

МЕТОДЫ КОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОЛИМЕРОВ И БИОПОЛИМЕРОВ



Наноматериалы
Мембранные системы
Слоистые нанокристаллы
Гетерополимеры



Полиэлектролиты
Углеродные нанотрубки
Жидкие кристаллы
Дендримеры

Молекулярная динамика и диффузия в биомембранах с различным липидным составом

К. В. Шайтан

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова,
119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

М. Ю. Антонов

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова,
119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12
Якутский государственный университет
им. Н. К. Аммосова,
677000, г. Якутск, ул. Белинского, д. 58

Е. В. Турлей, О. В. Левцова, К. Б. Терешкина

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова,
119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

И. Н. Николаев

Якутский государственный университет
им. Н. К. Аммосова,
677000, г. Якутск, ул. Белинского, д. 58

Биомембраны представляют собой достаточно сложный объект для молекулярного моделирования. Имеется довольно много различных подходов с несколько различающимися результатами. В работе рассматривается полноатомная модель гидратированной биомембраны (силовое поле AMBER 1999) с отрицательным латеральным баростатированием. В рамках разработанного протокола моделирования результаты согласуются с имеющимися структурными и кинетическими данными.

Авторы признательны Рособразованию, Роснауке, РФФИ (проект №07-04-01169) за финансовую поддержку работы.

Молекулярная динамика и диффузия в биомембранах с различным липидным составом

§ 1. Динамика биомембран и латеральная диффузия липидов

Молекулярная динамика (МД) биомембранных структур представляет значительный интерес в связи с развитием молекулярных и мембранных технологий [1, 2]. Современный численный эксперимент [3–5] обладает уникальными возможностями детализации и визуализации молекулярных процессов в достаточно сложно организованных структурах. Это касается и 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 на интервале 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 был разработан протокол молекулярного моделирования на основе полноатомного силового поля AMBER 1999,

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) [15, 16]. Отметим, что используемые нами значения латерального давления согласуются с данными [17].

Ниже 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 [18]. Для изучения проницаемости мембран по отношению к этим лигандам в работе используется метод управляемой (направленной) МД [15, 16, 19, 20]. 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.

В работе изучались модели липидных бислоевых мембран следующими липидами в различных пропорциях:

- 1-пальмитоил-2-олеил-*sn*-глицеро-3-фосфатидилхолин (ПОФХ),
- 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 RUMA [21, 22], для решения классических уравнений использовался алгоритм Верле с потенциальным полем AMBER 1999 [23].

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 одну молекулу липида приходилось от 34 до 43 молекул растворителя (для большинства биомембран полная гидратация достигается при содержании не менее 27 молекул воды на липид [24]). В стартовой конфигурации молекулы воды помещались на расстоянии не менее $2,3 \text{ \AA}$ от крайних атомов мембраны. Система изначально готовилась в молекулярном конструкторе так, чтобы удельная площадь, приходящаяся на молекулу липида, соответствовала экспериментальным данным [25–30] и составляла в течение расчета для ПОФХ — $62\text{--}68 \text{ \AA}^2$, для ДПФХ — $59\text{--}62 \text{ \AA}^2$, для КЛ — $100\text{--}120 \text{ \AA}^2$. В случае бислоев из разных липидов удельная площадь вычислялась как среднее арифметическое площадей участвующих липидов согласно их концентрации.

Парциальные заряды и силовые константы для молекул липидов вычислялись в соответствии с процедурой, описанной в [15]. Отрицательный

Таблица 1

Величина латерального давления в системах, значения удельной площади, толщины бислоя и коэффициентов изотермической сжимаемости

| Система | Средняя удельная площадь, \AA^2 | Латеральное давление, бар | Среднее значение толщины мембраны, \AA | Сжимаемость, 10^{-10} Па^{-1} |
|---------|--|---------------------------|---|---|
| I | 78,01 | -242 | 34,33 | 1,7 |
| II | 65,44 | -300 | 35,54 | 1,4 |
| III | 66,81 | -265 | 36,06 | 2,13 |

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 [15]. Радиус обрезания кулоновских взаимодействий составлял от 16 до 20 \AA 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 [22]). Средняя частота столкновений виртуальных частиц составляла 10 пс^{-1} , масса частиц — 1 а. е. м.

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

На рис. 1 *a–в* приведены плотности вероятности флуктуаций объема расчетной ячейки для рассматриваемых систем. Видно, что плотность вероятности флуктуаций объема расчетной ячейки имеет вид гауссова распределения. Согласно теории термодинамических флуктуаций Эйнштейна плотность вероятности равновесных флуктуаций объема $p(\Delta V)$ задается гауссовым распределением, причем, вычислив значение $\langle \Delta V^2 \rangle$, становится возможным определить значение коэффициента изотермического сжатия системы χ_T

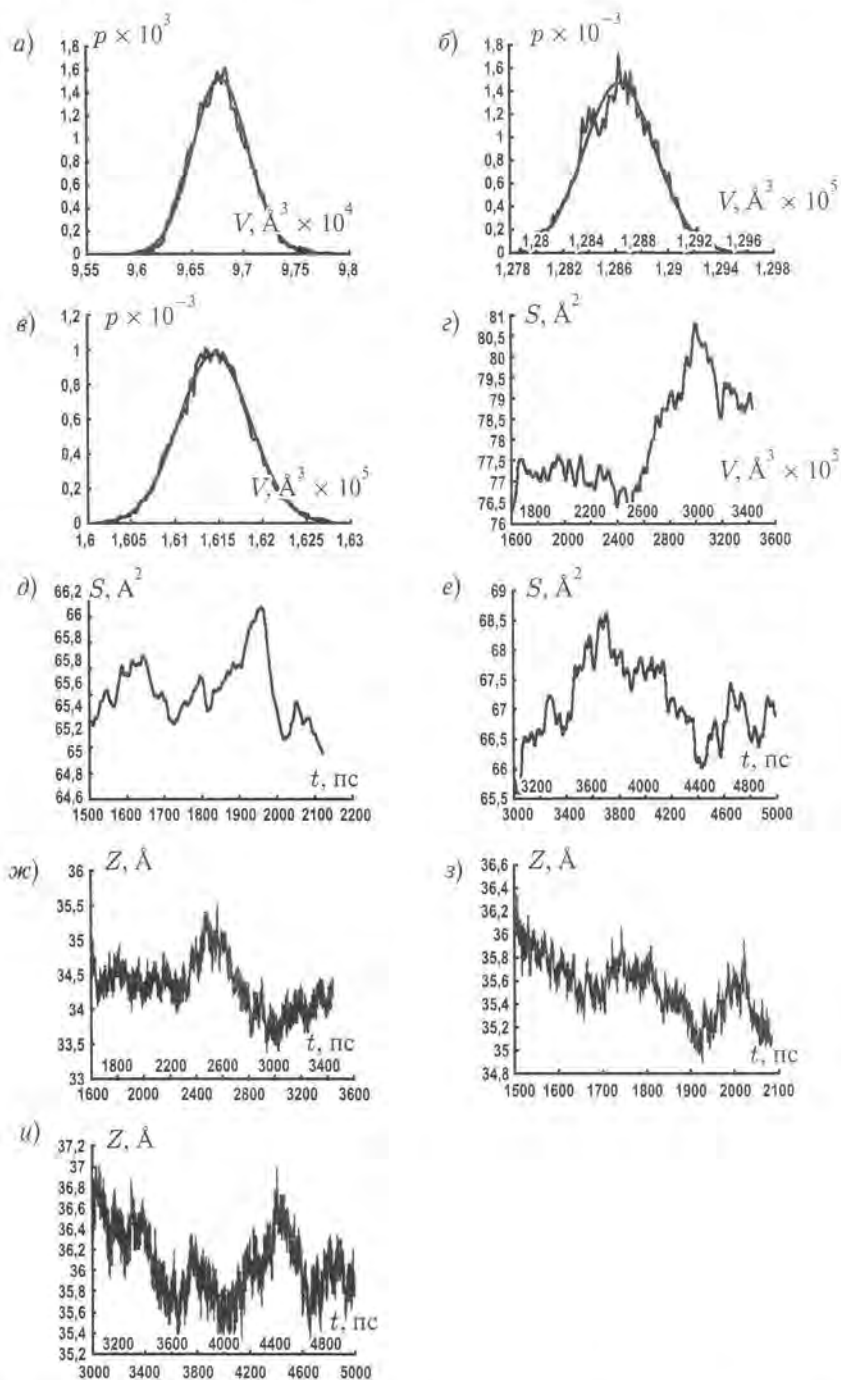


Рис. 1. Параметры расчетной ячейки, а)–в) плотность вероятности значений объема расчетной ячейки и гауссовская аппроксимация кривой; г)–е) флуктуации удельной площади приходящейся на молекулу липида; ж)–и) флуктуации толщины бислоя для систем I–III соответственно

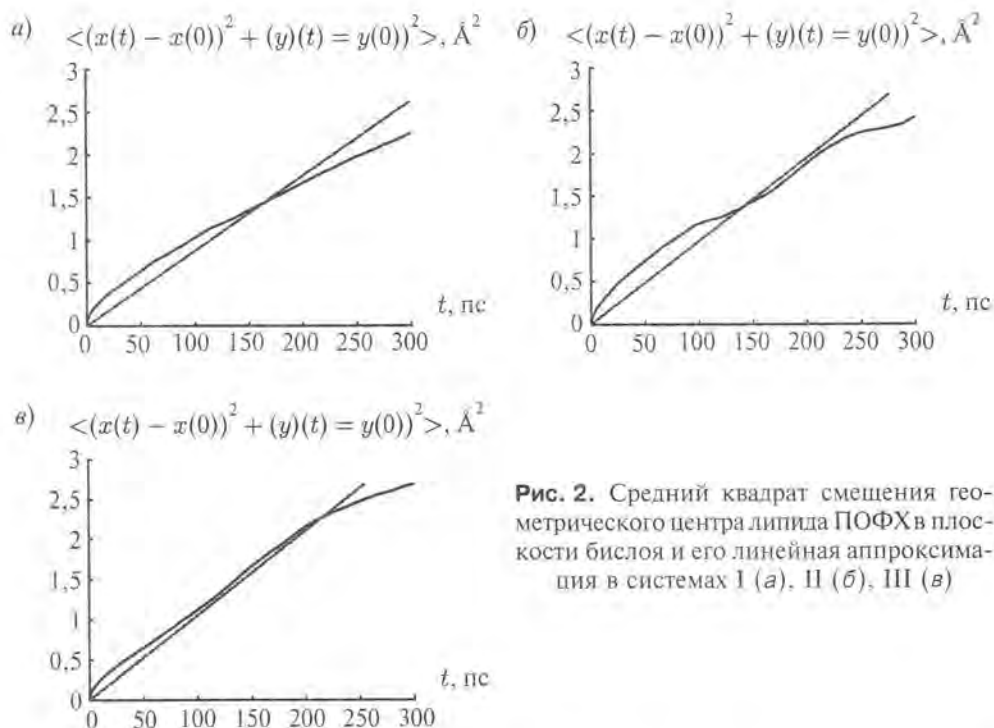


Рис. 2. Средний квадрат смещения геометрического центра липида ПОФХ в плоскости бислоя и его линейная аппроксимация в системах I (а), II (б), III (в)

(табл. 1). Согласно [32] χ_T липидных мембран лежит в диапазоне от $1 \cdot 10^{-10}$ до $6 \cdot 10^{-10}$ Па $^{-1}$. Полученные значения χ_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. 1.

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:

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

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. 2) близки к данным по квазиупругому рассеянию нейтронов на бислоях ДПФХ ($1 \cdot 10^{-7}$ см 2 /с [33]) и диолеилфосфатидилхолина ($2 \cdot 10^{-7}$ см 2 /с [34]). Результаты импульсного ЯМР для бислоев ПОФХ дают значения $2,0 \cdot 10^{-7}$ см 2 /с при 298 К и $2,5 \cdot 10^{-7}$ см 2 /с при 303 К [35]. Отметим, что сравнение результатов, полученных на временах менее 1 нс, наиболее корректно именно с данными по рассеянию нейтронов. Диффузия на больших временах затрагивает более крупномасштабные

Таблица 2

Вычисленные значения коэффициентов латеральной диффузии

| Система | Липид | D_{xy} , см ² /с | Экспериментальные значения, см ² /с |
|---------|-------|-------------------------------|--|
| I | ПОФХ | $2,2 \cdot 10^{-7}$ | — |
| I | ДПФХ | $2,2 \cdot 10^{-7}$ | — |
| I | КЛ | $2,0 \cdot 10^{-7}$ | — |
| II | ПОФХ | $2,4 \cdot 10^{-7}$ | — |
| II | ДПФХ | $2,6 \cdot 10^{-7}$ | $1 \cdot 10^{-7}$ * [33] |
| III | ПОФХ | $2,6 \cdot 10^{-7}$ | $2,0-2,5 \cdot 10^{-7}$ [35] |

* Значение приведено для монолипидного бислоя.

перестройки в структуре мембраны (более 10 \AA), и коэффициенты диффузии, измеренные флуоресцентными методами, оказываются в 2–3 раза ниже.

Латеральная подвижность липидов слабо, но систематически убывает в ряду ДПФХ—ПОФХ—КЛ в соответствии с добавлением двойной *cis*-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 мелкомасштабном 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 [36], диолеоилфосфатидилхолиновых [37] и ПОФХ [28] мембран. На рис. 3 представлены распределения электронной плотности для мембран с разным липидным составом.

В данной 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

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

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 мем-

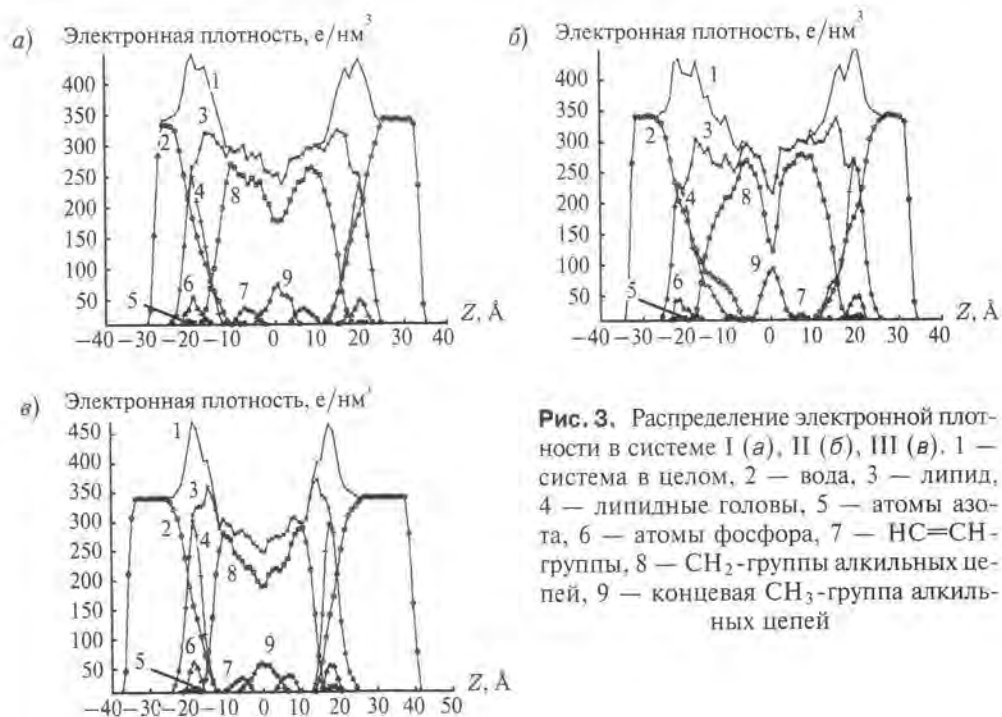


Рис. 3. Распределение электронной плотности в системе I (а), II (б), III (в). 1 — система в целом, 2 — вода, 3 — липид, 4 — липидные головы, 5 — атомы азота, 6 — атомы фосфора, 7 — $\text{HC}=\text{CH}$ -группы, 8 — CH_2 -группы алкильных цепей, 9 — концевая CH_3 -группа алкильных цепей

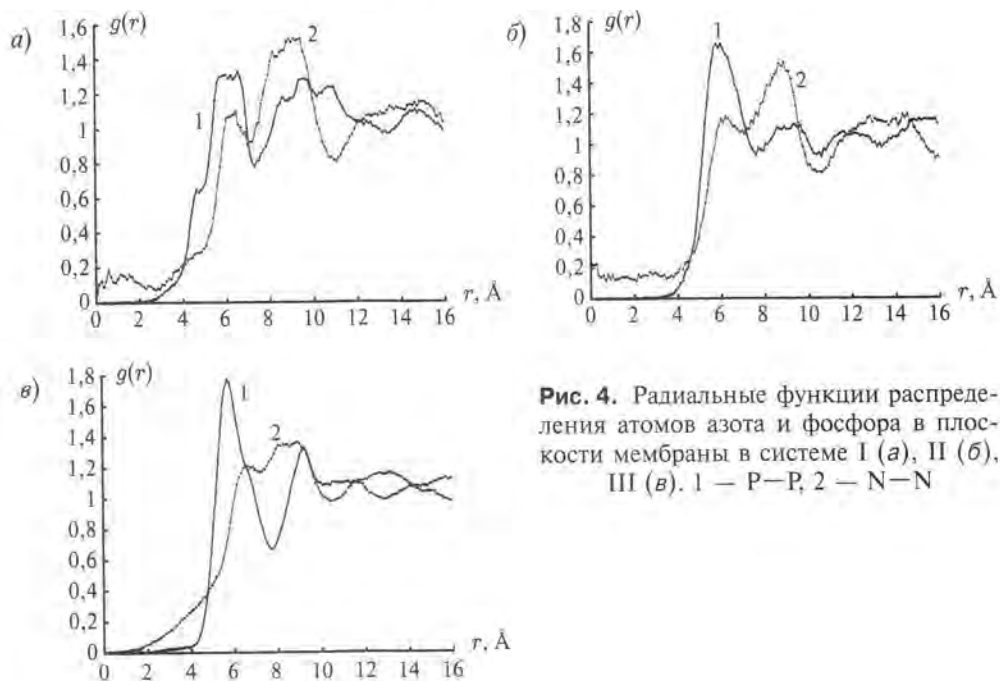


Рис. 4. Радиальные функции распределения атомов азота и фосфора в плоскости мембраны в системе I (а), II (б), III (в). 1 — P-P, 2 — N-N

браны, тем больше выражена эта особенность. При этом толщина слоя гидрофильных голов липидов такова, что позволяет разместить на разной глубине в мембране относительно слабо заряженные и отталкивающиеся 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 голов липидов.

§ 2. Диссипативные свойства и диффузия малых молекул через мембраны

В качестве лигандов (пенетрантов) рассматривались молекулы формамида, аммиака, воды, кислорода, глицерола, этандиола, этанола, масляной кислоты, мочевины. Применялся метод управляемой МД [19, 20]. 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) (в последнем случае количество повторных замеров достигало трех). Сила прикладывалась 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. Коэффициент трения удобно пересчитать в терминах микровязкости среды (используя формулу Стокса) или коэффициента диффузии (используя соотношение Эйнштейна).

Причины существенного отклонения реальных величин от гидродинамической формулы Стокса были обсуждены нами ранее [16]. Вместе с тем, качественно, соотношение Стокса полезно и на микроуровне [38].

Как было показано в [16], существует некое критическое значение силы, при котором возможно проникновение частиц в мембрану за времена порядка нс (например 1 ккал/(моль·Å) для частиц радиуса 2 Å). Вычисленная эффективная вязкость уменьшается с увеличением приложенной к лиганду силы, что свидетельствует о неньютоновском характере среды и слабой неравновесности 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. 5.

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) только очень небольшие молекулы способны проникнуть через мембрану за время порядка нс.

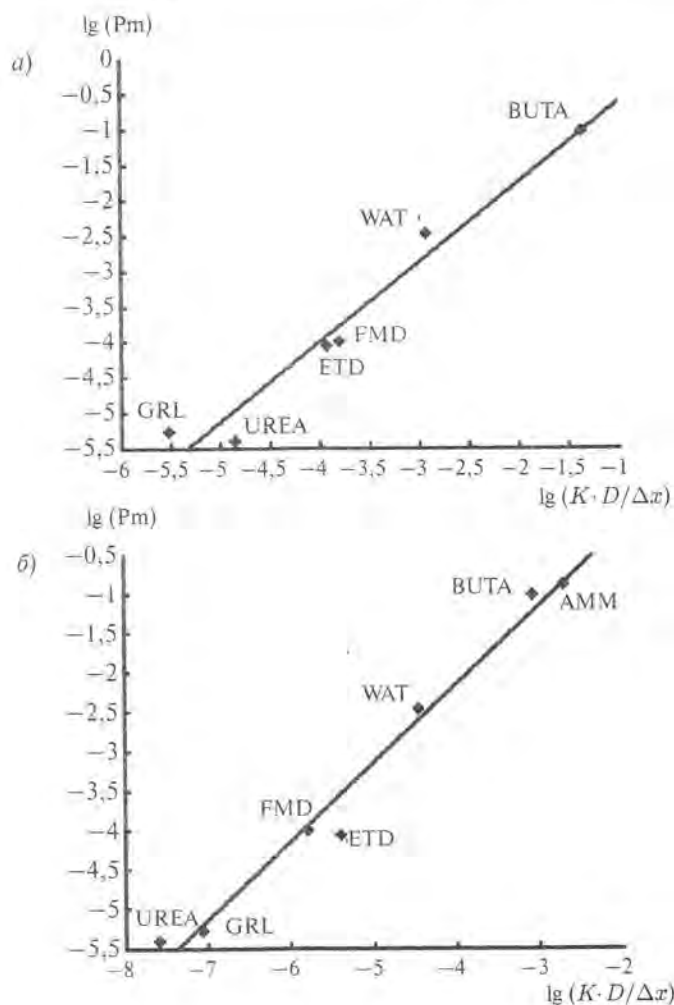


Рис. 5. Зависимость проницаемости P от величины $D \cdot K / \Delta x$, где D — коэффициент диффузии через мембрану, K — коэффициент распределения «вода — гидрофобный растворитель», Δx — толщина мембраны ($\sim 40 \text{ \AA}$); а) для оливкового масла (коэффициент корреляции 0,999), б) для гексадекана. (коэффициент корреляции 0,963) Обозначения молекул — как на рис. 6 ниже

Заметим, что в настоящее время экспериментально известна усредненная величина вязкости поверхностного слоя биомембраны, составляющая от 30 до 190 сПз для различных липидных мембран [39–41]. Для ПОФХ известна также экспериментальная оценка усредненной вязкости порядка 18 сПз [42]. Данные по микровязкости в направлении нормали малодоступны и могут быть получены практически только в численных экспериментах.

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

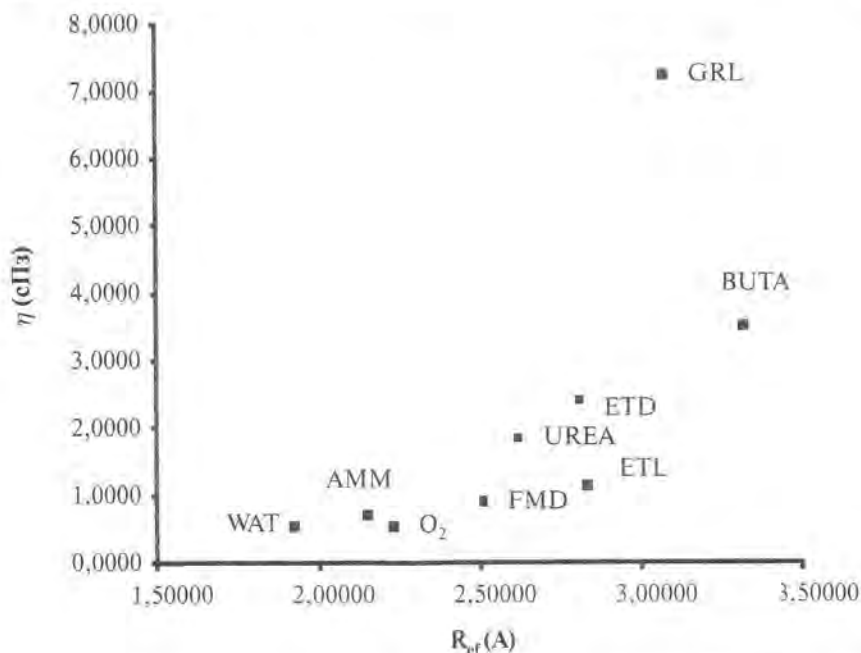


Рис. 6. Зависимость микровязкости гидратированного бисюла ПОФХ от эффективного радиуса R_{ef} пробных молекул. Внешняя сила — 6 ккал/моль^{-1} . Обозначения молекул: WAT — вода, AMM — аммиак, O_2 — молекулярный кислород, FMD — формамид, ETD — этандиол, ETL — этанол, UREA — мочевины, GRL — глицерин, BUTA — масляная кислота

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

Сравним экспериментальные данные по проницаемости малых молекул с получаемыми коэффициентами диффузии. Проницаемость мембраны представляет собой произведение коэффициента диффузии на коэффициент распределения «вода — мембрана», нормированное на толщину мембраны. Данные, приведенные на рис. 6, 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, коэффициент распределения пенетранта оценивался, исходя из данных для систем «вода — гексадекан» и «вода — оливковое масло» [43]. Наблюдаемая картина хорошо согласуется с экспериментальными данными по проницаемости липидных мембран для рассматриваемых молекул, причем в случае

оливкового масла наблюдается лучшее согласие величин $D \cdot K / \Delta x$ с проницаемостью P , чем в случае с гексадеканом.

Таким образом, 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 противоречат имеющимся данным. Использование столкновительного термостата и баростата Берендсена с анизотропным баростатированием позволяет в определенной мере 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.

Литература

1. Генис Р. Биомембраны; Молекулярная структура и функции / Пер. с англ. М.: Мир, 1997, 624 с.
2. Baker R. W. Membrane Technology and Applications. McGraw-Hill, 1999.
3. Karplus M., McCammon J. // Nature Struct. Biol. 2002. Vol. 9. P. 646–652.
4. Frenkel D., Smit B. Understanding molecular simulation: from algorithms to applications. San Diego: Academic Press, 2002. 2nd edn.
5. Шайтан К. В., Турлей Е. В., Голик Д. Н., Терешкина К. Б., Левцова О. В., Федик И. В., Шайтан А. К., Ли А., Киртичников М. П. // Хим. физика. 2006. Т. 25. С. 31–48.
6. Шайтан К. В., Пустошилов П. П. // Биофизика. 1999. Т. 44. С. 436–441.
7. Балабаев Н. К., Рабинович А. Л., Рупатти П. О., Корнилов В. В. // Журн. физ. химии. 1998. Т. 72. № 4. С. 686–689.
8. Турлей Е. В., Шайтан К. В., Балабаев Н. К. // Журн. физ. химии. 2005. Т. 79. № 8. 2005. С. 1448–1456.
9. Wataru S., Keiko S., Terujiko B., Masuhiro M. // Biophys. J. 2005. Vol. 89. P. 3195–3202.
10. Edholm O., Jahnig F. // Biophys. Chem. 1998. Vol. 30. P. 279–292.
11. Efremov R. G., Volynsky P. E., Nolde D. E., Vergoten G., Arseniev A. S. // Theor. Chem. Acc. 2001. Vol. 106. P. 48–54.
12. Stevens M. J. // Journal of Chemical Physics, 2004, December 15. Vol. 121. Is. 23. P. 11942–11948.
13. Essmann U., Berkowitz M. L. // Biophys. J. 1999. Vol. 76. P. 2081–2089.
14. Róg T., Murzyn K., Pasenkiewicz-Gierula M. // Acta Biochim. Pol. 2003. Vol. 50. P. 789–798.
15. Турлей Е. В., Шайтан К. В., Балабаев Н. К. // Биол. мембраны. 2005. Т. 22. С. 519–530.
16. Турлей Е. В., Шайтан К. В., Балабаев Н. К. // Биофизика. 2005. Т. 50. С. 1042–1047.
17. White S. H. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1980. Vol. 77. P. 4048–4050.
18. Orbach E., Finkelstein A. // The journal of general physiology. 1980. Vol. 75. P. 427–436.

19. *Park S., Schulten K.* // *J. Chem. Phys.* 2004. Vol. 120. P. 5946–5961.
20. *Israelewitz B., Gao M., Schulten K.* // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2001. Vol. 11. P. 224–230.
21. *Lemak A. S., Balabaev N. K.* // *Mol. Simul.* 1995. Vol. 15. P. 223–231.
22. *Lemak A. S., Balabaev N. K.* // *J. Comput. Chem.* 1996. Vol. 17. P. 1685–1695.
23. *Wang J., Cieplak P., Kollman P. A.* // *J. Comput. Chem.* 2000. Vol. 21. P. 1049–1074.
24. *Murzyn K., Róg T., Jezierski G., Takaoka Y., Pasenkiewicz-Gierula M.* // *Biophys. J.* 2001. Vol. 81. P. 170–183.
25. *Nichols-Smith S., Teh S. Y., Kuhl T. L.* // *BBA-Biomembranes.* 2004. Vol. 1663 (1–2). P. 82–88.
26. *Patrick L., Martin J. Z., Benoit R.* // *Biophys. J.* 2001. Vol. 81. P. 276–284.
27. *Hyslop P. A., Morel B., Sauerheber R. D.* // *Biochemistry.* 1990. Vol. 29. P. 1025–1038.
28. *Pabst G., Rappolt M., Amenitsch H., Laggner P.* // *Phys. Rev. E.* 2000. Vol. 62. P. 4000–4009.
29. *Smaby J. M., Morsen M. M., Brockman H. L., Brown R. E.* // *Biophys. J.* 1997. Vol. 73. P. 1492–1505.
30. *Evans R. W., Williams M. A., Tinoco J.* // *Biochem. J.* 1987. Vol. 245. P. 455–462.
31. *Chiu S. W., Clark M., Balaji V., Subramaniam S., Scott H. L., Jakobsson E.* // *Biophys. J.* 1995. Vol. 69. P. 1230–1245.
32. *Braganza L. F., Worcester D. L.* // *Biochemistry.* 1986. Vol. 25. P. 7484–7488.
33. *Sackmann E.* // *Handbook of Biological Physics.* Vol. 1A. Structure and Dynamics of Membranes / Eds. R. Lipowsky and E. Sackmann. Amsterdam: Elsevier, 1995. P. 213–304.
34. *Pfeiffer W., Henkel T., Sackmann E., Knoll W., Richter D.* // *Europhys. Lett.* 1989. Vol. 8. P. 201–206.
35. *Filippov A., Oradd G., Lindblom G.* // *Biophys. J.* 2003. Vol. 84. P. 3079–3086.
36. *Nagle J. F., Zhang R., Tristram-Nagle S., Sun W. J., Petrache H. I., Suter R. M.* // *Biophys. J.* 1996. Vol. 70. P. 1419–1431.
37. *Wiener M. C., White S. H.* // *Biophys. J.* 1992. Vol. 61. P. 434–447.
38. *Batchelor G. K.* // *Theoretical and Applied Mechanics.* IUTAM Congress, W.T. Koiter, ed. Amsterdam; New York; Oxford: North Holland-Elsevier Science Publishers, 1976. P. 33–55.
39. *Kung C. E., Reed J. K.* // *Biochemistry.* 1986. Vol. 25. P. 6114–6121.
40. *Dunham W. R., Sands R. H., Klein S. B., Duelli E. A., Rhodes L. M., Marcelo C. L.* // *Spectrochim. Acta A.* 1996. Vol. 52. P. 1357–1368.
41. *Sinensky M.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1974. Vol. 71. P. 522–525.
42. *Sonnleitner A., Schütz G. J., Schmidt Th.* // *Biophys. J.* 1999. Vol. 77. P. 2638–2642.
43. *Walter A., Gutknecht J.* // *J Membr. Biol.* 1986. Vol. 90. P. 207–217.

Молекулярный дизайн наноконтейнеров на основе углеродных нанотрубок

К. В. Шайтан, Е. В. Турлей, Д. Н. Голик

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова,
119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

И. Н. Николаев

Якутский государственный университет
им. Н. К. Аммосова,
677000, г. Якутск, ул. Белинского, д. 58

Нанотрубки могут использоваться как неиммуногенные контейнеры для биовеществ. Два этих свойства — селективная адсорбция и транспортировка — взаимосвязаны и составляют главную проблему дизайна доставочных наносредств. Одним из подходов к проблеме является молекулярно-динамический (МД) расчет систем, содержащих углеродную нанотрубку, воду, липидный бислой и молекулу, которую требуется доставить. Адсорбционные свойства нанотрубки были изучены на примере пентадекапептида и холестерина. Адсорбция этих молекул внутрь нанотрубки оказалась чувствительной к деталям поверхностной структуры нанотрубки и функциональных наногрупп, контактирующих с нанотрубкой. Было показано, что адсорбция пептида является самопроизвольным процессом и может рассматриваться как модельная самосборка наноустройства, в дальнейшем именуемого наноприцем. Для дизайна наноприца была использовалась управляемая МД (SMD). Для проталкивания пептида через липидную мембрану применялся нановзрыв. Было изучено конформационное состояние пептида с точки зрения химической стабильности вещества при ударном воздействии. В принципе, модифицируя нанотрубку (путем добавления функциональных групп или лигандов), можно достичь селективности посадочного участка на клеточной мембране и использовать это для создания систем по доставке лекарств.

Молекулярный дизайн наноконтейнеров на основе углеродных нанотрубок

Изучение взаимодействия нанотрубок с биологическими молекулами важно для понимания проблемы селективной доставки лекарств в клетки. Недавние успешные разработки в области нанотрубочной технологии включают активируемый светом наноклапан [1], направленную доставку амфотерицина В к клеткам с использованием функционализированных углеродных нанотрубок [2]. В [3], например, представлены результаты моделирования проникновения одноцепочечного РНК-олигонуклеотида в углеродную нанотрубку, находящуюся в водной среде. Авторы [4] изучали прохождение РНК под действием силы через отверстия в коротких нанотрубках, образующих монослой. Адсорбция амилозы на нанотрубку в воде и ее проникновение в нанотрубку были изучены в [5]. Возможно, одной из наиболее впечатляющих молекулярных симуляций является довольно упрощающее крупномодульное моделирование прототипа наношприца, являющегося нанотрубкой, способной к проникновению в мембрану [6].

Молекулярная динамика (МД) и молекулярное моделирование играют важную роль в формулировании гипотез и принципов дальнейшего развития новых материалов. К примеру, по данным [7], потенциал промышленного развития в ближайшие годы будет связан в значительной степени со следующими четырьмя направлениями: моделированием сложных систем, дизайном новых функциональных материалов *in silico*, компьютерно-ориентированными методами нанотехнологии и моделированием биологических и биомиметических материалов. Методы МД широко применяются при изучении фундаментальных проблем естествознания, а также в прикладных задачах молекулярной биоинженерии, биотехнологии, нанотехнологии, материаловедения и др. [8, 9]. Дизайн лекарств тем более является открытым полем приложения для МД-симуляций. Коротко о методе. Решение большого числа классических уравнений движения атомных частиц проводится, как правило, с использованием разностной схемы Верле, в которой силовое поле задается системой парных атом-атомных потенциалов, специально калибруемых для определенного типа молекулярных объектов (биополимеры, минералы, сплавы и пр.). Для поддержания в изучаемой системе постоянной температуры и давления (или объема) используются специальные алгоритмы.

В данной работе МД-подход, использующий полноатомное силовое поле и специальные техники, применялся для моделирования и дизайна наноконтейнеров для абсорбции биовеществ и доставки через липидную мембрану.

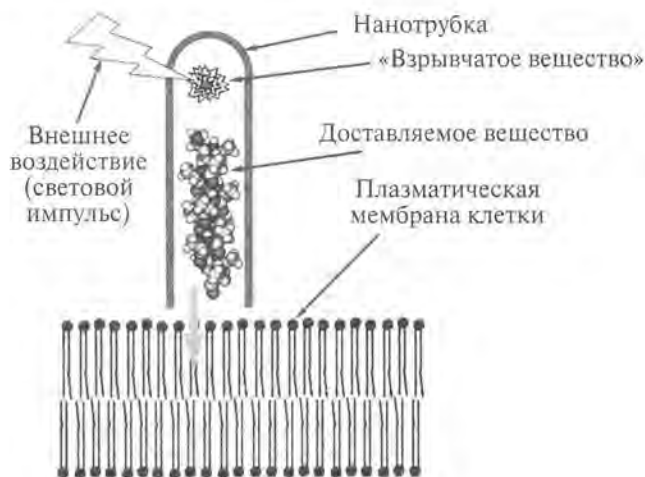


Рис. 1. (Цветную версию рисунка см. на вклейке.)
Схематическое представление наносприца в действии

Углеродная нанотрубка проявила хорошие абсорбентные свойства по отношению к таким довольно небольшим молекулам, как полипептиды и холестерол. Наносприц (рис. 1) на основе закрытой с одного конца нанотрубки и нановзрывчатого вещества, способного выталкивать активное вещество из нанотрубки [10], моделировался в различных средах, включающих в том числе липидную мембрану. Набор расширяющихся модельных сфер имитировал взрывчатое вещество (предполагается, что будет требоваться внешний сигнал, например свет, для активации взрывного процесса). С этой целью был разработан модифицированный вариант управляемой молекулярной динамики (SMD) [11, 12]. Также была изучена самопроизвольная самосборка наносприца. Для поддержания постоянной температуры применялся столкновительный термостат [13, 14], который не приводит к нелинейным аттракторным режимам, нарушающим статистически равновесное распределение энергии по степеням свободы [15, 16].

§ 1. Материалы и методы

Расчеты МД выполнялись в программе PUMA [13, 14], которая была специально модифицирована для включения управляющих воздействий [17]. Система классических уравнений движения атомов решалась с учетом силового поля AMBER 1999 [18]. На систему накладывались периодические граничные условия. Для поддержания постоянной температуры 300 К использовалась виртуальная столкновительная среда [13]. Средняя частота столкновений виртуальных частиц была 10 пс^{-1} , а масса виртуальных частиц — 1 а. е. м. Системы, не включающие воду, а также системы, рассчитываемые при температуре выше 300 К, симулировались в *NVT*-ансамбле (при постоянном объеме). В водных системах (за исключением расчетов с температурой выше 300 К) накладывалось условие постоянного давления, достигаемое использованием

баростата Берендсена [19]. Средняя частота баростатирования была 1 ps^{-1} . За исключением систем с липидами, баростатирование было изотропным, и среднее значение давления составляло 1 атм. Флуктуации объема, давления и температуры использовались для контроля над достижением локального равновесия в системе. Радиус обрезания ван-дер-ваальсовых взаимодействий составлял 16 \AA , кулоновских — 20 \AA . Процедура сглаживания ван-дер-ваальсовых взаимодействий осуществлялась путем умножения потенциалов Леннарда-Джонса на сглаживающую (переключающую) функцию $W(r)$:

$$W(r) = \begin{cases} 1, & r \leq R_{\text{он}}, \\ \frac{(R_{\text{офф}}^2 - r^2)^2 (R_{\text{офф}}^2 - 3R_{\text{он}}^2 + 2r^2)}{(R_{\text{офф}}^2 - R_{\text{он}}^2)^3}, & R_{\text{он}} < r < R_{\text{офф}}, \\ 0, & r \geq R_{\text{офф}}, \end{cases}$$

где r — расстояние между взаимодействующими атомами, параметр $R_{\text{он}}$ выбирался равным 15 \AA , $R_{\text{офф}} = 16 \text{ \AA}$. Кулоновский потенциал умножался на экранирующую функцию:

$$W_e = \begin{cases} \left(1 - \frac{r}{R_{\text{офф}}}\right)^2, & r \leq R_{\text{офф}}, \\ 0, & r > R_{\text{офф}}. \end{cases}$$

Константа диэлектрической проницаемости полагалась равной единице. Шаг численного интегрирования — 1 фс.

1.1. Нанотрубка

580-атомная углеродная (10,10)-нанотрубка длиной $34,4 \text{ \AA}$ и диаметром $13,7 \text{ \AA}$ была сконструирована из 14 углеродных колец, состоящих из 10 углеродных шестиугольников каждое и соединенных друг с другом в стопку. В случае с наноприцем с одной его стороны была добавлена заглушка-колпак, состоящая из 50 углеродных атомов. Наоборот, 140 атомов были равномерно удалены в нанотрубке, используемой в расчетах с холестерином. Углеродные атомы были незаряженными, а параметры межатомных взаимодействий соответствовали таковым для ароматических CA-атомов силового поля.

1.2. Внутреннее содержимое нанотрубки

За исключением окружающих молекул воды, были также два компонента: пентадекаланин (эффективный диаметр $8,5 \text{ \AA}$ и длина альфа-спирали 25 \AA) и холестерин (эффективный диаметр около 7 \AA , длина варьирует от 10 до 27 \AA). Углеродные атомы последнего были СТ-типа (sp^3 -гибридизованы), за исключением двух sp^2 -углеродов. Одному из этих двух атомов, который имел при себе атом водорода (HA-типа), был соотнесен CM-тип, другой же рассматривался как СВ-углерод. Все остальные атомы четко соответствовали типам атомов силового поля AMBER 1999, разработанного специально для аминокислот и нуклеотидов. Парциальные заряды были рассчитаны неограниченным методом Хартри—Фока в базисе 6-311 ГФ с одной поляризационной

функцией d -типа и одной — f -типа. Заряды, рассчитанные по Малликену, усреднялись затем по симметричным атомам. В этих квантово-химических расчетах использовался пакет GAMESS [20]. Поскольку пентадекааланин был составлен из одинаковых остатков аланина, то один атом водорода отсутствует на аминокгруппе первого остатка цепи, а также одна гидроксильная группа отсутствует на противоположном конце цепи.

1.3. Ван-дер-ваальсовы сферы

В расчетах систем с наношприцем использовался набор из восьми ван-дер-ваальсовых сфер массой 99 а. е. м. каждая, взаимодействующих только посредством сил Ван-дер-Ваальса. Их минимальный (стартовый) радиус составлял 2 \AA . Энергетическая константа ϵ их взаимодействия с атомами составляла (в случае симметричного взаимодействия) $0,15 \text{ ккал/моль}$. Увеличиваясь с постоянной скоростью, сферы имитировали взрывчатое вещество внутри нанотрубки. Скорость увеличения их размеров составляла $0,25$ и $0,5 \text{ \AA/пс}$. Время, в течение которого происходило расширение сфер, составляло 26 или 13 пс соответственно. По завершении расширения сфер их радиусы сразу же приводились к начальным значениям.

1.4. Липидный бислой

Мембрана состояла из бислоя 1-пальмитоил-2-олеил-*sn*-глицеро-3-фосфатидилхолина (ПОФХ), содержащего 64 молекулы липида. Начальная структура соответствовала перпендикулярному положению осей наибольшей протяженности молекул относительно плоскости мембраны. Начальная поверхностная плотность липидов составляла 66 \AA^2 , что близко к экспериментальным значениям ($62\text{--}68 \text{ \AA}^2$ [21–24]).

Параметры потенциалов для двойной связи в олеиновом остатке и парциальные заряды в ПОФХ брались в соответствии с [25–28]. Использовалась модель воды [29], причем валентные связи и валентные углы в молекулах воды не фиксировались, а определялись соответствующими потенциалами. В стартовой конфигурации молекулы воды помещались на расстоянии не менее $2,3 \text{ \AA}$ от крайних атомов мембраны. Степень сольватации определялась соотношением 44 молекулы воды на молекулу липида (полной гидратацией ПОФХ считается не менее 27 молекул воды на липид [30]). Позднее число молекул воды было уменьшено в связи со вставкой нанотрубки, чтобы общий объем системы оставался постоянным.

Бислой ПОФХ релаксировали в течение 1 нс при NP_z -АТ-условиях (постоянное давление в направлении нормали к бислою, постоянные поперечная площадь ячейки и температура). Среднее значение латеральной компоненты давления составляло -330 атм . Среднее значение нормальной компоненты было -118 атм . Это обусловлено эффектами поверхностного натяжения. Поверхностное натяжение чувствительно к параметрам силового поля, которые в настоящее время известны недостаточно точно. Для компенсации эффектов поверхностного натяжения при баростатировании необходимо использовать отрицательное давление, что неоднократно обсуждалось ранее [21–34]. Согласно оценкам [32], поверхностное натяжение порядка 56 дин/см в бислое

дипальмитоилфосфатидилхолина должно вызвать отрицательное латеральное давление порядка -100 атм [35] в соответствии с формулой

$$\gamma = \int_{z_1}^{z_2} [P_N(Z) - P_T(Z)] dz,$$

где γ — поверхностное натяжение, ось Z — нормаль к плоскости мембраны, P_N — давление в направлении нормали к мембране, P_T — давление, тангенциальное по отношению к поверхности мембраны, а z_1 и z_2 — границы мембраны (вместе с первым гидратным слоем) по оси Z . Имеющееся различие между использованным в работе значением давления и теоретической оценкой может быть связано с погрешностями параметров силового поля. На рабочем участке траектории осуществлялось баростатирование при среднем давлении $P_x = P_y = -260$ атм в плоскости XY (параллельной плоскости мембраны) и $P_z = 1$ атм в направлении нормали. Лишь при таких значениях давления мембрана поддерживалась в надлежащем фазовом состоянии.

После процедуры релаксации такие основные характеристики мембраны, как поверхностная плотность липидов, радиальные функции распределения атомов в плоскости бислоя, толщина бислоя, распределение атомных групп вдоль нормали к мембране, параметры порядка для липидных цепей, согласуются в целом с данными других вычислительных экспериментов и с экспериментальными значениями [21–24, 31, 36–43].

1.5. Динамика абсорбции молекул нанотрубкой

Холестерин, ориентированный своим гидроксильным концом к нанотрубке без заглушек, помещался на расстоянии 4 \AA над отверстием последней. В одном случае система была гидратирована 5620 молекулами воды TIP3P, в том числе и полость нанотрубки. В другом случае вода удалялась из полости, и количество молекул воды было на 84 меньше. Начальный размер расчетной ячейки был $56,1 \times 56,1 \times 56,1 \text{ \AA}$ (общее число атомов было либо 17 374, либо 17 122).

Нанотрубка с заглушкой-колпаком и пептид помещались в вакууме на расстоянии 30 \AA друг от друга. Их сближение наблюдалось при трех температурах: 300, 1000 и 2000 К. Такие высокие температуры, как 1000 и 2000 К, использовались для ускорения надбарьерных переходов, учитывая, что метод МД позволяет производить расчеты без разрыва валентных связей. Также изучалась конформация пептида в адсорбированном состоянии в зависимости от его ориентации по отношению к нанотрубке.

1.6. Моделирование «нанопушки»

Система включала нанотрубку с полипептидом и ван-дер-ваальсовыми сферами внутри. Содержимое нанотрубки выбрасывалось при 300 К наружу в три среды: вакуум, воду и липидную мембрану. Число молекул воды в двух последних случаях было 2594. Нанотрубка примыкала к липидному бислою под прямым углом. Во время «нановыстрела» прослеживалась конформация пептида.

§ 2. Результаты и обсуждение

2.1. Абсорбция холестерина

Все расчеты с абсорбцией холестерина выявили, что этот процесс самопроизволен и происходит следующим образом. Как только молекула холестерина достигает отверстия нанотрубки, она необратимо входит в нее (рис. 2). Первая стадия, т. е. начальное сближение с отверстием, происходит за 510 пс при 300 К и за 280 пс при 1000 К, в случае когда трубка изначально гидратирована изнутри. Благодаря ускорению движения при 1000 К молекула холестерина успевает сменить ориентацию своего гидроксильного конца по отношению к нанотрубке на противоположную. Полностью абсорбция занимает 770 пс при 300 К и 440 пс при 1000 К. Это дает оценку активационной энергии порядка 3,5–3,7 ккал/моль.

Можно легко проследить начало вхождения холестерина, если посмотреть на его потенциальную энергию (рис. 3): она начинает уменьшаться при входе и достигает плато, когда молекула уже внутри. Изменение амплитуды флуктуаций энергии электростатических взаимодействий в молекуле холестерина указывает на завершение абсорбции: холестериновая молекула принимает более-менее стабильную конформацию, и флуктуации практически исчезают, проявляя себя в пиках на графике только во время редких конформационных движений. В среднем единственными взаимодействиями, которые играют роль и, соответственно, изменяются, являются ван-дер-ваальсовы взаимодействия. Лишь они, а не электростатические, значительно изменяются.

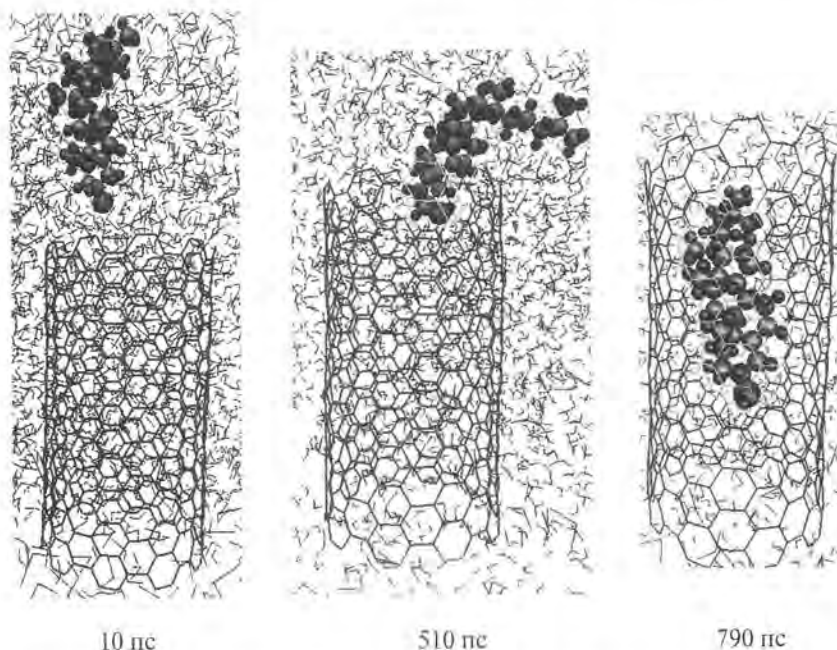


Рис. 2. (Цветную версию рисунка см. на вклейке.) Последовательные стадии абсорбции холестерина при 300 К. Нанотрубка предварительно гидратирована

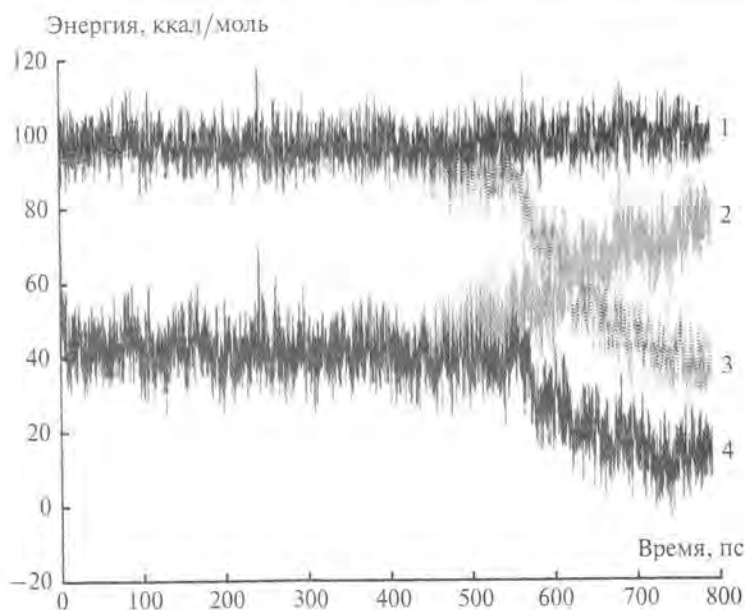


Рис. 3. Потенциальная энергия системы. Энергия представлена следующими термами: 1 — взаимодействие между атомами холестерина, 2 — терм 1 плюс взаимодействие холестерина с водой, 3 — терм 1 плюс взаимодействие холестерина с нанотрубкой, 4 — полная потенциальная энергия взаимодействия атомов холестерина с атомами системы

Хотя холестерин и теряет благоприятные ван-дер-ваальсовы взаимодействия с водой (холестерин окружает в нанотрубке меньшее количество молекул воды), более выгодное притяжение стенки нанотрубки играет большую роль и обеспечивает общую потенциальную яму в ~ 30 ккал/моль.

Если нанотрубка предварительно гидратирована, процесс проникновения занимает обычно больше времени при 300 К. Молекулы воды легко проникают в нанотрубку через свободное отверстие, как это было ранее показано в других МД-расчетах [44–47] и еще раньше в экспериментах [48–50]. В соответствии с рис. 3, т. е. в случае предварительно гидратированной нанотрубки при 300 К, начало вхождения приходится после 500 пс. Для сравнения, при 1000 К необходимо лишь 80 пс, чтобы холестерин начал вхождение в нанотрубку, и приблизительно 250 пс, чтобы завершить весь процесс. При высоких температурах быстрые движения могут вызвать отклонение холестерина от пути непосредственно к отверстию нанотрубки. В ряде расчетов наблюдалось сближение холестерина с внешней стенкой нанотрубки. После того как холестерин адсорбируется на внешней поверхности, требуется значительное время, чтобы он опять приблизился к отверстию нанотрубки, теряя выгодные контакты со стенкой.

2.2. Взаимодействие полипептида с нанотрубкой

В численных экспериментах было обнаружено также явление самосборки полиаланина и углеродной нанотрубки с образованием структуры в виде

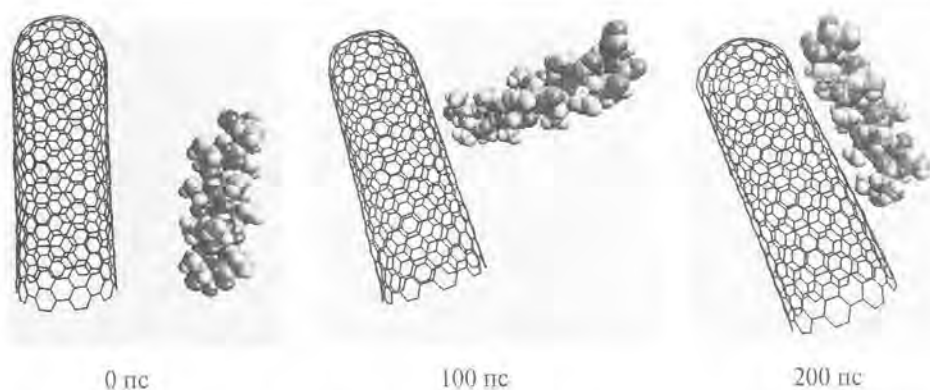


Рис. 4. (Цветную версию рисунка см. на вклейке.) Последовательные стадии прилипания полиаланина к внешней поверхности нанотрубки

спирали полиаланина внутри нанотрубки. Показано, что при 300 К за время порядка 200 пс происходит адсорбция (рис. 4) полипептида в α -спиральной конформации на поверхности нанотрубки (исходное положение пептида — на расстоянии 30 Å от нанотрубки).

Дальнейшая эволюция комплекса была прослежена с использованием ускорения надбарьерных переходов путем повышения температуры. Наблюдался процесс спонтанного проникновения полиаланина в нанотрубку. Несмотря на то что выигрыш в энергии в этом случае значительно больше, чем при адсорбции пептида на внешней поверхности нанотрубки, переход пептида из состояния «снаружи нанотрубки» в состояние «внутри нанотрубки» требует преодоления определенного энергетического барьера, поскольку энергия адсорбции полипептида уменьшается при смещении молекулы пептида к краю нанотрубки.

На рис. 5 показана детальная картина акта самосборки структуры «полипептид — нанотрубка». Находясь на внешней стенке нанотрубки, молекула пептида достаточно продолжительное время остается около ее центральной части. Изредка один из концов пептида оказывается около отверстия. Постепенно вследствие флуктуаций молекула пептида начинает перемещаться

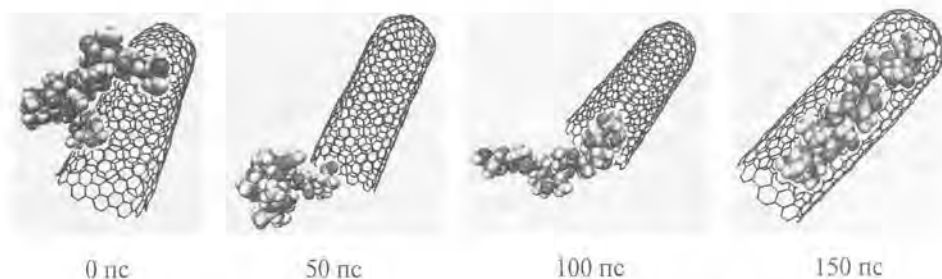


Рис. 5. (Цветную версию рисунка см. на вклейке.) Последовательные стадии самосборки комплекса пептида и нанотрубки при 1000 К

вдоль нанотрубки. Затем конец пептида приближается к отверстию, после чего вся макромолекула быстро проникает в нанотрубку. Эта стадия при 1000 К длится 130 пс. При 2000 К самосборка идет по такому же механизму. Однако при повышении температуры процесс становится более обратимым, и за счет этого время от начала до завершения акта встраивания увеличивается до 300 пс.

Продолжительность формирования активной для самосборки конфигурации при 1000 К составила 4,64 нс, при 2000 К — 0,655 нс. Это дает оценку величины энергии активации порядка 7,8 ккал/моль. Ожидаемое время самосборки при 300 К составляет 43 мкс. Отметим, что рассматриваемый процесс моделировался в вакууме. Для процесса, протекающего в растворителях, энергия активации самосборки должна быть, по-видимому, ниже вследствие влияния энергии сольватации полипептида и нанотрубки.

2.3. Наношприц в действии

Рассмотренный выше гибрид полипептида и нанотрубки с закрытым концом может быть в принципе использован для доставки пептида (или иной молекулы) через биологическую мембрану в клетку или отдельный компартмент. Зачастую требуется селективная доставка низкомолекулярных синтетических веществ, имитирующих действие природных биомолекул и имеющих терапевтический потенциал. Эти конструкции могут быть также использованы и для изучения механизмов молекулярного распознавания.

Отметим, что создание таких функциональных систем представляет интерес для нового направления — нанофармакологии. Молекулярная динамика в данном случае выступает как инструмент проектирования функциональной молекулярной конструкции, позволяя определить необходимые параметры устройства. В качестве примера нами был смоделирован наношприц, осуществляющий акт выталкивания пептида из нанотрубки в бислойную мембрану и в воду.

Моделью действующего агента, выталкивающего полиаланин из нанотрубки, служили восемь расширяющихся ван-дер-ваальсовых сфер (см. выше). Радиус сфер увеличивался до значений порядка радиуса нанотрубки, при этом скорость увеличения радиуса составляла десятые доли Å/пс. При таких условиях создавался практически «нановзрыв», и система срабатывала как «нанопушка». На рис. 6 и 7 приведен сценарий выброса пептида при таких экстремальных параметрах «выстрела» с максимумом давления в нанотрубке порядка 10^5 бар. В момент «выстрела» нанотрубка несколько деформируется, но эти деформации не выходят за пределы ее прочности. По окончании процесса выталкивания пептида нанотрубка полностью восстанавливает первоначальную конформацию за время порядка 3 пс.

В ходе рассматриваемого процесса молекула полиаланина испытывает конформационные изменения. Начальная спиральная конформация наиболее сильно деформируется при выбросе полипептида в вакуум и менее всего — в мембрану. По-видимому, среда играет в этом процессе демпфирующую и структурирующую роль. На рис. 8 видно также, что при уменьшении скорости «нановзрыва» конформационные изменения полипептида обычно уменьшаются. Небольшое уширение распределения по конформациям при выбросе

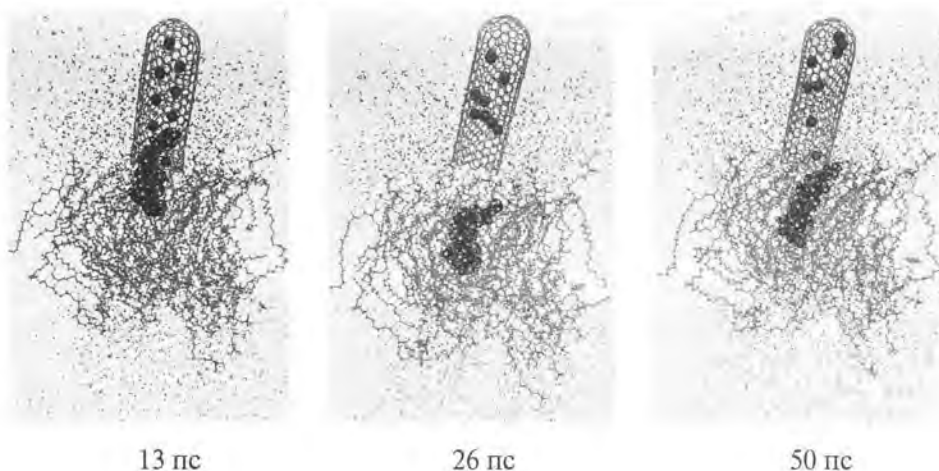


Рис. 6. (Цветную версию рисунка см. на вклейке.)
Последовательные стадии выталкивания пептида в мембрану

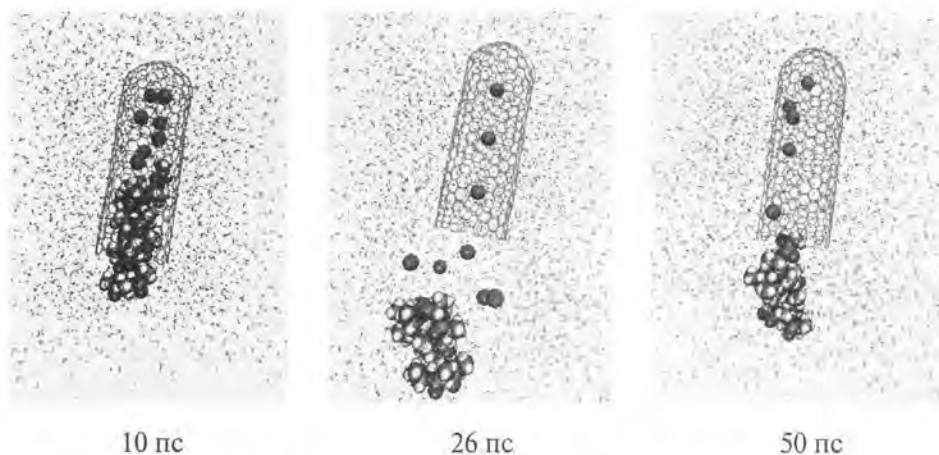


Рис. 7. (Цветную версию рисунка см. на вклейке.)
Последовательные стадии выталкивания пептида в воду

полиаланина в воду может быть связано с дополнительным напряжением, возникающим при входе гидрофобной молекулы в водную среду.

Проведенное полноатомное МД-моделирование указывает на возможность использовать углеродные нанотрубки как наноконтейнеры для биомолекул. В самом деле, вне зависимости от того, нанотрубка предварительно гидратирована или нет, она легко может абсорбировать небольшие негидрофильные молекулы. Другой возможностью использования подобных наноконтейнеров является их развитие в устройства типа наношприца. Компьютерное моделирование выявляет базовые возможности их должного функционирования. Имея в распоряжении молекулы, которые могут быть активированы, например светом [1, 51], можно перейти к экспериментальной стадии разработки.

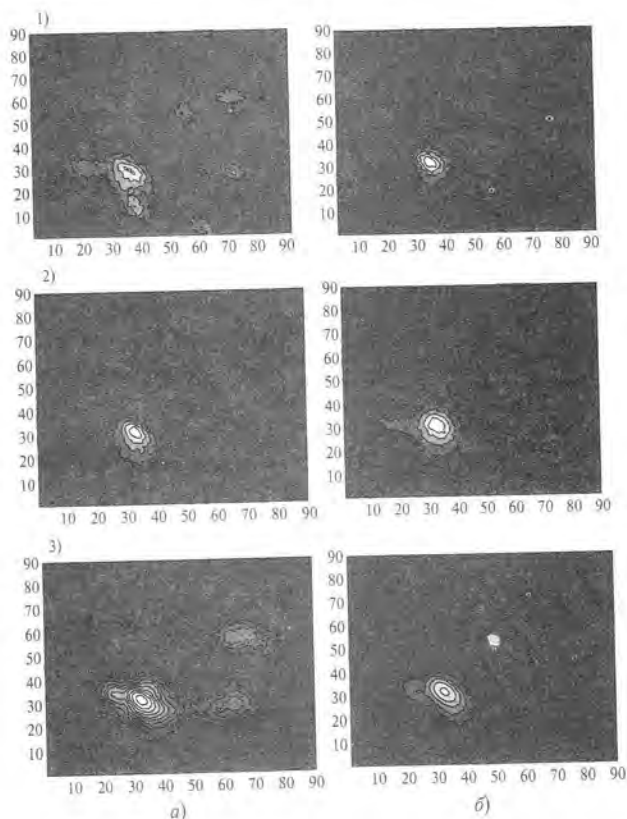


Рис. 8. Сечения Пуанкаре для полиаланина по углам ϕ и ψ основной цепи при выталкивании в мембрану (1), воду (2) и вакуум (3) с расширением выталкивающих сфер за времена 13 (а) и 26 пс (б)

Модифицируя нанотрубку (путем добавления функциональных групп), можно, в принципе, достичь как селективной абсорбции, так и селективной посадки нанотрубки на клеточных мембранных рецепторах, что могло бы дать мощный инструмент для создания полезных терапевтических устройств.

Литература

1. Koçer A., Walko M., Meijberg W., Feringa B. L. // *Science*. 2005. Vol. 309. P. 755–758.
2. Wu W., Wieckowski S., Pastorin G., Benincasa M., Klumpp C., Briand J. P., Gennaro R., Prato M., Bianco A. // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2005. Vol. 44. P. 6358–6362.
3. Gao H., Kong Y., Cui D., Ozkan C. S. // *Nano Lett.* 2003. Vol. 3. P. 471–473.
4. Yeh I.-C., Hummer G. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004. Vol. 101. P. 12177–12182.
5. Xie Y. H., Soh A. K. // *Mat. Lett.* 2005. Vol. 59. P. 971–975.
6. Lopez C. F., Nielsen S. O., Moore P. B., Klein M. L. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004. Vol. 101. P. 4431–4434.
7. Gao H. // *European white book on fundamental research in materials science*. M. H. Van der Woorde et al., eds. Max Planck Gesellschaft, 2001. P. 144–148.

8. *Frenkel D., Smit B.* Understanding molecular simulation: from algorithms to applications. San Diego: Academic Press, 2002. 2nd edn.
9. *Rieth M.* Nanoengineering in science and technology. An introduction to the world of nano-design. The Foundations of Natural Science and Technology. River Edge, NJ: World Scientific Pub. Co. Pte. Ltd., 2003.
10. *Shaitan K. V., Tourleigh Ye. V., Golik D. N.* Molecular dynamics of carbon nanotube-polypeptide complexes at the biomembrane-water interface. NATO Science Series II: Mathematics, Physics and Chemistry. Springer, 2006. P 233–234.
11. *Isralewitz B., Gao M., Schulten K.* // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2001, Vol. 11. P. 224–230.
12. *Park S., Schulten K.* // *J. Chem. Phys.* 2004. Vol. 120. P. 5946–5961.
13. *Lemak A. S., Balabaev N. K.* // *Mol. Simul.* 1995, Vol. 15. P. 223–231.
14. *Lemak A. S., Balabaev N. K.* // *J. Comput. Chem.* 1996. Vol. 17. P. 1685–1695.
15. *Голо В. Л., Шайтан К. В.* // *Биофизика.* 2002, Т. 47. С. 611–617.
16. *Golo V. L., Salnikov V. N., Shaitan K. V.* // *Phys. Rev. E.* 2004, Vol. 70. P. 046130.
17. *Турлеу Е. В., Шайтан К. В., Балабаев Н. К.* // *Биофизика.* 2005. Т. 50. С. 1042–1047.
18. *Wang J., Cieplak P., Kollman P. A.* // *J. Comput. Chem.* 2000. Vol. 21. P. 1049–1074.
19. *Berendsen H. J. C., Postma J. P. M., Gunsteren W. F. van, DiNola A., Haak J. R.* // *J. Chem. Phys.* 1984. Vol. 81, P. 3684–3690.
20. *Schmidt M. W., Baldridge K. K., Boatz J. A., Elbert S. T., Gordon M. S., Jensen J. H., Koseki S., Matsunaga N., Nguyen K. A., Su S., Windus T. L., Dupuis M., Montgomery J. A.* // *J. Comput. Chem.* 1993. Vol. 14. P. 1347–1363.
21. *Hyslop P. A., Morel B., Sauerheber R. D.* // *Biochemistry.* 1990. Vol. 29. P. 1025–1038.
22. *Pabst G., Rappolt M., Amenüsch H., Laggner P.* // *Phys. Rev. E.* 2000. Vol. 62. P. 4000–4009.
23. *Smaby J. M., Mornsen M. M., Brockman H. L., Brown R. E.* // *Biophys. J.* 1997. Vol. 73. P. 1492–1505.
24. *Evans R. W., Williams M. A., Tinoco J.* // *Biochem. J.* 1987. Vol. 245. P. 455–462.
25. *Stouch T. R., Ward K. B., Altieri A., Hagler A. T.* // *J. Comput. Chem.* 1991. Vol. 12. P. 1033–1046.
26. *Feller S. E., Yin D., Pastor R. W., Mackerell A. D., Jr.* // *Biophys. J.* 1997. Vol. 73. P. 2269–2279.
27. *Schlenkerich M., Brickmann J., Mackerell A. D., Jr., Karplus M.* // *Biological membranes: a molecular perspective from computation and experiment.* K. M. Merz, Jr., B. Roux, eds. Boston: Birkhauser, 1996. P. 31–81.
28. *Rabinovich A. L., Ripatti P. O., Balabaev N. K.* // *J. Biol. Phys.* 1999. Vol. 25. P. 245–262.
29. *Jorgensen W. L., Chandrasekhar J., Madura J. D.* // *J. Chem. Phys.* 1983. Vol. 79. P. 926–935.
30. *Murzyn K., Róg T., Jezierski G., Takaoka Y., Pasenkiewicz-Gierula M.* // *Biophys. J.* 2001. Vol. 81. P. 170–183.
31. *Heller H., Schaefer M., Schulten K.* // *J. Phys. Chem.* 1993. Vol. 97. P. 8343–8360.
32. *Chiu S. W., Clark M., Balaji V., Subramaniam S., Scott H. L., Jakobsson E.* // *Biophys. J.* 1995. Vol. 69. P. 1230–1245.
33. *Feller S. E., Pastor R. W.* // *J. Chem. Phys.* 1999. Vol. 111. P. 1287.
34. *Dolan E. A., Venable R. M., Pastor R. W., Brooks B. R.* // *Biophys. J.* 2002. Vol. 82. P. 2317–2325.
35. *White S. H.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1980. Vol. 77. P. 4048–4050.
36. *Rand R., Parsegian V.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1989. Vol. 998. P. 351–376.

37. *Pabst G.* // *Langmuir*. 2000. Vol. 16. P. 8994–9001.
38. *Salamon Z., Lindblom G., Rilfors L., Linde K., Tollin G.* // *Biophys. J.* 2000. Vol. 78. P. 1400–1412.
39. *Seelig J., Seelig A.* // *Q. Rev. Bioph.* 1980. Vol. 13. P. 19–61.
40. *Huster D., Müller P., Arnold K., Herrmann A.* // *Biophys. J.* 2001. Vol. 80.
41. *Lafleur M., Cullis P. R., Bloom M.* // *Eur. Biophys. J.* 1990. Vol. 19. P. 55–62.
42. *Schneider M. J., Feller S. E.* // *J. Phys. Chem. B.* 2001. Vol. 105. P. 1331–1337.
43. *Böckmann R. A., Hac A., Heimbürg T., Grubmüller H.* // *Biophys. J.* 2003. Vol. 85. P. 1647–1655.
44. *Hummer G., Rasaiah J. C., Noworyta J. P.* // *Nature*. 2001. Vol. 414. P. 188–190.
45. *Dellago C., Naor M. M., Hummer G.* // *Phys. Rev. Lett.* 2003. Vol. 90. P. 105902.
46. *Zhu F., Schulten K.* // *Biophys. J.* 2003. Vol. 82. P. 236–244.
47. *Kalra A., Garde Sh., Hummer G.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003. Vol. 100. P. 10175–10180.
48. *Zahab A., Spina L., Poncharal P., Marlière C.* // *Phys. Rev. B.* 2000. Vol. 62. P. 10000–10003.
49. *Gogotsi Yu., Libera J. A., Güvenç-Yazicioglu A., Megaridis C. M.* // *Appl. Phys. Lett.* 2001. Vol. 79. P. 1021–1023.
50. *Ye H., Naguib N., Gogotsi Yu.* // *JEOL news*. 2004. Vol. 39. P. 38–43.
51. *Hugel T., Holland N. B., Cattani A., Moroder L., Seitz M., Gaub H.* // *Science*. 2002. Vol. 296. P. 1103–1106.

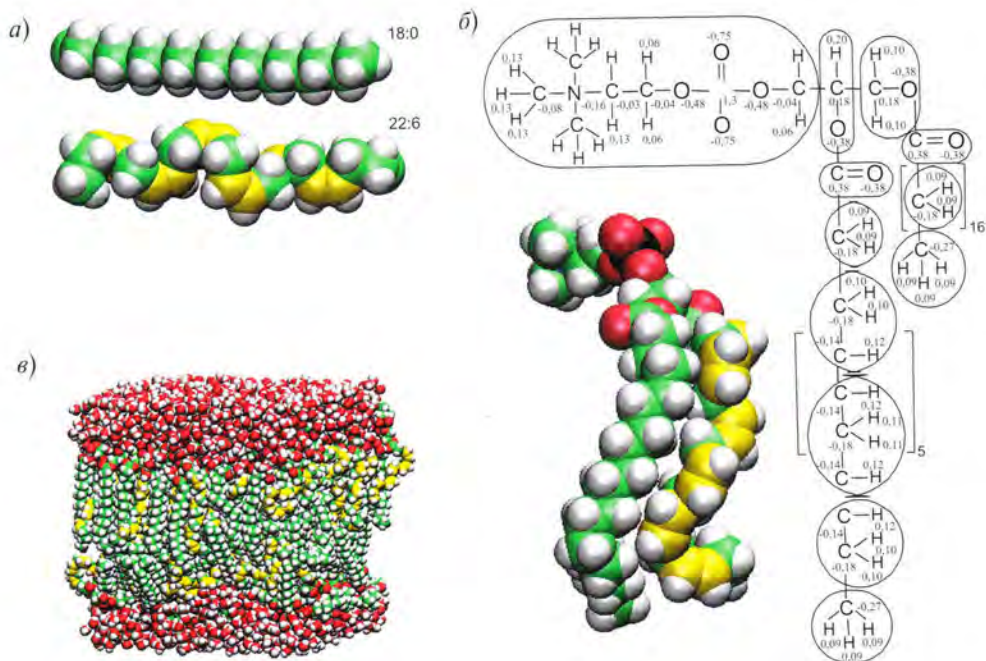


Рис. 2 (глава 12). Объемные модели: *а)* углеводородных цепей 18 : 0 и 22 : 6($n - 3$) *cis*; *б)* молекулы фосфатидилхолина 18 : 0/22 : 6($n - 3$) *cis* ФХ; на схеме указаны также заряды на атомах в единицах заряда электрона, штрихпунктирными линиями выделены группы атомов, суммарный заряд которых положен равным нулю; *в)* гидратированного липидного бислоя, образованного молекулами 18 : 0/22 : 6($n - 3$) *cis* ФХ, — это типичная конфигурация расчетной ячейки в процессе построения МД-траектории. Условные цвета атомов всех объемных моделей: углерод — зеленый, углерод в составе двойных связей — желтый, водород — серый, кислород — красный, фосфор — черный, азот — синий

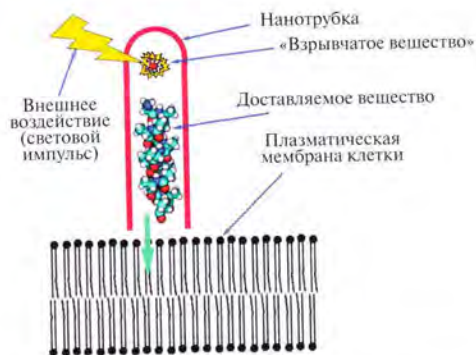


Рис. 1 (глава 15). Схематическое представление наносприца в действии

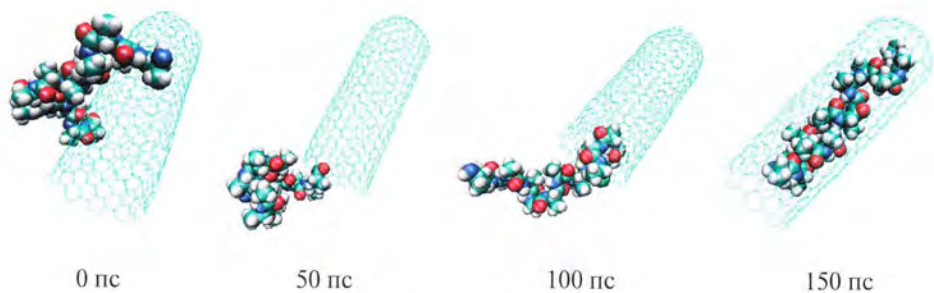


Рис. 5 (глава 15). Последовательные стадии самосборки комплекса пептида и нанотрубки при 1000 К

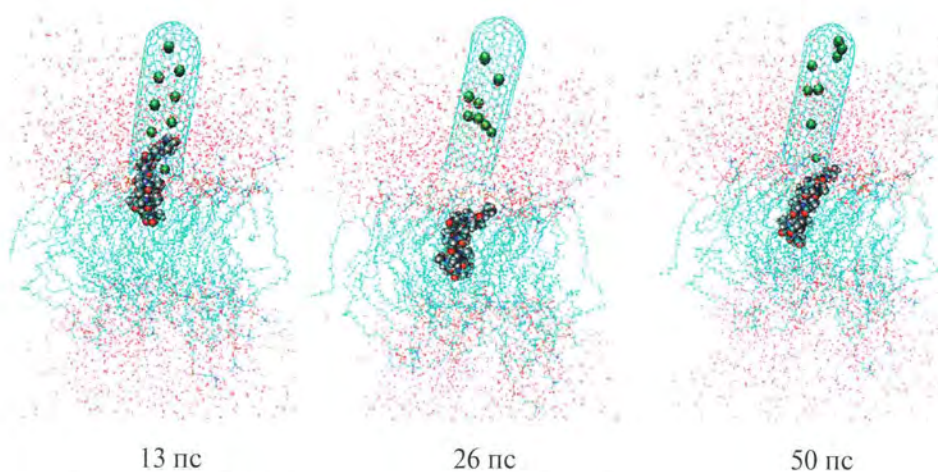


Рис. 6 (глава 15). Последовательные стадии выталкивания пептида в мембрану

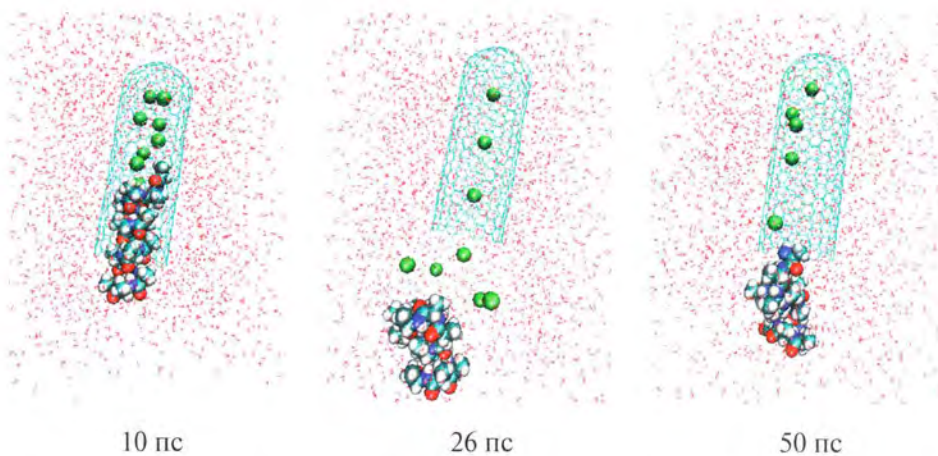


Рис. 7 (глава 15). Последовательные стадии выталкивания пептида в воду