднення навколишнього середовища важкими металами є однією з найгостріших екологічних проблем сучасності, що має глобальний характер і безпосередньо пов'язане зі значним розвитком промислового виробництва, урбанізацією та сільськогосподарською діяльністю [11, 12]. До найбільш небезпечних токсичних елементів належать свинець (Pb), кадмій (Cd), ртуть (Hg), мідь (Cu), цинк (Zn), кобальт (Co), а також інші перехідні метали, які в певних концентраціях проявляють високу біологічну активність і токсичність [13]. На відміну від багатьох органічних забруднювачів, основна проблема з важкими металами полягає в тому, що вони не піддаються біодеградації. Це зумовлює їхню тривалу акумуляцію у ґрунтах, водних системах і біоті. Вони здатні накопичуватися в харчових ланцюгах, що призводить до їхнього біомагніфікування та підвищення концентрацій на всіх рівнях, включаючи людину [14].

Основними джерелами (Рис 1.1) надходження важких металів у довкілля є металургійна промисловість [15]. Значний внесок також робить вимивання металів із різних джерел, таких як полігони твердих відходів, сміттєзвалища, продукти життєдіяльності людей і тварин, зокрема гній великої рогатої худоби та птиці, поверхневий стік, транспортні засоби та дорожнє будівництво. Використання важких металів у сільському господарстві є вторинним джерелом їхнього забруднення, зокрема через застосування пестицидів, інсектицидів, мінеральних добрив та інших агрохімікатів [15].

Потрапляння важких металів в організм людини відбувається через інгаляційний, пероральний та шкірний шляхи [16]. Найбільший вплив має пероральне надходження через забруднену воду та продукти харчування. Після абсорбції метали здатні розподілятися в різних тканинах,

накопичуючись переважно в печінці, нирках, кістковій тканині та центральній нервовій системі [16].



Рис.1.1 Забруднення довкілля та його вплив на людину

Токсична дія важких металів зумовлена їхньою здатністю взаємодіяти з біомолекулами, зокрема білками, нуклеїновими кислотами та фосфоліпідами мембран [17]. Вони можуть зв'язуватися з функціональними групами амінокислот ($-\text{SH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$), що призводить до порушення просторової структури білків і втрати їхньої біологічної активності [17]. Крім того, деякі метали здатні заміщувати життєво важливі елементи в активних центрах ферментів, інгібуючи ключові метаболічні процеси [18]. Особливу небезпеку становить кадмій, який має високу спорідненість до тіолових груп білків і може витіснити цинк із металозалежних ферментів [18]. Це призводить до порушення антиоксидантного захисту та розвитку окислювального стресу [19]. Свинець, у свою чергу, негативно впливає на нервову систему,

порушуючи передачу нервових імпульсів і когнітивні функції [20]. Ртуть характеризується високою здатністю до ковалентного зв'язування з сульфгідрильними групами білків, що спричиняє їхню денатурацію та клітинну дисфункцію [21]. Мідь і кобальт, хоча й є життєво важливими мікроелементами, у підвищених концентраціях проявляють токсичні властивості. Вони беруть участь у реакціях Фентона та подібних процесах, сприяючи утворенню активних форм кисню (ROS), що призводить до ушкодження ліпідів, білків і ДНК [21]. Окислювальний стрес є одним із ключових механізмів токсичної дії важких металів. Надлишок реактивних форм кисню порушує редокс-гомеостаз клітини, активує процеси апоптозу та некрозу, а також сприяє розвитку хронічних захворювань, зокрема нейродегенеративних розладів, серцево-судинних патологій та онкогенезу [15]. Окрім прямої токсичної дії, важкі метали мають здатність кумулювати в організмі, що зумовлює їхній хронічний вплив навіть за низьких рівнів експозиції. Біологічний період напіввиведення деяких металів може становити роки або десятиліття, що значно ускладнює їхню елімінацію [15]. Важливо зазначити, що токсичність металів залежить від їхньої хімічної форми, валентного стану, розчинності та біодоступності. Наприклад, органічні форми ртуті (метилртуть) є значно токсичнішими порівняно з неорганічними сполуками [16]. Сучасні дослідження також показують, що комбінована дія декількох металів може призводити до синергетичних ефектів, підсилюючи загальну токсичність системи. Це особливо актуально для реальних екологічних умов, де організми піддаються впливу сумішей забруднювачів [16]. Таким чином, проблема забруднення довкілля важкими металами є комплексною і багатогранною, що вимагає як розробки ефективних методів моніторингу, так і створення нових технологій очищення. Особливу увагу привертають біосорбційні матеріали на основі білків, які здатні селективно зв'язувати іони металів і можуть бути використані для зменшення їхньої токсичної дії в навколишньому середовищі.

1.2. Наносистеми для ідентифікації та очищення від іонів важких металів.

Наноматеріали є перспективним класом матеріалів із широким спектром застосувань та дають змогу створити нові матеріали з унікальними властивостями, які суттєво відрізняються від властивостей об'ємних (bulk) матеріалів. Численні дослідження показали, що наноматеріали характеризуються великою питомою площею поверхні, високою поверхневою енергією, малими розмірами, підвищеною атомною активністю та реакційною здатністю. Велике співвідношення площі поверхні до об'єму сприяє підвищеній розчинності та реакційній здатності таких матеріалів. Протягом багатьох років матеріалознавці використовували різноманітні наноматеріали як чутливі сенсори для виявлення важких металів у воді [22]. Завдяки унікальним фотохімічним і фотофізичним властивостям, квантові точки (QDs), як нульвимірні наноструктури, привертають значну увагу дослідників. Відповідно до гіпотези корпускулярно-хвильового дуалізму в квантовій механіці, квантові точки є нанорозмірними кристалічними матеріалами, властивості яких знаходяться між властивостями об'ємних матеріалів та окремих атомів [23]. За даними Chen та співавт. [23], було розроблено простий та екологічно безпечний метод отримання вододисперсних N-допованих кремнієвих квантових точок (SiQDs) із використанням пшеничної соломи та іонної рідини AMIMCl. Через високу токсичність силанвмісних прекурсорів, які використовуються для синтезу вододисперсних кремнієвих квантових точок (SiQDs), існує ризик для дослідників і довкілля. Завдяки високій стабільності фотолюмінесценції, добрій біосумісності та низькій токсичності кремнієві квантові точки (SiQDs) широко досліджуються для застосувань у біовізуалізації та біосенсориці [24].

Через унікальні оптичні, електричні, хімічні, механічні та термічні властивості вуглецеві наноматеріали є одним із найперспективніших класів матеріалів для очищення стічних вод. До них належать вуглецеві нанотрубки,

фулерени, графен, оксид графену та активоване вугілля, які демонструють високу ефективність адсорбції широкого спектра забруднювачів, зокрема іонів важких металів [25–29]. Зокрема, вуглецеві нанотрубки (CNTs) проявляють значний потенціал у видаленні іонів Pb^{2+} , Cd^{2+} , $\text{Cr}^{3+}/\text{Cr}^{6+}$, Cu^{2+} та Ni^{2+} зі стічних вод. При цьому одностінні вуглецеві нанотрубки зазвичай характеризуються вищою адсорбційною ємністю порівняно з багатостінними, що пояснюється більшою доступністю активної поверхні [25–29]. Дослідження показують, що функціоналізація поверхні CNTs суттєво підвищує їхню ефективність вилучення важких металів [25, 26]. Так, Taghavi та співавт. отримали багатостінні вуглецеві нанотрубки, модифіковані L-цистеїном, які забезпечили близько 89% ефективності видалення іонів кадмію з водних розчинів [25]. Аналогічно, Anitha та співавт. встановили, що карбоксильовані ($-\text{COOH}$) вуглецеві нанотрубки демонструють значно вищу адсорбційну здатність щодо Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} та Hg^{2+} порівняно з немодифікованими одностінними нанотрубками [26].

Механізм сорбції іонів металів на поверхні CNTs є багатофакторним і включає електростатичну взаємодію, поверхневу сорбцію з утворенням комплексів, а також хімічну взаємодію між іонами металів і функціональними групами на поверхні наноматеріалу [25–29]. Однак висока питома площа поверхні вуглецевих наноматеріалів зумовлює сильні міжчастинкові притягальні взаємодії, що призводить до їх агрегації та зниження розчинності у водних середовищах, обмежуючи тим самим їх практичне застосування [29]. Подолати ці недоліки можна шляхом ковалентної функціоналізації поверхні різноманітними полярними функціональними групами та фрагментами [28] або шляхом формування гібридних систем із полімерними матрицями [27]. У цьому контексті білкові біополімери розглядаються як перспективні кандидати для кон'югації з вуглецевими наноматеріалами з метою підвищення їх дисперсності у водних середовищах та покращення функціональних властивостей матеріалів [30,31].

Водночас білкові наноматеріали розглядаються як перспективні наноструктуровані платформи для вилучення іонів важких металів завдяки різноманіттю функціональних груп амінокислот та здатності до самоорганізації у регульовані супрамолекулярні структури, включаючи фібрили, гелі та сферичні конденсати. Сучасні дослідження білкових та пептидних адсорбентів демонструють високу ефективність зв'язування іонів металів. Зокрема, соєві білкові гідрогелі ефективно вилучають Cu(II) навіть за наявності конкуруючих іонів [32], тоді як гібридні мембрани на основі BSA та оксиду графену забезпечують до 90,4% видалення Hg(II) [33].

Еластиноподібні поліпептиди з гістидиновими кластерами проявляють високу спорідненість до Cd(II) [34]. Особливо ефективними є гібридні системи, що поєднують активоване вугілля з амілоїдними фібрилами білків (β -лактоглобулін, соєвий білок), які демонструють понад 99% ефективності видалення широкого спектра металів, включаючи Au, Hg, Pb, Pd, As, Cr та Ni, як у модельних, так і в реальних водних системах [35].

Протягом останніх десятиліть соєві білки привертають значну увагу не лише завдяки своїй харчовій цінності, але й як перспективна сировина для створення білково-орієнтованих наноматеріалів для промислових та біомедичних застосувань. Зокрема, соєві білки успішно використовуються у розробці біорозкладних нанокompозитних плівок для пакування харчових продуктів [36], термопровідних композитних матеріалів [37] та білкових покриттів [38].

Останні дослідження свідчать, що соєві білки є особливо перспективними для створення наносистем детекції та сорбції іонів металів завдяки наявності різноманітних функціональних груп амінокислот, здатних до ефективної координації металевих іонів [9-11]. Зокрема, Ju та співавт. [9] запропонували каркас на основі соєвих білкових волокон (SPF) для регулювання осадження літію та підвищення стабільності літєвих металевих акумуляторів. Було показано, що під час циклювання батареї SPF сприяє формуванню інтерфейсу,

збагаченого нанокристаллами фториду літію (LiF), що зменшує міжфазний опір і покращує кінетику перенесення заряду.

У сфері видалення важких металів гідрогелі на основі соєвого білка та поліетиленіміну демонструють високу ефективність адсорбції іонів Cu(II) навіть у присутності конкуруючих іонів Zn(II), Cd(II) та Pb(II) [10]. Подібно, мікропористі структури соєвого білка показали надзвичайно високу здатність до зв'язування Pb(II) [15]. Ямада та співавт. [10] дослідили неорганічний композит на основі соєвого білка та 3-гліцидоксипропілтриметоксисилану для вилучення іонів важких металів зі стічних вод. Результати показали селективність матеріалу до двовалентних легких металів, що було підтверджено порівняльним аналізом швидкостей накопичення різних іонів [10].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Програмне забезпечення та бази даних

Практична частина роботи виконана із використанням загальнодоступного безкоштовного програмного забезпечення. Перелік програм та баз даних наведено у Таблиці 2.1.

№	Програма / База даних	Версія	Призначення
1	UCSF Chimera	1.19	Молекулярна візуалізація та аналіз структури
2	AutoDockTools (MGLTools)	1.5.7	Підготовка структур до докінгу (PDBQT)
3	GROMACS	2023.3	МД-симуляції та аналіз траєкторій
4	CHARMM-GUI	—	Генерація вхідних файлів для МД
5	VMD	1.9.3	Візуалізація МД-траєкторій та аналіз вторинної структури
6	Protein Data Bank (PDB)	—	База структурних даних (джерело 1UIK.pdb)

Таблиця 2.1. Програмне забезпечення та бази даних, використані у практичній частині роботи

2.2. Отримання та підготовка структури білка

7S-глобулін сої (β -конгліцинін) є тримерним глікопротеїном із молекулярною масою 150–180 кДа, що складається з субодиниць α (67 кДа), α' (71 кДа) та β (50 кДа). Кристалічна структура депонована у PDB під ID 1UIK (роздільна здатність 2,8 Å). Важливою структурною особливістю β -конгліциніну є наявність 12 цистеїнових залишків, що формують п'ять внутрішньоланцюгових та один міжланцюговий дисульфідний місто. Вторинна структура переважно складається з β -листів з меншою часткою α -спіралей та нерегулярних ділянок. Ізоелектрична точка β -конгліциніну при

фізіологічних значеннях рН зумовлює загальний негативний заряд молекули. Поверхня білка рясно вкрита залишками кислих амінокислот (Asp, Glu), залишками His та Cys, що є основними металозв'язувальними групами.

Тривимірну кристалічну структуру β -конгліциніну отримано з Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>) за ідентифікатором PDB ID: 1UIK. Ця структура відповідає повному тримеру β -конгліциніну з роздільною здатністю 2,8 Å та R-фактором 0,231. Для молекулярно-динамічних симуляцій використано ланцюг А структури 3AUP — відповідно до методології роботи Zhytniakivska et al. (2025) [39].

Підготовку структури проведено у AutoDockTools 1.5.7: видалено молекули води, призначено типи атомів AutoDock4, додано полярні атоми водню та розраховано заряди методом Колмана (загальний заряд +12,008). Структуру збережено у форматі PDBQT.

2.3. Молекулярна динаміка (МД-симуляція)

МД-симуляції виконано у GROMACS версії 2023.3 з силовим полем CHARMM36m у НРТ-ансамблі з кроком інтегрування 2 фс, що відповідає методології статті Zhytniakivska et al. (2025). Для симуляцій використано ланцюг А структури 7S-глобуліну (PDB ID: 3AUP). Вхідні файли для МД генеровані за допомогою модуля Solution Builder у веб-інтерфейсі CHARMM-GUI [40].

Система сольватована у прямокутній скриньці TIP3P-води із мінімальною відстанню 10 Å між білком і межами скриньки. Іони Cd^{2+} вводились у п'яти концентраціях: 5, 50, 100, 500 та 550 іонів. Контрольні системи містили лише білок із іонами Na^+ для нейтралізації загального заряду. Іони металів розподілялись у системі випадковим чином.

Мінімізація та рівноважна обробка проводились протягом 50 000 та 250 000 кроків відповідно. Під час рівноваги алгоритм Берендсена застосовувався для контролю температури та тиску; алгоритм LINCS — для обмеження

довжин зв'язків, що містять водень. Загальна тривалість кожної симуляції становила 200 нс при температурі 300 К.

Аналіз траєкторій проводився за допомогою команд GROMACS: `gmx rms` (RMSD остову білка), `gmx gyrate` (радіус інерції R_g), `gmx rmsf` (RMSF $C\alpha$ -атомів). Візуалізація знімків МД-симуляцій та аналіз вторинних структур і SASA виконувались у VMD 1.9.3 з використанням інструменту VMD Timeline [41] та Tcl-скриптів.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1. Аналіз RMSD — стабільність структури

МД-симуляції комплексів Cd^{2+} –7S-глобулін проведено відповідно до методології роботи Zhytniakivska et al. (2025). На Рисунку 3.1 та 3.2 представлено репрезентативні структури, отримані в ході 200-нс молекулярно-динамічного моделювання взаємодії іонів кадмію та кобальту з β -конгліциніном.

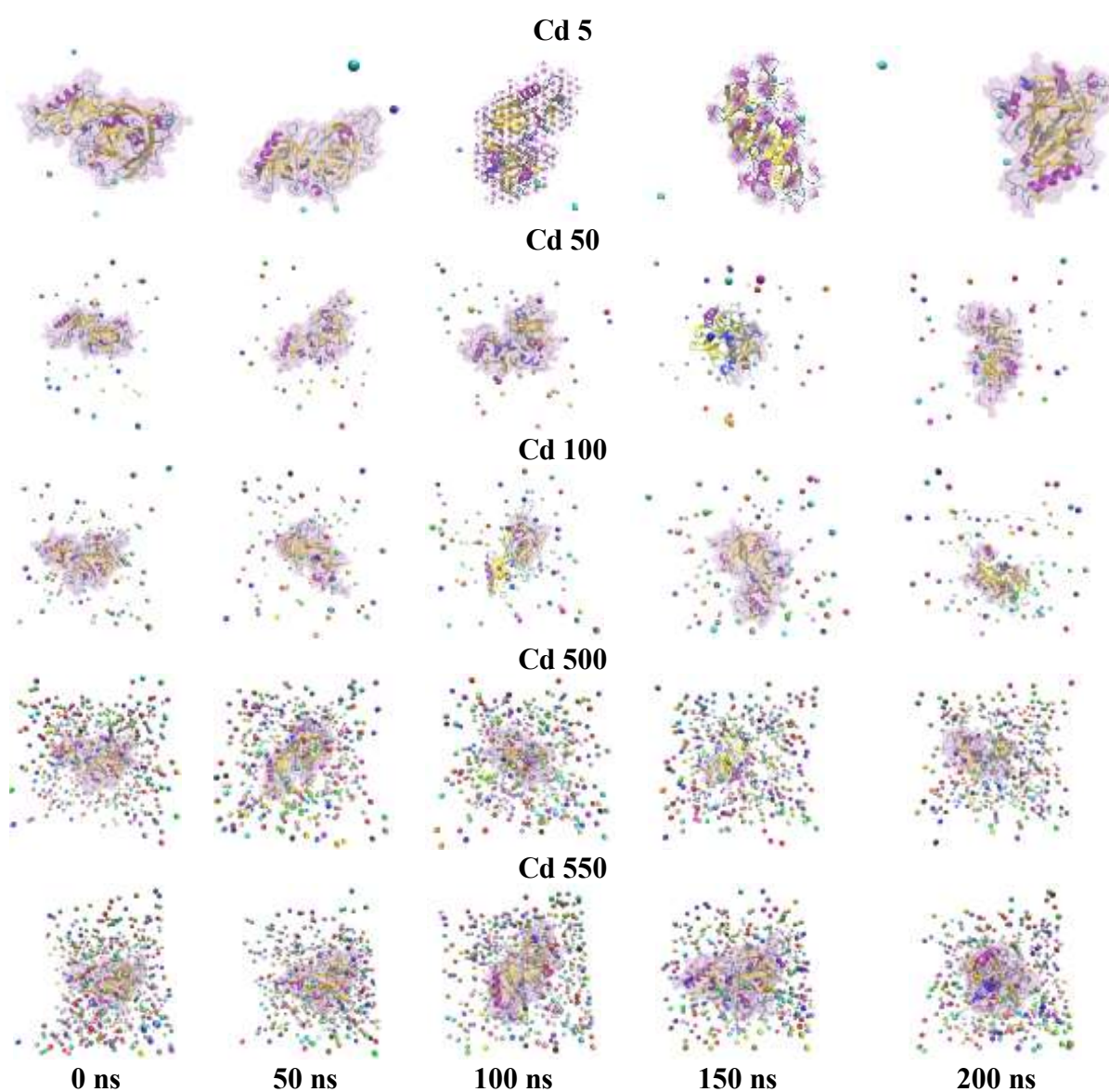
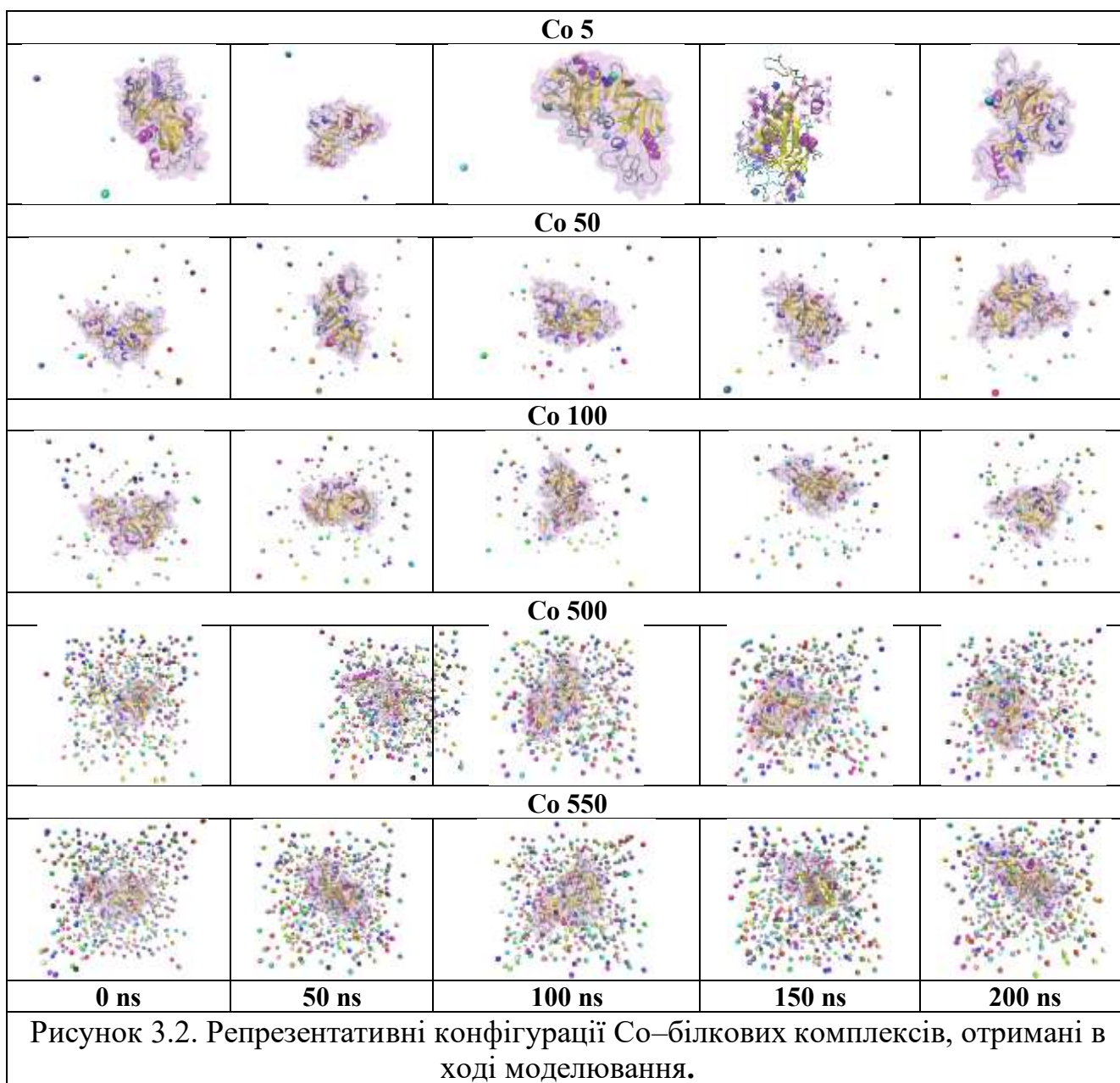


Рисунок 3.1. Репрезентативні конфігурації Cd–білкових комплексів, отримані в ході моделювання.



Моделювання проводили варіюючи концентрацію іонів в системі від 5 до 550. На початковому етапі дослідження було оцінено загальну стабільність білка впродовж молекулярно-динамічного моделювання шляхом аналізу часової еволюції ключових структурних параметрів, зокрема

- середньоквадратичного відхилення (RMSD) головного ланцюга,
- радіуса інерції (Rg),
- середньоквадратичних флуктуацій (RMSF) C α -атомів

- площі поверхні, доступної для розчинника (SASA).

Середньоквадратичне відхилення (RMSD) остову білка характеризує загальну структурну стабільність протягом симуляції. На Рисунку 3.3 представлено зміни RMSD головного ланцюга у часі, що дозволяє оцінити динамічну стабільність білкової структури протягом усього періоду моделювання. Отримані результати дають змогу простежити процеси релаксації системи та встановлення рівноважного стану комплексу.

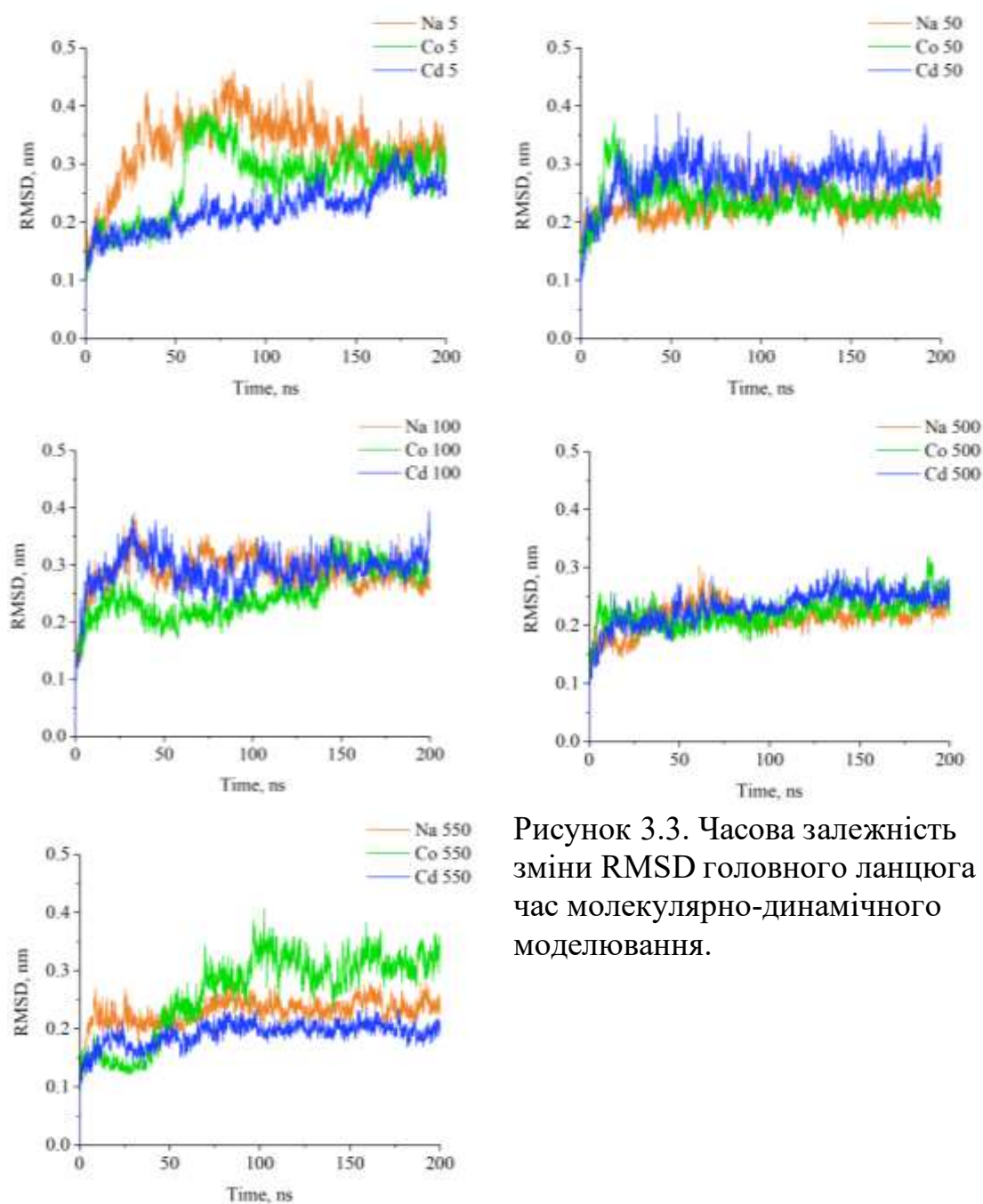


Рисунок 3.3. Часова залежність зміни RMSD головного ланцюга під час молекулярно-динамічного моделювання.

Отримані результати свідчать про те, що системи досягають рівноважної поведінки в ході молекулярно-динамічного моделювання, а рівень флуктуацій RMSD є характерним для стабільних білок-металевих комплексів, що дозволяє зробити висновок про задовільну збіжність траєкторій. Як показано на Рисунку 2, розраховані значення RMSD для систем, що містять іони Cd^{2+} та Co^{3+} , загалом не перевищують 0,4 нм, при цьому для більшості білок-металевих комплексів вони залишаються нижчими за 0,25 нм. Винятком є короткочасні флуктуації, які спостерігаються для системи Cd100/7S-глобулін на початковому етапі моделювання (перші ~50 нс), що може бути пов'язано з початковою структурною релаксацією білка після внесення іонів металу.

Для системи Co5/білок часовий профіль RMSD демонструє двоетапну поведінку. На першому етапі (0–50 нс) спостерігаються незначні коливання навколо ~0,15 нм, що вказує на мінімальні структурні відхилення та високу стабільність білкової конформації. Другий етап характеризується різким підвищенням RMSD до ~0,4 нм приблизно на 52 нс, після чого значення поступово знижується до ~0,2 нм. Надалі система виходить на стабільний режим із незначними коливаннями навколо цього значення, що свідчить про досягнення нової рівноважної конформації білка у присутності іонів Co^{3+} .

У випадку системи Co550/білок спостерігається поступове зростання RMSD, починаючи приблизно з 46 нс, після чого система переходить у стабілізований режим із флуктуаціями навколо середнього значення ~0,33 нм протягом решти часу моделювання. Така поведінка вказує на процес перебудови білкової структури під впливом підвищеної концентрації іонів металу з подальшим встановленням динамічно стабільного стану.

3.2. Аналіз RMSF — гнучкість амінокислотних залишків

Середньоквадратичні флуктуації $\text{C}\alpha$ -атомів (RMSF) надають детальну інформацію про просторову рухливість окремих амінокислотних залишків та

ідентифікують ділянки, що зазнають підвищених флуктуацій внаслідок зв'язування металу (Рис. 3.4).

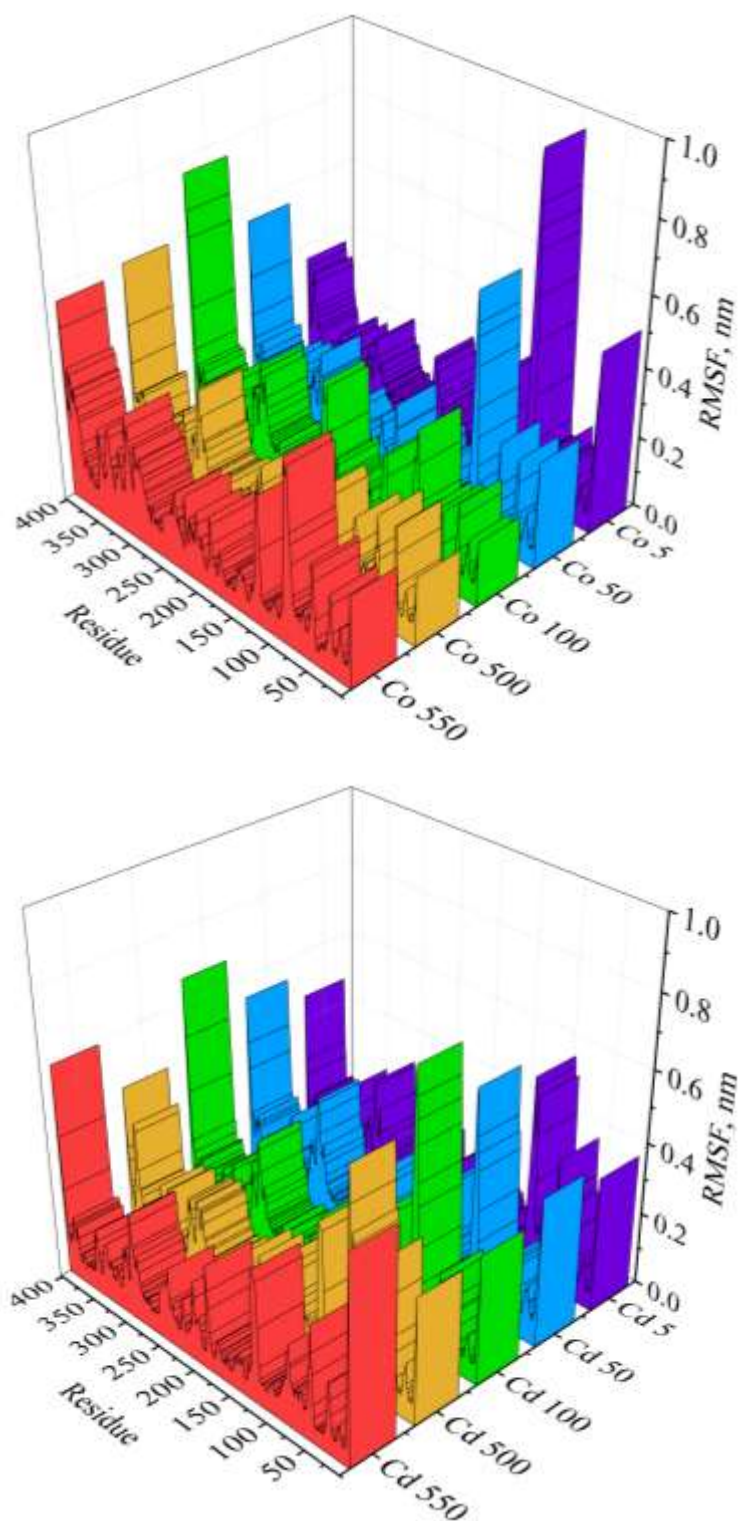


Рисунок 3.4. Часова залежність середньоквадратичних флуктуацій (RMSF) атомів Ca протягом молекулярно-динамічного моделювання.

Як показано на Рисунку 3.4, зв'язування іонів Cd^{2+} та Co^{3+} за низьких концентрацій (5 і 50 іонів) супроводжується помітними коливаннями в окремих ділянках білка, зокрема в регіонах амінокислотних залишків 81–92, 120–130 та 290–305. Це свідчить про локальну перебудову динаміки білкової структури під впливом металевих іонів, переважно в гнучких петльових ділянках. Подальше збільшення концентрації іонів важких металів призводить до зростання значень RMSF у регіоні 81–92, причому цей ефект є більш вираженим у присутності 100 та 500 іонів кадмію. Це може вказувати на підвищену чутливість даної ділянки білка до Cd^{2+} -індукованих конформаційних змін. Крім того, у системах із максимальною концентрацією (550 іонів) найбільше зростання RMSF у регіоні 81–92 спостерігається для Co^{3+} , що свідчить про більш виражений дестабілізуючий ефект кобальту за високих концентрацій порівняно з кадмієм.

Важливо зазначити, що за високих концентрацій іонів важких металів (500 та 550 іонів) спостерігається значне зростання флуктуацій майже для всіх амінокислотних залишків у діапазоні V271–K310. Цей регіон 7S-глобуліну містить елементи вторинної структури, включаючи α -спіраль, 310-спіраль та β -структури, що може свідчити про часткову дестабілізацію просторової організації білка під дією іонів металів.

Крім того, як показано на Рисунку 3.4., за низьких і середніх концентрацій (5, 50 та 100 іонів) вплив зв'язування металів переважно локалізується в межах α -субодиниці (залишки 25–275). Натомість за високих концентрацій спостерігається залучення як α -субодиниці, так і β -субодиниці низької молекулярної маси (залишки 276–427), що вказує на розширення області структурного впливу та зростання загальної конформаційної гнучкості білка. Загалом отримані результати свідчать, що підвищення концентрації іонів важких металів призводить до переходу від локальних структурних змін до більш глобальної перебудови динаміки білка.

3.3. Аналіз радіусу інерції та площі поверхні, доступної для розчинника (SASA).

Радіус інерції (R_g) відображає компактність просторової структури білка: нижчі значення свідчать про більш щільно упаковану конформацію, вищі — про більш розгорнуту структуру. Аналіз часової еволюції R_g дозволяє оцінити, як зв'язування металу впливає на компактність білка (Рис. 3.5).

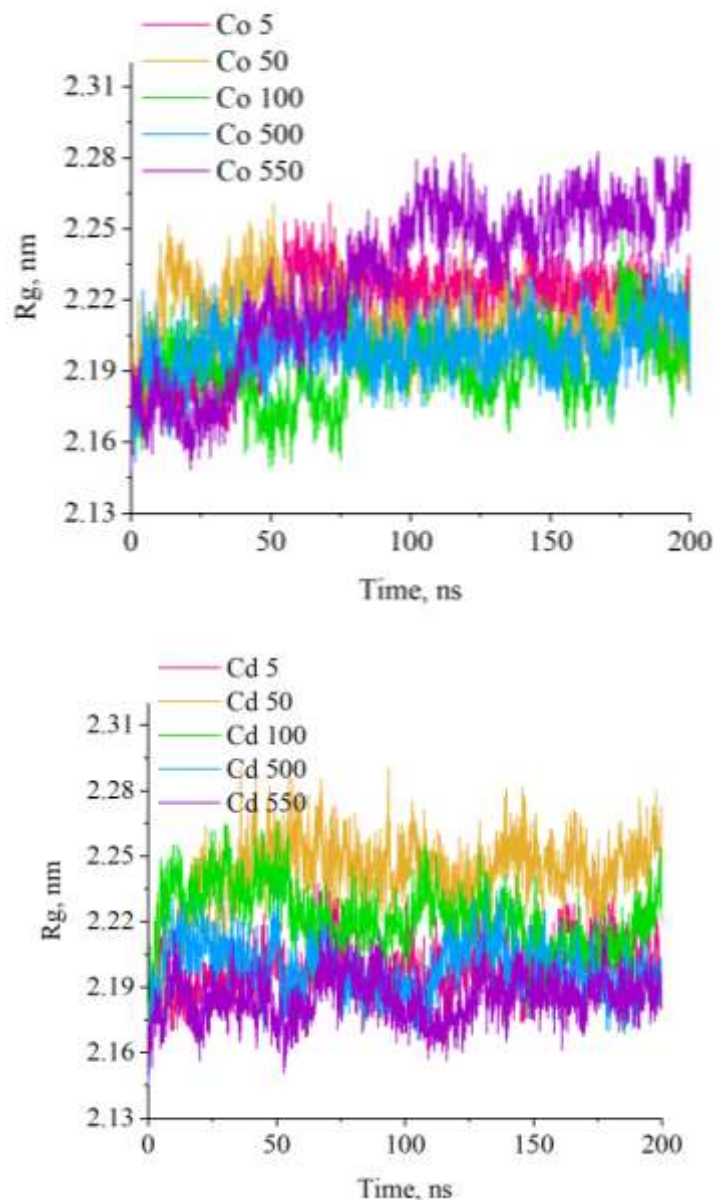


Рисунок 3.5. Часова еволюція радіусу інерції (R_g) для комплексів при різних концентраціях металу.

Результати, представлені на Рисунку 4, свідчать, що за низької концентрації іонів важких металів (5 іонів) структура 7S-глобуліну залишається високостабільною протягом усього періоду моделювання, із середнім значенням радіуса інерції (R_g) близько 2,20 нм. Це вказує на мінімальні структурні відхилення та збереження компактної просторової організації білка. Однак зі збільшенням концентрації іонів кобальту спостерігається поступове розширення білкової структури, причому найбільш виражений ефект характерний для системи Co550/білок. Лінійна апроксимація часової еволюції R_g демонструє чітку тенденцію до зростання: значення R_g підвищуються приблизно з 2,16 нм на початку моделювання до 2,27 нм на 200 нс. Така поведінка свідчить про поступове розпушення просторової структури білка та перерозподіл амінокислотних залишків, що потенційно може впливати на стабільність елементів вторинної структури. Ймовірно, збільшення R_g у присутності високих концентрацій Co^{3+} пов'язане з індукованими конформаційними перебудовами та частковим розкриттям білкової глобули, що сприяє підвищенню доступності внутрішніх ділянок білка для взаємодії з іонами металу. Натомість у системах, що містять іони кадмію, спостерігається протилежна тенденція: за високих концентрацій значення радіуса інерції зменшуються, причому найбільш виражене зниження характерне для системи Cd550/білок. Це свідчить про більш компактну упаковку білкової структури в

Аналіз відносних змін площі поверхні, доступної для розчинника (SASA) на залишок, дозволяє оцінити зміни в гідрофобному оточенні залишків впродовж симуляції (Рис. 3.6).

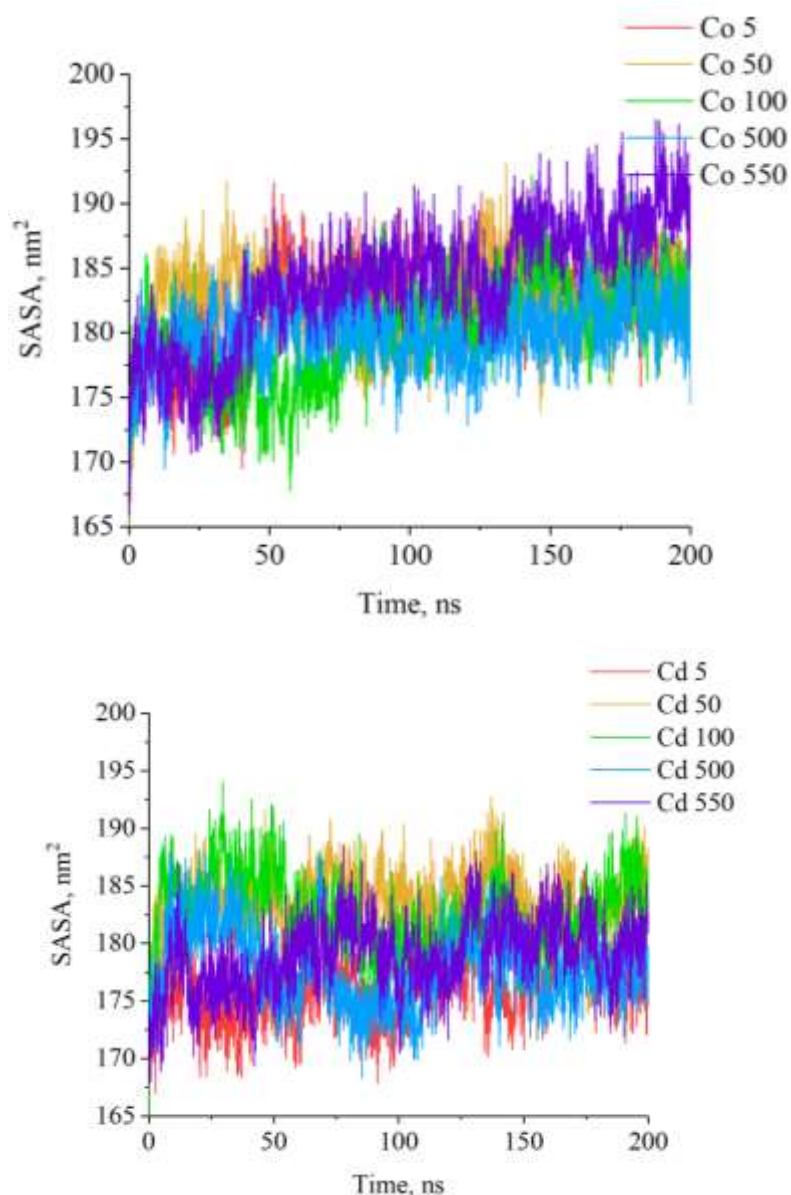


Рисунок 3.6. Часова еволюція SASA для комплексів при різних концентраціях металу

Значних варіацій SASA не спостерігалось у більшості систем при концентраціях металу нижче 500 іонів: SASA залишалась у межах 175–185 нм². Незначне підвищення SASA спостерігалось у системах з 550 іонами металу, що відповідає незначному розширенню поверхні білка, доступної для розчинника, при підвищених концентраціях. Це узгоджується з даними RMSD та Rg і підтверджує, що структурні зміни при низьких концентраціях Cd²⁺ є мінімальними.

3.4. Аналіз вторинної структури

Для характеристики змін вторинної структури 7S-глобуліну в присутності Cd^{2+} проаналізовано часову еволюцію вмісту α -спіралей та β -листів упродовж симуляції (Рис. 3.6).

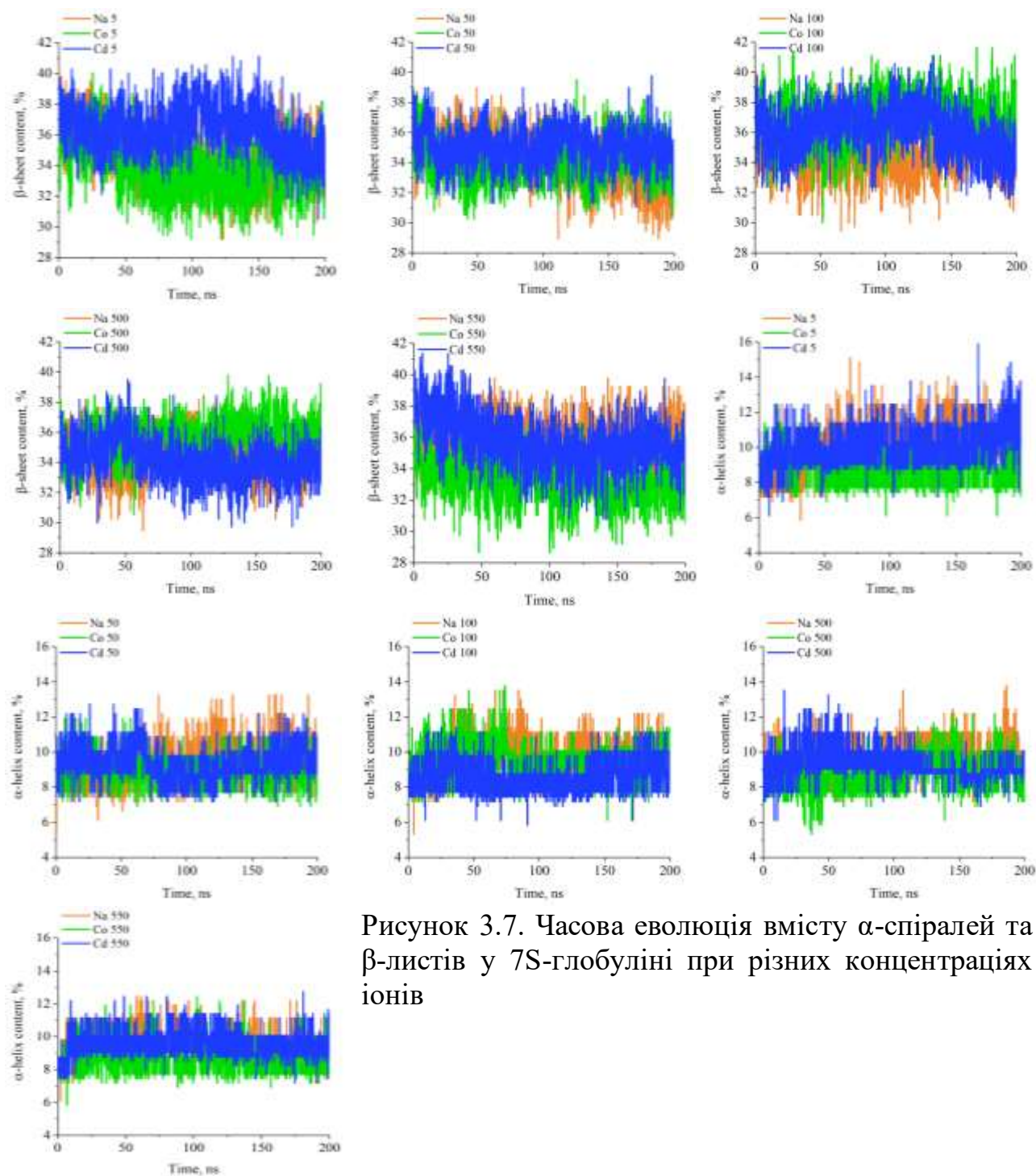


Рисунок 3.7. Часова еволюція вмісту α -спіралей та β -листів у 7S-глобуліні при різних концентраціях іонів

Зв'язування Cd^{2+} не призводить до суттєвих змін вмісту α -спіралей протягом усіх симуляцій — цей параметр залишається стабільним. Така стійкість α -спіральних елементів свідчить, що підвищення RMSF у цих ділянках відображає флуктуації на рівні окремих залишків, а не руйнування вторинної структури. Навпаки, комплексоутворення металу з білком призводить до поступового зниження вмісту β -листів упродовж симуляції. Цей ефект виразніше проявляється при вищих концентраціях Cd^{2+} , що свідчить про потенційну дестабілізацію β -листових структур під впливом зв'язування важкого металу. Враховуючи, що β -листи формують основний структурний остов β -конгліциніну, їх дестабілізація при високих концентраціях металу може мати функціональні наслідки.

ВИСНОВКИ

У даній роботі методом молекулярної динаміки досліджено вплив іонів важких металів Cd^{2+} та Co^{3+} на структурно-динамічні властивості β -конгліциніну сої.

- Проведено серію 200-нс MD-симуляцій у середовищі GROMACS із використанням силового поля CHARMM36m за різних концентрацій металевих іонів (5, 50, 100, 500 та 550 іонів). Продемонстровано, що всі змодельовані системи досягають рівноважного стану протягом симуляції, що підтверджується стабілізацією значень RMSD у межах до 0.4 нм та відсутністю значних структурних зсувів у більшості систем після початкової фази релаксації.
- Досліджено динамічну рухливість амінокислотних залишків, в результаті чого встановлено наявність локальних ділянок підвищеної гнучкості, зокрема в регіонах 81–92, 120–130 та 290–305. Показано, що збільшення концентрації металів призводить до розширення зон флуктуацій та переходу від локальних до більш глобальних змін у динаміці білка, особливо в області V271–K310, яка містить елементи α -спіралей та β -структур.
- Встановлено, що іони Co^{3+} та Cd^{2+} по-різному впливають на просторову організацію білка. Зокрема, Co^{3+} індукує розширення та часткове “розпушення” структури 7S-глобуліну, що підтверджується зростанням радіуса інерції (R_g). Натомість Cd^{2+} сприяє більш компактній упаковці білка при високих концентраціях, що проявляється зменшенням R_g .
- Досліджено зміни доступної для розчинника поверхні (SASA), які показали незначні варіації при низьких та середніх концентраціях металів і тенденцію до незначного збільшення при максимальних концентраціях

(500–550 іонів), що свідчить про часткове розкриття поверхневих ділянок білка.

- Встановлено, що загальний вміст α -спіралей залишається стабільним протягом усіх симуляцій, що вказує на збереження базової елементної структури білка. Водночас спостерігається поступове зменшення частки β -структур із підвищенням концентрації металів, що може свідчити про їхню часткову дестабілізацію під впливом іонного зв'язування.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Tchounwou P. B., Yedjou C. G., Patlolla A. K., Sutton D. J. Heavy Metal Toxicity and the Environment. *Experientia Supplementum*. 2012. Vol. 101. P. 133–164. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6
2. Ali H., Khan E. What Are Heavy Metals? Long-Standing Controversy over the Scientific Use of the Term ‘Heavy Metals’ – Proposal of a Comprehensive Definition. *Toxicological and Environmental Chemistry*. 2018. Vol. 100, no. 1. P. 6–19. DOI: <https://doi.org/10.1080/02772248.2017.1413652>
3. Valko M., Morris H., Cronin M. T. D. Metals, Toxicity and Oxidative Stress. *Current Medicinal Chemistry*. 2005. Vol. 12, no. 10. P. 1161–1208. DOI: <https://doi.org/10.2174/0929867053764635>
4. Jomova K., Valko M. Advances in Metal-Induced Oxidative Stress and Human Disease. *Toxicology*. 2011. Vol. 283, no. 2–3. P. 65–87. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2011.03.001>
5. Volesky B. Biosorption and Me. *Water Research*. 2007. Vol. 41, no. 18. P. 4017–4029. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.05.062>
6. Kumar R., Sharma A., Singh P. Soy Protein-Based Adsorbents for Heavy Metal Removal from Aqueous Solutions. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2018. Vol. 6, no. 3. P. 3727–3738.
7. Li Y., Zhao X., Wang S. Protein-Based Bioadsorbents for Environmental Remediation. *Chemical Engineering Journal*. 2020. Vol. 390. Art. 124509. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.124509>
8. Liu, D. Su, J. Yao, Y. Huang, J. Shao, X. Chen, J. Mater. Chem. A, **5**, 4163–4171 (2017). <https://doi.org/10.1039/C6TA10814H>
9. Z. Ju, G. Lu, O. Sheng et al. *Nano Lett.* **22**, 3, 1374–1381 (2022). <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.1c04775>

10. M. Yamada, M. Ujihara, Y. Yamada. *J. Compos. Sci.* 7, 419 (2023).
<https://doi.org/10.3390/jcs7100419>
11. He ZL, Yang XE, Stoffella PJ. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *J Trace Elem Med Biol.* 2005;19(2–3):125–140. doi: 10.1016/j.jtemb.2005.02.010.
12. Arruti A, Fernández-Olmo I, Irabien A. Evaluation of the contribution of local sources to trace metals levels in urban PM_{2.5} and PM₁₀ in the Cantabria region (Northern Spain) *J Environ Monit.* 2010;12(7):1451–1458. doi: 10.1039/b926740a.
13. Duffus JH. Heavy metals-a meaningless term? *Pure Appl Chem.* 2002;74(5):793–807.
14. Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. Heavy metal toxicity and the environment. *Exp Suppl.* 2012;101:133-64. doi: 10.1007/978-3-7643-8340-4_6.
15. Pacyna JM. Monitoring and assessment of metal contaminants in the air. In: Chang LW, Magos L, Suzuli T, editors. *Toxicology of Metals*. Boca Raton, FL: CRC Press; 1996. pp. 9–28.
16. Witkowska D, Słowik J, Chilicka K. Heavy Metals and Human Health: Possible Exposure Pathways and the Competition for Protein Binding Sites. *Molecules.* 2021 Oct 7;26(19):6060. doi: 10.3390/molecules26196060.
17. Beyersmann D, Hartwig A. Carcinogenic metal compounds: recent insight into molecular and cellular mechanisms. *Arch Toxicol.* 2008;82(8):493–512. doi: 10.1007/s00204-008-0313-y.
18. Stern BR. Essentiality and toxicity in copper health risk assessment: overview, update and regulatory considerations. *Toxicol Environ Health A.* 2010;73(2):114–127. doi: 10.1080/15287390903337100.
19. Balali-Mood M, Naseri K, Tahergorabi Z, Khazdair MR and Sadeghi M (2021) Toxic Mechanisms of Five Heavy Metals: Mercury, Lead, Chromium,

- Cadmium, and Arsenic. *Front. Pharmacol.* 12:643972. doi: 10.3389/fphar.2021.643972
20. Mason LH, Harp JP, Han DY. Pb neurotoxicity: neuropsychological effects of lead toxicity. *Biomed Res Int.* 2014;2014:840547. doi: 10.1155/2014/840547. Epub 2014 Jan 2. PMID: 24516855; PMCID: PMC3909981.
 21. de Souza, I. D., de Andrade, A. S., & Dalmolin, R. J. S. (2018). Lead-interacting proteins and their implication in lead poisoning. *Critic Reviews in Toxicology*, 48(5), 375–386. <https://doi.org/10.1080/10408444.2018.1429387>
 22. Devi, P.; Rajput, P.; Thakur, A.; Kim, K.H.; Kumar, P. Recent advances in carbon quantum dot-based sensing of heavy metals in water. *Trends Anal. Chem.* **2019**, 114, 171–195.
 23. Chen, J.; Yu, Y.; Zhu, B.; Han, J.; Liu, C.; Liu, C.; Miao, L.; Fakudze, Synthesis of biocompatible and highly fluorescent N-doped silicon quantum dots from wheat straw and ionic liquids for heavy metal detection and cell imaging. *Sci. Total Environ.* **2021**, 765, 142754.
 24. Liang, J.; Huang, C.; Gong, X. Silicon nanocrystals and their composites: Syntheses, fluorescence mechanisms, and biological applications. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2019**, 7, 18213–18227.
 25. M. Taghavi, M.A. Zazouli, Z. Yousefi, et al. *Environ Monit Assess* **187**, 682 (2015). <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4911-x>
 26. K. Anitha, S. Namsani, J. K. Singh. *J. Phys. Chem. A.* **119**, 8349–8358 (2015). <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.5b03352>
 27. G. Rao, C. Lu, F. Su, *Sep. Purif. Technol.* **58**, 224–231 (2008). <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2006.12.006>
 28. R. Baby, B. Saifullah, M.Z. Hussein. *Nanoscale Res Lett* **14**, 341 (2019). <https://doi.org/10.1186/s11671-019-3167-8>

- 29.C. Lu, H. Chiu, C. Liu.. Ind. Eng. Chem. Res. **45**, 2850–2855.(2006).
<https://doi.org/10.1021/ie051206h>
- 30.X. Huang, R. Li, L. Zeng, X. Li, Z. Xi, K. Wang, Y. Li, Carbon, **161**, 350-358
(2020) <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2020.01.069>.
- 31.N. Kang, J. Hua, L. Gao, B. Zhang, J. Pang, Materials, **14**, 608 (2021).
<https://doi.org/10.3390/ma14030608>
- 32.Liu, D. Su, J. Yao, Y. Huang, J. Shao, X. Chen, J. Mater. Chem. A, **5**, 4163–
4171 (2017). <https://doi.org/10.1039/C6TA10814H>
- 33.X. Yu, W. Liu, X. Deng, S. Yan, Z. Su, Chemical Engineering Journal, **335**,
176–184 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.10.148>
- 34.J. Kostal, A. Mulchandani, W. Chen, Macromolecules, **34**(7), 2257–2261
(2001). <https://doi.org/10.1021/ma001973m>
- 35.M. Peydayesh, S. Bolisetty, T. Mohammadi, R. Mezzenga, Langmuir, **35**,
4161–4170 (2019). <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b04234>
- 36.Y. Wei, Z. Huang, Z. Yu, C. Han, C. Yang Materials, **14**, 5436 (2021).
<https://doi.org/10.3390/ma14185436>
- 37.S. Zhang, C. Long, X. Zhu, et al. ACS Nano **17**, 18850–18863 (2023).
<https://doi.org/10.1021/acsnano.3c03782>
- 38.X. Ren, M. Soucek, ACS Symposium Series, **1178**, 207-254 (2014).
<https://doi.org/10.1021/bk-2014-1178.fw001>
- 39.Zhytniakivska O., Tarabara U., Vus K. et al. East European Journal of
Physics. 2024. (1). P. 497–503. <https://doi.org/10.26565/2312-4334-2024-1-55>
- 40.S. Jo, T. Kim, V. G. Iyer, W. Im, J. Comp. Chem. **29**, 1859-1865 (2008),
<https://doi.org/10.1002/jcc.20945>.
- 41.W. Humphrey, A. Dalke, and K. Schulten, J. Mol. Graph. **14**, 33–38 (1996),
[https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5)