

Błony biologiczne są niezmiernym elementem wszystkich komórek. Bardzo ważnym składnikiem błon, odpowiedzialnym za ich zachowanie, są fosfolipidy, które dzięki swojej amfipatycznej naturze, sprawiają że biomembrany mogą spełniać wiele biologicznych i biochemicznych funkcji. Odgrywają one nie tylko istotną rolę jak jest kompartmentyzacja komórek i organelli wewnątrzkomórkowych, ale również uczestniczą w takich procesach jak transport wewnątrzkomórkowy, czy podział komórek. Błony w układach biologicznych charakteryzują się zróżnicowanym składem, zawierają: fosfolipidy, glikolipidy, sterole, terpenoidy, białka czy peptydy. Mają one charakter „płynnej mozaiki”, w której matryca fosfolipidowa stanowi lepki rozpuszczalnik dla białek [1,2]. Natura fosfolipidów tworzących dwuwarstwy umożliwia zakotwiczenie białek błonowych, które mogą spełniać rolę kanałów, receptorów, pomp czy porów. Dodatkowo, jak się okazuje, skład lipidowy błony wpływa na aktywność takich białek jak liczne ATPazy, czy pompa wapniowo-potasowa [2,3]. Właściwość błon, takie jak stabilność i integralność są głównie konsekwencją oddziaływań między dyspersyjnymi a dźwiczymi siłami (Rys. 1). Błony biologiczne charakteryzują się wysokim stopniem nieuporządkowania łańcuchów hydrofobowych, które pokazują złoony ruchliwość w obrębie dwuwarstwy. Ze względu na ograniczenia badań eksperymentalnych (złożoność układów, rozdzielczość - również czasowa), bardzo wiele informacji, dotyczących zachowania się dwuwarstw lipidowych, czerpana jest z symulacji dynamiki molekularnej (MD), która jest metodą pozwalającą na badania układy modelowe z rozdzielczością atomową. Metody MD opierają się o pola siłowe które stanowią zestaw funkcji i parametrów opisujących oddziaływanie między cząsteczkami i w badanych układach. Parametry pól siłowych jak dotychczas dopasowywane były w oparciu o badania eksperymentalne, symulacje Monte Carlo dla fazy skondensowanej bądź obliczenia kwantowo-mechaniczne. Podstawowym ograniczeniem metod MD, niezwiązany z dostępnymi mocami obliczeniowymi, są braki w oszacowaniu parametrów pól siłowych stosowanych w symulacjach. Problem szczególnie jest widoczny w przypadku oddziaływań między cząsteczkami (wewnątrz i między cząsteczkami), których parametry są najtrudniejsze do dopasowania, a dominują w przypadku takich układów jak błony biologiczne.

Niniejszy projekt skupiony jest na poprawie parametryzacji pola siłowego OPLS-AA (Optimized Potentials for Liquid Simulations – All Atoms). Pole siłowe OPLS-AA jest polem siłowym ogólnego zastosowania, wykorzystywanym w symulacjach małych cząsteczek organicznych bardzo zróżnicowanych pod względem chemicznym [5]. Projekt ma na celu poszerzenie stosowalności pola siłowego OPLS-AA na cząsteczki fosfolipidów. W badaniach uwzględnione zostaną cztery cząsteczki modelowe: trójacetyna, dimetylofosforan, etanolamina i cholina, zawierające grupy funkcyjne obecne w fosfolipidach takich jak fosfatydyloetanolamina (PE) i fosfatydylocholina (PC), należących do fosfolipidów stanowiących główne składniki komórek zwierzęcych. Innowacyjną częścią projektu obejmuje wykorzystanie metod ab initio MD, które przez uproszczony opis funkcji falowych elektronów walencyjnych, umożliwia symulacje faz skondensowanych cząsteczek modelowych, a tym samym uwzględnienie ich właściwości w doborze parametrów pola siłowego OPLS-AA. Metody ab initio MD jak dotychczas nie były stosowane w dopasowaniu parametrów pól siłowych, dlatego ich przetestowanie umożliwia nam opracowanie nowej procedury parametryzacji. Drugim aspektem innowacyjności projektu jest wykorzystanie cząsteczki trójacetyny, która, pomimo dostępu do danych z zakresu wyników badań eksperymentalnych nie była brana pod uwagę jako cząsteczka modelowa w procedurach parametryzacji układów zawierających Parametryzacja obecnie stosowanych pól siłowych nakierowana jest na konkretne układy biologiczne, np. pola siłowe: AMBER, CHARMM - udoskonalane są w celu poprawnego odwzorowania oddziaływań w białkach czy kwasach nukleinowych, SILIPIDS, CHARMM, GROMOS53a6 – rozwijane są pod kątem symulacji błon modelowych złożonych z fosfolipidów najczęściej występujących w układach biologicznych. Należy jednak podkreślić, że rozwijanie pól siłowych tak, aby odtwarzały właściwości konkretnych układów biologicznych, czy stosujemy się z dużymi błędami w symulacjach nieco zmodyfikowanych układów. Poprawne odtworzenie niektórych właściwości eksperymentalnych błon biologicznych o konkretnym składzie (takich jak powierzchnia i objętość) przypadająca na cząsteczkę lipidu, parametry uporządkowania czy temperatury przemian fazowych) może być wynikiem przeszacowania jednych i niedoszacowania innych parametrów, co w konsekwencji daje pozornie poprawne wyniki symulacji przeprowadzonych metodami klasycznej MD. ugrupowanie glicerolowe.

W ramach niniejszego projektu, skupimy się na polu siłowym OPLS-AA, które obok pola GAFF jest polem siłowym ogólnego zastosowania [4,5]. Zgodnie z filozofią parametryzacji pól siłowych skoncentrujemy się na odtworzeniu właściwości faz ciekłych dla małych cząsteczek organicznych zawierających ugrupowania chemiczne obecne w cząsteczkach fosfolipidów, takich jak entalpia parowania, swobodna entalpia hydratacji, gęstość czy geometria wiązania wodorowych [6], co jak się spodziewamy rozszerzy stosowalność, a tym samym uniwersalność pola siłowego OPLS-AA. Do badań fazy gazowej cząsteczek modelowych (trójacetyny, dimetylofosforanu, etanolaminy i choliny) wykorzystane zostaną metody kwantowo-mechaniczne takie jak metody teorii funkcjonału gęstości (DFT) z wykorzystaniem funkcjonału B3LYP, metody rachunku zaburzeń Möllera-Plesseta czy metoda sprężonych klastrów CCSD(T) - do obliczenia energii elektronowej. Faza skondensowana cząsteczek modelowych symulowana będzie dwoma metodami ab initio MD (Born-Oppenheimer i Car-Parinello MD) [7]. Naszym zadaniem jest znalezienie kompromisu w postaci zestawu parametrów, który pozwoli na odtworzenie z odpowiednią dokładnością zarówno właściwości fazy gazowej jak i faz skondensowanych, a tym samym poprawny opis oddziaływań między cząsteczkami wewnątrz i między cząsteczkami w modelowanych dwuwarstwach lipidowych. Parametry nad którymi pracujemy to przede wszystkim ładunki cząsteczkowe, parametry w potencjale Lennarda-Jones'a opisującym oddziaływanie van der Waalsa i współczynniki w potencjale torsyjnym, opisującym profile energetyczne dla obrotu wokół wiązań chemicznych. Dopasowane parametry testowane będą za pomocą symulacji metodami klasycznej MD dla faz skondensowanych cząsteczek modelowych, jak i dwuwarstw złożonych z cząsteczek PC i PE.

Ze względu na fakt iż błony biologiczne są trudnym obiektem do badań eksperymentalnych, symulacje klasycznej MD modelowych dwuwarstw lipidowych stanowią bardzo ważne źródło informacji na temat zachowywania się fosfolipidów, ich oddziaływań między sobą, z cząsteczkami wody, sterolami, peptydami czy białkami transbłonowymi. Prace naukowe poświęcone lipidom mogą mieć nie tylko niesamowity wymiar chemiczny, biochemiczny, biologiczny czy biofizyczny, ale również medyczny, gdyż tego rodzaju układy odgrywają niezmiernie ważną rolę w fizjologii organizmów, a tym samym mają swój udział

w podłożach chorób takich jak miażdżyca, nowotwory, czy choroba Alzheimer'a [8]. Należy jednak mieć na uwadze, iż poprawne odtworzenie zachowania siłofosfolipidów w symulacjach klasycznej MD ograniczone jest przez odpowiedni zestaw parametrów ujętych w ramach zastosowanego pola siłowego, dlatego te udoskonalenia procedur parametryzacji poprzez zastosowanie nowatorskich metod obliczeniowych i wykorzystanie dostępnych danych eksperymentalnych jest tematem bardzo aktualnym.

#### Literatura:

- [1] Singer S. J., Nicolson G. L., *Science* 175 (1972), 720–731.
- [2] Pasenkiewicz-Gierula M., *KOSMOS* 58 (2009), 282-283, 49-56.
- [3] Ding J., Starling P., East J. M., Lee G., *Biochemistry* 33 (1994), 4974–4979.
- [4] Caleman C., Van Maaren P. J., Hong M., Hub J. S., Costa L. T., Van der Spoel D., *J. Chem. Theory Comput.* 8 (2012), 61–74.
- [5] Jorgensen W. L., Maxwell D. S., Tirado-Rives J., *J. Am. Chem. Soc.*, 118 (45) (1996), 11225–11236.
- [6] Murzyn K., Bratek M., Pasenkiewicz-Gierula M., *J. Phys. Chem. B* 117 (2013), 16388–16396
- [7] Hutter J., Iannuzzi M., Schiffmann F., VandeVondele J., *Comput. Mol. Sci.* 4 (2014), 15-25.
- [8] Van Meer G., Voelker D. R., Feigenson G. W., *Nature Reviews | Molecular Cell Biology* 9 (2008) 112-124.