

СТРУКТУРА МАКРОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

УДК 538.911

МОДЕЛИРОВАНИЕ ЛИПИДНОГО БИСЛОЯ, ИМИТИРУЮЩЕГО ВНУТРЕННЮЮ МЕМБРАНУ МИТОХОНДРИЙ

© 2021 г. А. А. Юрченко^{1,*}, П. Д. Короткова², А. Р. Гусельникова¹, А. Б. Шумм^{2,3},
В. И. Тимофеев^{4,5,**}, Ю. А. Владимиров^{1,2,4,6}

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова
Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³ Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, Москва, Россия

⁴ Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН, Москва, Россия

⁵ КК НБИКС-природоподобных технологий, Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”,
Москва, Россия

⁶ Институт регенеративной медицины,
Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

*E-mail: nastyaurchenko00@gmail.com

**E-mail: tostars@mail.ru

Поступила в редакцию 10.10.2020 г.

После доработки 27.11.2020 г.

Принята к публикации 27.11.2020 г.

Построена модель липидного бислоя, имитирующего внутреннюю мембрану митохондрий. Полученная модель состоит из 51 молекулы дилинолеил фосфатидилэтаноламина, 36 молекул дилинолеил фосфатидилхолина, 35 молекул тетраолеил кардиолипина и 6 молекул дилинолеил фосфатидилинозитола в каждом из двух слоев липидов. Промоделирована молекулярная динамика полученной модели (20000 пс). Описана подвижность различных липидов и групп атомов в их составе. Полученная модель может быть использована для изучения липидной компоненты внутренней митохондриальной мембраны.

DOI: 10.31857/S0023476121060436

ВВЕДЕНИЕ

Одними из важнейших клеточных органелл являются митохондрии. Митохондрии — это клеточные органеллы, встречающиеся в большинстве эукариотических клеток, имеющие внешнюю и внутреннюю мембраны, каждая из которых представляет собой липидный бислой с мембранно-ассоциированными белками [1]. Основной составляющей липидной компоненты мембран являются фосфолипиды (амфифильные молекулы, имеющие гидрофильную и гидрофобную части). Наиболее распространенные представители этого класса в биологических мембранах — это фосфатидилэтаноламин, фосфатидилхолин, фосфатидилинозитол и фосфатидилсерин [2].

Второй важный класс липидов, входящий в состав биологических мембран, — это гликолипиды, представляющие собой липиды со связанными с ними углеводами. Основным классом гликолипидов, встречающихся в мембранах, являются гликофинголипиды, состоящие из керамида

(включает в себя сфингозин и жирную кислоту), одного или нескольких углеводных остатков, а также сиаловой кислоты [3]. Они преимущественно находятся на внешней стороне мембраны и отвечают прежде всего за клеточное распознавание и проведение сигналов [3]. Кроме того, в состав мембран входит холестерол, регулирующий их вязкость [4]. Известно, что изменение вязкости мембран приводит к различным заболеваниям, таким как атеросклероз [5], диабет [6] и другие.

Белковую компоненту мембраны составляют различные классы белков, находящиеся на ее поверхности, или пронизывающие ее, например, различные ионные каналы, обеспечивающие избирательную проницаемость мембраны для различных ионов в зависимости от условий [7].

Основной функцией митохондрий является окисление органических соединений и использование полученной при этом энергии для синтеза аденозинтрифосфата [1]. Кроме того, один из

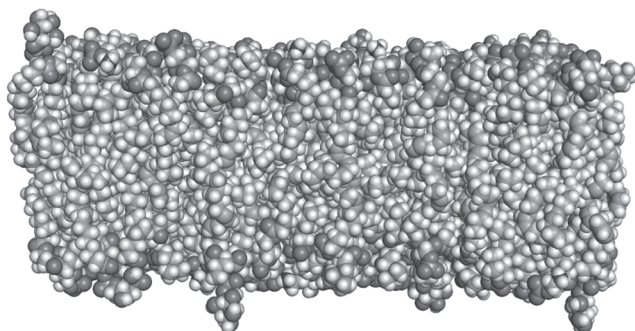


Рис. 1. Построенная модель липидного бислоя, имитирующего внутреннюю мембрану митохондрий.

сигнальных путей апоптоза (регулируемого процесса запрограммированной гибели клеток) связан с митохондриями, причем у позвоночных именно такой путь является основным [8]. Отметим, что нарушение апоптоза приводит к различным заболеваниям. Для таких заболеваний, как удушье новорожденных [9] и церебральная ишемия у пожилых людей [10], так же как и для болезни Альцгеймера [11] и некоторых других нейродегенеративных заболеваний, дегенерации сетчатки [12] и отторжения трансплантата [13], характерен чрезмерный апоптоз. При злокачественных опухолях, наоборот, апоптоз в раковых клетках подавлен [14, 15]. Митохондриальный сигнальный путь апоптоза реализуется путем выхода из межмембранного пространства митохондрии в цитоплазму клетки апоптогенных белков путем разрушения мембраны или открытия водонепроницаемых каналов на внутренней мембране митохондрии (ВММ) [16]. Один из механизмов активации апоптоза – запуск перекисного окисления липидов ВММ, в первую очередь кардиолипина (СЛ), катализируемого цитохромом С (Cyt c) [17]. Хотя данный процесс изучался посредством ряда биофизических методов [18, 19], до сих пор остается неизвестной структура комплекса Cyt c и ВММ на молекулярном уровне. Для изучения свойств ВММ построена модель бислоя, имитирующего по составу ВММ (на 37.0% состоит из фосфатидилэтаноламина, на 26.5% – из фосфатидилхолина, на 25.4% – из кардиолипина и на 4.5% – из фосфатидинозитола) [20], и изучена молекулярная динамика (МД) полученной модели.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исходная модель системы была построена с использованием сервиса CHARMM-GUI [21], она содержала липидный бислой, состоящий из 51 молекулы дилинолеил фосфатидилэтаноламина (DLiPE), 36 молекул дилинолеил фосфатидилхолина (DLiPC), 35 молекул тетраолеил кардиолипина

(TOCL) и 6 молекул дилинолеил фосфатидинозитола (DLiPI), равномерно распределенных в каждом из двух слоев липидов, 15 Å водного слоя с каждой стороны, а также 0.15 М KCl. Размер ячейки, в которой проводилось моделирование МД, составлял $109.47 \times 109.47 \times 70.00$ Å, ячейка имела кубическую форму. Моделирование МД проводили с использованием программного пакета AMBER [22] с CUDA-версией pmemd [23]. В процессе моделирования МД использовали силовое поле CHARMM36 [24]. В качестве модели воды использовали модель TIP3P. Для релаксации структуры и во избежание стерических клашей провели минимизацию энергии системы. Затем система была уравновешена в шесть стадий по 25–50 пс каждая при температуре 310 К и давлении 1 атм в NVT- и NPT-ансамблях с ограничениями на подвижность атомов. После этого ограничения на подвижность были сняты, и система уравновешивалась еще 2 нс. Температуру и давление в системе контролировали с помощью термостата Ланжевина [25] и полуизотропного баростата Монте-Карло [26] с двумя интерфейсами. В результате продуктивной МД было промоделировано 20000 пс с шагом 2 фс.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученная модель бислоя, имитирующего ВММ, изображена на рис. 1. Ширина модели мембраны после уравновешивания системы составляет в среднем 39.08 Å. Видно, что модель бислоя не содержит пор и является непроницаемой для растворителя. Как было показано ранее в ленгмюровских экспериментах [27], существует возможность оценить плотность упаковки липидов в монослое экспериментальными методами, причем высказано предположение, что монослой СЛ меняет свою плотность при взаимодействии с Cyt c. Учитывая возможность менять плотность упаковки липидов в полученной модели, использованный метод молекулярного моделирования позволяет построить молекулярные модели взаимодействия Cyt c и липидного бислоя ВММ.

В результате МД-эксперимента показано, что полученная модель липидного бислоя является стабильной структурой и может быть использована как модель липидной компоненты ВММ. Полученная модель состоит из четырех различных по химическому строению липидов – DLiPE, DLiPC, TOCL и DLiPI (рис. 2), однако принадлежащих к одному классу, т.е. являются фосфолипидами и имеют гидрофильную фосфатную головку и гидрофобный углеродный хвост. Для анализа разницы в подвижности различных частей липидов был рассчитан RMSF (root-mean-square fluctuation) – наиболее часто используемый показатель для оценки динамического изменения координат частиц – как для гидрофобной, так и для

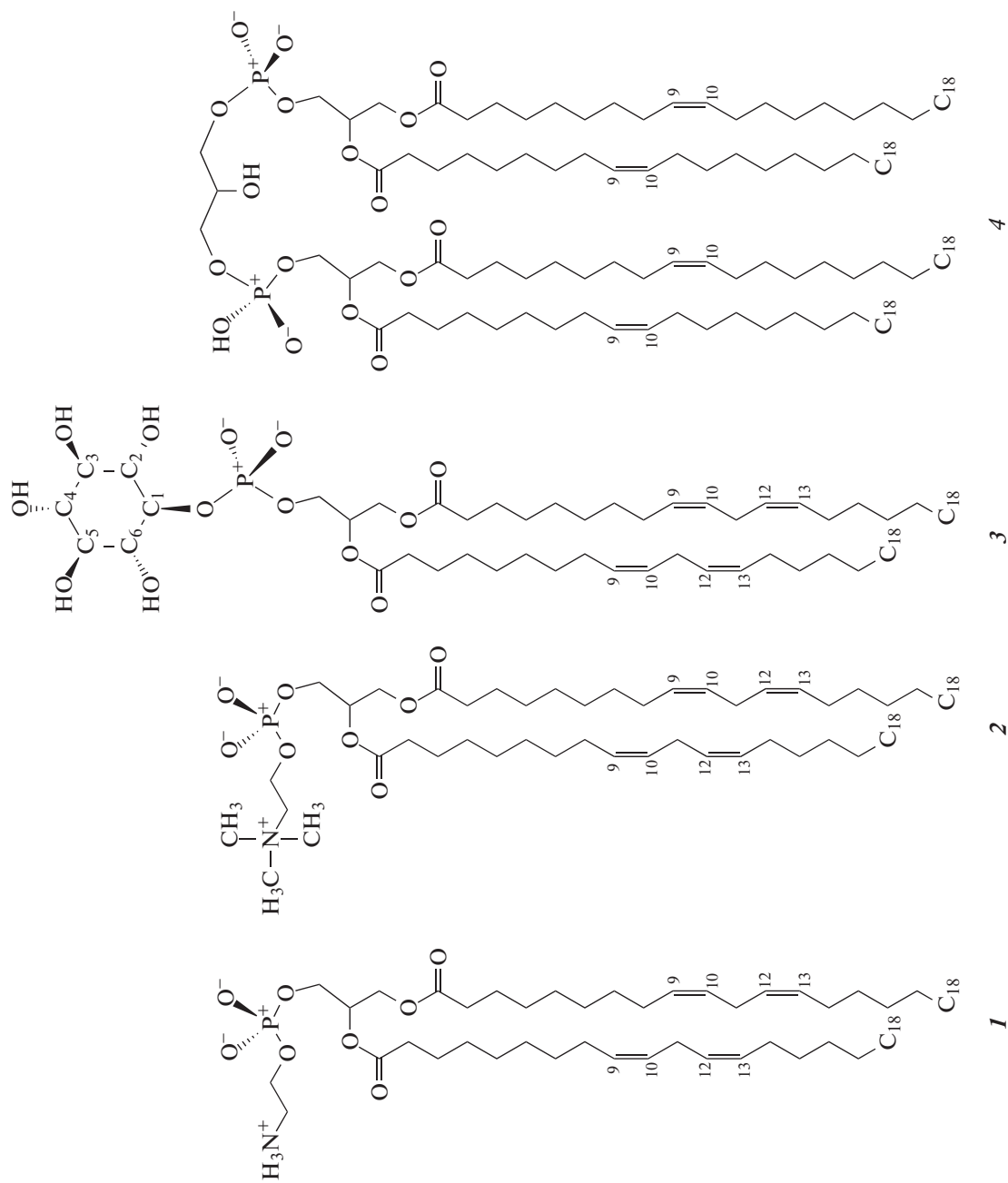


Рис. 2. Химические формулы фосфолипидов, использовавшихся для построения модели внутренней мембраны митохондрий: 1 — димиристоил фосфатидилэтаноламин, 2 — димиристоил фосфатидилхолин, 3 — димиристоил фосфатидилсерин, 4 — димиристоил фосфатидилглицерол.

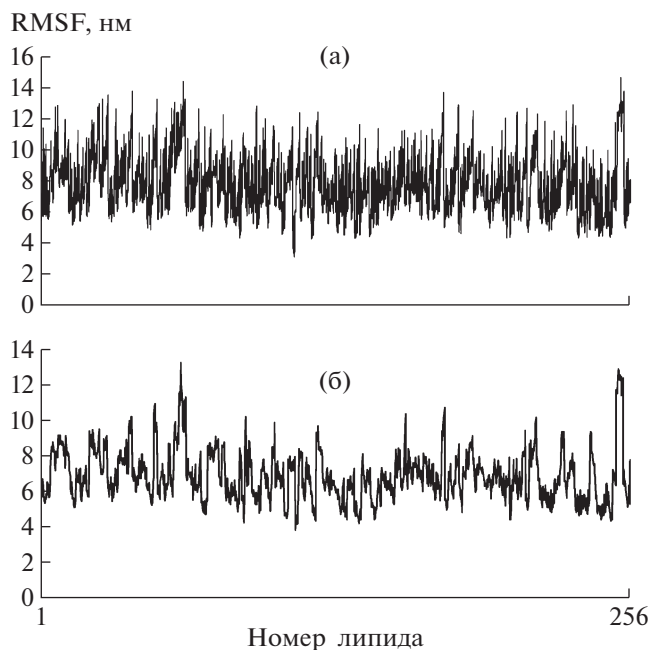


Рис. 3. RMSF для атомов, входящих в состав липидных молекул. Представлены RMSF для атомов углерода (а) и кислорода (б).

гидрофильной частей липидных молекул (для атомов углерода и атомов кислорода). Анализ данных показал, что молекулы липидов по подвижности значительно отличаются друг от друга, однако зависимости степени подвижности липида от его класса не выявлено. С другой стороны, каких-либо тенденций в разнице подвижности атомов кислорода и атомов углерода, входящих в состав липидных молекул, не выявлено (рис. 3).

Таким образом, в результате моделирования получена модель липидного бислоя, имитирующая липидную компоненту ВММ. Полученная модель будет использована в дальнейшем для изучения процессов апоптоза, ассоциированных с Сут с и ВММ.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 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. New York: Garland Science, 2002. 1462 p. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg023>
2. *Gennis R.B.* Biomembranes: molecular structure and function. New York: Springer, 1989. 533 p. <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2065-5>
3. *Hakomori S.-i., Igarashi Y.* // J. Biochem. 1995. V. 118. № 6. P. 1091. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a124992>
4. *Khatibzadeh N., Gupta S., Farrell B. et al.* // Soft Matter. 2012. V. 8. № 32. P. 8350. <https://doi.org/10.1039/C2SM25263E>
5. *Koike T., Ishida G., Taniguchi M. et al.* // Biochim. Biophys. Acta. Molecular Basis of Disease. 1998. V. 1406. № 3. P. 327. [https://doi.org/10.1016/S0925-4439\(98\)00019-2](https://doi.org/10.1016/S0925-4439(98)00019-2)
6. *Nadiv O., Shinitzky M., Manu H. et al.* // Biochem. J. 1994. V. 298. № 2. P. 443. <https://doi.org/10.1042/bj2980443>
7. *Alexander S.P.H., Mathie A., Peters J. A.* // British J. Pharmacol. 2011. V. 164. Special Issue: Guide to Receptors and Channels, 5th Edition P. S137. https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01649_1.x
8. *Siekevitz P.* // Scientific American. 1957. V. 197. № 1. P. 131. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0757-131>
9. *Waters K.A., Meehan B., Huang J. et al.* // Pediatric Res. 1999. V. 45. № 2. P. 166. <https://doi.org/10.1203/00006450-199902000-00002>
10. *Namura S., Zhu J., Fink K. et al.* // J. Neurosci. 1998. V. 18. № 10. P. 3659. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-10-03659.1998>
11. *Takuma K., Yan S.S., Stern D.M. et al.* // J. Pharmacol. Sci. 2005. V. 97. № 3. P. 312. <https://doi.org/10.1254/jphs.cpj04006x>
12. *Wenzel A., Grimm C., Samardzija M. et al.* // Prog. Retin. Eye Res. 2005. V. 24. № 2. P. 275. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2004.08.002>
13. *Krams S.M., Egawa H., Quinn M.B. et al.* // Transplantation. 1995. V. 59. № 4. P. 621.
14. *Lane D.P., Benchimol S.* // Genes Dev. 1990. V. 4. № 1. P. 1. <https://doi.org/10.1101/gad.4.1.1>
15. *Hollstein M., Sidransky D., Vogelstein B. et al.* // Science. 1991. V. 253. № 5015. P. 49. <https://doi.org/10.1126/science.1905840>
16. *Gonzalez D., Bejarano I., Barriga C. et al.* // Current Signal Transduction Therapy. 2010. V. 5. № 2. P. 181. <https://doi.org/10.2174/157436210791112172>
17. *Vladimirov Y.A., Proskurnina E., Alekseev A.* // Biochemistry (Moscow). 2013. V. 78. № 10. P. 1086. <https://doi.org/10.1134/S0006297913100027>
18. *Vladimirov G., Vikulina A., Volodkin D. et al.* // Chem. Phys. Lipids. 2018. V. 214. P. 35. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2018.05.007>
19. *Vladimirov Y.A., Sarisozen C., Vladimirov G.K. et al.* // Pharm. Res. 2017. V. 34. № 6. P. 1264. <https://doi.org/10.1007/s11095-017-2143-1>

20. *Comte J., Maïsterrena B., Gautheron D.C.* // *Biochim. Biophys. Acta. 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)
21. *Jo S., Kim T., Iyer V.G. et al.* // *J. Comput. Chem.* 2008. V. 29. № 11. P. 1859.
<https://doi.org/10.1002/jcc.20945>
22. *Case D.A., Cheatham III T.E., Darden T. et al.* // *J. Comput. Chem.* 2005. V. 26. № 16. P. 1668.
<https://doi.org/10.1002/jcc.20290>
23. *Salomon-Ferrer R., Götz A.W., Poole D. et al.* // *J. Chemical Theory Computation.* 2013. V. 9. № 9. P. 3878.
<https://doi.org/10.1021/ct400314y>
24. *Klada J.B., Venable R.M., Freites J.A. et al.* // *J. Phys. Chem. B.* 2010. V. 114. № 23. P. 7830.
<https://doi.org/10.1021/jp101759q>
25. *Allen M.P., Tildesley D.J.* *Computer simulation of liquids.* New York: Oxford university press, 1991. 385 p.
<https://doi.org/10.2307/2938686>
26. *Steinbach P.J.* // *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics.* 2004. V. 57. № 4. P. 665.
<https://doi.org/10.1002/prot.20247>
27. *Marchenkova M.A., Dyakova Y.A., Tereschenko E.Y. et al.* // *Langmuir.* 2015. V. 31. № 45. P. 12426.
<https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b03155>