ЛИПИДНЫЕ МЕМБРАННЫЕ СИСТЕМЫ С ВКЛЮЧЕНИЯМИ: КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

[1]Рабинович А.Л., [2]Балабаев Н.К.

[1]Институт биологии Карельского научного центра РАН, г.Петрозаводск

[2]Институт математических проблем биологии РАН, г.Пущино

Рассмотрены основные принципы, этапы и вычислительные технологии создания и компьютерного моделирования методом молекулярной динамики нескольких мембранных систем с включениями. Липидные компоненты: молекулы фосфатидилхолинов с насыщенной и ненасыщенной углеводородными цепями (с 1, 2, 3, 4 или 6 двойными связями цис-). Включения в бислои: цилиндрическая полость, молекулы холестерина, грамицидин А. Установлены связи между микроструктурой молекулярных систем и их свойствами.

Биологические мембраны – это молекулярные структуры, ограничивающие внутриклеточное пространство и обеспечивающие его связь с внешней средой. Исследование связи между химическим строением мембран и их физическими свойствами, а также между микроструктурой и равновесными и динамическими физическими свойствами и функциями молекулярных компонентов мембранных систем является одной из фундаментальных задач, поскольку это дает основу для понимания молекулярных механизмов многих биологических процессов, для направленного воздействия на них. Этим определяется актуальность подобных исследований, а также их теоретическая (в фундаментальных научных областях) и практическая (в биотехнологии) ценность.

В общем объеме исследований различных молекулярных структур наряду с экспериментальными работами важнейшее место принадлежит работам теоретическим. Прогресс в теоретических достижениях обусловлен не только усовершенствованием аналитических подходов, возникновением новых концепций и представлений, но и развитием методов имитационного компьютерного моделирования, - таких, как метод молекулярной динамики (МД) и статистических испытаний (Монте-Карло, МК) [1-7]. С помощью компьютерного моделирования удается получить информацию о свойствах молекулярных систем (в том числе и для мембранных структур, см. обзоры [8-16]), уникальную по степени детальности, - информацию, которая подчас едва ли достижима в реальном эксперименте. В настоящее время "полноатомное" компьютерное моделирование затронуло комплексы мембранные структур с биополимерами, а прогресс в развитии компьютерной техники (резкое увеличение быстродействия, объема памяти компьютеров), реализация идеологии параллельных вычислений, позволяют не только постоянно совершенствовать используемые модели, приближая их к реальным объектам, но и обеспечивают компьютерному моделированию все большую универсальность. Оно упрочилось как парадигма, как мощный общепризнанный инструмент исследования явлений живой и неживой природы.

Биологические мембраны чрезвычайно разнообразны, и для понимания молекулярных основ их функционирования требуется знание особенностей структуры, организации и взаимодействия множества компонентов: молекул липидов, белков, углеводов [17, 18]. При всем многообразии и “динамичности” реальных мембран, существуют базовые представления о липидном бислое как важнейшем их структурном элементе [17, 18]. Они образуют вполне конструктивные предпосылки для моделирования разнообразных липидных бислойных кластеров. Значительную долю природных липидов, как известно, составляют ненасыщенные молекулы: углеводородные цепи с двойными связями играют важнейшую роль в функционировании мембран [19]. Экспериментальные данные о свойствах таких липидных молекул и их ансамблей имеются лишь в ограниченном числе случаев. Это повышает актуальность ис-

пользования компьютерного моделирования в качестве средства восполнения пробелов в этих данных.

1. Вычислительные технологии

Реализация методов имитационного моделирования, как правило, порождает ряд сложных вычислительных задач. Если молекулярные системы достаточно велики, то для реализации компьютерных экспериментов требуются не только весьма внушительные вычислительные мощности, но и эффективные алгоритмы.

В настоящей работе методом МД исследован ряд мембранных систем с включениями:

(а) гидратированные липидные бислои, образованные молекулами фосфатидилхолинов (ФХ) различной степени ненасыщенности, и содержащие цилиндрическую полость;

(б) липидные бислои ФХ той же структуры с молекулами холестерина;

(в) липидные бислои ФХ с внедренными молекулами грамицидина А.

При описании этих систем основное внимание в этой работе уделено весьма важному кругу вопросов, связанных с вычислительными технологиями.

Для проведения молекулярно-динамических экспериментов каждую из перечисленных мембранных систем, казалось бы, можно конструировать и затем исследовать независимо, начиная с этапа приготовления начальной конфигурации: задать расчетные ячейки с молекулами липидов, цепи которых специальным образом вытянуты, и разместить между ними соответствующие молекулы внедрения. Однако, одна из важнейших целей настоящего исследования – это выявление разницы в поведении одних и тех же молекул (в данном случае, – молекул липидов) в разных системах, поэтому для сравнения следует обеспечить максимально близкие условия проведения компьютерных экспериментов для всех систем. Одним из элементов технологии соблюдения этих условий является конструирование перечисленных гетерогенных мембранных систем на единой основе, с соблюдением “преемственности”. В качестве базовых систем разумно использовать соответствующие гомогенные липидные бислои. Все параметры структуры молекул и параметры силового поля во всех системах должны быть идентичными. Таким образом, задача исследования свойств любой мембранной системы с включением содержит следующие этапы:

(i) конструирование расчетной ячейки "базового" гомогенного липидного бислоя без включений, релаксация, проведение МД-эксперимента;

(ii) создание заданного количества (одной или нескольких) полостей в ячейке базового липидного бислоя;

(iii) заполнение полостей соответствующими молекулами включения (если необходимо);

(iv) релаксация итоговой мембранной системы, проведение МД-эксперимента.

Базовые системы настоящей работы – это гомогенные бислои, образованные молекулами ненасыщенных липидов: 1-стеароил-2-олеоил-*sn*-глицеро-3-ФХ (18:0/18:1ω9cis ФХ), 1-стеароил-2-линолеоил-*sn*-глицеро-3-ФХ (18:0/18:2ω6cis ФХ), 1-стеароил-2-линоленоил-*sn*-глицеро-3-ФХ (18:0/18:3ω3cis ФХ), 1-стеароил-2-арахидоноил-*sn*-глицеро-3-ФХ (18:0/20:4ω6cis ФХ) и 1-стеароил-2-докозагексаеноил-*sn*-глицеро-3-ФХ (18:0/22:6ω3cis ФХ).

2. Гомогенные гидратированные бислои ненасыщенных фосфатидилхолинов

Расчетная ячейка каждого бислоя ФХ представляла собой прямоугольный параллелепипед с периодическими по осям X, Y и Z (ось Z - нормаль к поверхности бислоя) граничными условиями. Расчетная ячейка содержала 96 липидных молекул данного вида и 2304 молекулы воды (24 молекулы H_2O на одну молекулу липида обеспечивают полную гидратацию); для одного из бислоев она представлена на рис.1. Общее количество атомов в расчетных ячейках перечисленных выше бислоев равно, соответственно, 20352, 20160, 19968, 20352 и 20544. Исходные конфигурации бислоев – кристаллоподобные структуры. Химическое строение молекул ФХ в модели воспроизведено строго, явно учтены все атомы водорода. Потенциальная энергия бислоя, $U_{ФХ}$, была представлена суммами

$$U_{ФХ} = \sum (\sum U_b + \sum U_a + \sum U_t + \sum U_{oop} + \sum\sum U_{vdw} + \sum\sum U_e) + \sum\sum (U_{vdw} + U_e), \qquad (1)$$

где суммирование первых скобок ведется по отдельным молекулам ФХ и воды, а вторых – по всем парам атомов из разных молекул (липидов и воды). Слагаемые энергии $U_{ФХ}$ включают энергию валентных связей каждой молекулы $\sum U_b = \sum K_l \cdot (l - l_0)^2$ и ее валентных углов $\sum U_a = \sum K_\theta \cdot (\theta - \theta_0)^2$; торсионную энергию $\sum U_t = \sum K_\varphi \cdot [1 + \delta \cdot \cos(n_0 \cdot \varphi)]$; энергию неплоских отклонений атомов, примыкающих к двойным связям C=C и C=O, $U_{oop} = \sum K_\phi \cdot [1 - \cos(2\phi)]$; энергию Ван-дер-ваальсовых взаимодействий $\sum\sum U_{vdw} = \sum\sum U_{LJ}(r_{ij}) \cdot W_{vdw}(r_{ij})$,

где $U_{LJ} = 4\varepsilon_{ij} \cdot [(\sigma_{ij}/r_{ij})^{12} - (\sigma_{ij}/r_{ij})^{6}]$ (потенциал Леннард-Джонса), а $W_{vdw}(r_{ij})$ – функция переключения с параметрами R_{on} , R_{off} :

$$W_{vdw}(r_{ij}) = \begin{cases} 1, & r_{ij} \le R_{on} \\ \dfrac{\left(R_{off}^2 - r_{ij}^2\right)^2 \cdot \left(R_{off}^2 - 3R_{on}^2 + 2r_{ij}^2\right)}{\left(R_{off}^2 - R_{on}^2\right)^3}, & R_{on} < r_{ij} < R_{off} \\ 0, & r_{ij} \ge R_{off} \end{cases}$$

и электростатическую энергию $\sum\sum U_e = \sum\sum q_i q_j / (\varepsilon r_{ij}) \cdot W_e(r_{ij})$, где $W_e(r_{ij})$ – экранирующая функция с радиусом R_e ,

$$W_e(r_{ij}) = \begin{cases} (1 - r_{ij}/R_e)^2, & r_{ij} \le R_e \\ 0, & r_{ij} > R_e \end{cases}$$

Здесь l – валентная связь, θ – валентный угол, φ – торсионный угол, ϕ – угол неплоских отклонений; l_0, θ_0 – равновесные валентные связи и углы; K_l , K_θ , K_φ , K_ϕ – силовые постоянные; n_0 – целое число; $\delta = \pm 1$; r_{ij} – расстояние между атомами i и j , разделенными тремя и более валентными связями; ε_{ij} , σ_{ij} – параметры потенциалов Леннард-Джонса для пар атомов i, j. q_i , q_j – парциальные заряды на атомах i, j; ε – диэлектрическая постоянная.

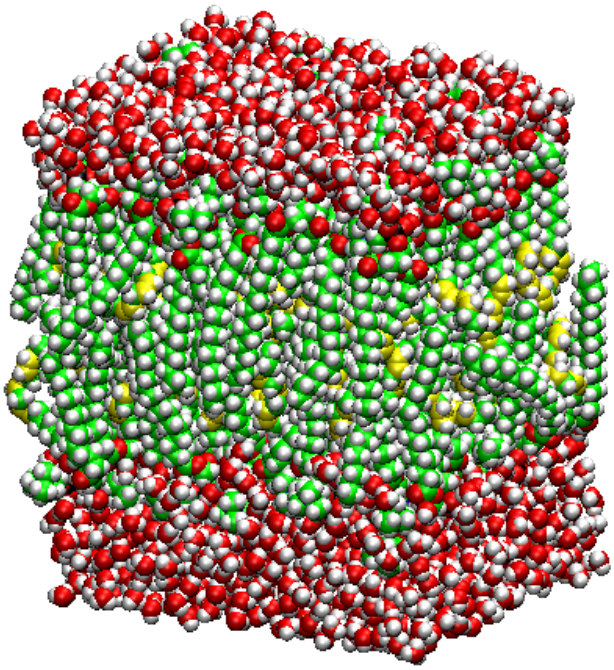

Рис.1. Типичная конформация гидратированного липидного бислоя, образованного молекулами 1-стеароил-2- линоленоил-sn-глицеро-3-ФХ (18:0/18:3ω3cis ФХ), в процессе построения молекулярно-динамической траектории. В одной молекуле 18:0/18:3ω3cis ФХ - 136 атомов, в

расчетной ячейке с периодическими граничными условиями (имеющей форму прямоугольного параллелепипеда) 96 липидных молекул и 2304 молекулы воды. Цвета атомов: зеленый – атом углерода, образующий 4 простых связи; желтый - углерод, образующий двойную связь (C=C или C=O); красный – кислород; бело-серый –водород; черный – фосфор; синий – азот.

Уравнения движения для всех атомов использовали в следующем виде (NPT-ансамбль):

$$\frac{dr_{i,\alpha}}{dt} = v_{i,\alpha} + \chi_\alpha \cdot \beta_p \cdot \left(P_\alpha - P_{\alpha,ref}\right) \cdot r_{i,\alpha} \qquad (2)$$

$$m_i \frac{dv_{i,\alpha}}{dt} = -\frac{\partial U}{\partial r_{i,\alpha}} + \sum_k f_{k,\alpha} \cdot \delta\left(t - t_k\right), \qquad (3)$$

где i = 1, 2, …, N ; N – число атомов, m_i – их массы; α = {X, Y, Z}; $r_{i,\alpha}$, $v_{i,\alpha}$ – координаты и скорости атома i; χ_α , β_p – параметры, P_α – компоненты давления; $P_{\alpha,ref}$ – давление баростата (1 атм.); δ(t) – дельта-функция Дирака, t – время; $U = U_{ФХ}$ – энергия системы. Здесь использован столкновительный термостат [20]: взаимодействие со средой моделировалось импульсными столкновениями атомов системы с виртуальными частицами массы m_0, с силой удара $\vec{f}_k = 2\frac{m_0 m_i}{m_0 + m_i}\left(\vec{v}_0 - \vec{v}_i\right)$, где скорость частицы $v_{0,\alpha}$ выбирается из распределения Гаусса $P\left(\vec{v}_0\right) = \left(\frac{m_0}{2\pi k_B T_{ref}}\right)^{3/2} \cdot \exp\left(-\frac{m_0 \vec{v}_o^2}{2k_B T_{ref}}\right)$, а моменты времени, в которые происходят удары, образуют пуассоновский поток случайных событий, определяемый частотой ударов λ (k_B – постоянная Больцмана). Температура термостата T_{ref} равна 303 К, – это выше экспериментальных значений температур фазового перехода гель – жидкий кристалл для перечисленных ненасыщенных ФХ. Интегрирование уравнений движения проведено с шагом 0.001 пс, запись конфигураций бислоев осуществляли через 0.05 пс (50 шагов), вычисление всех средних характеристик бислоев проведено по расчетным траекториям длиной ~1000 пс (~20000 конфигураций); детали параметризации и МД-имитации описаны в [21, 22].

3. Липидные бислои с цилиндрической полостью

Исследование функционирования кластера мембраны, состоящего из липидной матрицы с включением, тесно связано с общей проблемой изучения взаимодействий в подобных системах. Простейшей моделью включения может служить полость в форме кругового цилиндра. В соответствии с общим подходом, описанным выше (п.1), для создания расчетной ячейки каждого бислоя ФХ с цилиндрической полостью была использована расчетная ячейка соответствующего гомогенного бислоя после его релаксации (см. п.2). Ось цилиндрической полости параллельна оси Z, ее координаты X_{axis}, Y_{axis} . Создание цилиндрической полости в отрелаксированном гомогенном бислое производилось в ходе МД-эксперимента. Была задана энергия взаимодействия каждого атома i молекул липидов и воды с цилиндром, следующего вида:

$$U_{i,R}(r_{i,xy}) = \begin{cases} \varepsilon_{cyl} \cdot \left[\left(\frac{R_{minh}}{r_{i,xy} - R}\right)^{12} - 2 \cdot \left(\frac{R_{minh}}{r_{i,xy} - R}\right)^{6}\right] + \varepsilon_{cyl}, & |r_{i,xy} - R| < R_{minh} \\ 0, & |r_{i,xy} - R| \geq R_{minh} \end{cases} \qquad (4)$$

Здесь $r_{i,xy} = [(x_i - X_{axis})^2 + ((y_i - Y_{axis})^2]^{1/2}$;
x_i , y_i - координаты атома i; R - радиус цилиндра; ε_{cyl} и R_{minh} - параметры потенциала.

Для того, чтобы в отрелаксированном бислое в ходе МД-эксперимента образовалась полость, радиус цилиндра R был задан зависящим от времени:

$$R = R_0 + V_R\, t, \qquad (5)$$

где R_0 - радиус в момент времени t_0 ; R_0 присвоено отрицательное значение: $R_0 = -R_{minh}$;
V_R = Const - "скорость" изменения радиуса, t – время.
Соотношение (5) для R выполнялось вплоть до момента достижения R заданной величины R_{fix} , затем значение R оставалось неизменным, $R=R_{fix}$.

Таким образом, уравнения движения для всех атомов бислоя с полостью имели вид (2)-(3), где энергия $U = U_{ФХ} + \sum U_{i,R}$; суммирование энергий (4) ведется по всем атомам *i* , а энергия $U_{ФХ}$ определяется выражением (1). Внутрь цилиндрической полости радиуса R, которая образуется в итоге, не попадают координаты ни одного атома. Одна из таких систем представлена на рис.2. Все параметры и условия расчета (температура, шаг интегрирования, интервал записи конфигураций) совпадают с соответствующими характеристиками п.2.

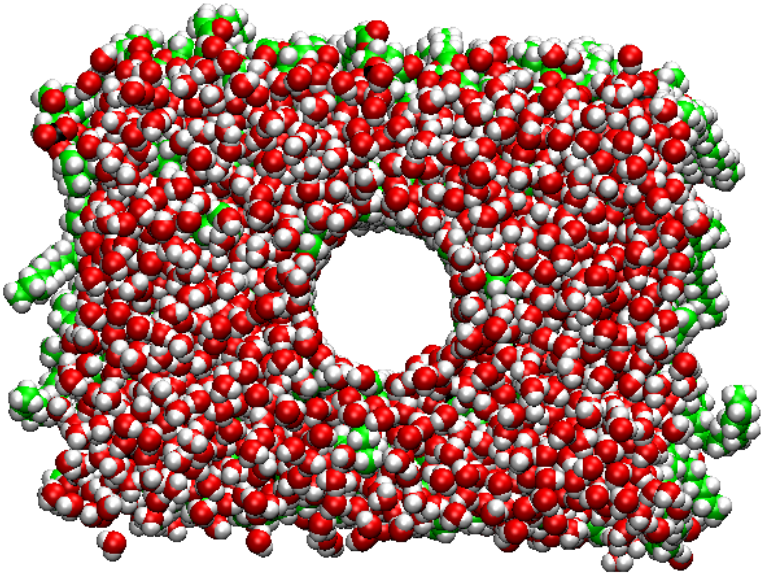

Рис.2. Гидратированный липидный бислой с цилиндрической полостью. Ось цилиндра параллельна нормали к поверхности бислоя. Вид со стороны слоя воды; цвета атомов соответствуют рис.1. Расчетная ячейка с периодическими граничными условиями (96 липидных молекул и 2304 молекулы воды) имеет форму прямоугольного параллелепипеда.

4. Липидные бислои, содержащие молекулы холестерина

Холестерин (рис.3) относится к классу липидов и является типичным, неотъемлемым компонентом биомембран [23]. Он обладает способностью существенно влиять на физико-химические свойства клеточных мембран, поэтому системы с холестерином вызывают большое внимание как экспериментаторов, так и теоретиков [23]. Задача изучения гидратированного бислоя с холестерином методом МД была решена в несколько этапов.

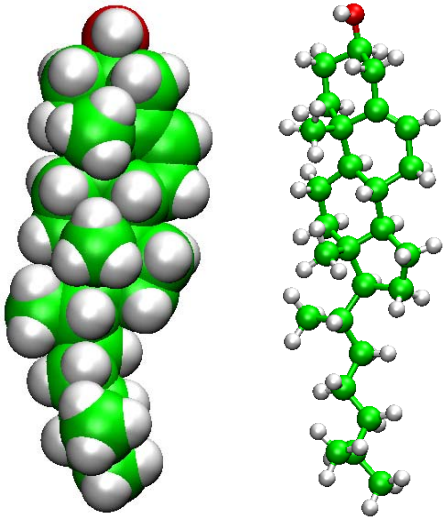

Рис.3. Структура молекулы холестерина (5-холестен-3β-ол): объемная и шаро-стержневая модели.

Как и в п.2, предварительно в ходе МД эксперимента были созданы полости в гомогенном бислое. Форма каждой полости, однако, представляла собой не цилиндр, а сфероцилиндр.
Определение. Цилиндр высоты H и радиуса R, закрытый с двух торцов выпуклыми наружу полусферами того же радиуса R, будем называть *сфероцилиндром*.
Разработана специальная процедура одновременного создания в заданных точках отрелаксированной расчетной ячейки гомогенного липидного бислоя нескольких полостей, имеющих форму сфероцилиндров разных размеров. Оси всех сфероцилиндров предполагаются параллельными оси Z, - нормали к поверхности бислоя. Вычислительная технология состояла в следующем. Пусть $X_{axis}^{(k)}$, $Y_{axis}^{(k)}$ – координаты осей сфероцилиндров, где k = 1, 2, …, p; p - общее количество полостей в бислое; $Z_0^{(k)}$ – координаты центров сфероцилиндров на заданных осях. Была задана энергия $U_{i,hole}^{(k)}$ взаимодействия каждого атома i, входящего в состав молекул липидов и воды, с k-й полостью, имеющей форму сфероцилиндра; ее вид:

$$U_{i,hole}^{(k)} = \begin{cases} U_{i,R}^{(k)}\left(r_{i,xy}^{(k)}\right), & Z_-^{(k)} \le z_i \le Z_+^{(k)} \\ U_{i,R}^{(k)}\left(r_{i,xyz}^{(k)}\right), & z_i < Z_-^{(k)}, \quad z_i > Z_+^{(k)} \end{cases} \tag{6}$$

где

$$U_{i,R}^{(k)}(r) = \begin{cases} \varepsilon_{hole}^{(k)} \cdot \left[\left(\dfrac{R_{minh}^{(k)}}{r - R^{(k)}} \right)^{12} - 2 \cdot \left(\dfrac{R_{minh}^{(k)}}{r - R^{(k)}} \right)^{6} \right] + \varepsilon_{hole}^{(k)}, & |r - R^{(k)}| < R_{minh}^{(k)} \\ 0, & |r - R^{(k)}| \ge R_{minh}^{(k)} \end{cases} \tag{7}$$

Аргументом r функции $U_{i,R}^{(k)}(r)$ является $r_{i,xy}^{(k)}$ для цилиндрической части сфероцилиндра и $r_{i,xyz}^{(k)}$ – для обеих полусфер на торцах цилиндра. Здесь

$r_{i,xy}^{(k)} = \left[\left(x_i - X_{axis}^{(k)} \right)^2 + \left(y_i - Y_{axis}^{(k)} \right)^2 \right]^{1/2}$ – расстояние от *i*-го атома до оси k-го сфероцилиндра;

$$r_{i,xyz}^{(k)} = \left[\left(x_i - X_{axis}^{(k)} \right)^2 + \left(y_i - Y_{axis}^{(k)} \right)^2 + \left(z_i - Z_{\pm}^{(k)} \right)^2 \right]^{1/2}$$

- расстояния от i-го атома до центра первой или второй полусфер k-го сфероцилиндра, соответственно; x_i, y_i, z_i - координаты *i*-го атома (входящего в состав молекул липидов и воды); $R^{(k)}$ - радиус k-го сфероцилиндра;

$\varepsilon_{hole}^{(k)}$ и $R_{minh}^{(k)}$ - параметры потенциала для k-го сфероцилиндра;

$Z_{-}^{(k)}$, $Z_{+}^{(k)}$ - минимальная и максимальная координаты высоты цилиндрической части k-го сфероцилиндра вдоль оси Z (координаты высоты k-го сфероцилиндра):

$Z_{-}^{(k)} = Z_0^{(k)} - H^{(k)}/2$, $Z_{+}^{(k)} = Z_0^{(k)} + H^{(k)}/2$,

где $H^{(k)}$ – высота k-го сфероцилиндра.

Для создания полостей в гомогенном бислое радиусы $R^{(k)}$ и высоты $H^{(k)}$ сфероцилиндров в ходе МД эксперимента были заданы зависящими от времени. Использованы следующие соотношения ((8) и (9)):

$$R^{(k)} = R_0^{(k)} + V_R^{(k)} \cdot t \qquad (8)$$

где $R_0^{(k)}$ - радиус в момент времени t_0 , причем, $R_0^{(k)} = -R_{minh}^{(k)}$;

$V_R^{(k)}$ = Const > 0 - "скорость" изменения радиуса; t – время; и

$$H^{(k)} = H_0^{(k)} + V_H^{(k)} \cdot t, \qquad (9)$$

где $H_0^{(k)}$ – высота k-го сфероцилиндра в момент времени t_0 ;

$V_H^{(k)}$ = Const > 0 - "скорость" ее изменения.

Соотношения (8) и (9) для всех сфероцилиндров выполнялись лишь до момента достижения величинами $R^{(k)}$ и $H^{(k)}$ заданных максимальных значений $R_{fix}^{(k)}$ и $H_{fix}^{(k)}$ соответственно. Использование указанной методики позволило избежать чрезмерно больших сил отталкивания на начальном этапе процесса образования полостей.

В итоге энергия взаимодействия U_{hole} всех атомов i бислоя со всеми полостями k, образованными в нем, равна

$$U_{hole} = \sum_k \sum_i U_{i,hole}^{(k)} \qquad (10)$$

В процессе создания и релаксации мембранной системы со сфероцилиндрическими полостями в уравнениях движения (2) и (3) фигурировала энергия $U = U_{ФХ} + U_{hole}$, где $U_{ФХ}$ – энергия гомогенного бислоя (1), а U_{hole} - энергия (10).

Следующий этап вычислительной технологии, – заполнение полостей молекулами холестерина. Молекула холестерина была сконструирована строго в соответствии с ее химической структурой. Для обеспечения лучшего соответствия формы внедряемых молекул форме подготовленных полостей иногда необходима процедура сжатия внедряемых молекул. Эту процедуру проводили в отдельных МД-экспериментах. Были заданы такие исходные радиусы $R_0^{(k)}$ и высоты $H_0^{(k)}$ изолированных сфероцилиндров, чтобы внедряемые молекулы могли быть помещены внутрь целиком. Соотношения (6) и (7) при этом определяют энергию взаимодействия с полостью каждого атома *i* молекулы, находящейся внутри полости. В процессе этих МД-экспериментов были использованы соотношения (8) и (9), в которых "скорости" изменения размеров сфероцилиндров отрицательны: $V_R^{(k)}$ = Const < 0, $V_H^{(k)}$ = Const < 0, вплоть до момента достижения величинами $R^{(k)}$ и $H^{(k)}$ надлежащих значений $R_{fix}^{(k)}$ и $H_{fix}^{(k)}$, соответственно. В образованные полости были помещены молекулы холестерина (концентрация 4 мол%). Для поддержания имеющейся степени гидратации системы (24 молекулы воды на каждую молекулу липида) одна из полостей была заполнена 96 молекулами воды.

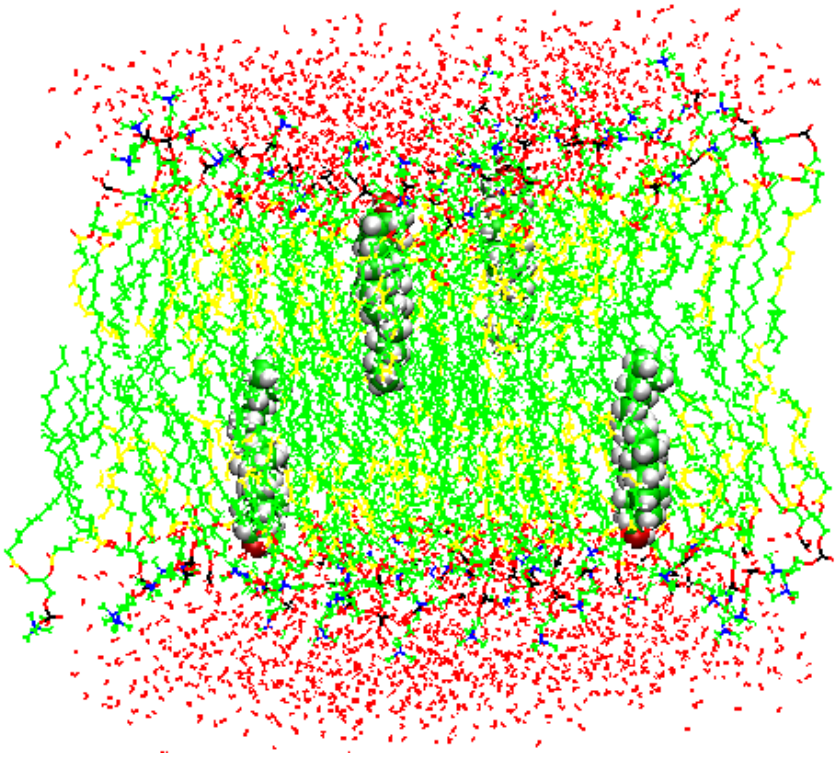

Рис.4. Расчетная ячейка липидного бислоя 18:0/20:4 ФХ с холестерином: 96 молекул липидов, 4 молекулы холестерина, 2400 молекул воды, - всего 20936 атомов. Молекулы липидов и воды представлены с помощью проволочной модели, молекулы холестерина – объемной.

Заключительный этап данной технологии – релаксация системы и проведение МД-эксперимента согласно уравнениям (2)-(3). На этом этапе энергия системы *U* из (3) была представлена совокупностью сумм, по внешнему виду точно совпадающей с выражением (1),

$$\sum (\sum U_b + \sum U_a + \sum U_t + \sum U_{oop} + \sum\sum U_{vdw} + \sum\sum U_e) + \sum\sum (U_{vdw} + U_e),$$

где суммирование первых скобок теперь ведется по отдельным молекулам не только липидов (ФХ) и воды, но и холестерина, а вторых - по всем парам атомов из разных молекул: липидов, холестерина и воды. В расчетной ячейке каждой такой системы содержится 96 молекул ФХ, 4 молекулы холестерина и 2400 молекул воды. Формально дальнейшая процедура МД-эксперимента не отличается от таковой для гомогенного липидного бислоя. На рис.4 представлена итоговая расчетная ячейка одного из липидных бислоев с молекулами холестерина.

5. Липидные бислои с димером грамицидина А

Пептидный антибиотик грамицидин А является одним из наиболее известных "каналов" (т.е. каналообразующих молекул) в мембранах. Поскольку этот пентадекапептид является сравнительно небольшим, он может служить модельной системой для изучения принципов ионного транспорта через мембранную систему, который в природе может осуществляться и намного более сложными биологическими макромолекулярными структурами [24]. В фосфолипидном бислое грамицидин А принимает конформацию димера из сочлененных торцами β-спиралей, образуя в итоге узкую пору порядка 0.4 нм в диаметре, рис.5.

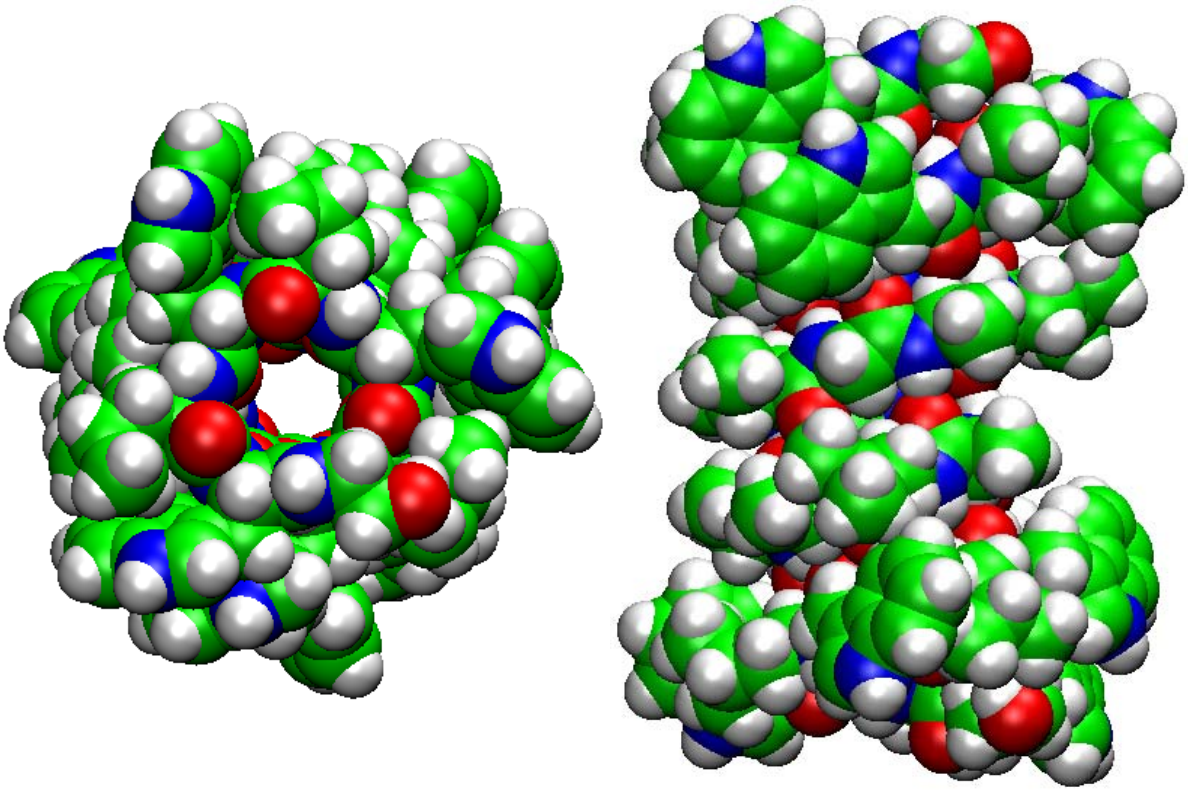

Рис.5. Канал, образованный димером из β-спиралей молекул грамицидина А.

Все технические детали конструирования данной молекулярной системы и осуществления МД-моделирования, с формальной точки зрения, уже рассмотрены выше. Действительно, основные этапы этой процедуры включают (i) создание цилиндрической полости в гомогенном липидном бислое, ось которой параллельна нормали к его поверхности (это описано в п.3), и (ii) заполнение полости димером грамицидина А, поперечные размеры которого приведены к размерам радиуса образованной цилиндрической полости. Корректировка размеров молекулы грамицидина А была проведена с помощью технологии сжатия в изолированной цилиндрической полости; эта технология вполне аналогична описанной в п.4 для сжатия произвольной молекулы полостью в форме сфероцилиндра. Затем на цилиндр с молекулой грамицидина А, ограниченный по оси Z размером расчетной ячейки данного бислоя, накладывался кристалл воды, после чего удалялись те молекулы воды, которые стерически перекрывались хотя бы с одним из атомов грамицидина А, или находились вне цилиндра. Итоговый цилиндр с макромолекулой грамицидина А был совмещен с цилиндрической полостью бислоя. На этапе релаксации методом МД энергия U бислоя с молекулой грамицидина А была представлена совокупностью сумм, совпадающей по внешнему виду с выражением (1):

$$\sum (\sum U_b + \sum U_a + \sum U_t + \sum U_{oop} + \sum\sum U_{vdw} + \sum\sum U_e) + \sum\sum (U_{vdw} + U_e).$$

Суммирование первых скобок ведется теперь по отдельным молекулам липидов, грамицидина А и воды, а вторых - по всем парам атомов, но из разных молекул. Процедура релаксации и МД-эксперимента с использованием уравнений (2), (3) формально совпадает с описанной в п.2 для гомогенного липидного бислоя. Итоговая система для одного из липидных бислоев с грамицидином А представлена на рис.6.

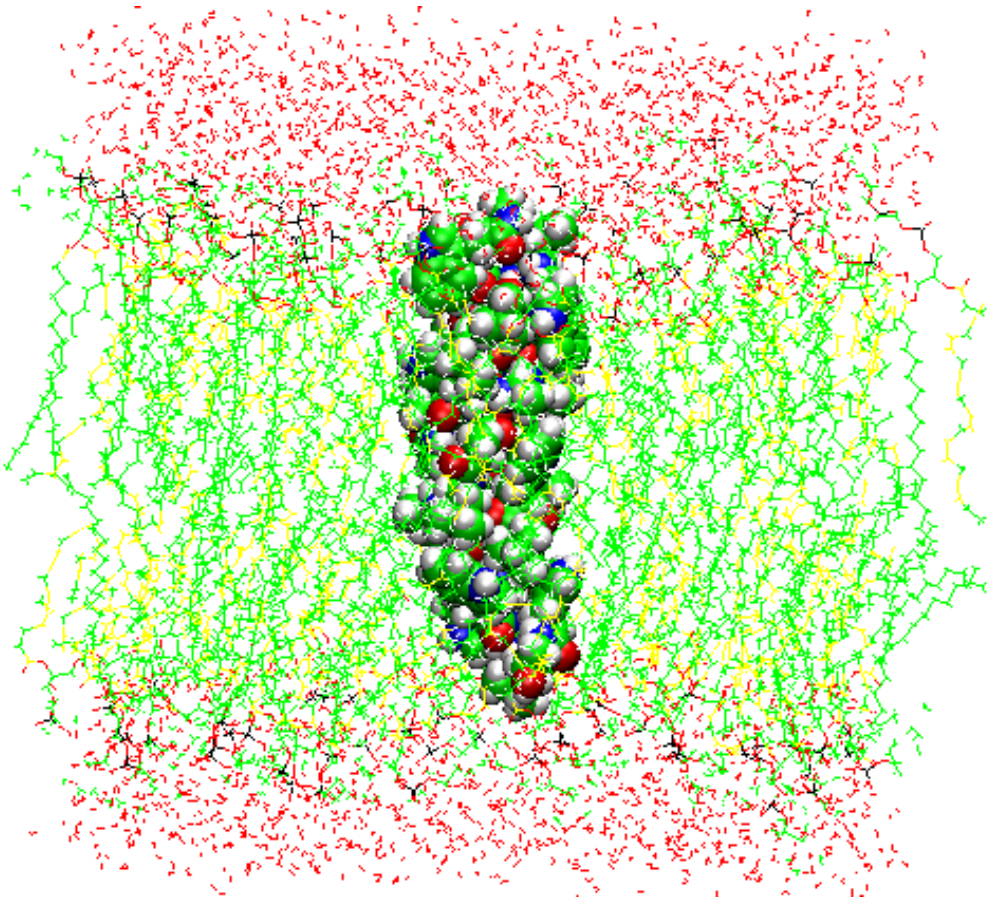

Рис.6. Гидратированный липидный бислой 18:0/22:6 ФХ с димером грамицидина А. Расчетная ячейка содержит 21550 атомов. Молекулы липидов и воды представлены с помощью проволочной модели, грамицидин А – объемной.

Использование описанных выше вычислительных технологий и проведение ряда компьютерных экспериментов с мембранными системами, в состав которых входят липиды разной степени ненасыщенности, позволило получить данные о свойствах различных молекулярных компонентов, о свойствах липидных молекул аннулярных слоев, важная роль которых неоднократно отмечалась ранее [19, 21].

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 03-03-32229) и гранта НШ-894.2003.4.

Литература

1. *Allen M.P., Tildesley D.J.* Computer Simulation of Liquids. Oxford: Clarendon Press, 1987.
2. *Sadus R.J.* Molecular Simulations of Fluids. Theory, Algorithms and Object-Orientation. Amsterdam: Elsevier, 1999.
3. Метод молекулярной динамики в физической химии. Ред. *Ю.К. Товбин*. М.: Наука, 1996.
4. *Биндер К., Хеерман Д.В.* Моделирование методом Монте-Карло в статистической физике. М.: Наука, 1995.
5. Monte Carlo and Molecular Dynamics Simulations in Polymer Science. Ed. *Binder K.*, N.Y.: Oxford University Press, Oxford, 1995.
6. *Frenkel D., Smit B.* Understanding Molecular Simulation. From Algorithms to Applications. San Diego: Academic Press, 1996.
7. *Ермаков С.М., Михайлов Г.А.* Статистическое моделирование. М.: Наука, 1982.
8. *Pastor R.W.* Molecular dynamics and Monte Carlo simulations of lipid bilayers // Curr. Opin. Struct. Biol. 1994. V.4. pp.486-492.

9. *Damodaran K.V., Merz K.M.*, Jr. Computer Simulation of Lipid Systems. In: Reviews in Computational Chemistry. V.5. Lipkowitz K.B. and Boyd D.B., eds. VCH Publ., Inc. N.Y., 1994. pp.269-298.
10. *Tobias D.J., Tu K., Klein M.L.* Atomic-scale molecular dynamics simulations of lipid membranes // Current Opinion in Colloid & Interface Science. 1997. V.2. pp.15-26.
11. *Tieleman D.P., Marrink S.J., Berendsen H.J.C.* A computer perspective of membranes: molecular dynamics studies of lipid bilayer systems // Biochimica et Biophysica Acta. 1997. V.1331. pp.235-270.
12. *Merz K.M.*, Jr. Molecular dynamics simulations of lipid bilayers //Current Opinion in Structural Biology. 1997. V.7. pp.511-517.
13. *Feller S.E.* Molecular dynamics simulations of lipid bilayers // Current Opinion in Colloid & Interface Science. 2000. V.5. pp.217-223.
14. *Forrest L.R., Sanson M.S.P.* Membrane simulations: bigger and better? // Current Opinion in Structural Biology. 2000. V.10. pp.174-181.
15. *Tobias D.J.* Membrane simulations In: Computational Biochemistry and Biophysics. Eds. Becker O.H. MacKerell A.D., Jr., Roux B., Watanabe M. Dekker, N.Y. 2000.
16. *Saiz L., Klein M.L.* Computer simulation studies of model biological membranes // Accounts of Chemical Research. 2002. V.35. No.6. pp.482-489.
17. *Lehninger A.L., Nelson D.L., Cox M.M.* Principles of Biochemistry. N.Y.: Worth Publ., 1993.
18. *Геннис Р.* Биомембраны: Молекулярная структура и функции. М.: Мир, 1997.
19. *Рабинович А.Л., Рипатти П.О.* Полиненасыщенные углеводородные цепи липидов: структура, свойства, функции // Успехи современной биологии. 1994. Т.114. № 5. С.581-594.
20. *Lemak A. S., Balabaev N. K.* A comparison between collisional dynamics and Brownian dynamics // Molecular Simulation. 1995. V.15. pp.223-231.
21. *Rabinovich A.L., Ripatti P.O., Balabaev N.K., Leermakers F.A.M.* Molecular dynamics simulations of hydrated unsaturated lipid bilayers in the liquid-crystal phase and comparison to self-consistent field modeling // Physical Review E. 2003. V.67. No.1. pp.011909_1 - 011909_14.
22. *Рабинович А.Л., Рипатти П.О., Балабаев Н.К.* Компьютерное моделирование гидратированных бислоев ненасыщенных фосфатидилхолинов // Журнал физической химии. 2004. Т.78. №7. С.1160-1165.
23. *Ohvo-Rekila H., Ramstedt B., Leppimaki P., Slotte J.P.* Cholesterol interactions with phospholipids in membranes // Progress in Lipid Research. 2002. V.41. pp.66-97.
24. *Roux B.* Computational studies of the gramicidin channel // Accounts of Chemical Research. 2002. V.35. No.6. pp.366-375.