شبیه سازی فسفولیپیدها با استفاده از مدل دانه درشت

۱- فاطمه محمد اسماعیلی نسب جعفرآبادی ۲- سعید رضایی زارچی

۱- کارشناس ارشد بیوفیزیک دانشگاه پیام نور تفت
۲- استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور تفت

Email: golsaccms@gmail.com
Email: srezaei_۲۰۰۶@yahoo.com

چکیده

یک مدل دانه درشت محاسباتی کارآمد از انواع مختلف فازهای لیپیدی طراحی شده برای تقلید نزدیک فسفولیپیدهای خاص برای مطالعه تعدادی از سیستم های فسفولیپید استفاده می شود. قدرت مدل با توانایی آن در شبیه سازی موفقیت آمیز خودآرایی دو فاز فسفولیپید از پیکربندی های اولیه تصادفی نشان داده می شود. ستون های آبی در فاز شش ضلعی معکوس تمایل به اتخاذ مقطع چند ضلعی دارند و ساختار محلی فسفولیپیدها هنوز دولایه است. دینامیک مولکولی در شبیه سازی خودآرایی در سیستم های فعلی بسیار کارآمدتر از مونت کارلو است.

کلمات کلیدی: درشت دانه، لیپید، فسفولیپید، مونت‌کارلو

۱. مقدمه

فسفولیپیدها اجزای اصلی غشای سلولی هستند که از دولایه لیپیدی تشکیل شده‌اند و عمدتاً نشانه‌های محیطی از جمله تنش‌های زیستی و غیرزیستی را حس می‌کنند، که سیگنال‌های خارجی را به سلول‌ها انتقال می‌دهند و سلول‌ها را به منظور سازگاری با جو جدید، مورفولوژی یا فعالیت‌های فیزیولوژیکی خود را تغییر می‌دهند. در سال‌های اخیر، مطالعات فزاینده نشان می‌دهد که فسفولیپیدها واسطه‌های حیاتی در فرآیندهای گیاهی هستند، به عنوان مثال، حرکت روزنه، رشد ریشه مو، جذب مواد مغذی، پویایی اسکلت سلولی، استرس نمک و شوک حرارتی. [۸]

در پادشاهی گیاهی، سیستم اسکلت سلولی از میکروتوبول ها (MTs) و میکروفیلامنت ها (MFs) تشکیل شده است. MT ها از توبولین های α و β تشکیل شده اند که دایمرها را تشکیل می دهند و سپس به MT ها پلیمریزه می شوند. MFها از پلیمریزاسیون G-actin به دست می آیند. در طول رشد، نمو و پاسخ به تنش‌های نامطلوب، دینامیک MTs و MFs دقیقاً توسط سیگنال‌های خارجی و درون سلولی تنظیم می‌شود، جایی که پروتئین‌های مرتبط با میکروتوبول و پروتئین‌های مرتبط با ریز رشته‌ها مشارکت می‌کنند.

به طور کلی، اسکلت سلولی اغلب نیاز به تغییر جهت خود را تحت تنش ها دارد. به خوبی مستند شده است که MTs و MFs در تنش شوری، شوک حرارتی، کم آبی و خشکسالی شرکت می کنند. MTs و MFs نشانه‌ها را حس می‌کنند و خود را در این فرآیندها سازماندهی مجدد می‌کنند باید روشن شوند. [۱۰]

جالب توجه است، فسفولیپیدهایی که با اسکلت سلولی تعامل دارند و دینامیک آن را با تأثیر مستقیم بر پلیمریزاسیون یا دپلیمریزاسیون آن یا تغییر فعالیت‌های پروتئین‌های مرتبط با MT و MFs تنظیم می‌کنند، که در نتیجه منجر به پایداری یا بی‌ثباتی اسکلت سلولی می‌شود، مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته‌اند. با این وجود، مطالعاتی که در مورد اینکه آیا فسفولیپیدها و چگونه اسکلت سلولی را تنظیم می کنند، هنوز اندکی هستند.

فسفولیپیدها سازمان اسکلت سلولی را تحت تنش نمکی شکل می دهند.

به طور گسترده پذیرفته شده است که فسفولیپیدها مولکول های سیگنال همه کاره هستند، به عنوان مثال، اسید فسفاتیدیک (PA)، فسفاتیدیللینوزیتول (PI)، اینوزیتول-۱،۴،۵-بیس فسفات (۳)P۱،۴،۵Ins() و لیزوفسفولیپیدها (LP)، درگیر در فرآیندهای تنش مختلف از جمله خشکی، نمک، شوک حرارتی، و غیره. [۱۲]

فسفولیپاز D (PLD)، که می تواند فسفولیپیدها را به اسید فسفاتیدیک و گروه سر هیدرولیز کند، در تحمل به نمک گیاه نقش دارد. ثابت شده است که آرابیدوپسیس ۱PLDα و PLDδ به طور مشترک در شوری بالا عمل می کنند. تحت شوری بالا، فرسایش ۱PLDα یا PLDδ گیاهان را نسبت به تنش شوری حساس‌تر کرد و سطوح PA به طور مداوم کمتری نسبت به گیاهان نوع وحشی تحت تنش و همچنین مهار شدید رشد ریشه نشان داد. نشان داده شد که جهش مضاعف، pldδ۱pldα،

در مقایسه با جهش‌یافته‌های نوع وحشی یا تک، حساس‌ترین نسبت به تنش شوری است. در مقابل، خاموش کردن گوجه‌فرنگی LePLDα (Lycopersicon esculentum)[1] هیچ حساسیتی به جهش‌یافته‌ها به نمک ایجاد نکرد. آنها سرعت رشد ریشه یکسانی را با گیاهان نوع گسترده نشان دادند.

Arabidopsis PLDα[3] به طور مثبت تحمل تنش گیاه را تنظیم می کند. حذف PLDα[3] منجر به افزایش حساسیت به شوری و خشکی شد، در حالی که بیان بیش از حد PLDα[3] باعث مقاومت بیشتر در برابر این تنش‌ها شد. یک پروتئین کیناز معمولی ثابت کرد که در فرآیندهای متعددی دخیل است.

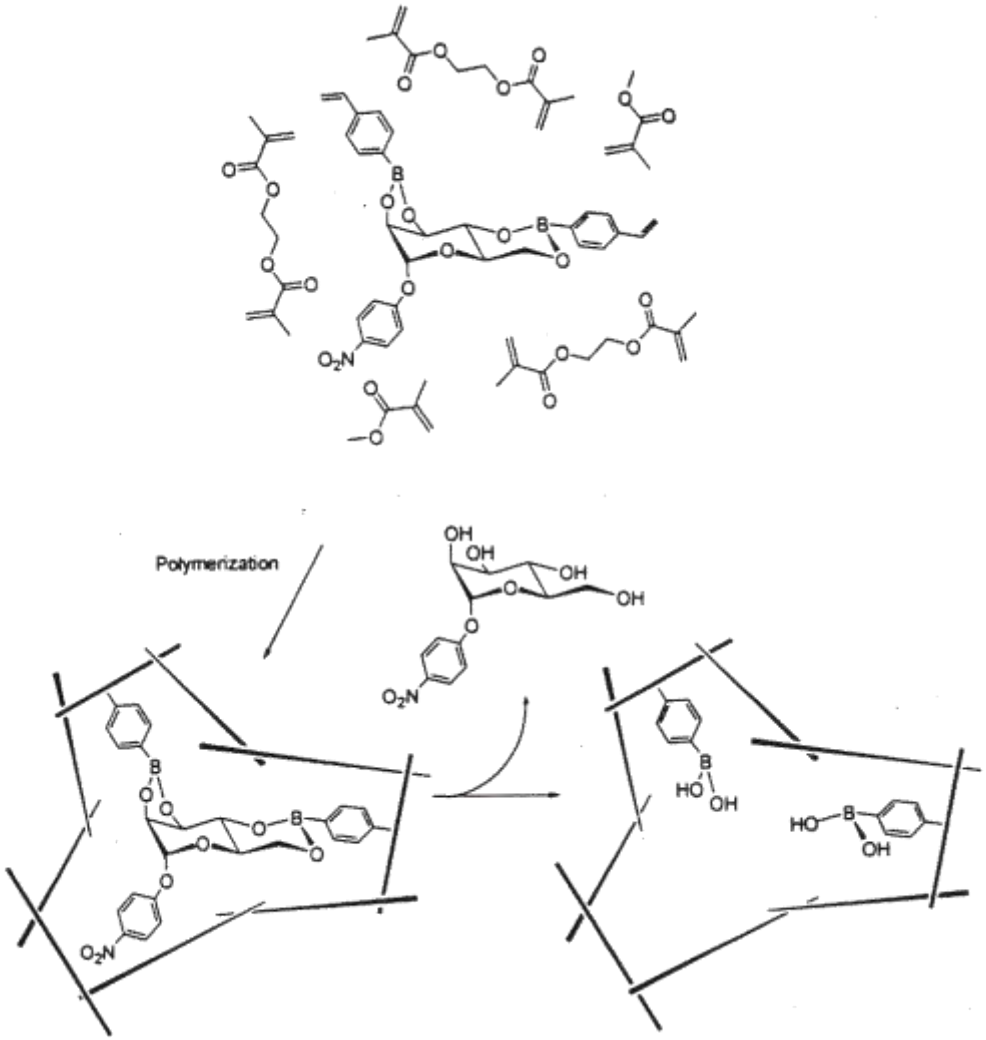
۲. روش های مختلف مولکول نگاری

منقوش پذیری کووالانسی[1]

Wulff و همکارش، سنتز اولین گونه منقوش پذیر کووالانسی را در سال ۱۹۹۷ گزارش [۶] کرده اند (شکل ۱). آنها گونه مزدوج کووالانسی P- وینیل بنزوبرونیک اسید با ۴- نیتروفنیل -D-α مانوپیرانوسید ۲ به نسبت ۲:۱ (مولکول الگو) سنتز نموده و عمل کوپلیمریزاسیون این محصول، با متیل متااکریلات و اتیلن دی متااکریلات (بعنوان اتصال دهنده های عرضی) صورت گرفت. بعد از پلیمریزاسیون، برونیک اسید استر موجود در پلیمر شکافته شده و ۴ نیتروفنیل- D-α مانوپیرانوسید از پلیمر منتقل می شود. دقیقا همان طور که می خواستند، پلیمر حاصل قویاً و به طور گزینش پذیر با این قند پیوند می دهد . پیکر بندی دو گروه برونیک اسید در پلیمر موجود ثابت نگه داشته شده و ساختار مولکول الگو حفظ می شود. با روش مشابهی، Shea یک گونه مزدوج کتال بین گروه کربونیل مولکول الگو وگروه ۱و۳-دیول مونومر عاملی، سنتز نموده و این گونه مزدوج کووالانسی را برای مولکول نگاری به کار برد [۷]

[1] Covalent imprinting

[2] nitrophenyl-α-D-mannopyranoside



شکل ۱: منقوش پذیری کووالانسی مانوپیرانوسید با استفاده از۴- وینیل فنیل برونیک اسید استر بعنوان مونومر عاملی

منقوش پذیری غیر کووالانسی[۳]

Mosbach و همکارانش نشان دادند که پیوند کووالانسی بین مونومر عاملی و مولکول الگو الزاماً برای مولکول نگاری لازم نیستند. حتی بر هم کنش های غیر کووالانسی بین آنها هم به مقدار کافی مفیدند [۵] و [۱۱]. با مخلوط کردن گونه ها با همدیگر، اتصال غیر کووالانسی خیلی سریع تشکیل شده و مولکول نگاری به نحو مطلوبی انجام می شود. برای مثال، برهمکنش حاصل در تشکیل کمپلکس بین متااکریلیک اسید (بعنوان مونومر عاملی) با داروی تئوفیلین (مولکول الگو) از نوع الکتروستاتیک و پیوند هیدروژنی می باشد (شکل ۱).

همین استراتژی برای مولکول نگاری دارو های مختلف، حشره کش ها و دیگر مواد شیمیایی که از نقطه نظر کاربردی مهم هستند، موفق بوده است. بسیاری از کارکنان آزمایشگاهی، زمانی که دیدند که روش ها آنقدر ساده هستند، شگفت زده شدند. آنها خیلی زود متقاعد شدند که این روش به طور خوشایندی برای گستره وسیعی از مولکولها به کار رود و شروع به استفاده از این روش در آزمایشگاه های نمودند.

هیبریداسیون منقوش پذیری کووالانسی و منقوش پذیری غیر کووالانسی[۴]

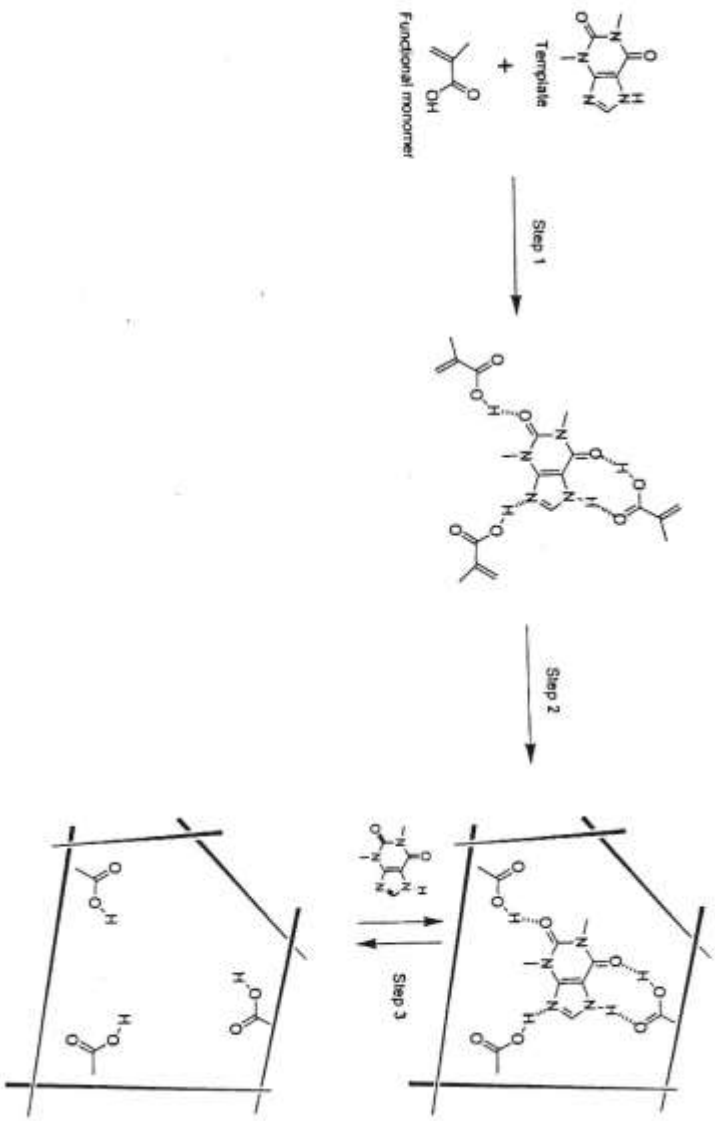
این روش مزایای منقوش پذیری کووالانسی (طبیعت روشن و واضح) و هم مزایای منقوش پذیری غیر کووالانسی (پیوند سریع مولکول الگو) را داراست [۹]. اتصال اولیه مولکول الگو با مونومر عاملی از نوع کووالانسی بوده ولی بعد از انتقال مولکول الگو از پلیمر، جذب مجدد مولکول الگو و اتصال آن با گروههای عاملی مونومر از طریق برهم کنش های غیر کووالانسی صورت می گیرد (شکل ۲). یکی از نقاط ضعف منقوش پذیری کووالانسی، اتصال آهسته اتصال و انتقال مولکول الگو از پلیمراست.

امروزه از روش مولکول نگاری به صورت گسترده برای قرار دادن مولکول های هدف در سایت های مورد نظر استفاده می شود.

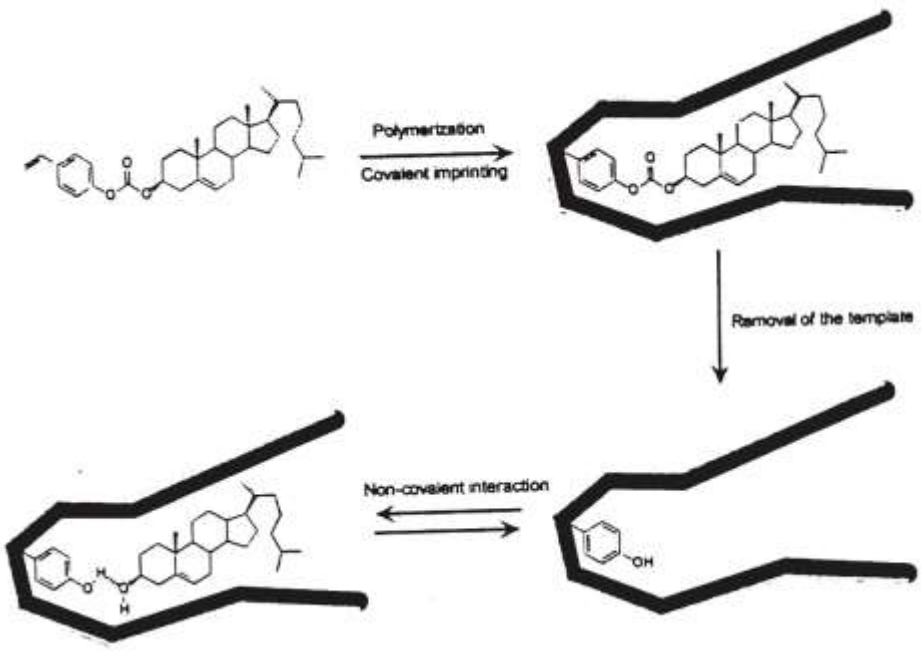
---

۳ Non-covalent imprinting

۴ Hybridization of covalent imprinting and non – covalent imprinting



شکل ۲: منقوش پذیری غیر کووالانسی داروی تیوفیلن



شکل۳: هیبریدی از منقوش پذیری کووالانسی و غیر کووالانسی

درشت‌دانه سازی

مقیاس های طولی–زمانی وسیع پدیده های زیستی موجب گشته تا روش های متوعی برای شبیه‌سازی دینامیک مولکولی ابداع شود. یکی از رهیافت ها، کاهش تعداد درجات آزادی سیستم با حذف جزییات غیر ضرور به منظور افزایش بازدهی و سرعت محاسبات است. این روش، درشت‌دانه سازی نامیده می شود که به دو رویکرد متفاوت ”بالا به پایین“ ۴ و ”پایین به بالا“ ۵ تقسیم بندی می گردد. [۴]

رویکردهای پایین به بالا که به درشت‌دانه سازی سیستماتیک مشهور است از نتایج شبیه‌سازی اتمی با بکارگیری روشهای مختلفی برای ساخت مدل درشت دانه استفاده می کند که به روش های مبتنی بر ذرات ۱ نیز مشهورند. در طرف دیگر، هدف اصلی رویکردهای بالا به پایین، تولید داده های تجربی کلیدی مانند انرژی آزاد مولکول از حلال قطبی به غیر قطبی است که به روش های مبتنی بر ترمودینامیک نیز خوانده می‌شوند.

۳. سابقه و پیشینه تحقیقات انجام شده در این زمینه

احمدی طوسی(۱۳۹۴) در پایان نامه خود با موضوع کاربرد درشت دانه سازی در شبیه سازی سیستم های بیولوژیکی و بیومکانیکی به این نتایج دست یافت که تحلیل ها حاکی از تأثیر به سزای شعاع حدی در مدل‌های شبکه ارتجاعی غیر نمایی نسبت به نوع تابع پتانسیل سختی فنر می‌باشد. همچنین مشاهده شد که مدل‌های نمایی و مدل‌های غیر نمایی با کمترین شعاع حدی بهترین پیش‌بینی را از تغییرات ساختاری ارائه می‌نمایند. در پژوهش دیگری در مقیاس ماکرو، ۹ ایمپلنت دندانی جهت تحلیل بیومکانیکی مدل‌سازی شده و تحلیل پایداری اولیه برای ایمپلنت‌های موجود انجام گرفت. نتایج حاصل نشان داد افزایش طول ایمپلنت رابطه خطی باثبات اولیه یا افزایش فرکانس رزونانس دارد. سپس یکی از مدل‌ها تحت اثر نیروی جونده عادی و بروکسیزم قرارگرفته و اثر این نیروها، جهت بررسی تأثیر زاویه اعمال بار مورد ارزیابی قرار گرفت. نتیجه مطالعه نشان داد که نقش زاویه‌ی بارگذاری بیشتر از مقدار بار اعمالی می‌باشد. [۱]

مقصودی(۱۳۹۴)، در پایان نامه خود به موضوع کاوش در نانوساختارهای حاصل از خود آرایی پپتید A٦D با استفاده از شبیه سازی دینامیک مولکولی درشت دانه پرداخت. او دریافت در این شبیه سازی تأثیر نسبت طول زنجیره‌های آبدوست و آبگریز بر نانوساختارهای خود آرایش یافته‌ی کوپلیمرهای آمفی‌فیل مطالعه شده است. در بخش دوم پایان نامه شبیه سازی درشت دانه‌ی پپتید آمفی‌فیل و کوتاه A٦D در حلال صریح ارائه شده است. درشت دانه سازی پپتید و مولکول‌های آب با استفاده از مدل شناخته شده‌ی CG-CMM صورت گرفته است. برهم‌کنش‌های هیدرودینامیک با استفاده از روش DPD (Dissipative Particle Dynamics)لحاظ شده است. نتایج شبیه سازی نانوساختارهای الیافی شکل برای پپتید A٦D ارائه می‌دهد که تمایل به انحنا یا ایجاد وزیکول در طول خود و هم‌چنین ایجاد اتصالات سه تایی دارند. این نتایج در تطابق نسبتاً خوبی با نتایج آزمایشگاهی برای این پپتید هستند که نشان دهنده‌ی کارایی مدل ارائه شده برای بررسی رفتار دینامیکی پپتیدهای A٦D است. [۲]

دمیرجی و همکاران(۱۳۹۳)، به بررسی شبیه سازی دینامیک مولکولی دانه درشت عبور حامل دارو از غشا سلول پرداختند. آنها پی بردند با گسترش روزافزون صنعت داروسازی و ساخت داروهایی با عملکرد مشخص، انتقال آن به داخل سلول نیز از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است. غشا سلول در برابر ترکیبات آب دوست غیر قابل نفوذ است و مکانیزم های انتقال اختصاصی برای نفوذ آن ها مورد نیاز است. بنابراین لزوم پیدا کردن راهی برای تسهیل عبور این داروها از غشا سلول مطرح است. در این بین پپتایدهای با قابلیت نفوذ به سلول نشان دادند که می توانند به عنوان حامل دارو مورد استفاده قرار گیرند چراکه توانایی عبور از غشا بدون نیاز به انرژی یا ریسپتور را دارا می باشند. در این پروژه به بررسی عبور یکی از این پپتایدها به نام پنتراتین از غشا سلول توسط شبیه سازی دینامیک مولکولی هدفمند با سرعت ثابت و با استفاده از روش دانه درشت مارتینی پرداخته شده است. ابتدا در یک شبیه سازی تعادلی جهت گیری پپتاید طی نزدیک شدن و نشستن بر روی غشا بررسی و نشان داده شد که برای بررسی فرآیند

نفوذ آن به داخل سلول، نیازمند استفاده از دینامیک مولکولی هدفمند می باشیم. سد انرژی پیش روی این پپتاید برای نفوذ به داخل سلول و انتشار آن در داخل غشا بررسی شده است. در این پژوهش نشان داده می شود که تشکیل حفره آب برای نفوذ این پپتاید به داخل سلول باعث شکسته شدن سد انرژی و عبور آسان آن از غشا سلول می شود که با نتایج پژوهش های پیشین همخوانی دارد. همچنین میزان سد انرژی برای عبور این پپتاید از غشا ۱۱۰ کیلوژول بر مول بدست آمد. [۳]

۴. یافته های پژوهش

شبیه‌سازی اتمی مولکولهای DOPE در آب با استفاده از نرم افزار Gromacs ۵،۰،۷ انجام شد. ۶۰ مولکول DOPE در ۲۰۰۰ مولکول آب متناسب با محتوای آبی ۴۴/۶ درصد وزنی- وزنی به مدت ۵۰۰ نانوثانیه با شروع از ساختار تصادفی مولکولهای لیپید شبیه‌سازی گردید. از آنجا که بار کل هر مولکول لیپید صفر است، نیازی به اضافه کردن یون برای خنثی کردن جعبه نیست. میدان نیروی Slipids برای مولکول DOPE و مدل tip^3 برای مولکولهای آب استفاده گردید. شبیه‌سازی در جعبه مکعبی با گام زمانی ۲ فمتوثانیه در هنگرد NPT، در دمای ۳۰۳ کلوین و فشار ۱ اتمسفر انجام شد. روش V-rescaleبا جفت‌شدگی زمانی ۰/۵ پیکوثانیه و روش پارینلو-رهمان با جفت‌شدگی زمانی ۵ پیکوثانیه به ترتیب برای کنترل دما و فشار به‌کار گرفته شد. به‌منظور کنترل ارتعاشات پیوندهای متصل به اتم هیدروژن، از قیدگذاری Lincsاستفاده گردید. برای محاسبه پتانسیل الکترواستاتیک، روش ذره-شبکه‌ای ایوالد با شعاع قطع ۱/۲ نانومتر استفاده شد. همچنین، شعاع قطع درونی و بیرونی در محاسبه پتانسیل لنارد-جونز به ترتیب برابر با ۰/۸ و ۱/۲ نانومتر انتخاب گردید. قبل از شروع شبیه‌سازی، کمینه‌سازی انرژی با استفاده از روش تندترین‌کاهش نیز انجام پذیرفت. مسیر شبیه‌سازی اتمی بعد از ۱۰۰ نانوثانیه تعادل‌رسانی به‌منظور محاسبه توابع توزیع مرجع مورد بهره‌برداری قرار گرفت. نرم افزار VMD.۱،۹،۲و packmol به‌منظور نمایش و تولید ساختار تصادفی اولیه مورد استفاده قرارگرفتند.

۵. نتیجه گیری

تصور می شود تغییرات اسکلت سلولی پویا برای گیاهان برای زنده ماندن در شرایط تنش مفید است. غشاء عمدتاً از فسفولیپیدهایی تشکیل شده است که توسط فسفولیپازهای چندگانه هیدرولیز می شوند. ترکیب غشاء اغلب توسط فسفولیپازها تغییر می کند و در نتیجه سیال شدن غشاء را تحت تأثیر قرار می دهد یا در پاسخ به محرک های خارجی یا درون سلولی فسفولیپیدهای سیگنالی تولید می کند. MTs و MFs قشری در زیر غشای پلاسمایی قرار دارند. برخی از پیوندهای بین غشای پلاسمایی و اسکلت سلولی، مانند CSI۱، فرمین ها و PLD گزارش شده اند. با این حال، مکانیسم مولکولی برای برهمکنش فسفولیپیدها-اسکلت

سلولی هنوز محدود است. برای مثال، PA مشتق از ۱PLDα به ۶۵MAP-۱ متصل می شود و آن را تنظیم می کند تا MT ها را در پاسخ به تنش شوری تثبیت کند.

در این پژوهش از شبیه سازی اتمی استفاده شده است و در ان از محتوای آبی با درصد وزنی مشخص استفاده شده است که روش مورد استفاده در آن روش مونت کارلو می باشد.

در این توابع از از دو نوع توزیع استفده شده است که یکی توزیع شعاعی و دیگری توزیع پیوندی می باشد. در این پژوهش نشان داده شده است که فرایندهایی که به فاز لیپیدی مرتبط می باشند با لیپیدهای DOPE مناسب است.

۶. مراجع

[۱] احمدی طوسی سیروس، (۱۳۹۴)، کاربرد درشت دانه سازی در شبیه سازی سیستم های بیولوژیکی و بیومکانیکی، پایان نامه دانشگاه حکیم سبزواری، دانشکده فنی

[۲] مقصودی فهیمه، (۱۳۹۴)، کاوش در نانوساختارهای حاصل از خود آرایی پپتید A^6D با استفاده از شبیه سازی دینامیک مولکولی درشت دانه، پایان نامه دانشگاه کاشان، پژوهشکده علوم نانو.

[۳] دمیرجی بهزاد، ریسمانیان میلاد، سعیدی محمدسعید، فیروزآبادی بهار، (۱۳۹۳)، شبیه سازی دینامیک مولکولی دانه درشت عبور حامل دارو از غشا سلول، نشریه مهندسی مکانیک مدرس، دوره ۱۴، شماره ۱۵، ص ۳۱۶-۳۲۲.

[4] Daan Frenkel and Berend Smit. Understanding molecular simulation: from algorithms to applications, volume 1. Elsevier, 2001.

[5] G. Vlatakis, L I. Andersson, R. Muller. K. Mosbach, Nature. 1993, 361, 645.

[6] G. Wulff. R. Grobe-Einsler, A. Sarhan, Makromol. Chem., ۱۹۹۷, 178, 2817.

[7] K. J. Shea, T. K. Doughertly, J. Am. Chem. Soc., 1986, 108, 1091.

[8] Li M, Qin C, Welti R, Wang X. Double knockouts of phospholipases Dzeta1 and Dzeta2 in Arabidopsis affect root elongation during phosphate-limited growth but do not affect root hair patterning. Plant Physiol 2006; 140:761–70; PMID:16384909; http:// dx.doi.org/10.1104/pp.105.070995

[9] M. J. Whitcombe, M. E. Rodriguez, P. Villar, E. N. VulfsonJ. Am. Chem. Soc., 1995, 117, 7105.

[10] Müller J, Menzel D, Samaj J. Cell-type-specific disruption and recovery of the cytoskeleton in Arabidopsis thaliana epidermal root cells upon heat shock stress. Protoplasma 2007; 230:231–42; PMID:17458637; http://dx.doi.org/10.1007/ s00709-006-0239-2

[11] R. Arshady, K. Mosbach, Macromol. Chem., 1981, 182, 687.

[12] Zhang Q, Lin F, Mao T, Nie J, Yan M, Yuan M, Zhang W. Phosphatidic acid regulates microtubule organization by interacting with MAP65-1 in response to salt stress in Arabidopsis. Plant Cell 2012; 24:4555–