

УДК 539.1

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ, ДИФФУЗИИ И ПРОНИЦАЕМОСТИ ПО ОТНОШЕНИЮ К ЛИГАНДАМ ДЛЯ БИОМЕМБРАН С РАЗЛИЧНЫМ ЛИПИДНЫМ СОСТАВОМ

© 2008 г. К. В. Шайтан<sup>1</sup>, М. Ю. Антонов<sup>1,2</sup>, Е. В. Турлей<sup>1</sup>, О. В. Левцова<sup>1</sup>,  
К. Б. Терёшкина<sup>1</sup>, И. Н. Николаев<sup>2</sup>, М. П. Кирпичников<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991 Москва, Ленинские горы, электронная почта: shaitan@moldyn.org, mikhail@moldyn.org, yegor@moldyn.org,

<sup>2</sup>Якутский государственный университет им. М.К. Аммосова, 677000 г. Якутск, ул. Белинского, 58, электронная почта: n\_ivan\_n@mail.ru

Поступила в редакцию 21.08.2007 г.

Методом молекулярной динамики проведено сравнительное изучение липидных бислоев различного состава. Использован метод управляемой молекулярной динамики для оценки кинетических параметров и проникновения малых молекул разной химической природы через биомембраны. В рамках единого протокола молекулярного моделирования обсуждается соответствие результатов численного эксперимента с данными по структуре биомембран, коэффициентам латеральной диффузии и сравнительной проницаемости мембран для различных лигандов.

Структурные и кинетические свойства биологических мембран играют важную роль в организации различных клеточных процессов [1]. Молекулярная динамика (МД) биомембранных структур представляет значительный интерес как в связи с развитием молекулярных и мембранных технологий [2], так и благодаря тем уникальным возможностям детализации и визуализации молекулярных процессов в достаточно сложно организованных структурах, которые предоставляет современный численный эксперимент [3–5]. Особенно это касается микроскопической картины массопереноса в сильно анизотропных структурированных средах, диффузионных процессов на границе водной и мембранной фаз, формирования и релаксации неравновесных гетерофазных структур [6, 7].

Следует отметить, что исследование методом МД в мембранах [8, 9] зачастую сталкивается со значительными сложностями. Молекулярные модели мембранных систем содержат не менее  $10^4$  атомов, и в полноатомном силовом поле расчет траектории даже длиной порядка 100 нс является весьма трудоемким. С другой стороны, характерные времена пассивного транспорта составляют порядка микросекунд. В связи с этим необходимо развитие таких методов численного эксперимента, которые позволяли бы получать информативный результат за разумное время. Имеется несколько подходов к этой проблеме. Относительно простые модели виртуальной гидрофобной среды [10, 11] позволяют достаточно быстро оценить влияние фактора гидрофобности на возможные структурные изменения молекул на границе фаз. При этом,

как правило, теряется информация о вкладе кулоновских взаимодействий мембранной структуры с лигандами. Использование огрубленных моделей липидного слоя (coarse-grained [12]) позволяет также сократить время получения результата. Однако даже более детальные тяжелоатомные модели липидного бислоя не дают надежных данных для кинетических коэффициентов [13, 14]. Конечно, почти любую модель для конкретной структуры можно откалибровать таким образом, что некоторые расчетные параметры будут соответствовать экспериментальным значениям. При этом остается открытым вопрос об универсальности разработанного протокола молекулярного моделирования при переходе к другим структурам. В ряде предыдущих работ по динамике гидратированного бислоя 1-пальмитоил-2-олеоил-*sn*-глицеро-3-фосфатидилхолина (ПОФХ) был разработан протокол молекулярного моделирования на основе полноатомного силового поля Amber 1999 [15], который дает удовлетворительные результаты как для основных структурных, так и кинетических параметров. При этом важным условием является приготовление системы в состоянии, которое характеризуется равновесными распределениями флуктуаций основных макропараметров (температуры, объема, давления) [16, 17]. В данной работе расширяется набор мембранных структур, изучаемых с использованием этого подхода. Отметим, что используемые значения латерального давления согласуются с данными [18].

Ниже на примере трех типов распространенных липидов и образуемых ими бислоев прослеживаются закономерности в структуре и динамике

мембран по составу близких к биомембранам высших организмов. При этом рассматривается также задача проницаемости биомембран для низкомолекулярных лигандов, встречающихся в тканевых жидкостях. Экспериментальной информации о физических деталях этих процессов относительно немного, хотя известно достаточно много данных в том числе об относительно легко и трудно проникающих молекулах [19]. Для сравнительного изучения проницаемости мембран по отношению к этим лигандам в данной работе используется метод управляемой (направленной) МД [16, 17, 20, 21]. Суть метода состоит во включении внешнего воздействия на лиганд и направлении эволюции системы по определенному сценарию. Это позволяет наблюдать трансмембранный транспорт даже на сравнительно коротких по длине траекториях и дает возможность оценить количественные характеристики параметров, характеризующих перенос лигандов.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе изучались модели липидных бислоев мембран, состоящих из следующих липидов в различных пропорциях: 1-пальмитоил-2-олеоил-*sn*-глицеро-3-фосфатидилхолин, 1,2-дипальмитоил-*sn*-глицеро-3-фосфатидилхолин (ДПФХ), 1,3-(1-стеароил-2-пальмитоил-*sn*-глицеро-3-фосфатидил)глицерин (кардиолипин, КЛ). Для расчета траекторий использовался пакет молекулярной динамики PUMA [22, 23], для решения классических уравнений – алгоритм Верле с потенциальным полем Amber 1999 [15].

Проводились расчеты для трех гидратированных бислоев, содержащих: 8 молекул КЛ, 16 – ПОФХ, 16 – ДПФХ (система I); 30 молекул ПОФХ, 30 – ДПФХ (система II); 64 молекулы ПОФХ (система III). Использовались периодические граничные условия. Начальная структура бислоя соответствовала перпендикулярному положению оси наибольшей протяженности молекул липидов относительно плоскости мембраны. Молекулы липидов предварительно поворачивались вокруг своей длинной оси на случайный угол. На молекулу липида приходилось 34–43 молекулы растворителя (для большинства липидов величиной полной гидратации считается не менее 27 молекул воды на липид [24]). В стартовой конфигурации молекулы воды помещались на расстоянии не менее 2.3 Å от крайних атомов мембраны. Система изначально приготавливалась в молекулярном конструкторе так, чтобы удельная площадь, приходящаяся на молекулу липида, соответствовала экспериментальным данным [25–30] и составляла в течение расчета для ПОФХ 62–68 Å<sup>2</sup>, для ДПФХ 59–62 Å<sup>2</sup> для КЛ 100–120 Å<sup>2</sup>. В случае бислоев из разных липидов удельная площадь вычислялась как среднее

**Таблица 1.** Величина латерального давления в системах

Система	Средняя удельная площадь, Å <sup>2</sup>	Латеральное давление, бар
I	78.0 ± 5.5	–242
II	65.4 ± 1.5	–300
III	66.8 ± 3.7	–265

арифметическое площадей участвующих липидов согласно их концентрации.

Парциальные заряды и силовые константы для молекул липидов вычислялись в соответствии с процедурой, описанной в [16]. Отрицательный заряд молекулы кардиолипина (–2) компенсировался добавлением в воду ионов натрия. Использовалась модель воды TIP3P, в которой валентные связи и углы не фиксировались. Ван-дер-ваальсовы взаимодействия вычислялись с применением специальной сглаживающей (переключающей) функции, а кулоновский потенциал умножался на специальную экранирующую функцию, как это описано, например, в [16]. Радиус обрезания кулоновских взаимодействий составлял от 16 до 20 Å в зависимости от типа мембраны. Константа диэлектрической проницаемости полагалась равной единице. Шаг численного интегрирования – 1 фс.

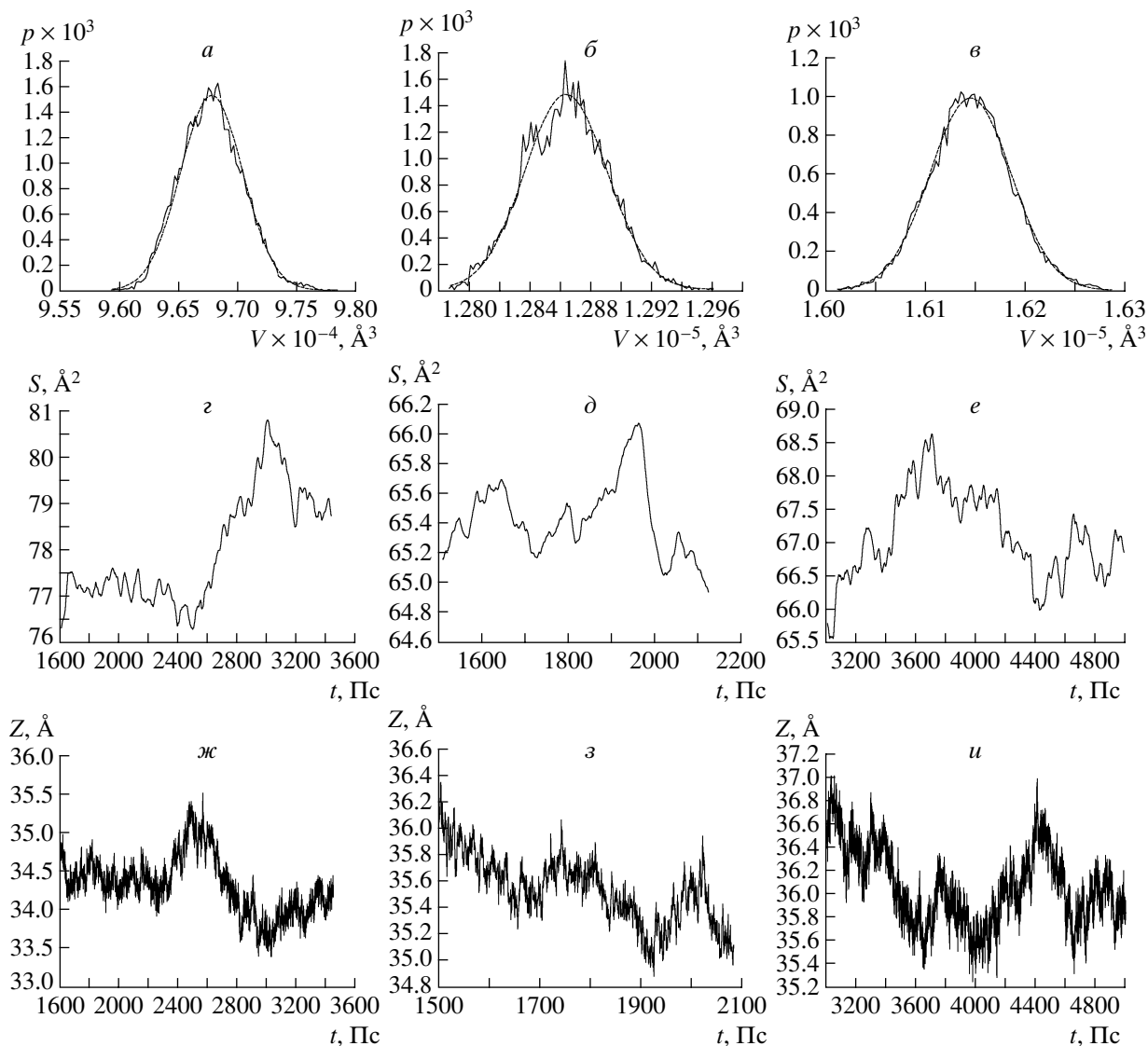
Расчет проводился с периодическими граничными условиями при постоянной температуре и при условии постоянного давления (*NPT*-ансамбль). Баростатирование осуществлялось баростатом Берендсена с одинаковым для всех направлений временем релаксации, равным 100 пс. Для учета эффектов поверхностного натяжения бислоя и поддержания удельной площади, приходящейся на липид в составе бислоя, соответствующей экспериментальным данным [25–30], латеральная компонента давления баростата бралась отрицательной [31]. Температура поддерживалась равной 300 К с помощью столкновительной среды (столкновительного термостата [23]). Средняя частота столкновений виртуальных частиц составляла 10 пс<sup>–1</sup>, масса частиц 1 а.е.м.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе эксперимента проводилась релаксация бислоя в течение 200–500 пс при температуре 500 К. Затем проводился набор рабочего участка МД траектории в течение не менее 2 нс.

При изучении динамики к системам прилагалось отрицательное латеральное давление (табл. 1), необходимое для поддержания средней удельной площади на начальном уровне.

На рис. 1а–в приведены плотности вероятности флуктуаций объема расчетной ячейки для рассматриваемых систем. Видно, что плотность вероятности флуктуаций объема расчетной ячейки



**Рис. 1.** Параметры расчетной ячейки, *a–в* – плотность вероятности значений объема расчетной ячейки, и гауссовская аппроксимация кривой; *г–е* – флуктуации удельной площади приходящейся на молекулу липида; *ж–и* – флуктуации толщины бислоя для систем I–III соответственно.

имеет вид Гауссова распределения. Согласно теории термодинамических флуктуаций Эйнштейна, плотность вероятности равновесных флуктуаций объема  $p(\Delta V)$  задается гауссовым распределением:

$$p(\Delta V) = A_V e^{-\frac{(\Delta V)^2}{2\langle \Delta V^2 \rangle}},$$

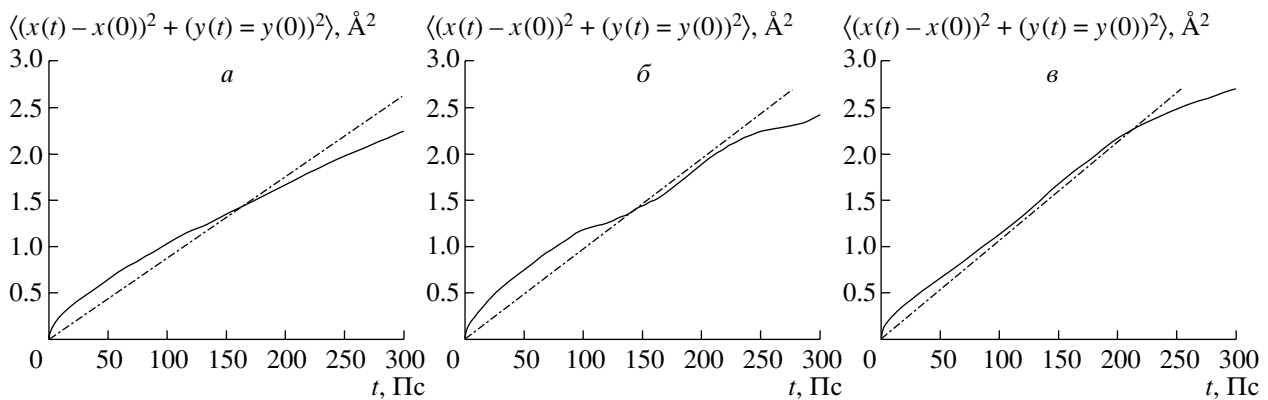
символом  $\langle \rangle$  здесь обозначена операция взятия среднего,  $A_V$  – нормировочный множитель,  $\langle \Delta V^2 \rangle = k_b T V \chi_T$  – дисперсия,  $\chi_T$  – коэффициент изотермического сжатия системы. Таким образом, вычислив значение  $\langle \Delta V^2 \rangle$ , становится возможным определить значение  $\chi_T$  (табл. 2). Согласно [32],  $\chi_T$  липидных мембран лежит в диапазоне от  $1 \cdot 10^{-10}$  до

$6 \cdot 10^{-10} \text{ Па}^{-1}$ . Полученные значения  $\chi_T$  находятся в разумных пределах.

Толщина мембраны на рис. 1*ж–и* определяется как расстояние между атомами фосфора в соседних монослоях. Средние значения толщины мембран приведены в табл. 2.

На рис. 2 показан средний квадрат смещения липида ПОФХ в различных системах, а также его линейная аппроксимация. Коэффициент латеральной диффузии липидов  $D_{xy}$  определяется через коэффициент линейной аппроксимации зависимости:

$$\langle (x(t+\tau) - x(t))^2 + (y(t+\tau) - y(t))^2 \rangle = 4D_{xy}t,$$



**Рис. 2.** Средний квадрат смещения геометрического центра липида ПОФХ в плоскости бислоя и его линейная аппроксимация в системах I (а), II (б), III (в).

где в угловых скобках находится квадрат отклонения центра масс липида в плоскости бислоя. Усреднение проводилось по всем липидам каждого типа.  $0 < t < T - \tau$  пс,  $0 < \tau < 300$  пс, где  $T$  – длина рабочего участка траектории.

Вычисленные значения  $D_{xy}$  (табл. 3) близки к данным по квазиупругому рассеянию нейтронов на бислоях ДПФХ ( $1 \cdot 10^{-7}$  см<sup>2</sup>/с [33]) и диолеилфосфатидилхолина ( $2 \cdot 10^{-7}$  см<sup>2</sup>/с, [34]). Результаты импульсного ЯМР для бислоев ПОФХ дают значения  $2.0 \cdot 10^{-7}$  см<sup>2</sup>/с при 298 К и  $2.5 \cdot 10^{-7}$  см<sup>2</sup>/с при 303 К [35]. Отметим, что сравнение результатов, полученных на временах менее 1 нс, наиболее корректно именно с данными по рассеянию нейтронов [36].

**Таблица 2.** Вычисленные значения удельной площади, толщины бислоя и коэффициентов изотермического сжатия

Система	Среднее значение толщины мембраны, Å	$\chi_T, \text{Па}^{-1}$
I	$34.33 \pm 0.39$	$1.7 \times 10^{-10}$
II	$35.54 \pm 0.25$	$1.4 \times 10^{-10}$
III	$36.06 \pm 0.32$	$2.1 \times 10^{-10}$

**Таблица 3.** Вычисленные значения коэффициентов латеральной диффузии

Система	Липид	$D_{xy}, \text{см}^2/\text{с}$	Экспериментальные значения, см <sup>2</sup> /с
I	ПОФХ	$(2.2 \pm 0.3) \times 10^{-7}$	–
I	ДПФХ	$(2.2 \pm 0.5) \times 10^{-7}$	–
I	КЛ	$(2.0 \pm 0.3) \times 10^{-7}$	–
II	ПОФХ	$(2.4 \pm 0.6) \times 10^{-7}$	–
II	ДПФХ	$(2.6 \pm 0.7) \times 10^{-7}$	$1 \times 10^{-7}$ * [33]
III	ПОФХ	$(2.6 \pm 0.5) \times 10^{-7}$	$(2.0-2.5) \times 10^{-7}$ [35]

\* Значение приведено для монолипидного бислоя.

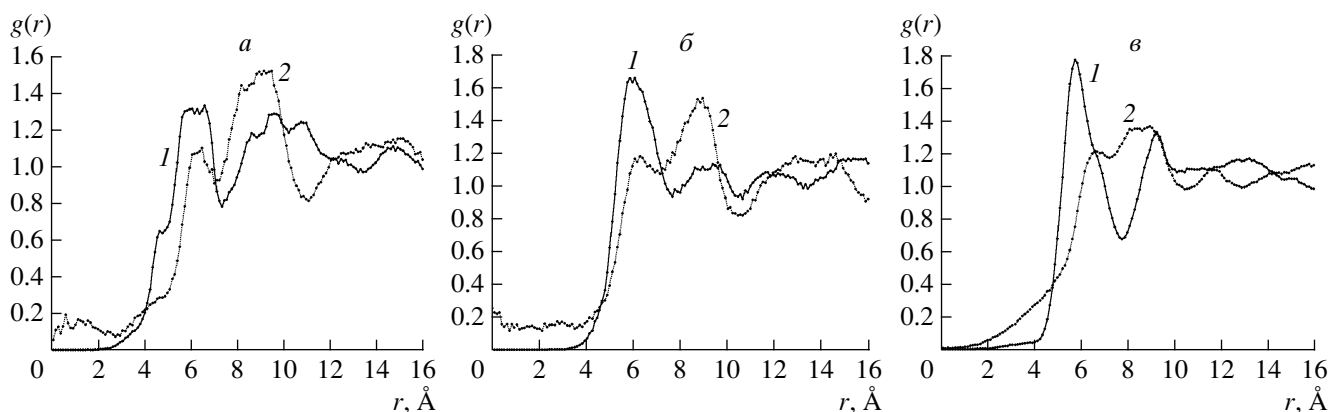
Диффузия на больших временах затрагивает более крупномасштабные перестройки в структуре мембраны (более 10 Å), и коэффициенты диффузии, измеренные флуоресцентными методами, оказываются в 2–3 раза ниже [37]. Прямое сравнение здесь также затруднительно, так как сама метка (типа родамина) может тормозить перемещение липида.

Латеральная подвижность липидов слабо, но систематически убывает в ряду ДПФХ–ПОФХ–КЛ в соответствии добавлением двойной цис-связи (в случае ПОФХ) и увеличением объема молекулы (в случае ПОФХ и КЛ). С другой стороны, малая чувствительность коэффициента латеральной диффузии к структуре липида показывает, что механизм диффузии заключается не в смещении молекулы липида как целого, а в поэтапном и мелко-масштабном смещении отдельных звеньев.

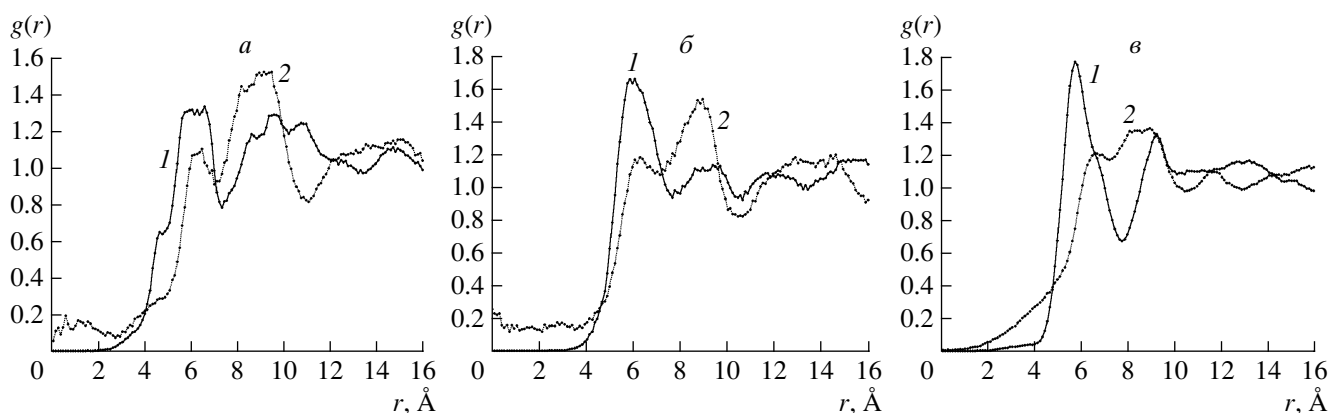
Наблюдается также согласование моделей бислоев и по другим важным параметрам. В первую очередь это касается функций распределения по нормали к мембране усредненных электронной плотности и плотности атомных групп. Аналогичные зависимости вычислялись, в частности, для ДПФХ [38], диолеилфосфатидилхолиновых [39] и ПОФХ [28] мембран. На рис. 3 представлены распределения электронной плотности для мембран с разным липидным составом.

В работе изучали также радиальные функции распределения атомов  $g(r)$  в плоскости мембраны, которые определяют вероятность нахождения атома определенного типа на заданном расстоянии от другого атома в проекции на плоскость мембраны. Число атомов  $dN$ , находящихся в круговом слое площадью  $dS$  и толщиной  $dr$  на расстоянии  $r$  от центрального атома ( $N$  – общее число атомов данного типа) связано с  $g(r)$  формулой

$$dN = Ng(r) \frac{dS}{S} = \frac{N}{S} g(r) 2\pi r dr.$$



**Рис. 3.** Распределение электронной плотности в системе I (а), II (б), III (в). 1 – система в целом, 2 – вода, 3 – липид, 4 – липидные головы, 5 – атомы азота, 6 – атомы фосфора, 7 – HC=CH-группы, 8 – CH<sub>2</sub>-группы алкильных цепей, 9 – концевая CH<sub>3</sub>-группа алкильных цепей.



**Рис. 4.** Радиальные функции распределения атомов азота и фосфора в плоскости мембраны в системе I (а), II (б), III (в). 1 – P-P, 2 – N-N.

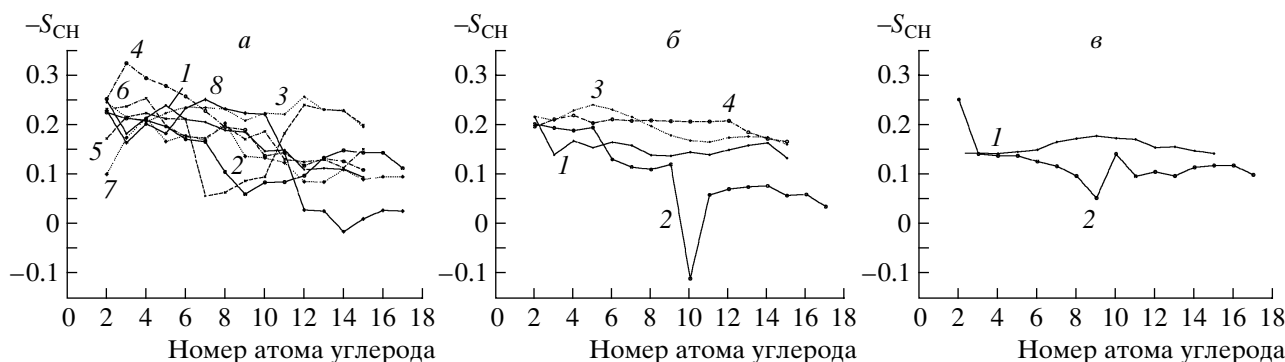
На рис. 4 представлены радиальные функции распределения для атомов фосфора и атомов азота в плоскости мембран (усреднение вели по обоим слоям мембраны). Радиальная функция распределения атомов азота демонстрирует возможность довольно близкого нахождения атомов азота в слое липидных голов, причем чем больше разнообразие липидов в составе мембраны, тем больше выражена эта особенность. При этом толщина слоя гидрофильных головок липидов такова, что позволяет разместить на разной глубине в мембране относительно слабо заряженные и отталкивающие друг от друга атомы азота. Отметим, что сильно заряженные атомы фосфора на таком близком расстоянии располагаться не могут. Интенсивность первого максимума ослабевает с увеличением числа входящих в состав бислоя типов липидов, т.е. упорядоченность бислоя даже на малых расстояниях уменьшается. В целом, характер кривых на рис. 4 указывает на отсутствие во всех

случаях дальнего порядка в упаковке головок липидов.

По результатам МД-расчетов определяли параметр порядка  $S_{CH}$  (рис. 5), который может быть также получен экспериментально из данных ЯМР-спектроскопии для дейтерированных липидов. Усредненные значения параметра порядка могут быть получены и по данным ИК-спектроскопии [6]. Параметр порядка C–H-связей в алкильной части липида вычисляется следующим образом:

$$S_{CH} = \frac{1}{2} \langle 3 \cos^2 \theta_i - 1 \rangle,$$

где  $\theta_i$  – угол между C–H-связью при  $i$ -м атоме углерода в алкильной цепи и нормалью к мембране, а угловые скобки обозначают усреднение по времени. Максимальное значение этой величины 1 (когда все связи параллельны нормали), минимальное –0.5 (все связи лежат в плоскости мембраны). Рассчитанные значения  $-S_{CH}$  для олеоиловой цепи об-



**Рис. 5.** Профили параметров порядка для С-Н-связей в алкильных цепях в системе I (а), II (б), III (в). 1 – данные для пальмитиловых цепей ПОФХ, 2 – данные для олеоилловых цепей ПОФХ, 3, 4 – данные для пальмитиловых цепей ДПОФХ, 5, 6 – данные для пальмитоилловых цепей КЛ, 7, 8 – данные для стеариловых цепей КЛ.

разуют характерную впадину в области двойной связи.

**Диссипативные свойства мембран и диффузия малых молекул.** В качестве лигандов (пенетрантов) рассматривались молекулы формамида, аммиака, воды, кислорода, глицерина, этандиола, этанола, масляной кислоты, мочевины. Применялся метод управляемой МД [20, 21]. В рамках этого подхода на систему накладывался дополнительный потенциал для “стимуляции” движения системы по выбранным степеням свободы.

В водную среду системы помещались изучаемые молекулы, к которым далее прилагалась постоянная сила, направленная по нормали к поверхности мембраны. Прилагались силы, равные 2 и 6 ккал/моль · Å<sup>-1</sup> (в последнем случае количество повторных замеров достигало трех). Сила прилагалась равномерно ко всем атомам лиганда. Расчет траекторий проводился до первого полного прохода через мембрану, но не более 2 нс. Под действием внешней силы, молекула проникает в мембрану. При этом смещение молекулы определяется в основном дрейфом под воздействием внешней силы, вкладом диффузии практически можно пренебречь и оценить локальный коэффициент трения как отношение величины приложенной силы к скорости дрейфа:

$$\gamma = \frac{F_{ext}}{v}.$$

Коэффициент трения удобно пересчитать в терминах микровязкости среды (используя формулу Стокса) или коэффициента диффузии (используя соотношение Эйнштейна):

$$F = \frac{k_b T}{\gamma} = \frac{k_b T}{6\pi\eta r}.$$

Причины существенного отклонения реальных величин от гидродинамической формулы Стокса были обсуждены нами ранее [17]. Вместе с тем ка-

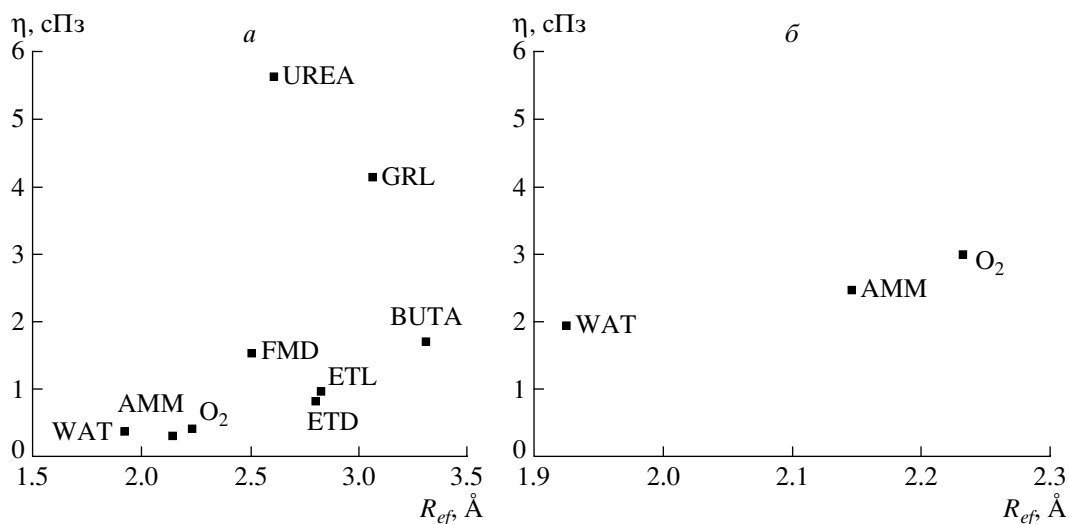
чественно, соотношение Стокса полезно и на микроуровне [40].

Как было показано в [17], существует некое критическое значение силы, при котором возможно проникновение частиц в мембрану за времена порядка наносекунд (например 1 ккал/моль · Å<sup>-1</sup> для частиц радиуса 2 Å). Вычисленная эффективная вязкость уменьшается с увеличением приложенной к лиганду силы, что свидетельствует о не-ньютоновском характере среды и слабой неравномерности данной системы при скоростях движения порядка 1–10 Å/пс.

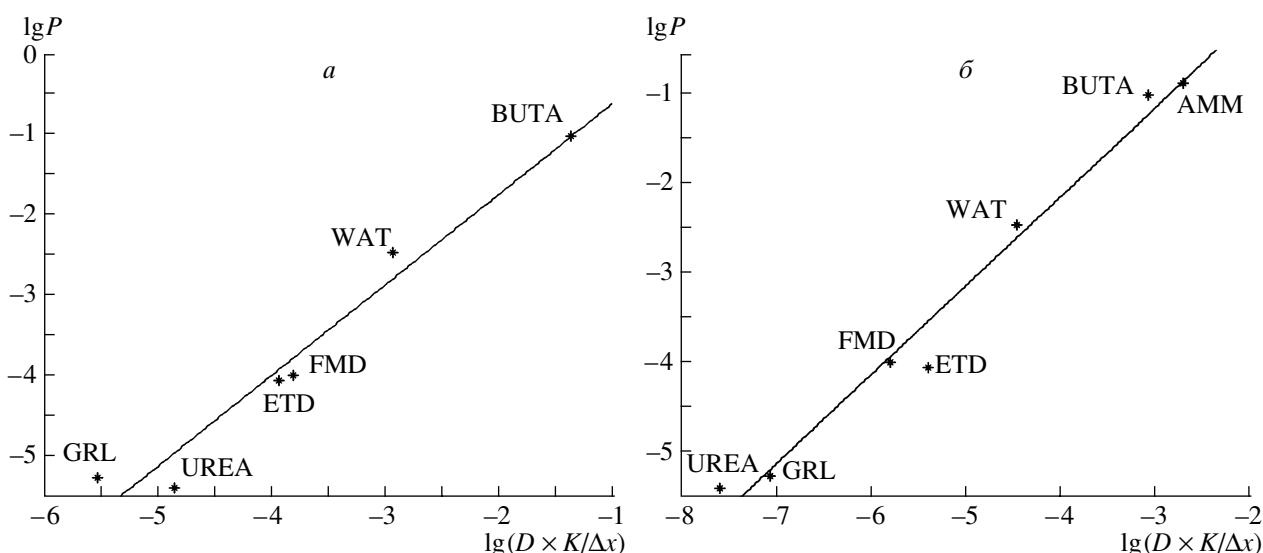
Полученные значения эффективной микровязкости в зависимости от типа пробной молекулы и величины приложенной силы приведены на рис. 6.

Чем выше значение эффективной микровязкости мембраны при данном значении силы, тем меньше вероятность проникновения пенетранта через мембрану. При значениях силы порядка 2 ккал/моль · Å<sup>-1</sup> только очень небольшие молекулы способны проникнуть через мембрану за время порядка наносекунд, остальным молекулам для этого не хватает расчетного времени (рис. 6б). Заметим, что в настоящее время экспериментально известна усредненная величина вязкости поверхностного слоя биомембраны, составляющая от 30 до 190 сПз для различных липидных мембран [41–43]. Для ПОФХ известна также экспериментальная оценка усредненной вязкости порядка 18 сПз [44]. Данные по микровязкости в направлении нормали практически отсутствуют.

При гидродинамическом режиме движения пенетранта величина микровязкости не должна зависеть ни от размера, ни от химической структуры молекулы. Отклонения, наблюдаемые на рис. 6, вызваны специфическими взаимодействиями лиганда с мембраной. Отметим, что общая закономерность такова: чем больше радиус низкомолекулярного лиганда, тем больше эффективная микровязкость мембраны. Это согласуется и с наблюдаемым здесь эффектом увеличения эф-



**Рис. 6.** Зависимость микровязкости от эффективного радиуса  $R_{ef}$  пробных молекул в системе ПОФХ–вода. Суммарная  $F_{ext} = 10$  ккал/моль  $\cdot \text{Å}^{-1}$ . а – внешняя сила 6 ккал/моль  $\cdot \text{Å}^{-1}$ , б – внешняя сила 2 ккал/моль  $\cdot \text{Å}^{-1}$ . WAT – вода, AMM – аммиак,  $O_2$  – молекулярный кислород, FMD – формамид, ETD – этандиол, ETL – этанол, UREA – мочевина, GRL – глицерин, BUTA – масляная кислота.



**Рис. 7.** Зависимость проницаемости  $P$  от величины  $DK/\Delta x$ , где  $D$  – коэффициент диффузии в мембране,  $K$  – коэффициент распределения вода – гидрофобный растворитель,  $\Delta x$  – толщина мембраны ( $\sim 40 \text{ Å}$ ). а – для оливкового масла (коэффициент корреляции 0.999), б – для гексадекана (коэффициент корреляции 0.963). Обозначения молекул как на рис. 6.

эффективной микровязкости при уменьшении внешней силы (и, следовательно, замедлении скорости проникновения частицы). Обращает внимание резкое уменьшение проникающей способности в случае мочевины. По-видимому, сильные диполь-дипольные взаимодействия формируют для молекул мочевины локальные ловушки.

Сравним экспериментальные данные по подвижности малых молекул в гидрофобных растворителях с получаемыми коэффициентами диффузии. Проницаемость мембраны представляет собой произведение коэффициента диффузии на

коэффициент распределения вода–мембрана, нормированное на толщину мембраны. Данные, приведенные на рис. 7 позволяют оценить соответствие вычисленных величин и экспериментальных значений проницаемости. Поскольку вычисление коэффициентов межфазного распределения, особенно с учетом гетерогенности мембраны вдоль нормали, представляет собой отдельную проблему, то коэффициент распределения пенетранта оценивался, исходя из данных для систем вода–гексадекан и вода – оливковое масло [45]. Наблюдаемая картина хорошо согласуется с эксперимен-

тальными данными по проницаемости липидных мембран для рассматриваемых молекул, причем в случае оливкового масла наблюдается лучшее согласие величин  $DK/\Delta x$  с проницаемостью  $P$ , чем в случае с гексадеканом.

Таким образом, в работе методами МД для полностью гидратированных бислоев из смесей ПОФХ, ДПФХ и КЛ в рамках единого протокола молекулярного моделирования проведено сравнение основных структурных и кинетических параметров. Используемая методика приводит систему к локальному равновесию и практически неизменным дальнейшим распределениям и профилям изученных параметров.

Толщина бислоя, распределение атомных групп относительно нормали к мембране, радиальные функции распределения атомов в плоскости бислоя, параметры порядка для липидных цепей не противостоят имеющимся данным. Использование столкновительного термостата и баростата Берендсена с анизотропным баростатированием позволяет компенсировать как эффекты поверхностного натяжения, так и естественные погрешности параметризации силового поля. Использование данного МД-протокола дает разумные значения коэффициентов латеральной диффузии и согласующийся с экспериментом ряд проницаемости для низкомолекулярных лигандов.

Авторы благодарны Ю. Н. Антоненко за полезные обсуждения. Авторы также признательны Федеральному агентству по образованию, Федеральному агентству по науке и инновациям, Российскому фонду фундаментальных исследований (06-04-08136 и 07-04-01169) и US CRDF (2803) за финансовую поддержку работы.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Геннис Р.* Биомембраны: Молекулярная структура и функции. Пер. с англ. М.: Мир, 1997. 624 с.
2. *Baker R.W.* Membrane technology and applications. N. Y.: McGraw-Hill, 1999.
3. *Karplus M., McCammon J.* Molecular Dynamics Simulations of Biomolecules // Nature Struct. Biol. 2002. V. 9. P. 646–652.
4. *Frenkel D., Smit B.* Understanding molecular simulation: from algorithms to applications. 2nd ed. San Diego: Acad. Press, 2002.
5. *Шайтан К.В., Турлей Е.В., Голик Д.Н., Терешкина К.Б., Левцова О.В., Федик И.В., Шайтан А.К., Ли А., Кирпичников М.П.* Неравновесная молекулярная динамика наноструктур, включая биологические // Хим. физика. 2006. Т. 25. С. 31–48.
6. *Шайтан К.В., Пустошилов П.П.* Молекулярная динамика монослоя стеариновой кислоты // Биофизика. 1999. Т. 44. С. 436–441.
7. *Балабаев Н.К., Рабинович А.Л., Рунатти П.О., Корнилов В.В.* Молекулярная динамика монослоев, состоящих из полиненасыщенных липидов // Журн. физ. химии. 1998. Т. 72. С. 686–689.
8. *Турлей Е.В., Шайтан К.В., Балабаев Н.К.* Молекулярная динамика гидратированных углеводородных мембранных структур // Журн. физ. химии. 2005. Т. 79. С. 1448–1456.
9. *Wataru S., Keiko S., Terujiko B., Masuhiro M.* Molecular dynamics study of bipolar tetraether lipid membranes // Biophys. J. 2005. V. 89. P. 3195–3202.
10. *Edholm O., Jahnig F.* The structure of a membrane-spanning polypeptide studied by molecular dynamics // Biophys. Chem. 1998. V. 30. P. 279–292.
11. *Efremov R.G., Volynsky P.E., Nolde D.E., Vergoten G., Arseniev A.S.* Implicit two-phase solvation model as a tool to assess conformation and energetics of proteins in membrane-mimic media // Theor. Chem. Acc. 2001. V. 106. P. 48–54.
12. *Stevens M.J.* Coarse-grained simulations of lipid bilayers // J. Chem. Phys. 2004. V. 121. P. 11942–11948.
13. *Essmann U., Berkowitz M.L.* Dynamical properties of phospholipid bilayers from computer simulation // Biophys. J. 1999. V. 76. P. 2081–2089.
14. *Rog T., Murzyn K., Pasenkiewicz-Gierula M.* Molecular dynamics simulations of charged and neutral lipid bilayers: treatment of electrostatic interactions // Acta Biochim. Pol. 2003. V. 50. P. 789–798.
15. *Wang J., Cieplak P., Kollman P.A.* How well does a restrained electrostatic potential (RESP) model perform in calculating conformational energies of organic and biological molecules? // J. Comput. Chem. 2000. V. 21. P. 1049–1074.
16. *Турлей Е.В., Шайтан К.В., Балабаев Н.К.* Молекулярная динамика гидратированного бислоя пальмитоилолеилфосфатидилхолина в столкновительном термостате // Биол. мембраны. 2005. Т. 22. С. 519–530.
17. *Турлей Е.В., Шайтан К.В., Балабаев Н.К.* Динамическая гетерогенность фосфолипидного бислоя и диффузия молекул на границе раздела фаз // Биофизика. 2005. Т. 50. С. 1042–1047.
18. *White S.H.* Small phospholipid vesicles: internal pressure, surface tension, and surface free energy // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1980. V. 77. P. 4048–4050.
19. *Orbach E., Finkelstein A.* The nonelectrolyte permeability of planar lipid bilayer membranes // J. Gen. Physiol. 1980. V. 75. P. 427–436.
20. *Park S., Schulten K.* Calculating potentials of mean force from steered molecular dynamics simulations // J. Chem. Phys. 2004. V. 120. P. 5946–5961.
21. *Israilewitz B., Gao M., Schulten K.* Steered molecular dynamics and mechanical functions of proteins // Curr. Opin. Struct. Biol. 2001. V. 11. P. 224–230.
22. *Lemak A.S., Balabaev N.K.* A comparison between collisional dynamics and Brownian dynamics // Mol. Simul. 1995. V. 15. P. 223–231.
23. *Lemak A.S., Balabaev N.K.* Molecular dynamics simulation of a polymer chain in solution by collisional dynamics method // J. Comput. Chem. 1996. V. 17. P. 1685–1695.
24. *Murzyn K., Rog T., Jezierski G., Takaoka Y., Pasenkiewicz-Gierula M.* Effects of phospholipids unsaturation



- on the membrane/water interface: a molecular simulation study // *Biophys. J.* 2001. V. 81. P. 170–183.
25. *Nichols-Smith S., Teh S.Y., Kuhl T.L.* Thermodynamic and mechanical properties of model mitochondrial membranes // *BBA-Biomembranes*. 2004. V. 1663. P. 82–88.
  26. *Patrick L., Martin J.Z., Benoit R.* Lipid-mediated interactions between intrinsic membrane proteins: Dependence on protein size and lipid composition // *Biophys. J.* 2001. V. 81. P. 276–284.
  27. *Hyslop P.A., Morel B., Sauerheber R.D.* Organization and interaction of cholesterol and phosphatidylcholine in model bilayer membrane // *Biochemistry*. 1990. V. 29. P. 1025–1038.
  28. *Pabst G., Rappolt M., Amenitsch H., Laggner P.* Structural information from multilamellar liposomes at full hydration: full q-rangefitting with high quality X-ray data // *Phys. Rev. E*. 2000. V. 62. P. 4000–4009.
  29. *Smaby J.M., Mornsen M.M., Brockman H.L., Brown R.E.* Phosphatidylcholine acyl unsaturation modulates the decrease in interfacial elasticity induced by cholesterol // *Biophys. J.* 1997. V. 73. P. 1492–1505.
  30. *Evans R.W., Williams M.A., Tinoco J.* Surface areas of 1-palmitoyl phosphatidylcholines and their interactions with cholesterol // *Biochem. J.* 1987. V. 245. P. 455–462.
  31. *Chiu S.W., Clark M., Balaji V., Subramaniam S., Scott H.L., Jakobsson E.* Incorporation of surface tension into molecular dynamics simulation of interface: a fluid phase lipid bilayer membrane // *Biophys. J.* 1995. V. 69. P. 1230–1245.
  32. *Braganza L.F., Worcester D.L.* Structural changes in lipid bilayers and biological membranes caused hydrostatic pressure // *Biochemistry*. 1986. V. 25. P. 7484–7488.
  33. *Sackmann E.* Handbook of Biological Physics. V. 1A. Structure and Dynamics of Membranes/Eds. Lipowsky R. and Sackmann E. Amsterdam: Elsevier, 1995. P. 213–304.
  34. *Pfeiffer W., Henkel T., Sackmann E., Knoll W., Richter D.* Local dynamics of lipid bilayers studied by incoherent quasi-elastic neutron scattering // *Europhys. Lett.* 1989. V. 8. P. 201–206.
  35. *Filippov A., Oradd G., Lindblom G.* The effect of cholesterol on the lateral diffusion of phospholipids in oriented bilayer // *Biophys. J.* 2003. V. 84. P. 3079–3086.
  36. *Vaz W. L. C., Almeida P. F.* Microscopic versus macroscopic diffusion in one-component fluid phase lipid bilayer membranes // *Biophys. J.* 1991. V. 60. P. 1553–1554.
  37. *Schmidt Th., Schutz G. J., Baumgartner W., Gruber H. J., Schindler H.* Imaging of single molecule diffusion // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1996. V. 93. P. 2926–2929.
  38. *Nagle J.F., Zhang R., Tristram-Nagle S., Sun W.J., Petrache H.I., Suter R.M.* X-ray structure determination of fully hydrated L alpha phase dipalmitoylphosphatidylcholine bilayers // *Biophys. J.* 1996. V. 70. P. 1419–1431.
  39. *Wiener M.C., White S.H.* Structure of a fluid dioleoylphosphatidylcholine bilayer determined by joint refinement of X-ray and neutron diffraction data. III. Complete structure // *Biophys. J.* 1992. V. 61. P. 434–447.
  40. *Batchelor G.K.* Developments in microhydrodynamics // *Theoretical and Applied Mechanics*. IUTAM Congress/Ed. Koiter W. T. Amsterdam–New York–Oxford: North Holland -Elsevier Science Publishers, 1976. P. 33–55.
  41. *Kung C.E., Reed J.K.* Microviscosity measurements of phospholipid bilayers using fluorescent dyes that undergo torsional relaxation // *Biochemistry* 1986. V. 25. P. 6114–6121.
  42. *Dunham W.R., Sands R.H., Klein S.B., Duelli E.A., Rhodes L.M., Marcelo C.L.* EPR measurements showing that plasma membrane viscosity can vary from 30 to 100 cP in human epidermal cell strains // *Spectrochim. Acta A*. 1996. V. 52. P. 1357–1368.
  43. *Sinensky M.* Homeoviscous adaptation – a homeostatic process that regulates the viscosity of membrane lipids in *Escherichia coli* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1974. V. 71. P. 522–525.
  44. *Sonnleitner A., Schutz G.J., Schmidt Th.* Free brownian motion of individual lipid molecules in biomembranes // *Biophys. J.* 1999. V. 77. P. 2638–2642.
  45. *Walter A., Gutknecht J.* Permeability of small nonelectrolytes through lipid bilayer membranes // *J. Membr. Biol.* 1986. V. 90. P. 207–217.

## Comparative study of molecular dynamics, diffusion, and permeability of ligands in biomembranes of different lipid composition

K. V. Shaitan<sup>1</sup>, M. Yu. Antonov<sup>1,2</sup>, Ye. V. Tourleigh<sup>1</sup>, O. V. Levtsova<sup>1</sup>,  
K. B. Tereshkina<sup>1</sup>

, I. N. Nikolaev<sup>2</sup>, M. P. Kirpichnikov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow

<sup>2</sup>Amnosov Yakut State University, ul. Belinskogo 58, 677000 Yakutsk, Russia

Molecular dynamics (MD) simulation was used for comparative study of several model lipid bilayers of different composition. Steered molecular dynamics (SMD) was applied in order to determine kinetic parameters of the model bilayers and permeability of small molecules of different chemical nature across the bilayer membranes. Accordance of the outcome of the MD simulations with experimental data on the lipid bilayer membrane structure, lateral diffusion coefficients of lipids, and relative ligand permeabilities is discussed within a framework of a unified molecular dynamics protocol.