Российская академия наук Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова

КЛЕТОЧНЫЕ МЕМБРАНЫ КАК СТОХАСТИЧЕСКИЕ ДИНАМИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ: УРОКИ АТОМИСТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ.

Роман Г. Ефремов

Лаборатория моделирования биомолекулярных систем



efremov@nmr.ru http://model.nmr.ru

www.ibch.ru



Лаборатория моделирования биомолекулярных систем ИБХ РАН

Основные направления исследований:



Отдел структурной биологии ИБХ РАН

Лаб. биомолекулярной ЯМР-спектроскопии

проф. А.С. Арсеньев

ЯМР-спектрометры с датчиками CRYOPROBE: UNITY 600 (Varian) Aliance III 800, II 700, II 600 (Bruker) Лаб. моделирования биомолекулярных систем

проф. Р.Г. Ефремов

Высокопроизводительные вычислительные кластеры (производительность > 140 TFlops)

Лаб. оптической микроскопии и спектроскопии биомолекул

д.б.н. А.В. Феофанов

TIRF-конфокальный микроскоп (Carl Zeiss) 4-рі микроскоп (Leica) и пр.





БЛАГОДАРНОСТИ:

Антон А. ПОЛЯНСКИЙ Дарья В. ПЫРКОВА Дмитрий Е. НОЛЬДЕ Антон А. ЧУГУНОВ Павел Е. ВОЛЫНСКИЙ Николай А. КРЫЛОВ Андрей С. КУЗНЕЦОВ

к.ф.-м.н. M.H.C. К.Х.Н. к.ф.-м.н. к.ф.-м.н. M.H.C.

M.H.C.



При финансовой поддержке РНФ, Президиума РАН, РФФИ. Вычисления: СКЦ «Политехнический», СПбГТУ.

Биомембраны как потенциальные мишени в фармакологических приложениях

До 70% всех представленных на рынке лекарств действуют на мишени в мембранах клеток

Примеры перспективных мишеней:

- G-белок сопряженные рецепторы (GPCR);
- Трансмембранные ионные каналы и транспортеры;
- Интегральные мембранные белки, вовлеченные в олигомеризацию в процессе функционирования (рецепторные тирозинкиназы, апоптотические белки и др.);
- Липидные бислой биомембран (прямое и опосредованное изменение его свойств может иметь жизненно важные) последствия для клетки);

OUTLINE:

1. Fluid - mosaic membrane model: is it time to revise?

2. Atomic-scale structural/dynamic organization of lipid bilayers:

- Domains in one- and multi-component lipid bilayers;
- H-bonding as an important fine-regulator;
- Stochastic nature of membranes: role of fluctuations;

3. Biological importance of stochastic fluid - mosaic membrane:

- Self-adaptation of membranes and proteins;
- Membrane as a communicative medium driving protein-protein interactions;
- 4. Conclusions and perspectives.

Fluid—Mosaic Membrane Model



D.M. Engelman, 2005

P.V. Escribá et al., 2008

Limitations of the Singer & Nicolson Fluid—Mosaic membrane model:

"Fluidity":

- Only macroscopic fluidity is assumed, no atomic-scale dynamic information;
- Microscopic effects of water are not included;

"Mosaicity":

 Molecular nature of "mosaicity" is not defined: dynamic domains (clusters) quantitative parameters of mosaicity

Other important aspects:

- Physical nature of intermolecular interactions between membrane components (lipids, proteins, water, ions, etc.) is still not well understood;
- Stochastic nature of membranes (fluctuations!) is not taken into account;

CONCLUSION: Future work is needed, especially on single-molecule level!

A PROMISING WAY TO PROCEED: Atomistic computer simulations (MD, Monte Carlo, etc.)

Point 1:

Atomic-scale structural and dynamic organization of lipid bilayers,

or:

Even simplest membranes are not as "simple" as one can imagine...

Polyansky A. *et al.* (2005) *J. Phys. Chem. B* 109:15052 Polyansky A. *et al.* (2009) *J. Phys. Chem. B* 113:1107 Polyansky A. *et al.* (2009) *J. Phys. Chem. B* 113:1120 Pyrkova D. *et al.* (2011) *Soft Matter* 7:2569 Pyrkova D. *et al.* (2013) *J. Biomol. Struct. Dyn.* 31:87 Krylov N. *et al.* (2013) *ACS Nano* 7:9428 Chugunov A. *et al.* (2014) *Sci. Rep.* 4:7462

A «simple» system: 2-component lipid bilayer:

Similar heads + different (saturated / mono-unsaturated) acyl chains

	DOPC	DPPC
DOPC	288	-
DOPC90	258	30
DOPC80	230	58
DOPC70	200	88
DOPC50	144	144
DOPC30	86	202
DOPC20	58	230
DOPC10	30	258
DPPC	-	288



Dioleoyl-phosphatidylcholine (DOPC)



Dipalmitoyl-phosphatidylcholine (DPPC)

Another «simple» system: 2-component lipid bilayer:

Different (zwitterionic / anionic) heads + similar acyl chains



Analysis of MD data for hydrated lipid bilayers:

Macroscopic geometrical parameters:

- A_L surface area/lipid;
- D_{PP} bilayer thickness;
- Density profiles across the membrane;
- Orientation of lipid heads;
- Free volume distribution;

Dynamic properties:

- S_D - order parameters of lipid chains;

Domain organization of lipids:

- geometrical lipid clusters (lateral & transversal);
- surface mapping and clustering (hydrophobic "defects", etc.);

Molecular interactions:

- H-bonds (lipid-lipid, lipid-water, water-water);
- Coordination of ions, ion-induced clustering of lipids;

Water dynamics near/inside lipid bilayers:

- Diffusional velocities;
- Water permeation effects;

Membrane properties nonlinearly depend on lipid composition: results of molecular dynamics simulations:



- Nonlinear change of area per lipid molecule in DPPC/DOPC systems
- Nonlinear change of a number of lipids interacting with ions in DOPS/DOPC systems

Result of non-ideal mixing of lipids in leaflets?

Hydrophobic properties of surfaces of hydrated lipid bilayers in atomistic

presentation



Parameters of the systems:

200-500 lipids;

 $10^4 - 10^5$ waters;

Cell dimensions: > 10.10.10 nm³.

Distribution of molecular hydrophobicity potential on the membrane surface





Dynamic clustering as an intrinsic property of ALL lipid bilayers.

Time evolution of lipid clusters in DOPC bilayer: Results of MD simulations



DOPC/DOPS membranes: lipid clustering IS NOT RANDOM



Fluctuations in membranes

Order parameters of lipid acyl chains:







Free volume distribution



Why cell membranes are composed of lipids?

Case study: bolalipid (Archaeal-like) membrane









Lipid membranes are almost "empty" in the middle



Chugunov A. et al. (2014) Sci. Rep. 4:7462

Lipid-lipid H-bonding as an important factor for fine-tuning of membrane properties:



CONCLUSION:

Rational design of lipids with proper location of H-bonding donor/acceptor groups is perspective for *construction of new membrane-like materials* with predefined properties.



H-bonding depends on:

- "vertical" position of donor and acceptor;
- local dielectric permeability (ε);
- involvement in H-bonds with water
- coordination with ions

Some conclusions about lateral organization of the binary DPPC/DOPC lipid membrane (in a liquid crystalline state)



Biomembrane as a sandwich with "boiling up" stuffing



Disorder degree Speed of fluctuations

Point 2:

Biological importance of stochastic fluid - mosaic membrane

Chugunov A. *et al.* (2013) *Sci. Rep.* 3:1678 Kuznetsov A.S. *et al.* (2015) *J. Chem. Theory & Comput.* 11: 4415

Self-adaptation of proteins and membranes:

Lipid-II in bacterial membrane creates a specific hydrophobic/landscape pattern on the bilayer surface – a putative target for lantibiotics lipid-II thickne σ ncreasing Chugunov A. et al. (2013) Sci. Rep. 3:1678 bilayer

Insertion of antimicrobial peptide *iok* into lipid bilayer:

Results of molecular dynamics simulation



T = 250 ns



Membrane as a communicative medium ("Aether"), which promotes protein-protein interactions



What is a **driving force** of spontaneous helix-helix association?

Possible answers:

- Protein sequence; +
- Membrane;
- Water;



-1.0

Kuznetsov A.S. et al. (2015) J. Chem. Theory & Comput. 11: 4415

выводы:

- Методы *in silico* способны дать адекватную информацию о структуре мембранных белков и характере белок-мембранных взаимодействий;
- Наиболее достоверные результаты можно получить, используя в качестве ограничений данные экспериментов (ЯМР, FRET, ToxR, КД и др.)
 - комплексные подходы, платформа.
- Особое внимание следует обращать на корректность используемых в расчетах моделей мембран – результаты моделирования могут критическим образом зависеть от свойств конкретной мембраноподобной среды.



Laboratory of Biomolecular Modeling



Л.М.Б.С.

Hydrophobic/hydrophilic properties of molecular surfaces

Molecular hydrophobicity potential approach (MHP)





Efremov R. *et al.* (1992) *J. Prot. Chem.* 11:665 Efremov R. & Vergoten G. (1995) *J. Phys. Chem.* 99:10658 Efremov R. *et al.* (2007) *Curr. Med. Chem.* 14:393