

УДК 541.64:539.199

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ КОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СВОЙСТВ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН И ИХ КОМПОНЕНТОВ¹

Рабинович А.Л.

*ФГБУН Институт биологии КарНЦ РАН, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, д.11;
e-mail: rabinov@krc.karelia.ru*

Введение

Углеводородные цепи остатков жирных кислот входят в состав молекул фосфолипидов [1, 2], которые в природе образуют бислойные и другие структурные образования (мембраны, мицеллы и т.п.). Для того чтобы достигнуть понимания особенностей функционирования подобных молекулярных образований, необходимо изучить свойства многих объектов. Их можно сгруппировать (условно) следующим образом: (1) разнообразные молекулярные компоненты мембран, (2) кластеры различных полиморфных образований, (3) гетерогенные структуры с включениями, (4) иерархические образования полиморфных гетерогенных структур. Важно также изучить трансформации этих образований и переходы между разными структурами. Исследования перечисленных систем проводятся в литературе на разных уровнях и с разной степенью детализации, но конечные этапы работ могут быть достигнуты, по-видимому, лишь в весьма отдаленной перспективе. Вместе с тем для решения ряда мембранных проблем оказываются полезными результаты, полученные уже на начальных этапах, т.е. при изучении свойств основных компонентов мембран (молекул фосфолипидов и жирнокислотных углеводородных цепей) и липидных бислойных кластеров.

Жирнокислотные цепи в липидах биомембран могут различаться по химическому строению, и в мембранах сосуществуют многие десятки липидных молекул разной структуры. Имеющиеся в настоящее время экспериментальные

¹ Работа выполнена при поддержке средств федерального бюджета (гос. задание № 0221-2014-003), гранта НШ-1410.2014.4 Президента РФ и гранта 310465 (MembraneNanoPart) программы FP7.

данные по свойствам таких молекул, к сожалению, весьма разрозненны, и для восполнения многих пробелов целесообразно применять теоретические подходы. Одним из таких подходов является компьютерное моделирование [3].

Методы и модели

Методом молекулярной динамики (МД) проведено моделирование гомогенных бислоев фосфатидилхолинов (ФХ), образованных следующими молекулами: 1-стеароил-2-олеоил-*sn*-глицеро-3-ФХ, 1-стеароил-2-линолеоил-*sn*-глицеро-3-ФХ, 1-стеароил-2-линоленоил-*sn*-глицеро-3-ФХ, 1-стеароил-2-октадекатетраеноил-*sn*-глицеро-3-ФХ, 1-стеароил-2-октадекапентаеноил-*sn*-глицеро-3-ФХ, 1-стеароил-2-арахидоноил-*sn*-глицеро-3-ФХ, 1-стеароил-2-эйкозапентаеноил-*sn*-глицеро-3-ФХ, 1-стеароил-2-докозагексаеноил-*sn*-глицеро-3-ФХ, 1-пальмитоил-2-олеоил-*sn*-глицеро-3-ФХ, 1-пальмитоил-2-линолеоил-*sn*-глицеро-3-ФХ, 1-пальмитоил-2-линоленоил-*sn*-глицеро-3-ФХ, 1-пальмитоил-2-октадекатетраеноил-*sn*-глицеро-3-ФХ, 1-пальмитоил-2-октадекапентаеноил-*sn*-глицеро-3-ФХ, 1-пальмитоил-2-арахидоноил-*sn*-глицеро-3-ФХ, 1-пальмитоил-2-эйкозапентаеноил-*sn*-глицеро-3-ФХ, 1-пальмитоил-2-докозагексаеноил-*sn*-глицеро-3-ФХ. Исследованы тенденции изменения свойств перечисленных липидных молекул по мере увеличения временных масштабов, и изучены общие закономерности. Используемая методика моделирования методом МД описана в работах [4, 5]. Условия МД моделирования каждого бислоя отвечали жидкокристаллическому состоянию молекул липидов. Отметим, что метод МД в настоящее время очень широко используется для изучения свойств липидных мембранных систем [6–8].

Методом статистических испытаний (методом Монте-Карло, МК) было изучено конформационное поведение насыщенных и ненасыщенных углеводородных жирнокислотных цепей в невозмущенном состоянии (которое отвечает жидкому или аморфному состоянию реальных веществ). Длина цепей составляла от 14 до 22 атомов углерода (N), количество двойных связей (d) – от 1 до 6, все они были метиленпрерывающимися, конфигурации *cis*. Общее строение цепей имеет вид $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_a - (\text{CH}=\text{CH} - \text{CH}_2)_d - (\text{CH}_2)_b - \text{CH}_3$ (где *a*, *b*, *d* - це-

лые). Методика моделирования методом МК, использованная в этих исследованиях, описана в работах [9, 10].

При воспроизведении строения всех молекулярных систем использовано полноатомное приближение. Химическое строение жирнокислотных цепей в МД и МК имитации различалось лишь тем, что группа С=О цепи, связанная с глицериновым основанием в молекуле фосфолипидов (и воспроизведенная при МД моделировании бислоев), в МК имитации отдельной цепи заменена группой СН₃. Разница в использованных структурных параметрах (в равновесных значениях длин связей и валентных углов в молекулах) при МД и МК моделировании отсутствовала.

По результатам моделирования методом МД и МК был рассчитан ряд средних характеристик (свойств) каждой жирнокислотной цепи и изучена разница в свойствах цепей в этих состояниях. Метод МД позволяет получить информацию о свойствах, которые проявляются у системы на относительно коротких интервалах временной шкалы (поэтому даже 100 наносекунд, т.е. достигнутое в настоящей работе время, может оказаться сравнительно малым для изучения некоторых явлений, протекающих в изучаемых системах), а метод МК – информацию о равновесных характеристиках. Сравнение результатов МК и МД моделирования позволяет более объективно оценить полученные расчетные данные и проанализировать границы их применимости.

Результаты и обсуждение

Полученные данные позволили выявить как общие для всех липидных молекул свойства, так и специфические свойства, зависящие от конкретного химического строения молекулы. Эта совокупность данных дает основания полагать, что в биологической мембране существуют механизмы надлежащего изменения одних ее свойств с сохранением свойств других. Показано, что свойства ненасыщенных углеводородных цепей липидов мембран при увеличении количества *d* двойных связей *cis* до максимально возможного при постоянном *N*, как правило, становятся экстремальными. Наличие экстремальных свойств у определенных компонентов приводит к особым свойствам тех кластеров мем-

бран, в которые они входят. Функциональная роль компонентов мембран связана с молекулярным механизмом, который и обеспечивает реализацию свойств цепей данного химического строения.

Нами предложена классификация связей С-С и С-Н в углеводородных цепях разного химического строения, входящих в состав липидов бислоя.

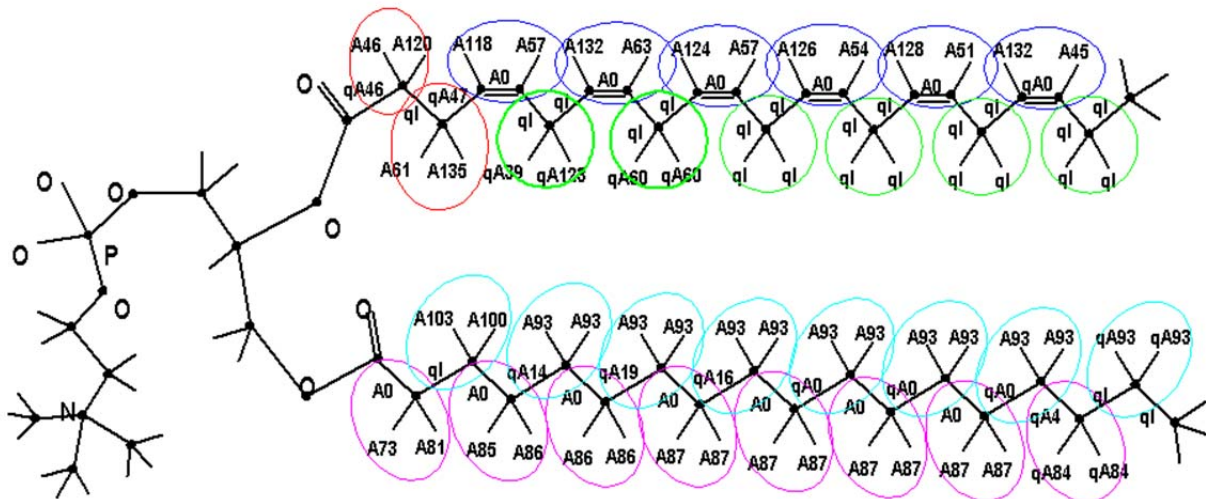


Рис. 1. Схема молекулы 1-стеароил-2-докозагексаеноил-*sn*-глицеро-3-ФХ; из таких молекул образован один из исследованных бислоев. Символы у связей обозначают степени анизотропии кривых распределения по ориентациям соответствующей связи: А – анизотропное, qА – квазианизотропное, qI – квази-изотропное. Для распределений А и qА в виде дополнительного числового индекса указано значение угла в градусах, отвечающего положению максимума кривой по отношению к нормали к поверхности бислоя. Линиями обведены совокупности связей-соседей, которые характеризуются одинаковыми или сходными степенями анизотропии.

В основу классификации положен характер упорядочения связей в липидных бислоях [4, 5]. В результате удалось выявить сходства и различия в физической картине упорядочения связей разных участков цепей в молекулах липидов в бислоях. При сравнении этих данных с традиционно измеряемыми (или вычисляемыми) параметрами порядка связей относительно нормали к поверхности бислоев показаны преимущества использованного подхода. Наличие одной или нескольких двойных связей в жирнокислотной цепи существенно меняет характер флуктуаций всех связей этой цепи по сравнению с таковым в насыщенной цепи (один из примеров представлен на рис.1). Оказалось, что в полиненасыщенной цепи на протяженном участке сосуществуют зоны с анизо-

тропным и квази-изотропным характером ориентационного упорядочения связей.

Было также показано, что углеводородные цепи, входящие в состав липидной молекулы, оказывают влияние на конформационное поведение друг друга; в частности, это проявляется в упругих свойствах молекулы. Профили коэффициентов упругости углов и расстояний между атомами разных углеводородных цепей молекулы зависят от химического строения цепей. Наименьшие коэффициенты – у молекул с полиненасыщенными цепями.

Отметим, что строение любой из рассмотренных жирнокислотных цепей полностью определяется тремя параметрами: N , d и X (где X – среднее арифметическое номеров атомов углерода, которые участвуют в образовании всех двойных связей). Каждый из параметров оказывает влияние на любые средние (геометрические или термодинамические) характеристики жирнокислотной цепи. Установлено, что это влияние является конкурентным, и при некоторых сочетаниях этих параметров, вследствие наличия конкуренции, возможно возникновение компенсационного эффекта. В итоге можно выделить совокупности жирнокислотных цепей, которые различаются по химическому строению, но обладают близкими значениями какого-либо свойства (той или иной средней характеристики). Например, на рис.2 представлены зависимости от X средних значений размеров $\langle g_1 \rangle$, $\langle g_2 \rangle$, $\langle g_3 \rangle$.

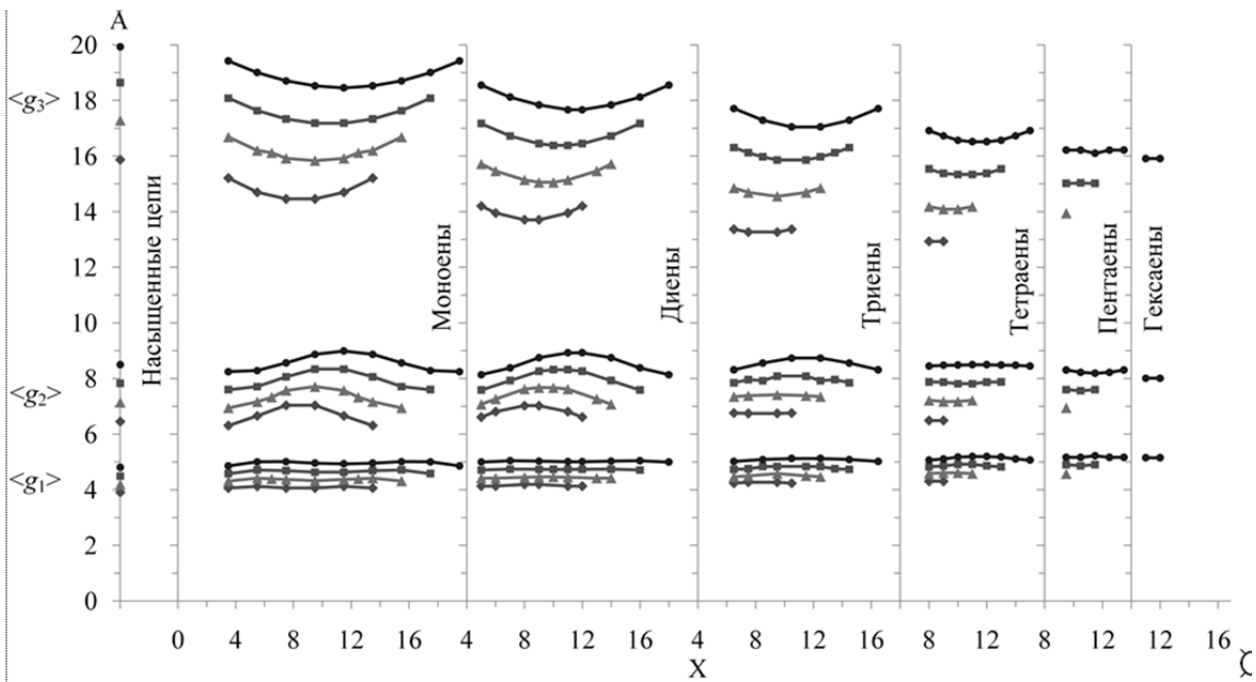


Рис. 2. Зависимости средних размеров $\langle g_1 \rangle$, $\langle g_2 \rangle$, $\langle g_3 \rangle$ ребер прямоугольного параллелепипеда, в который каждая углеводородная молекула может поместиться целиком, от местоположения в цепи “центра” метилепрерывающихся двойных связей, - параметра X, равного среднему арифметическому номеров атомов углерода, участвующих в образовании всех двойных связей. Рассмотрено невозмущенное состояние углеводородных цепей с количеством N атомов углерода 16 (◆), 18 (▲), 20 (■) и 22 (●). Результаты представлены по группам молекул с одинаковым количеством d двойных связей *cis* (насыщенные, d=0; моноены, d=1; диены, d=2; триены, d=3; тетраены, d=4; пентаены, d=5 и гексаены, d=6). Температура $T=293$ К.

Величины g_1 , g_2 , g_3 – это минимальные размеры ребер такого параллелепипеда, грани которого выбраны перпендикулярно главным осям инерции каждой конформации цепной молекулы, а центры всех атомов углерода и водорода молекулы помещаются внутри него. Доверительные интервалы на всех графиках отвечают 95%-ной надежности согласно t-распределению Стьюдента (и они меньше размеров условных символов). Видно, что среди представленных на рис.2 углеводородных молекул можно выделить группы, молекулы в которых различаются по строению (т.е. имеют различные наборы N, d, X), но обладают близкими “продольными” размерами $\langle g_3 \rangle$. Например, можно задать отклонения $\pm 5\%$ от величины $\langle g_3 \rangle$ пальмитиновой цепи; в этот интервал попадают значения величин $\langle g_3 \rangle$ сразу нескольких цепей: олеиновой, линолевой, линоленовой, эйкозатетраеновой, арахидоновой, эйкозапентаеновой, докозапентаеновой, докозагексаеновой (и ряда других). Эти цепи и образуют одну из упомянутых групп.

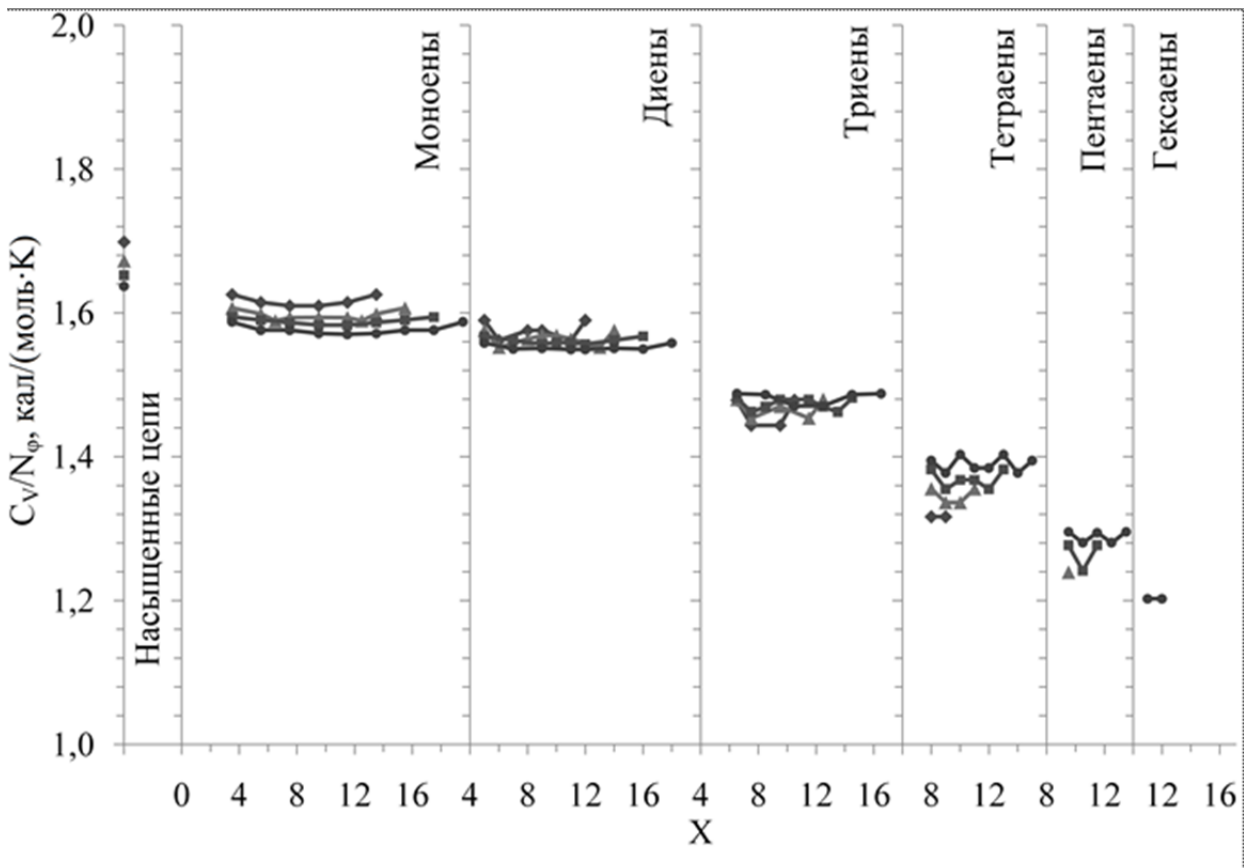


Рис. 3. Зависимости удельных конформационных теплоемкостей C_v/N_ϕ , связанных с флуктуациями энергии ближних взаимодействий невозмущенных углеводородных молекул, от параметра X (местоположения в цепи “центра” двойных связей; все двойные связи - метиленпрерывающиеся). C_v - конформационная теплоемкость, $N_\phi = N-d-3$ – это количество углов внутреннего вращения вокруг простых связей. Углеводородные цепи содержат количество N атомов углерода, равное 16 (—◆—), 18 (—▲—), 20 (—■—) и 22 (—●—). Результаты представлены по группам молекул с одинаковым количеством d двойных связей *cis* (насыщенные, $d=0$; моноены, $d=1$; диены, $d=2$; триены, $d=3$; тетраены, $d=4$; пентаены, $d=5$ и гексаены, $d=6$). Температура $T=293$ К.

Обнаружено, что при изменении температуры средние геометрические размеры предельно полиненасыщенной цепи с метиленпрерывающимися двойными связями *cis* являются более стабильными по сравнению с таковыми для менее ненасыщенных цепей: их температурный коэффициент размеров - наименьший. Кроме того, оказалось, что величина конформационной теплоемкости, которая приходится на один угол внутреннего вращения вокруг простой связи С-С в таких полиненасыщенных цепях, меньше, чем соответствующая величина в насыщенных цепях (рис.3). Данный эффект обусловлен особенностями внутреннего вращения в углеводородных цепях: показано, что минимумы поверхностей энергии в ненасыщенных участках цепи являются более пологими, и плотность высокоэнергетических состояний в них меньше, чем в насыщенных. Другими словами, если количество d *cis*-двойных связей, содержащихся в углеводородной цепи рассмотренного строения, является наибольшим

при данной длине цепи N , то количество тепла (в расчете на один угол внутреннего вращения), которое данная цепь способна принять или передать при изменении температуры, оказывается наименьшим по сравнению с таковым для цепей другого строения. Наличие такого экстремального свойства у предельно полиненасыщенной цепи, очевидно, может оказаться решающим фактором ее использования в некоторых ситуациях, а проявления эффекта могут быть различными. В частности, это свойство позволяет обоснованно указать причину (или одну из причин) экспериментально обнаруженного резко повышенного содержания молекул с полиненасыщенными цепями $N=22$, $d=6$ во фракции фосфолипидов, связанных с родопсином. Действительно, полиненасыщенные цепи фосфолипидов в аннулярных слоях (слоях, окружающих макромолекулы белков в биомембране) способны обеспечить “термостабилизацию” этих макромолекул. Она будет наиболее эффективной по сравнению с любыми другими (менее ненасыщенными) цепями. Такая роль полиненасыщенных цепей существенно отличается от традиционно обсуждаемой “гомеовязкостной” роли ненасыщенных цепей, т.е. их роли в поддержании на должном уровне “жидкости” (вязкости) мембраны при изменении внешних условий (температуры, давления).

Конкурентное влияние параметров N , d , X цепей проявляется и на величине их гибкости. Чем ближе к середине цепи расположены двойные связи в молекуле при $d = \text{Const}$ и $N = \text{Const}$, тем, как правило, больше ее гибкость. Этот эффект объясняется разной степенью влияния наиболее низкоэнергетических (свернутых) конформаций фрагментов, содержащих двойные связи. Поэтому могут возникнуть ситуации, когда при $N=\text{Const}$ молекула с большей степенью ненасыщенности (имеющая d_1 двойных связей) является менее гибкой, чем менее ненасыщенная молекула (имеющая d_2 двойных связей, где $d_2 < d_1$). В тех случаях, когда возникает такая ситуация, d_1 двойных связей в первой молекуле расположены, как правило, вблизи одного из ее концов, а d_2 двойных связей во второй молекуле – вблизи середины цепи.

Изучена относительная разница в величине среднего расстояния $\langle h \rangle$ между концевыми атомами углерода углеводородной цепи в невозмущенном состоянии и в липидном бислое. Оказалось, что эта разница сравнительно невелика: для насыщенных цепей с $N=16, 18$ разница $\sim 9-10\%$; для ненасыщенных цепей с $N=18, d=1-5$ разница $\sim 11-18\%$; для $N=22, d=6$ разница $\sim 23\%$. Тенденции изменения $\langle h \rangle$ в обоих случаях оказались одинаковыми. Следовательно, при анализе и интерпретации ряда процессов, происходящих в биологических мембранах, например, изменений жирнокислотного состава, вызванных изменениями внешних условий, в первом приближении можно использовать соотношения между строением и свойствами, установленные для жирнокислотных цепей в невозмущенном состоянии.

Выводы

Свойства углеводородных цепей липидов в мембранах определяются особенностями внутренних вращений вокруг простых связей С-С: в полиненасыщенных цепях вращения более свободны, чем в цепях насыщенных. Эти особенности являются молекулярным механизмом реализации свойств жирнокислотных цепей различного строения в разных условиях.

Увеличение количества N атомов углерода в цепи, а также количества d двойных связей *cis* при постоянном N приводит к возрастанию гибкости цепи, а перемещение одной или нескольких двойных связей в направлении от середины цепи к ее концам – к уменьшению гибкости. При изменении внешних условий (температуры, давления) изменяется “жидкостьность”, вязкость мембраны. Восстановление (поддержание) должного уровня ее жидкости достигается изменением длин цепей, количества двойных связей и их местоположений в цепях фосфолипидов до достижения должного диапазона значений гибкости.

Роль полиненасыщенных цепей липидов в биологической мембране, однако, не ограничивается обеспечением надлежащей степени ее жидкости: они способны выполнить в биомембранах роль “термостабилизатора” для макромолекул, которых окружают. Эффект от предельно полиненасыщенных цепей бу-

дет наибольшим по сравнению с другими, менее ненасыщенными цепями; проявления эффекта могут быть различными.

Особенности упорядочения сегментов углеводородных цепей относительно нормали к поверхности бислоя определяются не только местоположением сегмента в цепи, но и (в большей степени) химическим строением сегмента. Ориентационное упорядочение связей С-С и С-Н, которые входят в один и тот же фрагмент данного химического строения, скоррелировано друг с другом; корреляция может претерпевать изменения в зависимости от местоположения фрагмента в цепи. В кластере бислоя, образованного липидами с цепями определенного строения, существуют разные зоны, в каждой из которых характер ориентационного упорядочения связей и угловых флуктуаций является однотипным. Разнообразие химического строения цепей в биомембране позволяет создавать в ней разные флуктуационные режимы.

Возможности компьютерного моделирования способствуют расширению представлений о физических основах функционирования биомембран. С его помощью установлены взаимосвязи между химическим строением и свойствами десятков жирнокислотных цепей - типичных компонентов молекул фосфолипидов, образующих основу биомембран. Полученная совокупность данных способствует углублению общего понимания этих взаимосвязей, а также взаимосвязей между свойствами ряда цепей и их функциями в биомембранах. Выявленные соотношения могут быть использованы для анализа и интерпретации процессов, происходящих в биомембранах при изменениях внешних условий, и позволяют предсказать ряд их общих тенденций.

Литература

1. Cook H.W., McMaster C.R. *Fatty acid desaturation and chain elongation in eukaryotes* // *New comprehensive biochemistry* / G. Bernardi (gen. ed.)— Vol. 36: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. Eds.: D.E. Vance, J.E. Vance. 4th ed. S. 1.: Elsevier, 2002. P. 181–204.
2. Nelson D.L., Cox M.M. *Lehninger Principles of Biochemistry*.— 5th ed.— N.Y.: Freeman W.H. and Co., 2008. Ch. 10. P. 343–370.

3. Рабинович А.Л. *Цепные молекулы как компоненты мембранных систем: компьютерное моделирование* // В кн.: Методы компьютерного моделирования для исследования полимеров и биополимеров. Отв. ред. В.А. Иванов, А.Л. Рабинович, А.Р. Хохлов. М.: Книжный дом “ЛИБРОКОМ”. 2009. С.409–454.
4. Рабинович А.Л., Любарцев А.П. *Ориентационные свойства связей молекул липидов в бислоях: моделирование методом молекулярной динамики* // Труды Карельского научного центра РАН. 2012. №5. Сер. Математическое моделирование и информационные технологии. Вып.3. С.94–105.
5. Rabinovich A.L., Lyubartsev A.P. *Bond orientation properties in lipid molecules of membranes: molecular dynamics simulations* // Journal of Physics: Conference Series. 2014. V. 510. 12022.
6. Lyubartsev A.P., Rabinovich A.L. *Recent Development in Computer Simulations of Lipid Bilayers* // Soft Matter. 2011. V.7. P.25–39.
7. Rabinovich A.L., Lyubartsev A.P. *Computer simulations of lipid membranes: methodology and achievements* // Polymer Science. Ser.C. 2013. V.55. No.1. P.162–180.
8. Lyubartsev A.P., Rabinovich A.L. *Force Field Development for Lipid Membranes Simulations* // Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes. 2016. doi:10.1016/j.bbamem.2015.12.033.
9. Рабинович А.Л., Журкин Д.В. *Существенная выборка при моделировании непрерывного спектра конформаций макромолекул методом Монте-Карло* // Труды Карельского научного центра РАН. 2013. №1. Сер. Математическое моделирование и информационные технологии. Вып.4. С.96-111.
10. Журкин Д.В., Рабинович А.Л. *Свойства углеводородных цепей молекул фосфолипидов (метод Монте-Карло)* // Журнал физической химии. 2015. Т.89. №2. с.268–275.