

УДК 538.911

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИНАМИКА САМООРГАНИЗАЦИИ МОЛЕКУЛ ДИЛИНОЛЕИЛ ФОСФАТИДИЛЭТАНОЛАМИНА

© 2021 г. А. Б. Шумм<sup>a, b, \*</sup>, А. А. Юрченко<sup>c, \*\*</sup>, П. Д. Короткова<sup>a</sup>,  
В. И. Тимофеев<sup>d, e</sup>, А. Р. Гусельникова<sup>c</sup>, Ю. А. Владимиров<sup>a, c, e</sup>

<sup>a</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,  
Москва, 119991 Россия

<sup>b</sup>Физический институт им. П.Н. Лебедева Российской академии наук,  
Москва, 119991 Россия

<sup>c</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, 117997 Россия

<sup>d</sup>Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”,  
Москва, 123182 Россия

<sup>e</sup>Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова  
ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН, Москва, 119333 Россия

\*e-mail: alexey.shumm@gmail.com

\*\*e-mail: nasyaurchenkooo@gmail.com

Поступила в редакцию 19.01.2021 г.

После доработки 25.03.2021 г.

Принята к публикации 30.03.2021 г.

Для исследования динамики формирования стабильных липидных агрегатов во времени с помощью AmberTools была построена система, состоящая из 160 молекул дилинолеил фосфатидилэтанолamina в водной фазе (модель воды TIP3P), расположенных на расстоянии не менее 4 Å. С помощью программного пакета Amber с CUDA-версией rmemd промоделирована молекулярная динамика этой системы в два последовательных этапа: с использованием баростатов Берендсена (20 000 пс) и Монте-Карло (100 000 пс). Температура системы составила 310 К, что соответствует температуре человеческого тела. Исследован процесс агрегации липидов и описаны формирующиеся стабильные во времени липидные структуры. Определены временные промежутки образования относительно стабильных агрегатов липидов. Полученные данные могут использоваться при изучении свойств биологических мембран, в том числе внутренней мембраны митохондрий.

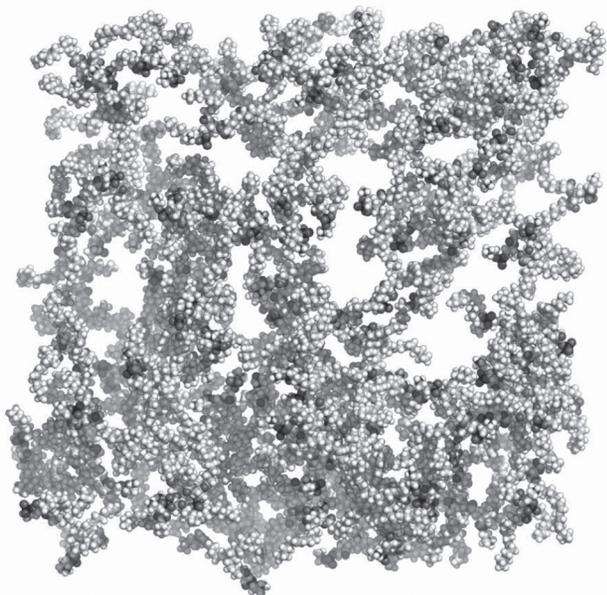
**Ключевые слова:** дилинолеил фосфатидилэтанолamin, молекулярная динамика, самосборка, биологические мембраны, митохондрии.

DOI: 10.31857/S1028096021100174

### ВВЕДЕНИЕ

Биологические мембраны — это основной структурный элемент живой клетки. Они отделяют ее содержимое от внешней среды, органеллы от цитоплазмы, образуют компартменты. Помимо структурной, мембраны выполняют ряд других функций: барьерную, матричную, рецепторную, ферментативную и др. Биологическая мембрана представляет собой липидный бислой с ассоциированными с ним белками [1]. Например, среди фосфолипидов внутренней мембраны митохондрий фосфатидилэтанолamina составляют 37% от общего количества липидов, фосфатидилхолина — 26.5%, кардиолипины — 25.4% и фосфатидилинозитолы — 4.5% [2].

Почти все фосфолипиды построены из трех фрагментов: полярной группы и неполярных ацильных или алкильных углеродных цепей, связанных через глицериновый (или другой полиоловый) или N-сфингоидный фрагмент [3]. Это приводит к тому, что в воде (как в полярном растворителе) происходит самосборка липидов [4] в устойчивые структуры, содержащие на своей поверхности полярные головки с обращенными внутрь жирнокислотными хвостами: мицеллы, бислой, липосомы. В процессе самоорганизации липидов формируются такие структуры, как везикулы, которые рассматриваются как предшественники клеток, появившиеся в добиологическую эру [5], и постоянно участвуют в живых



**Рис. 1.** Исходная система, включающая 160 молекул дилинолеил фосфатидилэтаноламина с минимальным расстоянием между атомами двух молекул в 4 Å. Сторона ячейки – 150 Å. Цветовая маркировка атомов: черный – фосфор, темно-серый – азот, серый – кислород, светло-серый – углерод, белый – водород.

клетках в процессе их метаболизма, в частности, при экзоцитозе и эндоцитозе [6].

Таким образом, способность к самоорганизации является одним из важнейших свойств липидов. В дальнейшем было бы интересно узнать, какие факторы влияют на этот процесс, так как очевидно, что самосборка фосфолипидов обеспечивает стабильность структуры биологических мембран, которая может временно нарушаться из-за физиологических или патологических процессов. В данной работе мы промоделировали процесс самосборки молекул дилинолеил фосфатидилэтаноламина (DLiPE) в воде.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для получения системы, содержащей 160 молекул липида, была использована программа Packmol [7]. Ячейка имела кубическую форму со стороной 150 Å. Липиды были упакованы таким образом, что расстояние между ними было не менее 4 Å. Топология системы была построена с использованием Amber tools [8]. Моделирование молекулярной динамики производилось с помощью программного пакета AMBER [9] с CUDA-версией pmemd [10]. В качестве силового поля использовалось поле Lipid 14 [11]. В качестве модели воды использовалась модель TIP3P. Для релакса-

ции структуры проведена минимизация энергии системы. Выполнено две стадии уравнивания по 5 и 100 пс в NVT и NPT-ансамблях с ограничением на подвижность липидов соответственно. В ходе первой стадии производилось нагревание от 0 до 100 К, в ходе второй – от 100 до 310 К. Для контроля давления и температуры использовались термостат Ланжевина [12] и баростат Берендсена [13]. Последовательно запущены 10 расчетов продуктивной молекулярной динамики, каждый по 2 нс с шагом 2 фс при температуре 310 К и давлении 1 атм. Далее было промоделировано еще 100 нс, контроль давления производился с помощью баростата Монте-Карло [14].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

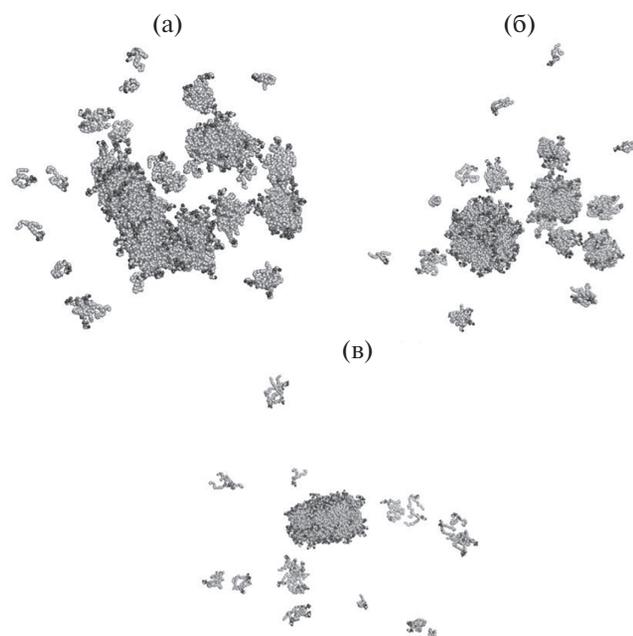
Была получена система, состоящая из воды и 160 молекул DLiPE, хаотично расположенных в ячейке размерами 150 × 150 × 150 Å так, что минимальное расстояние между атомами двух молекул составляло не менее 4 Å (рис. 1).

Основные группы молекул были сформированы в течение первых 3 нс (рис. 2а): видны 3 сформировавшиеся основные группы ассоциировавшихся липидных молекул. Далее происходила постепенная стабилизация системы, уплотнение и компактизация молекулярных групп, превращение их в устойчивые структуры.

На 8-й нс сформировались следующие структуры: 3 мицеллы, содержащие 72, 23 и 14 молекул липидов, группы липидов по 3–6 молекул, 10 одиночных молекул DLiPE. На 12-й нс также выделяются три компактные мицеллы, состоящие из 72, 23 и 14 липидных молекул; 10 ассоциаций по 3–6 молекул и 10 свободноплавающих молекул (рис. 2б). В приблизительно таком же состоянии мицелла пребывала до 63-й нс.

На 63-й нс структуры сблизилась, началось слияние мицелл, которое завершилось к 65-й нс. В течение еще 4 нс полученная структура компактизировалась. К 69-й нс система пришла в конечное состояние: 1 бислой (шириной в средней 40.3 Å и диаметром 80.1 Å), состоящий из 120 молекул DLiPE; 7 групп, включающих от 3 до 8 молекул липидов; 6 одиночных молекул. На 100 нс система находится в устойчивом состоянии и включает те же липидные структуры: бислой из 120 молекул, 7 групп от 3 до 8 молекул и 6 свободноплавающих липидов (рис. 2в). В данном состоянии система пребывала до конца молекулярно-динамического эксперимента.

Таким образом, на всем рассмотренном временном промежутке происходила группировка молекул фосфолипидов, которая к 69 нс привела к



**Рис. 2.** Состояние системы в ходе молекулярно-динамического эксперимента на: а – на 3 наносекунде видны 3 сформировавшиеся основные группы ассоциировавшихся липидных молекул; б – на 12 наносекунде выделяются три компактные мицеллы, состоящие из 72, 23 и 14 липидных молекул; 10 ассоциаций по 3–6 молекул и 10 свободноплавающих молекул; в – на 100-й наносекунде система находится в устойчивом состоянии и содержит липидный бислой, включающий 120 молекул, 7 групп от 3 до 8 молекул дилинолеил фосфатадилэтанолamina и 6 свободноплавающих молекул. Цветовая маркировка атомов: черный – фосфор, темно-серый – азот, серый – кислород, светло-серый – углерод, белый – водород.

образованию стабильной структуры, являющейся частным случаем фосфолипидного бислоя.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно полученным данным, агрегация липидов в водной фазе начинается уже в первые 10 нс, а в первые 100 нс практически завершается. Данная агрегация происходит в две стадии. Сначала липиды группируются в небольшие мицеллы. Данная стадия занимает около 10 нс. На второй стадии путем слияния мицелл происходит образование стабильной устойчивой структуры – частного случая липидного бислоя. Следует, однако, отметить, что 25% липидов не включаются в состав бислоя, а остаются либо в свободном состоянии, либо в виде небольших мицелл. Результаты исследования можно использовать для дальнейших исследований свойств биологических мембран, в частности, внутренней мембраны митохондрий.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке РФФ № 19-14-00244 в части моделирования МД и при поддержке Министерства науки и высшего образования в рамках выполнения работ по Государственному заданию ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН в части анализа результатов молекулярного моделирования.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Alberts B., Johnson A., Lewis J. et al.* Molecular Biology of the Cell. N.Y.: Garland Science, 2002. 1462 p. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg023>
2. *Comte J., Maïsterrena B., Gautheron D.C.* // Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes. 1976. V. 419. № 2. P. 271. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(76\)90353-9](https://doi.org/10.1016/0005-2736(76)90353-9)
3. *Cevc G.* Phospholipids Handbook. N.Y., Basel: CRC Press, 1993. 1004 p. <https://doi.org/10.1201/9780203743577>
4. *Lodish H. et al.* Biomembranes: Structural Organization and Basic Functions / Molecular Cell Biology. 4th Edition. WH Freeman, 2000. ISBN-10: 0-7167-3136-3
5. *Luisi P. L., Walde P., Oberholzer T.* // Current Opinion in Colloid & Interface Science. 1999. V. 4. № 1. P. 33. [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(99\)00012-6](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(99)00012-6)
6. *Henkel A. W., Meiri H., Horstmann H. et al.* // The EMBO Journal. 2000. V. 19. № 1. P. 84. <https://doi.org/10.1093/emboj/19.1.84>
7. *Martínez L., Andrade R., Birgin E.G. et al.* // J. Computational Chemistry. 2009. V. 30. № 13. P. 2157. <https://doi.org/10.1002/jcc.21224>
8. *Case D.A., Belfon K., Ben-Shalom I.Y. et al.* AMBER 2020. San Francisco: University of California, 2020.
9. *Case D.A., Cheatham T.E., Darden T. et al.* // J. Computational Chemistry. 2005. V. 26. № 16. P. 1668. <https://doi.org/10.1002/jcc.20290>
10. *Salomon-Ferrer R., Götz A. W., Poole D. et al.* // J. Chemical Theory and Computation. 2013. V. 9. № 9. P. 3878. <https://doi.org/10.1021/ct400314y>
11. *Dickson C.J., Madej B.D., Skjævik Å. A. et al.* // J. Chemical Theory and Computation. 2014. V. 10. № 2. P. 865. <https://doi.org/10.1021/ct4010307>
12. *Allen M.P., Tildesley D.J.* Computer Simulation of Liquids. N.Y.: Oxford University Press, 1991. 385 p. <https://doi.org/10.1093/oso/9780198803195.001.0001>
13. *Berendsen H.J., Postma J.V., van Gunsteren W.F. et al.* // The J. Chemical Physics. 1984. V. 81. № 8. P. 3684. <https://doi.org/10.1063/1.448118>
14. *Steinbach P.J.* // Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics. 2004. V. 57. № 4 P. 665. <https://doi.org/10.1002/prot.20247>

## Molecular Dynamics of Self-Assembly of Dilinoleyl Phosphatidylethanolamine Molecules

A. B. Shumm<sup>1,2,\*</sup>, A. A. Yurchenko<sup>3,\*\*</sup>, P. D. Korotkova<sup>1</sup>, V. I. Timofeev<sup>4,5</sup>,  
A. R. Gusel'nikova<sup>3</sup>, Yu. A. Vladimirov<sup>1,3,5</sup>

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

<sup>2</sup>*Lebedev Physical Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia*

<sup>3</sup>*Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997 Russia*

<sup>4</sup>*National Research Center "Kurchatov Institute", Moscow, 123182 Russia*

<sup>5</sup>*Shubnikov Institute of Crystallography of FSRC "Crystallography and Photonics" of Russian Academy of Sciences, Moscow, 119333 Russia*

\**e-mail: alexey.shumm@gmail.com*

\*\**e-mail: nastyaurchenkoo@gmail.com*

For research the dynamics of the formation of stable lipid aggregates in time a system was built, consisting of 160 molecules of dilinoleyl phosphatidylethanolamine in aqueous phase (TIP3P water model). Lipid molecules were located at a distance of at least 4 Å. We have simulated the molecular dynamics of this system in two sequential stages: using Berendsen (20000 ps) and Monte Carlo (100000 ps) barostats. The simulation was done through Amber software package with CUDA version of pmemd. The system temperature was 310 K, which corresponds to the temperature of the human body. Here we describe the process of lipid aggregation and the forming lipid structures that are stable in time. We have determined the time intervals for the formation of stable lipid aggregates. The data obtained can be used to study the properties of the inner mitochondrial membrane.

**Keywords:** dilinoleyl phosphatidylethanolamine, molecular dynamics, self-assembly, mitochondrial membrane, lipid aggregates.