

УДК 57.043; 519.688; 573.7

МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ И ПОДВИЖНОСТИ ФОСФОЛИПИДНЫХ МОЛЕКУЛ С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДА УКРУПНЕННЫХ ЧАСТИЦ

О.Е. Глухова¹, И.В. Кириллова¹, Г.Н. Маслякова², Е.Л. Коссович¹

¹ Образовательно-научный институт наноструктур и биосистем Саратовского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского, Россия, 410012, Саратов, ул. Астраханская, 83, e-mail: glukhovaoe@info.sgu.ru

² Кафедра патологической анатомии Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского Минздравсоцразвития России, Россия, 410012, Саратов, ул. Большая Казачья, 112

Аннотация. На крупнозернистой модели фосфолипидной молекулы, состоящей из двенадцати укрупненных виртуальных атомов, исследованы особенности строения, жесткость молекулы и вращательная подвижность. Моделирование поведения макромолекулы проводилось методом молекулярной динамики, реализованным в оригинальном программном продукте *Ring*. Впервые показано, что спиралевидная структура фосфолипидной молекулы может быть представлена как пружина, жесткость которой составляет 27,68 кН/м. Исследована вращательная подвижность фосфолипидной молекулы. Обнаружено, что макромолекула вращается вокруг оси, проходящей через один из атомов. Частота вращения зависит от температуры. При температуре 293 К она равна 0,9 ГГц, с увеличением температуры до 309 К частота повышается до 1,2 ГГц.

Ключевые слова: фосфолипидные молекулы, структура, жесткость, вращательная подвижность, метод молекулярной динамики, крупнозернистая модель.

ВВЕДЕНИЕ

Фосфолипидные молекулы являются неотъемлемой частью липопротеидов и клеточных мембран. Ими определяются текучие и пластические свойства мембран клеток и клеточных органоидов, они участвуют в транспорте жиров, жирных кислот и холестерина. Соотношение холестерина/фосфолипиды в липопротеидах и молекулярный вес липопротеидов определяют степень растворимости холестерина и его атерогенные свойства. Поведение фосфолипидных молекул, их вращательная и трансляционная подвижность в липидных бислоях, флип-флоп переходы (переходы фосфолипидной молекулы с одной стороны бислоя на другой), процессы миграции в бислоях, процессы деформации бислоев и образование в них пор изучаются как экспериментально [6], так и теоретически [2, 11]. Среди теоретических методов единственным удовлетворяющим уровню и требованиям подобных задач является метод молекулярной динамики с применением эмпирических моделей (моделей атом-атомных потенциалов). Он позволяет в реальном времени моделировать на атомном уровне поведение и динамику макромолекул, а также изучать их механические свойства.

© Глухова О.Е., Кириллова И.В., Маслякова Г.Н., Коссович Е.Л., 2012

Глухова Ольга Евгеньевна, д.ф.-м.н., заведующая кафедрой радиотехники и электродинамики, Саратов
Кириллова Ирина Васильевна, к.ф.-м.н., доцент, директор образовательно-научного института наноструктур и биосистем, Саратов

Маслякова Галина Никифоровна, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой патологической анатомии, Саратов

Коссович Елена Леонидовна, научный сотрудник отдела математического моделирования, Саратов

В данной работе проводится исследование структурных особенностей, вращательной подвижности и жесткости фосфолипидных молекул (молекула дипальмитоилфосфатидилхолина – ДПФХ). Макромолекула ДПФХ относится к фосфолипидам из группы насыщенных фосфатидилхолинов. Ее структура часто используется как модельный фосфолипид в исследованиях липидных бислоев и модельных биологических мембран. Моделирование осуществляется с помощью метода молекулярной динамики и крупнозернистой модели фосфолипидной молекулы.

КРУПНОЗЕРНИСТАЯ МОДЕЛЬ ФОСФОЛИПИДНОЙ МОЛЕКУЛЫ

Крупнозернистое молекулярное моделирование используется в изучении структуры, механических свойств отдельных бионанообъектов и их комплексов, а также в исследованиях процессов агрегации биологических наночастиц в мицеллы и бислои [1, 7, 9, 10]. Суть крупнозернистого моделирования заключается в упрощении атомистической модели макромолекул и квазимакромолекул путем объединения групп атомов в эффективные виртуальные укрупненные атомы, взаимодействие между которыми может быть описано с помощью полуэмпирических и неэмпирических квантово-химических методов, а также метода атом-атомных потенциалов. В последнем случае для моделирования макромолекулы с позиции виртуальных укрупненных атомов применяются новые весовые коэффициенты в многочлене, определяющем полную энергию структуры. Коэффициенты подбираются специально для каждого типа «создаваемых» виртуальных атомов.

Применение крупнозернистой модели в молекулярной динамике является очень эффективным методом упрощения изучения атомистической структуры макромолекул, поскольку значительно ускоряет процесс оптимизации их атомного каркаса, а также дает возможность моделировать процессы с участием макромолекул, в том числе процесс их агрегации в слои и мицеллы.

Группы укрупненных виртуальных атомов

В рамках представленной в работе [8] модели рассматриваются четыре типа крупнозернистых частиц (или укрупненных виртуальных атомов): полярные (P), неполярные (N), аполярные (A) и заряженные (Q). Полярные типы определяют нейтральные группы атомов, которые могут быть растворены в воде, аполярные – это гидрофобные группы, а неполярные используются для смешанных объединений атомов, которые могут включать в себя как полярные, так и неполярные. Частицы, относящиеся к заряженным, представляют группу ионизированных атомов. В свою очередь, группы N и Q разделены на 4 подгруппы, различающиеся наличием и свойствами водородной связи: 0 , d , a , da . Подгруппа 0 соответствует группам атомов с отсутствием возможности образования водородной связи. Подтип d – атомам, которые могут являться донорами водородной связи, подтип a – акцепторы последней. Подгруппа da соответствует группе атомов, которая может являться как донором, так и акцептором водородной связи. В рамках той же модели [8] для всех укрупненных атомов принимается одинаковая масса, равная 72 а.е.м. ($1 \text{ а.е.м.} = 1,66 \cdot 10^{-27} \text{ кг}$).

Структура фосфолипидной макромолекулы, построенная в рамках крупнозернистой модели, представлена на рис. 1. Фосфолипид моделируется двенадцатью укрупненными частицами. Две ветви (называемые часто хвостами) фосфолипида, каждая из которых содержит пятнадцать метил/метиленов, составлены из четырех атомов типа A . Глицероловая связка ветвей представлена двумя атомами типа N_a . Холиновая группа головки фосфолипида моделируется положительно заряженной частицей типа Q_0 , в свою очередь, фосфатная группа представлена частицей Q_a , заряженной отрицательно.

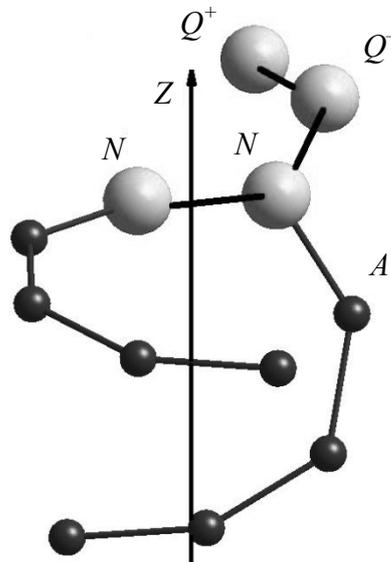


Рис. 1. Крупнозернистая модель фосфолипидной макромолекулы ДПФХ

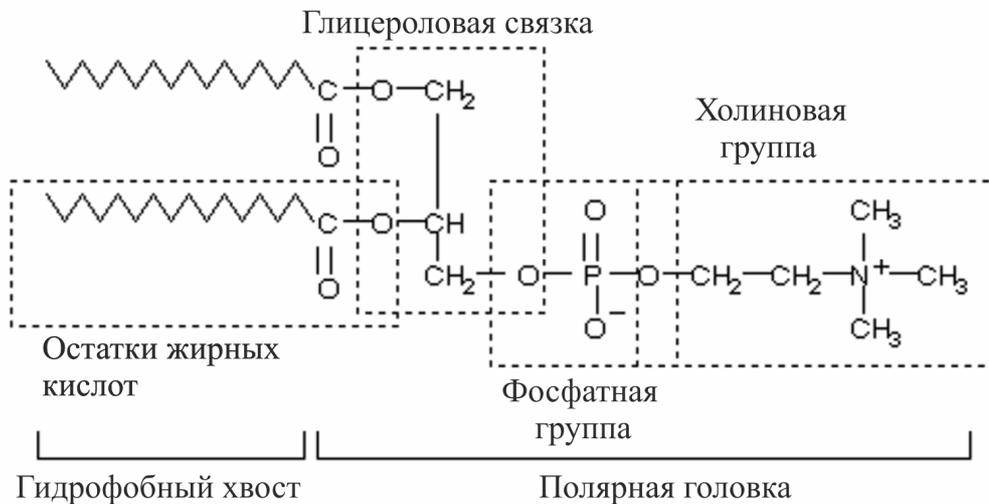


Рис. 2. Химическая формула фосфолипидной молекулы

На рис. 2 показано, каким именно образом атомистическая модель фосфолипида объединяется в крупнозернистую.

Из рис. 2 видно, что для каждого из укрупненных виртуальных атомов его масса и, соответственно, центр масс различаются. Использование одинаковых масс может привести к существенным погрешностям в дальнейшем моделировании фосфолипидов крупнозернистой моделью, так как масса атома оказывает значительное влияние на его кинематические свойства. Применение точно вычисленных масс позволит найти оптимальную геометрию структуры, а также точнее рассчитать траекторию ее перемещения в пространстве. Авторами применялись индивидуальные значения масс для каждого из вышеуказанных типов атомов: атом, обозначенный на рис. 1 Q^+ , имеет массу 87,23 а.е.м., атом Q^- – 95,00 а.е.м., атом N – 71,08 а.е.м., атом A – 43,10 а.е.м. Разница масс атомов свидетельствует о том, что ветви фосфолипидной молекулы, образованные атомами A , будут самыми подвижными.

МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ СТРУКТУРЫ И НЕКОТОРЫХ МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ФОСФОЛИПИДНОЙ МАКРОМОЛЕКУЛЫ

В рамках молекулярно-механического алгоритма энергия каждого атома вычисляется по формуле

$$U = U_{bond} + U_{angle} + U_{vdW} + U_{charge}, \quad (1)$$

где первое и второе слагаемые представляют собой энергию химических связей и энергию валентных углов, а их сумма – энергию связанных взаимодействий. Третье и четвертое слагаемые определяют энергию несвязанных взаимодействий (в данном случае энергию взаимодействия Ван-дер-Ваальса, а также энергию взаимодействия заряженных частиц).

Потенциал энергии связей представляет собой сумму по всем химическим связям атома:

$$U_{bond} = \sum \frac{1}{2} K_r (r - r_{eq})^2, \quad (2)$$

где K_r – силовая постоянная, $K_r = 12,5 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1} / \text{А}^2$; а r_{eq} – равновесная длина связи между частицами, $r_{eq} = 4,7 \text{ А}$. Данные величины одинаковы для всех типов крупнозернистых атомов. Аналогичный вид имеет потенциал для валентных углов

$$U_{angle} = \sum \frac{1}{2} K_{angle} (\cos(\theta) - \cos(\theta_{eq}))^2 \quad (3)$$

с силовой константой $K_{angle} = 25 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1} / \text{рад}^2$ и равновесным валентным углом $\theta_{eq} = 120^\circ$.

Несвязанное взаимодействие описывается следующими двумя потенциалами. Взаимодействие Ван-дер-Ваальса – потенциалом Леннарда–Джонса вида

$$U_{vdW} = \sum 4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r} \right)^6 \right], \quad (4)$$

где σ_{ij} представляет собой эффективное минимальное расстояние между двумя частицами, а ϵ_{ij} – силовая константа, определяющая силу взаимодействия между частицами. Для всех возможных пар частиц в зависимости от типа крупнозернистого атома выделяют следующие 5 групп. I – притягивающая, для которой $\epsilon_{ij} = 5 \text{ кДж} \cdot \text{моль}$, II – полупритягивающая ($\epsilon_{ij} = 4,2 \text{ кДж} \cdot \text{моль}$), III – промежуточная ($\epsilon_{ij} = 3,4 \text{ кДж} \cdot \text{моль}$), IV – полурасталкивающая ($\epsilon_{ij} = 2,6 \text{ кДж} \cdot \text{моль}$) и V – расталкивающая ($\epsilon_{ij} = 1,8 \text{ кДж} \cdot \text{моль}$). В таблице представлено распределение по типам атомов вышеуказанных групп взаимодействия.

Последнее слагаемое в (1) – это потенциал взаимодействия между заряженными частицами. Оно представлено в виде следующей суммы:

$$U_{charge} = \sum \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r r}. \quad (5)$$

Здесь заряды $q_i, q_j = \pm 0,7|e|$, ϵ_0 – диэлектрическая проницаемость вакуума, ϵ_r – относительная диэлектрическая проницаемость среды, в данном случае $\epsilon_r = 1$.

Матрица взаимодействий

Группа	Подтип	<i>P</i>	<i>N</i>				<i>A</i>	<i>Q</i>			
			0	<i>d</i>	<i>a</i>	<i>da</i>		0	<i>d</i>	<i>a</i>	<i>da</i>
<i>P</i>		I	IV	III	III	II	V	I	I	I	I
<i>N</i>	0	IV	III	III	III	III	III	III	III	III	III
	<i>d</i>	III	III	II	II	II	IV	III	III	II	II
	<i>a</i>	III	III	II	II	II	IV	III	II	III	II
	<i>da</i>	II	III	II	II	I	V	III	II	II	I
<i>A</i>		V	III	IV	IV	V	III	V	V	V	V
<i>Q</i>	0	I	III	III	III	III	V	III	III	III	II
	<i>d</i>	I	III	III	II	II	V	III	III	II	I
	<i>a</i>	I	III	II	III	II	V	II	II	III	I
	<i>da</i>	I	III	II	II	I	V	I	I	I	I

Используемый здесь алгоритм молекулярно-динамического моделирования успешно применялся при изучении упругости углеродных нанотрубок [3, 4]. Моделирование поведения фосфолипида осуществляется в реальном времени. За квант времени принимается одна фемтосекунда. На каждом временном шаге вычисляется сила, действующая на атом. Она рассчитывается при условии, что энергетическая поверхность в окрестности атома меняется линейно и вычисляется из разницы значений энергии атома при его сдвиге из текущего положения вдоль координатных осей. Например, из разницы энергий $E(\dots, x+\Delta x, \dots)$ и $E(\dots, x-\Delta x, \dots)$ (Δx – сдвиг по оси X) вычислялась проекция силы на ось X :

$$F_x = \frac{E(x - \Delta x) - E(x + \Delta x)}{2\Delta x}. \quad (6)$$

Параметр Δx достаточно мал по сравнению с характерным размером системы. Величина Δx не должна быть слишком малой из-за конечности разрядной сетки вычислительной техники, но и не должна быть слишком большой, так как в этом случае точность расчетов также будет снижаться вследствие нелинейности энергетической поверхности. В данной работе по результатам исследования корреляции точности расчетов с параметром Δx используется величина сдвига 10^{-4} от характерного размера. Изменение конфигурации нанобъекта (под действием сил) на данном шаге определяется в результате решения уравнений Ньютона. На следующем шаге процесс повторяется.

С помощью представленного алгоритма молекулярно-динамического моделирования, реализованного в программном пакете *Ring* [4, 5], исследовано равновесное состояние отдельного фосфолипида, которое отвечает низким значениям температуры (~ 100 K) и минимуму полной энергии. На рис. 1 представлена структура фосфолипида, воспроизведенная в рамках крупнозернистой модели. В целом молекула представляет собой спиралевидную структуру с ветвями, образованными виртуальными атомами типа *A* (незаряженные гидрофобные группы). Характерными геометрическими параметрами фосфолипида являются угол между ветвями MNA и угол NNQ . Они варьируются в пределах 120 ± 5 градусов.

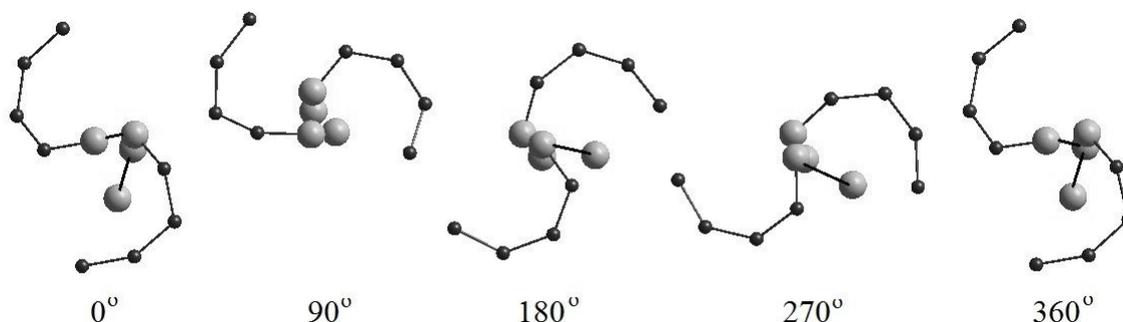


Рис. 3. Вращение фосфолипидной молекулы

Обнаружено, что за равновесное состояние фосфолипида отвечает низшая вращательная мода. Ось вращения Z проходит через атом N , располагающийся между атомами N и Q (см. рис. 1, справа от оси Z). При температуре 293 К частота равна 0,9 ГГц. При увеличении температуры частота вращения возрастает и фосфолипидная молекула переходит в следующее вращательное состояние. Проведенное исследование вращения фосфолипида показало, что оно происходит при любых температурах, при которых фосфолипид существует как единая молекула. При температуре 309 К, отвечающей живым активным системам, частота повышается до 1,2 ГГц. Закрученные ветви фосфолипида вращаются, не меняя своей конфигурации. На рис. 3 представлена карта вращения, отображающая фосфолипид в разные моменты времени при различных углах поворота от 0 до 360°. Энергия фосфолипида в процессе вращения меняется незначительно – в пределах 0,009 эВ. Эта энергетическая величина является потенциальным вращательным барьером и соответствует температуре ~ 104 К. Подобный потенциальный барьер не препятствует вращению, так как температура, при которой исследуется вращение, гораздо выше.

Как было отмечено ранее, структура фосфолипида представляет собой спираль, имеющую две ветви, которая может быть описана как пружина с осью Z (см. рис. 1). Авторами проведено моделирование колебаний фосфолипида вдоль оси Z , подобных колебаниям пружинного маятника. В результате анализа выполненной серии расчетов частоты можно заключить, что она составляет 150 ТГц. Учитывая массу макромолекулы, равную 741 а.е.м., вычисляемая жесткость фосфолипидной макромолекулы вдоль оси Z равна 27,68 кН/м.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном исследовании представлена модифицированная крупнозернистая модель фосфолипидной молекулы, которая ранее была предложена в работе [8]. Ввиду важности учета массы при моделировании динамики системы атомов авторами была введена в модель дифференциация масс виртуальных атомов, составляющих фосфолипид. Это позволяет более точно рассчитывать траектории атомов макромолекулы, внутримолекулярное движение и, как следствие, механические параметры исследуемого объекта.

Построенная авторами модель фосфолипидной молекулы состоит из двенадцати виртуальных крупных атомов. Для исследования динамики был использован оригинальный алгоритм молекулярной динамики в сочетании с вышеописанной моделью крупнозернистых виртуальных атомов.

Впервые показано, что спиралевидная структура фосфолипидной молекулы с механической точки зрения может быть представлена как пружина. Определена жесткость такой пружины. Она составляет 27,68 кН/м. Полученные знания могут быть использованы в дальнейшем в оценках жесткости мицелл, образуемых фосфолипидными молекулами, а также в исследованиях механических свойств бислоев и липопротеидов.

Исследована вращательная подвижность фосфолипидной молекулы. Обнаружено, что макромолекула вращается вокруг оси, проходящей через атом N , соединенный с атомами O и N . Частота вращения зависит от температуры. При нормальной температуре (293 К) она равна 0,9 ГГц. Немногочисленные экспериментальные данные показывают, что частота вращения липидной молекулы при обычных условиях (нормальной температуре и нормальном давлении) в воде составляет $\sim 0,1$ ГГц, это меньше величины, рассчитанной авторами. Однако надо отметить, что точных данных именно для данного типа фосфолипидных молекул не существует. Как известно, молекулярный вес играет решающую роль во вращательном движении, к тому же провести экспериментальные измерения отдельно для молекулы с заданным химическим составом затруднительно. Также отметим, что проведенное моделирование фосфолипидной молекулы осуществлено в газовой фазе, т.е. без взаимодействия с молекулами воды. Таким образом, частота 0,9 ГГц является собственной частотой вращения молекулы фосфолипида при данной температуре. При температуре 309 К, отвечающей живым активным системам, собственная частота вращения повышается до 1,2 ГГц.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Глухова О.Е. Изучение механических свойств углеродных нанотрубок стручкового типа на молекулярно-механической модели // Физика волновых процессов и РС. – 2009. – Т. 12, № 1. – С. 69–75.
2. Глухова О.Е. Жесткость Y-образных углеродных нанотрубок при деформации растяжения/сжатия // Нано- и микросистемная техника. – 2009. – № 1. – С. 19–22.
3. Глухова О.Е., Терентьев О.А. Программный продукт «Программа для моделирования наноструктур (Ring)»: свидетельство о государственной регистрации программ для ЭВМ № 2010612881. Зарегистрировано в реестре программ для ЭВМ 28.04.2010 г.
4. Den Otter W.K., Briels W.J. The bending rigidity of an amphiphilic bilayer from equilibrium and nonequilibrium molecular dynamics // Journal of Chemical Physics. – 2003. – Vol. 118. – P. 4712–4720.
5. Den Otter W.K. Free energies of stable and metastable pores in lipid membranes under tension // Journal of Chemical Physics. – 2009. – Vol. 131. – P. 205101–205109.
6. Evans E., Heinrich V., Ludwig F., Rawicz W. Dynamic tension spectroscopy and strength of biomembranes // Biophysical Journal. – 2003. – Vol. 85. – P. 2342–2350.
7. Goetz R., Lipowsky R. Computer simulations of bilayer membranes: Self-assembly and interfacial tension // Journal of Chemical Physics. – 1998. – Vol. 108, No. 17. – P. 7397–7409.
8. Marrink S.J., de Vries A.H., Mark A.E. Coarse grained model for semiquantitative lipid simulations // Journal of Physical Chemistry. – 2004. – Vol. 108. – P. 750–760.
9. Palmer B.J., Liu J. Simulation of micelle self-assembly in surfactant solutions // Langmuir. – 1996. – Vol. 12. – P. 746–753.
10. Smith B., Esselink K., Hilbers P.A.J., van Os N.M., Szleifer I. Computer simulations of surfactant self-assembly // Langmuir. – 1993. – Vol. 9. – P. 9–11.
11. Tomasini M.D., Rinaldi C., Tomassone M.S. Molecular dynamics simulations of rupture in lipid bilayers // Experimental Biology and Medicine. – 2010. – Vol. 235. – P. 181–188.

MOLECULAR DYNAMICS STUDY OF PHOSPHOLIPIDS MOLECULE STRUCTURE AND MOBILITY USING THE COARSE GRAINED MOLECULAR DYNAMICS METHOD

O.E. Glukhova, I.V. Kirillova, G.N. Maslyakova, E.L. Kossovich (Saratov, Russia)

Characteristic features of the phospholipid molecule structure, rigidity and rotary mobility are studied using a coarse grained model. Molecular dynamics method of the special software Ring was utilized during the macromolecule behavior modelling. It was found for the first time that the phospholipid spiral-like structure can be presented as a spring with 27.68 kN/m rigidity. A rotary mobility of the phospholipid molecule is studied. It was established that the molecule is rotating around an axis located at one of its atoms. The rotational frequency depends on the temperature. It equals to 0.9 GHz at the temperature of 293 K and increases up to 1.2 GHz at 309 K.

Key words: phospholipid molecules, structure, rigidity, rotary mobility, molecular dynamics method, coarse grained model.

Получено 20 апреля 2012