

На правах рукописи

Турлей Егор Владимирович

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИНАМИКА И ДИФФУЗИЯ В
БИОМЕМБРАНАХ

Специальность 03.00.02. – "Биофизика"

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени кандидата
физико-математических наук

Москва
2006

Работа выполнена на кафедре биоинженерии биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова.

Научный руководитель: доктор физико-математических наук, профессор
Шайтан Константин Вольдемарович

Официальные оппоненты: доктор физико-математических наук, профессор
Саркисов Олег Михайлович
(ИХФ РАН)

доктор физико-математических наук, профессор
Степанов Николай Федорович
(химический факультет МГУ)

Ведущая организация: Институт математических проблем
биологии РАН, г. Пущино

Защита состоится " 23 " ноября 2006 г. в 15.30 на заседании Диссертационного совета Д 501.001.96 при Московском государственном университете им. М.В. Ломоносова по адресу: 119992, г. Москва, Ленинские горы, МГУ, биологический факультет, кафедра биофизики, аудитория "Новая".

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

Автореферат разослан: " 23 " октября 2006 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета
доктор биологических наук,
профессор

Т.Е. Кренделева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Молекулярная динамика (МД) мембранных структур в настоящее время представляет значительный интерес в связи с развитием молекулярных технологий и биотехнологий. Вместе с тем эти объекты достаточно трудны для экспериментальных исследований, и фундаментальные закономерности динамического поведения таких структур остаются все еще не вполне ясными, несмотря на огромный прогресс в этой области. Это касается и детальной микроскопической картины массо- и энергопереноса в сильно анизотропных структурированных гетерогенных средах, формирования и релаксации неравновесных надмолекулярных структур, особенностей распределения молекулярных групп с различной полярностью на границах раздела фаз. В данной работе метод МД с использованием полноатомных силовых полей, специальных процедур и достаточно длинных траекторий применяется для уточнения микроскопической картины диффузионных процессов на границе водной и мембранной фаз. Использование полноатомного приближения делает МД-расчеты столь больших систем достаточно трудоемкими и не позволяет надеяться на достижение термодинамического равновесия. Поэтому весьма актуальным является развитие таких методов МД и протоколов расчета, которые позволяли бы за разумные времена вычислять величины, сопоставимые с экспериментальными данными. Сравнительно новым подходом здесь является развиваемый ниже вариант метода управляемой (направленной) динамики (SMD, Steered Molecular Dynamics), который позволяет стимулировать молекулярные процессы по определенным степеням свободы. Использование этого метода при одновременном контроле над равновесным характером распределений значимых с физической точки зрения величин (скоростей, объема, площади и давления) на масштабе характерных времен интересующих процессов позволяет дать количественную оценку параметрам, характеризующим физические механизмы элементарных актов переноса в микрогетерогенных структурах. Важным с биологической точки зрения является использование подобного подхода в дизайне и моделировании функциональных наноструктур, задействованных, например, при направленной доставке веществ через мембрану.

Целью работы является разработка методов изучения МД-систем с границей раздела вода – гидрофобная фаза или вода-мембрана на примере гидратированных углеводородных моно- и бислоев и липидного бислоя 1-пальмитоил-2-олеоил-*sn*-глицеро-3-фосфатидилхолина (ПОФХ), изучение закономерностей диффузионных процессов в этих системах и моделирование взаимодействия биомембран с биомолекулами и наноструктурами.

Постановка задачи. Для достижения этих целей необходимо было поставить и решить следующие основные задачи:

1. Разработать протоколы управляемой МД для мембранных систем, принимая во внимание принципиальную неравновесность реальных траекторий.

2. Разработать методы контроля над локальным равновесием в системах с границей раздела фаз.

3. Исследовать эффекты поверхностного натяжения и их взаимосвязь с применяемым баростатом. Подобрать необходимые параметры протокола для получения равновесной структуры липидного бислоя, характеризующегося свойствами и величинами, известными из экспериментов. Провести анализ свойств, недоступных эксперименту или плохо изученных, в том числе анизотропность и вязкостные характеристики бислоя.

4. Изучить диффузию малых молекул в простейшей гидрофобной мембране. Провести анализ распределений различных типов атомов используемого силового поля, а также некоторых аминокислотных остатков между водой и гидрофобной фазой.

5. Провести изучение динамики проникновения модельных частиц в углеводородную мембрану методом управляемой МД и установить роль порообразования, а также неравновесные эффекты, обусловленные примененным методом.

6. Смоделировать вариант простейшего наноконтейнера и наноустройства для доставки веществ через клеточную мембрану. Изучить энергетические характеристики процессов адсорбции и самосборки с участием углеродной нанотрубки и биомолекул. Изучить *in silico* функционирование «наношприца».

Научная новизна. Впервые

- разработан протокол SMD, приводящий к правильным значениям плотности и коэффициентов диффузии
- в системе гидрофобная мембрана-вода изучено распределение характерных типов атомов силового поля с учетом их распространенности в белках, которое позволило оценить перспективность создания упрощенной модели мембраны.
- в полноатомном приближении исследована диффузия молекулярного кислорода в бислойной углеводородной мембране и обнаружен эффект накопления кислорода в центре бислоя.
- проведено изучение влияния химической природы молекулы-пенетранта на ее прохождение через липидную мембрану.
- количественно охарактеризована микрогетерогенность и анизотропность липидного бислоя в терминах эффективной микровязкости.
- методами молекулярного моделирования изучено функционирование «наношприца» в полноатомном приближении.

Для достижения этих результатов был впервые проведен следующий комплекс методических разработок:

- проведена калибровка прикладываемых внешних сил и способ их приложения при исследовании кинетических характеристик трансмембранного транспорта;
- исследовано влияние параметров баростата Берендсена и столкновительного термостата на эффекты поверхностного натяжения в липидном бислое;

- созданы программы, позволяющие производить автоматизацию сборки мембранных структур и анализ траекторных данных;

Разработанный подход управляемой МД для изучения физико-химических свойств мембран, процесса трансмембранного транспорта и взаимосвязи химической природы молекул-пенетрантов с межфазным распределением имеет практическое значение для развития методов молекулярного дизайна биологических функционально активных структур. Это может быть использовано при разработке новых лекарственных препаратов, проведении фундаментальных и прикладных исследований для определения связи структуры и функциональной активности биомолекул. Проведенное моделирование работы «наношприца» является первым шагом на пути к дальнейшим практическим разработкам в соответствующей сфере нанофармакологии.

Достоверность результатов диссертации обеспечивается использованием универсальных законов и уравнений классической и квантовой механики и проведением тестовых расчетов систем, сравниваемых с экспериментальными данными.

Апробация работы. Результаты работы были представлены автором на V Международном конгрессе по математическому моделированию (Дубна, 2002 г.), X Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых “Ломоносов” (Москва, 2003 г.), IV Европейском биофизическом конгрессе (Аликанте, Испания, 2003 г.), присоединенном симпозиуме и круглом столе при III Всероссийской Каргинской конференции по полимерам (Москва, 2004 г.), зимней школе Института машинных вычислений им. Нейманна “Вычислительная наука о полимерах: от синтетических полимеров к белкам” (Бонн, Германия, 2004г.), XI Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов" (Москва, 2004 г.), форуме молодых ученых Федерации европейских биохимических обществ (Варшава, Польша, 2004 г.), 29-м собрании Федерации европейских биохимических обществ (Варшава, Польша, 2004 г.), VI Международной конференции по диффузии в материалах (Краков, Польша, 2004 г.), курсах продвинутой подготовки НАТО “Динамика сложных сопряженных систем: сети и биопроцессы” (Яйло, Норвегия, 2005 г.), 6-м Международном аспирантском симпозиуме Европейской молекулярно-биологической лаборатории (Рим, Италия, 2005 г.), курсах продвинутой подготовки НАТО “Углеродные нанотрубки: от фундаментальных исследований к нанотехнологии” (Созополь, Болгария, 2005 г.), курсах продвинутой подготовки НАТО “Функциональные свойства наноструктурированных материалов” (Созополь, Болгария, 2005 г.), форуме молодых ученых Федерации европейских биохимических обществ (Вышеград, Венгрия, 2005 г.), объединенных 30-м конгрессе Федерации европейских биохимических обществ и 9-й конференции Международного союза биохимиков и молекулярных биологов (Будапешт, Венгрия, 2005 г.), летней школе “Биоизображение” (Париж, Франция, 2005 г.), объединенном 15-м конгрессе Международного союза чистой и прикладной

биофизики и 5-м конгрессе Европейской ассоциации биофизических обществ (Монпелье, Франция, 2005 г.), 7-м Международном аспирантском симпозиуме Европейской молекулярно-биологической лаборатории (Гейдельберг, Германия, 2005 г.), Международной конференции “Биотехнология и медицина” (Москва, 2006 г.), семинаре “Неравновесная динамика систем взаимодействующих частиц”, (Кембридж, Великобритания, 2006 г.), XIII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых “Ломоносов” (Москва, 2006 г.), на 20-м конгрессе Международного союза биохимиков и молекулярных биологов и 11-м конгрессе Федерации биохимиков и молекулярных биологов Азии и Океании (Киото, Япония, 2006 г.), летней школе “Нанотрубки” (Каржэз, Франция, 2006 г.), летней школе “Нанобио” (Каржэз, Франция, 2006 г.), летней школе “Создание междисциплинарных исследовательских проектов” (Сплит, Хорватия, 2006 г.), 16-м Международном микроскопическом конгрессе (Саппоро, Япония, 2006 г.), школе “Математика в молекулярной клеточной биологии” (Линц, Австрия, 2006 г.), конференции “Наномедицина” (Сан-Фелиу-де-Гишольс, Испания, 2006 г.), международном семинаре “Молекулярное моделирование в материаловедении и биологических науках” (Дубна, 2006 г.). Работа также докладывалась на семинарах кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 40 печатных работ.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа (119 страниц) состоит из списка сокращений, введения, 4 глав, заключения, выводов, списка литературы (203 ссылки), иллюстрирована 40 рисунками и содержит 3 таблицы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В первой главе представлен литературный обзор по методам молекулярной динамики и их применению к изучению динамики биомембран и диффузионных процессов в системах мембрана-вода. Также совершен короткий обзор по методам квантовой химии, используемым для расчетов зарядов в молекулах. Некоторые сведения из литературного обзора изучаемых систем входят в состав дальнейших глав. В частности, это касается изучения взаимодействия биомембран с биомолекулами и наноструктурами.

Во второй главе изучена диффузия нескольких типов молекул (как реалистических и биологически важных, так и модельных ван-дер-ваальсовых сфер) в гидратированной углеводородной мембране. Используемая простая полноатомная модель гидратированной мембранной структуры позволяет исследовать закономерности формирования распределения различных молекул между двумя фазами – гидрофобной структурированной и водной.

Для проведения расчетов МД пакет RUMA был модифицирован таким образом, чтобы включить управляющие воздействия. Проводились расчеты мембран, состоящих из моно- и бислоев *n*-тетрадекана $C_{14}H_{30}$. Расчетная ячейка содержала 24 молекулы тетрадекана на монослой (Рис. 1а). Использовались периодические граничные условия. Начальная структура соответствовала перпенди-

кулярному положению оси наибольшей протяженности молекул относительно плоскости мембраны.

Парциальные заряды атомов в тетрадекане оценивались с использованием неограниченного метода Хартри-Фока, базиса 6-31G* и метода Малликена. Принятые в расчетах величины зарядов приведены на Рис. 1б. Для формирования упорядоченной мембранной структуры использовался параболический потенциал, связывающий концевой углеродный атом тетрадекана с фиксированной плоскостью. В случае с бислоем таких плоскостей было две; они находились в середине бислоя на расстоянии 4 Å друг от друга. Использовалась модель воды TIP3P. Валентные связи и валентные углы в молекулах воды не фиксировались. В стартовой конфигурации молекулы воды помещались на расстоянии не менее 2.3 Å от крайних атомов мембраны. Степень сольватации определялась соотношением 15 молекул воды на молекулу углеводорода. Радиус обрезания кулоновских взаимодействий составлял 10 Å. Обрезание вандер-ваальсовых взаимодействий проводилось путем умножения потенциалов Леннард-Джонса на полиномиальную сглаживающую (переключающую) функцию с началом включения функции при 10 Å и концом при 10.5 Å. Диэлектрическая проницаемость равнялась 1. Шаг интегрирования – 1 фс.

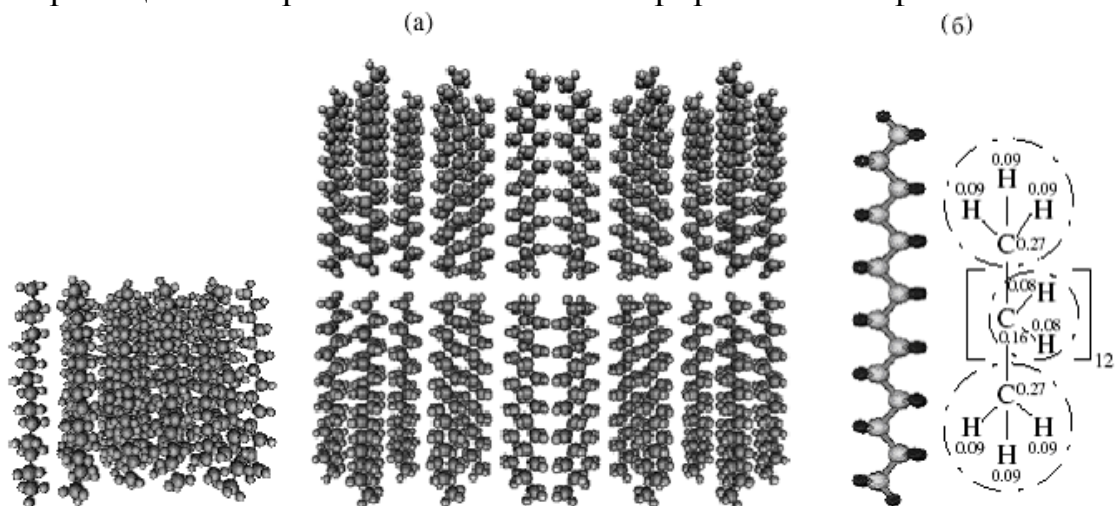


Рис. 1. Моно- и бислои *n*-тетрадекана (а). Распределение зарядов в молекуле тетрадекана (б) (CH₂- и CH₃-группы считались электронейтральными).

Расчет проводился с периодическими граничными условиями при постоянной температуре. Использовались как условия постоянного объема (*NVT*-ансамбль), так и постоянного давления (*NPT*-ансамбль). Баростатирование осуществлялось в баростате Берендсена с одинаковым для всех трех направлений временем релаксации 100 пс.

Температура выбиралась от 300 К до 1000 К. Для поддержания постоянной температуры использовалась виртуальная столкновительная среда (столкновительный термостат). Средняя частота столкновений виртуальных частиц с атомами бралась равной 1 пс⁻¹, масса частиц 18 а.е.м.

Как было показано, лишь очень маленькие и сильно гидрофобные молекулы, например кислород, способны за времена меньше 10 нс самостоятельно проникнуть в мембранный слой при нормальных условиях. При фиксированном объеме проникновение в структурированную мембранную среду сильно затруднено. Обнаружено накопление кислорода в середине бислоя, что обусловлено повышенной рыхлостью структуры на интерфейсе двух монослоев (Рис. 2).

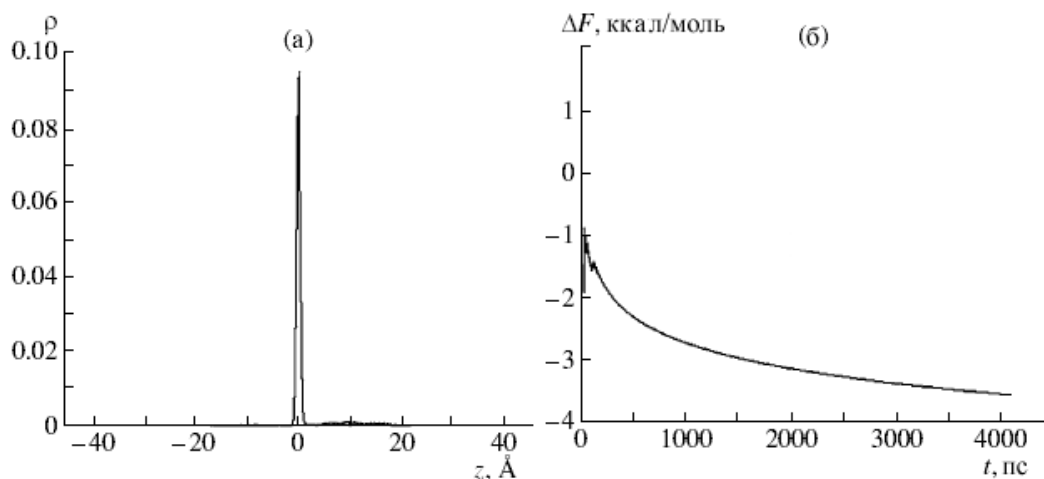


Рис. 2. Распределение молекулы кислорода между бислоем и водой (а) и энергия Гиббса переноса кислорода из воды в бислой (б) при 300 К и постоянном изотропном давлении. Энергия переноса кислорода из воды в мембрану при заданных объемах водной и мембранной

фаз оценивалась как
$$\Delta F = \lim_{t \rightarrow \infty} \Delta F(t) = -k_B T \lim_{t \rightarrow \infty} \ln \frac{\int_{-a/2}^{+a/2} \rho(z, t) dz}{\int_{\omega} \rho(z, t) dz}$$
, где $\rho(z, t)$ – функция

плотности вероятности нахождения молекулы кислорода в определенном положении на оси z в данный момент времени, $+a/2$ и $-a/2$ – правая и левая границы бислоя, а область интегрирования ω определяется как $z > a/2$ и $z < -a/2$.

Коэффициент одномерной диффузии кислорода в направлении нормали к мембране, двумерной диффузии в плоскости бислоя и трехмерной диффузии рассчитывался как коэффициент линейной аппроксимации кривых

$$\begin{aligned} \langle z(t)^2 \rangle &= 2D_z t, \\ \langle x(t)^2 + y(t)^2 \rangle &= 4D_{xy} t, \\ \langle x(t)^2 + y(t)^2 + z(t)^2 \rangle &= 6D_{xyz} t \end{aligned}$$

соответственно. Угловые скобки означают усреднение по всей траектории.

Коэффициенты диффузии кислорода ($\text{см}^2/\text{с}$) в системе бислоя-вода при температуре 300 К и давлении 1 атм: $D_z = 1.71 \times 10^{-5}$, $D_{xy} = 3.09 \times 10^{-5}$, и $D_{xyz} = 2.63 \times 10^{-5}$ для бислоя и 4.73×10^{-5} – для воды. Если воспользоваться для коэффициента диффузии кислорода формулой Стокса-Энштейна

$$D = k_B T / 6\pi\eta r,$$

(где η – это вязкость растворителя, а r – радиус молекулы), то получим, что величина вязкости тетрадекана в объемной фазе составляет 2.0-2.6 сПз.

Изучение динамики спонтанной трансмембранной диффузии ионов за времена порядка 10 нс требует проведения расчетов при повышенной температуре. Энергия переноса, вычисленная при температуре 1000 К для основных типов атомов Amber 1999 (Таблица 1, Рис. 3), варьируется от 0.9 до 5.5 ккал/моль. Эти изменения энергии находятся в тесной корреляции с изменением соответствующей борновской энергией сольватации. При этом в ряду атомов $C_{\text{алиф}}$, S, $C_{\text{аро}}$, O, N, O^* , $C_{\text{гетеро}}$ увеличиваются значения энергии переноса (т.е. гидрофобность уменьшается). Важно отметить отсутствие аддитивности вкладов атомов в свободную энергию переноса функциональных групп. Это затрудняет континуальную имитацию гидрофобной среды путем включения в потенциальную энергию дополнительного термина, описывающего взаимодействие атомов с этой средой.

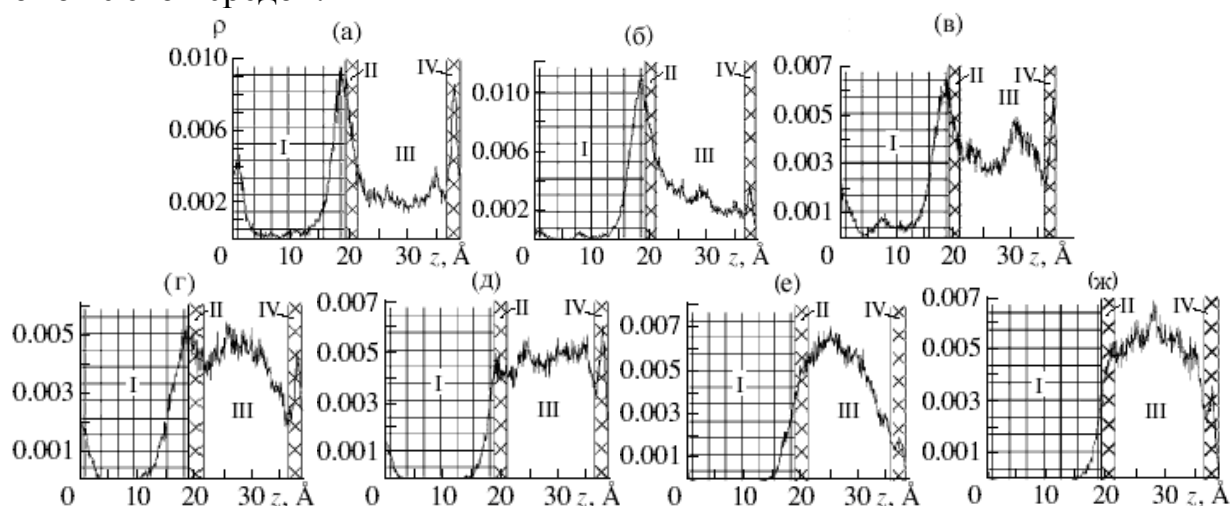


Рис. 3. Профили распределения для атомов $C_{\text{алиф}}$ (а), S (б), $C_{\text{аро}}$ (в), O (г), N (д), O^* (е), $C_{\text{гетеро}}$ (ж). Очередность зон: углеводородный монослой (I), приповерхностный гидрофобный слой (II), водный слой (III), приповерхностный гидрофобный слой (IV) (с противоположной стороны углеводородного монослоя).

Таблица 1. Основные типы атомов силового поля Amber (e – заряд атома).

Тип атома	e	$r_{\text{VDW}}, \text{Å}$	ϵ , ккал/моль
$C_{\text{алиф}}$	-0.0463	1.9080	0.1094
$C_{\text{аро}}$	0.2924	1.9080	0.0860
$C_{\text{гетеро}}$	0.5382	1.9080	0.0860
N	-0.4698	1.8240	0.1700
O	-0.3180	1.7210	0.2104
O^*	-0.6137	1.6612	0.2100
S	-0.2525	2.0000	0.2500

Вычисленные распределения аминокислотных остатков между фазами находятся в соответствии с их известными гидрофобными свойствами. Следует

отметить, что мембрана при указанных условиях расчета является весьма значительным барьером для проникновения в нее аминокислотных остатков.

Далее также развивается подход к изучению динамики мембранных структур, использующий методы неравновесной управляемой динамики. При этом к отдельным атомам прилагаются дополнительные внешние силы (постоянные или переменные во времени). Изучалась динамика модельных сфер, взаимодействующих с остальными атомами только посредством сил Ван-дер-Ваальса. К пробным частицам прикладывалась сила, изменяющаяся синусоидально во времени и направленная по нормали к мембране. Среднее значение силы бралось от 1 до 10 ккал/(Å·моль) (1 ккал/(Å·моль) \approx 70 пН). Под действием силы, среднее значение которой не менее 7 ккал/(Å·моль) (Таблица 2), пробные сферы проникают через монослой за время порядка 2.5 нс.

Таблица 2. Характерные времена прохода сферы через мембрану под действием периодической силы вида $F(t) = \bar{F}_0 + C_0 \sin(2\pi t/T)$, где $C_0 = 2$ ккал/(Å·моль) для приведенных ниже значений \bar{F}_0 (7 и 10 ккал/(Å·моль)). При $T = \infty$ $F(t) = \bar{F}_0 = \text{const}$. Радиус частицы – 4 Å. Обозначения: \bar{F}_0 – средняя внешняя сила, T – период, τ_1 – время первого прохода, $\bar{\tau}$ – среднее время всех проходов, $\bar{\tau}_2$ – среднее время всех проходов, кроме первого.

\bar{F}_0 , ккал/(Å·моль)	T , пс	τ_1 , пс	$\bar{\tau}$, пс	$\bar{\tau}_2$, пс
7	0.1	>2500	–	–
7	1	1268	124	108
7	∞	724	149	101
10	0.1	155	15	13
10	1	1547	48	15
10	∞	1899	173	29

Значительное сокращение времени повторных проходов указывает на решающее значение процесса порообразования для проникновения через монослой тетрадекана.

В третьей главе изучается динамика протяженной анизотропной структуры на примере полностью гидратированной мембраны ПОФХ (Рис. 4). В данном исследовании приведено достаточно полное описание условий и методик, сочетание которых ранее не применялось для МД-расчетов данной системы. Проведено сравнение с данными МД, полученными с использованием различных других силовых полей и условий. В частности, в данном исследовании используется высокая степень гидратации мембраны, что позволяет уменьшить эффекты, вызванные введением периодических граничных условий.

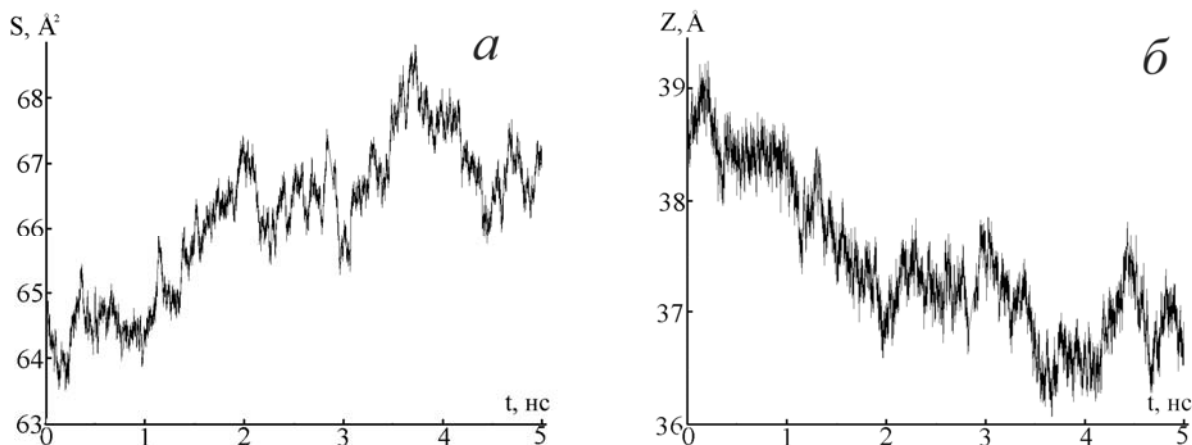


Рис. 6. Параметры расчетной ячейки. *a* – флуктуации удельной поверхностной площади липидов; *б* – флуктуации толщины бислоя ПОФХ. Приведен рабочий участок траектории. Средние значения величин на (*a*) и (*б*) 66.1 \AA^2 и 37.4 \AA соответственно.

Использование данного МД-протокола позволяет получить мембранную структуру в согласии с данными эксперимента по удельной площади липидов и толщине мембраны (Рис. 6). При этом не наблюдается значительных расхождений для параметров порядка (Рис. 7) и формы электростатического потенциала с результатами других экспериментов и численных расчетов, использующих несколько иные методики. Коэффициент латеральной диффузии липидов составляет $2.46 \times 10^{-7} \text{ см}^2/\text{с}$ и весьма близок к экспериментальным результатам, в отличие от многих завышенных значений других вычислений.

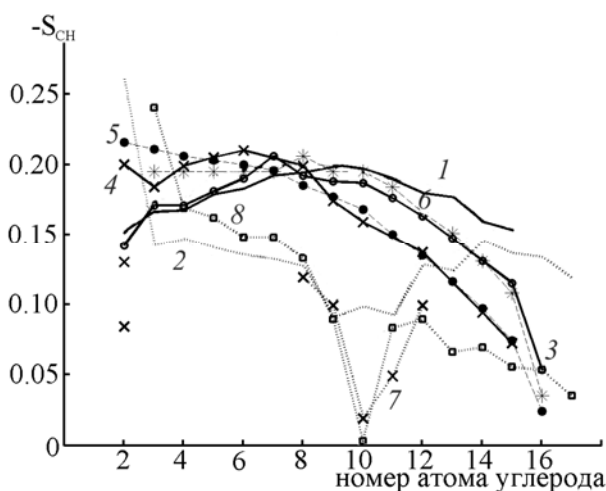


Рис. 7. Профили параметров порядка для С-Н-связей в пальмитоиловой (С16:0) и олеоиловой (С18:1) цепях. 1 – данные МД расчета для пальмитоиловой цепи, 2 – данные МД-расчета для олеоиловой цепи. Экспериментальные и другие МД-данные для пальмитоиловой цепи: 3, 4, 5, 6; для олеоиловой цепи: 7, 8.

Кинетические свойства мембраны были изучены с помощью метода управляемой МД. Брались пробные сферы массой 18 Да с радиусами 2 и 4 Å, которые взаимодействовали с остальными атомами только посредством ван-

дер-ваальсовых сил (константа взаимодействия $\epsilon = 0.15$ ккал/моль). К пробным сферам прикладывалась дополнительная постоянная сила F_{ext} , действующая в направлении нормали или плоскости мембраны. Ее величина составляла от 0.3 ккал/($\text{\AA} \cdot \text{моль}$) до 4 ккал/($\text{\AA} \cdot \text{моль}$). В случае шара с радиусом 2 \AA бралось также значение силы 10 ккал/($\text{\AA} \cdot \text{моль}$) (Рис. 8).

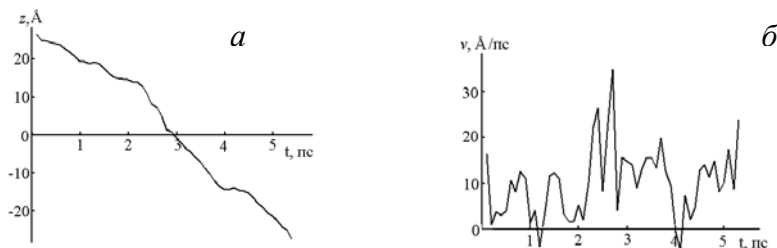


Рис. 8. Кинетика прохода пробного ван-дер-ваальсова шара радуса 2 \AA под действием силы 10 ккал/($\text{\AA} \cdot \text{моль}$) в направлении нормали. (а) – Положение шара на оси Z (нормали мембраны). Центр бислоя находится при $z = 0$, границы – при $z = \pm 20$ \AA . (б) – Скорость продвижения шара, усредненная по интервалу 0.1 пс.

При величине силы больше критического значения (например 1 ккал/($\text{\AA} \cdot \text{моль}$) для шара радиуса 2 \AA) молекула проникает в мембрану. Скорость проникновения зависит от отношения приложенной силы к радиусу молекулы (сферы). При этом смещение молекулы определяется, в основном, дрейфом под действием внешней силы, а вклад диффузии крайне мал.

В случае латерально приложенной силы использовались значения $F_{\text{ext}} = 1, 2, 4$ и 10 ккал/($\text{\AA} \cdot \text{моль}$). В случае с $F_{\text{ext}} = 1$ ккал/($\text{\AA} \cdot \text{моль}$) при анализе кинетических характеристик учитывался 75-пикосекундный участок траектории, в течение которого частица оставалась в центре бислоя.

Локальный коэффициент трения оценивается как отношение величины

$$\gamma = \frac{F_{\text{ext}}}{v}$$

приложенной силы к скорости дрейфа

Коэффициент трения удобно пересчитать в терминах микровязкости среды исходя из известного соотношения Стокса или в терминах коэффициента диффузии с помощью соотношения Эйнштейна

$$D = \frac{k_B T}{\gamma}$$

Поскольку значения микровязкости различны для разных участков мембраны, целесообразно выделить несколько структурно и динамически неоднородных областей мембраны. В первом приближении можно выделить области липидных голов и алкильных цепей. На Рис. 9 приведены графики зависимости вязкости различных частей системы, полученные при различных значениях внешней силы, действующих на частицу радиуса 2 \AA в направлении нормали к мембране.

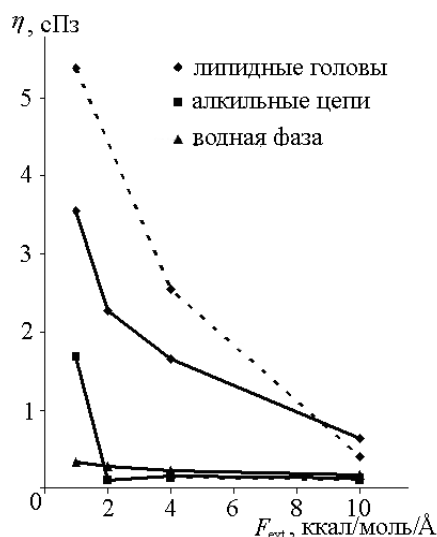


Рис. 9. Эффективная микровязкость в системе ПОФХ-вода. Радиус пробного ван-дер-ваальсова шара 2 Å. Сплошной линией отмечены данные для системы после предварительной релаксации системы в течение 500 пс, пунктирной – после окончательной релаксации в течение 1 нс.

Рассчитанные значения вязкости воды (порядка 0.3-0.4 сПз) в 2-3 раза меньше экспериментального значения и согласуются с известными оценками вязкости воды в модели ТРЗР. Вязкость мембраны в направлении нормали не превышает 6 сПз. Вязкость в центральной части бислоя оказывается в несколько раз меньше этого значения.

Для латерального смещения шара под действием силы данные представлены на Рис. 10. Значения эффективной микровязкости в данном случае очень близки к значениям вязкости, измеренной в области алкильных хвостов в направлении нормали.

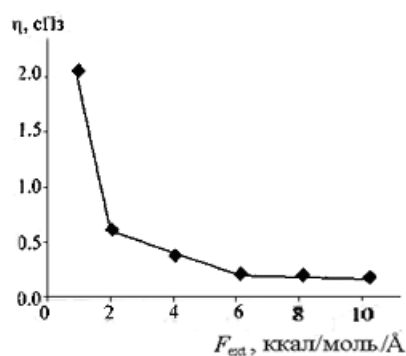


Рис. 10. Эффективная микровязкость в центре бислоя ПОФХ. Радиус пробного ван-дер-ваальсова шара 2 Å.

Отметим, что для частиц радиусом 2 Å формула Стокса в области алкильных хвостов практически не работает. В целом полученные результаты свидетельствуют о неньютоновском характере среды и слабой неравновесности данной системы при скоростях движения порядка 1–10 Å/пс.

Скорость проникновения молекулы под действием внешней силы зависит также от химической природы молекулы. Для сравнения была рассчитана ди-

намика проникновения в бислои небольших молекул разного размера, полярности и заряда: полярных воды ($r_{\text{эф}}$, эффективный радиус, 1.8 Å) и аммиака ($r_{\text{эф}} = 1.9$ Å), неполярных ван-дер-ваальсовой сферы радиуса 2 Å и молекулярного кислорода ($r_{\text{эф}} = 2.3$ Å), этанола ($r_{\text{эф}} = 3.3$ Å), аниона ацетата ($r_{\text{эф}} = 3.4$ Å), остатка аланина ($r_{\text{эф}} = 3.8$ Å), аниона салицилата ($r_{\text{эф}} = 3.9$ Å), остатка триптофана ($r_{\text{эф}} = 4.8$ Å). Полученные значения эффективной микровязкости приведены на Рис. 11. В случае многоатомных молекул сила прикладывалась равномерно ко всем атомам системы.

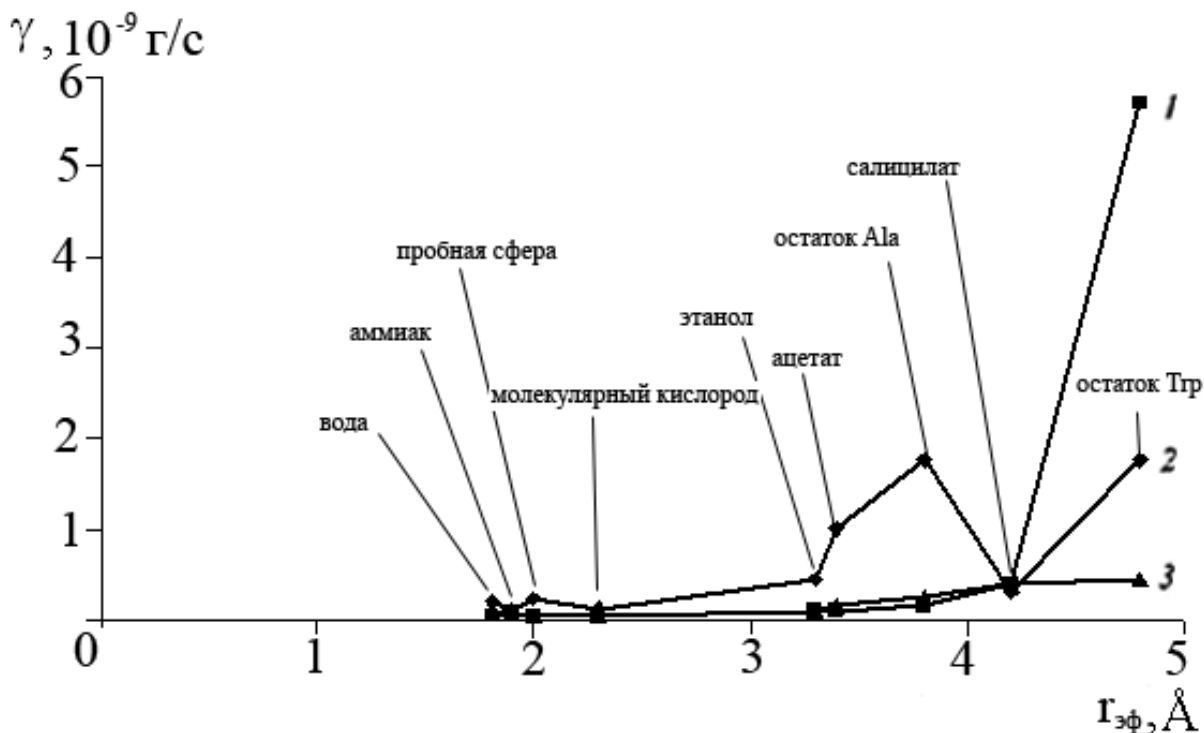


Рис. 11. Зависимость эффективного сопротивления от эффективного радиуса пробных молекул в системе ПОФХ-вода. Суммарная $F_{\text{ext}} = 10$ ккал/(Å·моль). 1 – алкильные цепи, 2 – липидные головы, 3 – водная фаза.

Отметим, что при наблюдении, в целом, увеличения сопротивления среды при увеличении размера молекул, наблюдаются некоторая немонотонность, обусловленная различием в химической природе. Наиболее гетерогенным и, соответственно, чувствительным к природе молекул при прохождении через мембрану оказывается участок голов липидов. Гидрофобная сердцевина бислоя с большим свободным объемом чувствительна как раз к размеру частиц; зависимость сопротивления от размеров на этом участке более линейна.

В результате проведенных исследований оказалось возможным сравнить коэффициент диффузии в тетрадекановом бислое (1.71×10^{-5} см²/с) с коэффициентом диффузии в бислое ПОФХ, рассчитанным методом управляемой молекулярной динамики при значении внешней силы 1 ккал/(Å·моль). Оказывается, что в области алкильных цепей липидов он составляет 3.12×10^{-5} см²/с, а в области голов 6.79×10^{-5} см²/с. Общее свойство уменьшения значения измеряемого

коэффициента диффузии при понижении внешней силы указывает, что в приближении к равновесию коэффициент диффузии в области алкильных цепей будет приближаться к таковому в тетрадекановой мембране. Область голов при этом затрудняет движение кислорода в большей степени.

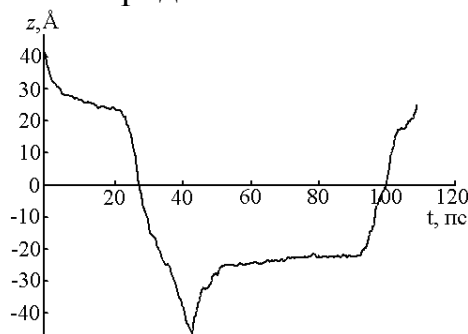


Рис. 12. Динамика прохождения остатка аланина через липидную мембрану. Показано положение геометрического центра остатка. Границы бислоя находятся в положениях ± 22 Å. В точке излома направление силы было изменено на противоположное.

На примере форсированного трансмембранного транспорта остатка аланина (Рис. 12) можно также проследить наличие факторов, облегчающих повторный проход через мембрану, который связан с эффектами структурной памяти в бислое. В предыдущей главе было изучено порообразование при прохождении молекулы в монослое тетрадекана. В случае липидной мембраны при той же величине внешней силы эффект образования долгоживущей поры не отмечается. Как до первого прохода через мембрану, так и после него остаток аланина проводит определенное время в сорбированном состоянии, а потом быстро (сравнимо с движением в водной фазе) проходит через мембрану.

Развитый метод SMD может использоваться как «компьютерный вискозиметр», позволяющий выявить различия в диффузионных свойствах молекул различной природы и определить эффективные вязкостные характеристики микрогетерогенных структур, которые труднодоступны в обычных экспериментах. Отметим, что само понятие вязкости или микровязкости для таких систем нуждается в определенных пояснениях. Речь идет фактически о некоторой количественной характеристике локальных диссипативных свойств, выраженной в единицах вязкости. Гидродинамическим соотношением Стокса при этом можно пользоваться лишь для оценок порядка величины. В этом случае необходима калибровка микровязкости в заданном диапазоне сил по частицам определенного радиуса и химической природы.

В четвертой главе МД-подход, использующий полноатомное силовое поле и специальные техники, применялся для моделирования и дизайна наноконтейнеров для абсорбции биовеществ и доставки через липидную мембрану. «Наношприц» (Рис. 13) на основе закрытой с одного конца нанотрубки и молекул взрывчатого вещества, способного выталкивать активное вещество из нанотрубки, моделировался в различных средах, включающих в том числе липидную мембрану.

Системы, не включающие воду, а также системы, рассчитываемые при температуре выше 300 К, симулировались в *NVT*-ансамбле. В водных системах (за исключением расчетов с температурой выше 300 К) накладывалось условие постоянного давления, достигаемое использованием баростата Берендсена. Средняя частота баростатирования была 1 ps^{-1} . За исключением систем с липидами, баростатирование было изотропным и среднее значение давления было 1 атм. Флуктуации объема, давления и температуры использовались для контроля над достижением локального равновесия в системе. Радиус обрезания ван-дер-ваальсовых взаимодействий составлял 16 \AA , кулоновских – 20 \AA .

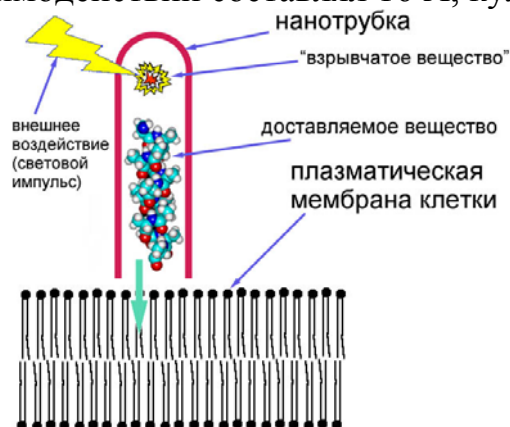
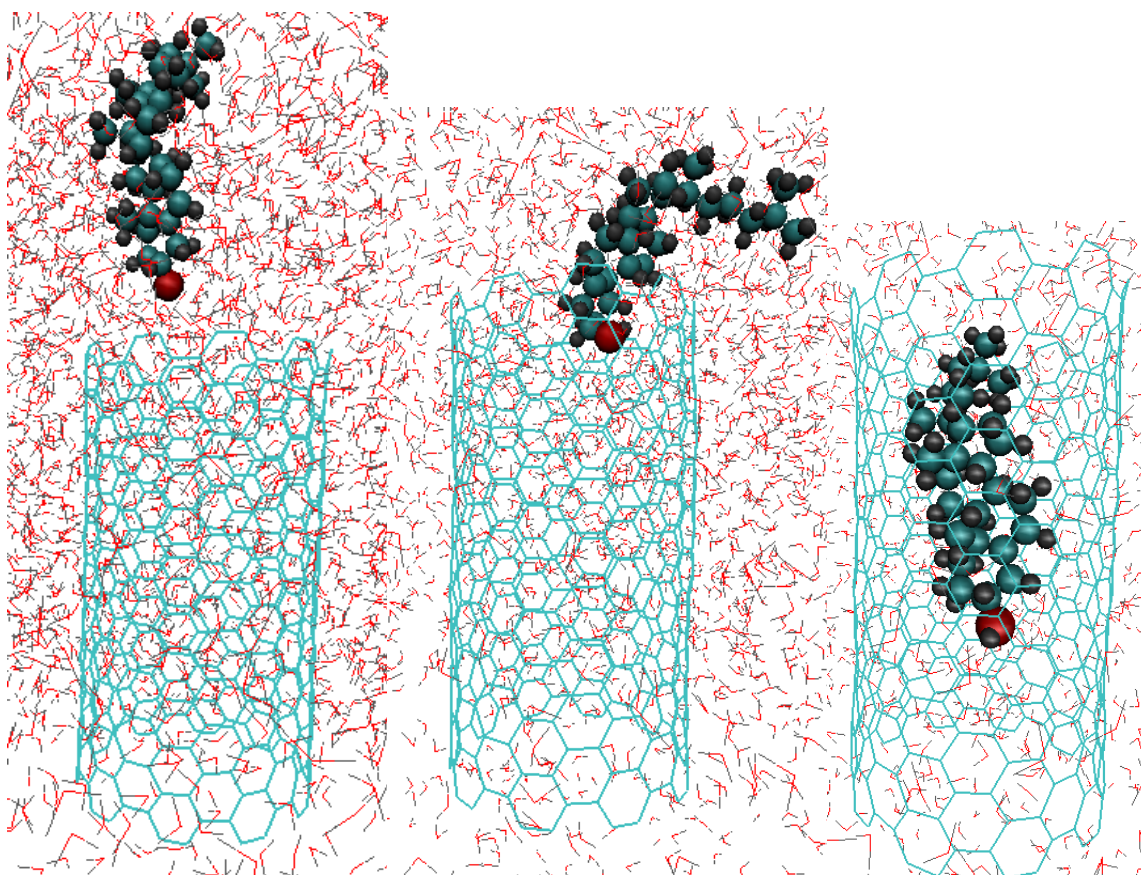


Рис. 13. Схематическое представление нанощприца в действии.

Все расчеты с абсорбцией холестерина выявили, что этот процесс самопроизволен и происходит следующим образом. Как только молекула холестерина достигает отверстия нанотрубки, она необратимо входит в нее (Рис. 14). Первая стадия, т.е. начальное сближение с отверстием, происходит за 510 пс при 300 К и за 280 пс при 1000 К, в случае когда трубка изначально гидратирована изнутри. Благодаря ускорению движения при 1000 К молекула холестерина успевает сменить ориентацию своего гидроксильного конца по отношению к нанотрубке на противоположную. Полностью абсорбция занимает 770 пс при 300 К и 440 пс при 1000 К. Это дает оценку активационной энергии порядка 3.5-3.7 ккал/моль.



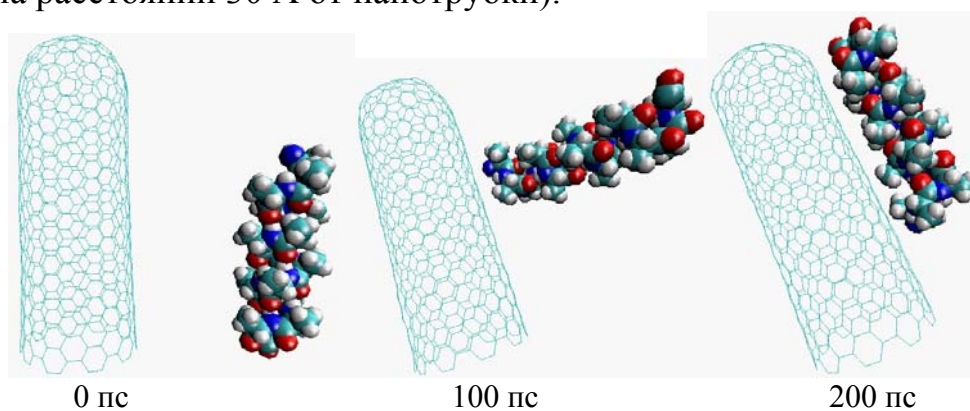
10 пс

510 пс

790 пс

Рис. 14. Последовательные стадии абсорбции холестерина при 300 К. Нанотрубка предварительно гидратирована.

В проведенных численных экспериментах было также обнаружено и явление самосборки полиаланина и углеродной нанотрубки с образованием структуры в виде спирали полиаланина внутри нанотрубки. Показано, что при 300 К за время порядка 200 пс происходит адсорбция (Рис. 15) полипептида в α -спиральной конформации на поверхности нанотрубки (исходное положение пептида на расстоянии 30 Å от нанотрубки).



0 пс

100 пс

200 пс

Рис. 15. Последовательные стадии прилипания полиаланина к внешней поверхности нанотрубки.

Дальнейшая эволюция комплекса была прослежена с использованием метода ускорения надбарьерных переходов путем повышения температуры. Наблюдался процесс спонтанного проникновения полиаланина в нанотрубку. Несмотря на то что выигрыш в энергии в этом случае значительно больше, чем при адсорбции пептида на внешней поверхности нанотрубки, переход пептида из состояния «снаружи нанотрубки» в состояние «внутри нанотрубки» требует преодоления определенного энергетического барьера, поскольку энергия адсорбции полипептида уменьшается при смещении молекулы пептида к краю нанотрубки.

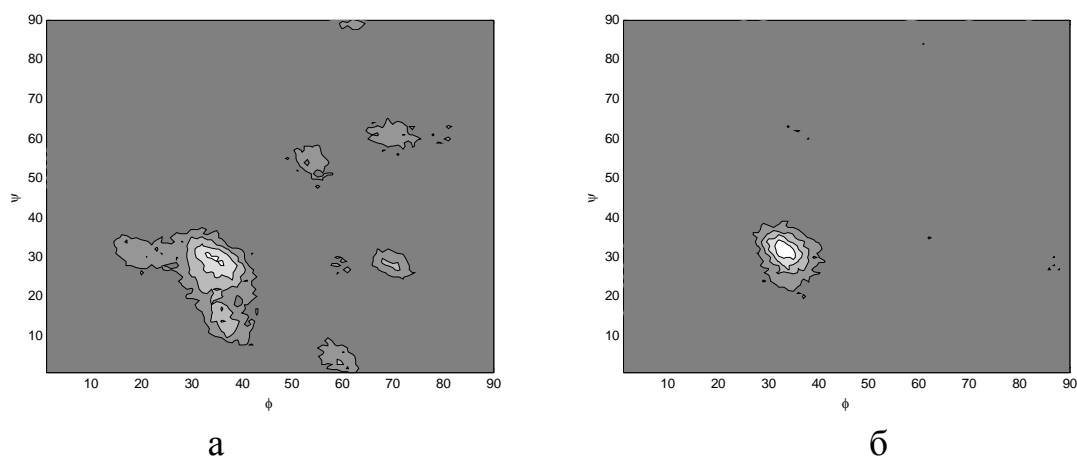


Рис. 16. Сечения Пуанкаре для полиаланина по углам ϕ и ψ основной цепи при выталкивании в мембрану с расширением выталкивающих сфер за времена 13 (а) и 26 пс (б).

Комплекс нанотрубки с полиаланином и восемью ван-дер-ваальсовыми сферами внутри рассматривался на границе раздела мембрана-вода. «Нановыстрел» имитировали расширяющиеся с постоянной скоростью Ван-дер-ваальсовы шары. В ходе рассматриваемого процесса молекула полиаланина испытывает конформационные изменения. Начальная спиральная конформация наиболее сильно деформируется при выбросе полипептида в вакуум и менее всего – в мембрану. По-видимому, среда играет в этом процессе демпфирующую и структурирующую роль. На Рис. 16 видно, что при уменьшении скорости «нановзрыва» конформационные изменения полипептида обычно уменьшаются. Небольшое уширение распределения по конформациям при выбросе полиаланина в воду может быть связано с дополнительным напряжением, возникающим при входе гидрофобной молекулы в водную среду.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанные методы и протоколы МД, в том числе SMD, позволяют получить новую информацию о динамике и функционировании молекулярных конструкций на основе мембран. Используемая в работе простейшая полноатомная модель гидратированной мембранной структуры на основе тетрадекана позволяет исследовать закономерности формирования распределения различ-

ных молекул между двумя фазами – гидрофобной и водной. Как было показано, лишь очень маленькие и сильно гидрофобные молекулы, например кислород, способны за времена меньше 10 нс самостоятельно проникнуть в мембранный слой при нормальных условиях. При фиксированном объеме проникновение в структурированную мембранную среду сильно затруднено. Обнаружено накопление кислорода в середине тетрадеканового бислоя, что обусловлено повышенной рыхлостью структуры на интерфейсе двух монослоев тетрадекана и их искусственным разделением.

Изучение динамики трансмембранной диффузии ионов за времена порядка 10 нс требует проведения расчетов при повышенной температуре. Энергия переноса, вычисленная при температуре 1000 К для основных типов атомов Amber 1999, варьируется от 0.9 до 5.5 ккал/моль. Эти изменения энергии находятся в тесной корреляции с изменением соответствующей борновской энергии сольватации. Важно отметить отсутствие аддитивности вкладов атомов в свободную энергию переноса функциональных групп. Это затрудняет простую континуальную имитацию гидрофобной среды путем включения в потенциальную энергию дополнительного термина, описывающего взаимодействие атомов с этой средой.

Вычисленные распределения аминокислотных остатков между тетрадекановым монослоем находятся в соответствии с их известными гидрофобными свойствами.

Рассмотрение процессов равновесной динамики даже относительно небольших молекул в рассматриваемых системах не позволяет за разумные времена численного эксперимента сделать окончательные выводы о балансе гидрофобных сил при комнатной температуре. Развиваемый в работе метод неравновесной динамики (SMD) позволяет организовать направленный и более быстрый сценарий развития событий по определенным степеням свободы. При этом вместо накопления равновесных траекторий осуществляется контроль над характером распределений значимых с физической точки зрения величин (скоростей, объема, площади и давления), который позволяет судить о достижении локального равновесия. Вычисляемые таким способом кинетические коэффициенты термодинамическими и статистическими соотношениями связаны с равновесными параметрами системы. Модельные расчеты диффузии на молекулярных масштабах показывают уже при скоростях 1 Å/пс существенные отклонения от движения сферических частиц в сплошной среде, описываемого гидродинамической формулой Стокса, что вполне естественно – приближение сплошной среды на молекулярном уровне работает плохо. Формула Стокса в этом случае может использоваться лишь для качественных оценок. Аналогично обстоит дело и с динамикой образования и релаксации надмолекулярных мембранных структур (в контексте мембраны, пор). Образование поры кардинально меняет динамику трансмембранного транспорта. Время релаксации поры в тет-

радекановой мембране относительно велико (более 10 нс), и эффекты памяти в динамике такой простейшей мембраны могут быть весьма существенными.

При рассмотрении полностью гидратированного бислоя ПОФХ методами МД оказывается возможным определить, в частности, следующие параметры: поверхностную плотность мембраны, толщину бислоя, распределение атомных групп относительно нормали к мембране, радиальные функции распределения атомов в плоскости бислоя, параметры порядка для липидных цепей. Показано, что использование столкновительного термостата и баростата Берендсена с анизотропным баростатированием позволяет компенсировать как эффекты поверхностного натяжения, так и естественные погрешности параметризации силового поля. Использование данного МД-протокола позволяет получить мембранную структуру в согласии с данными эксперимента по удельной площади липидов и толщине мембраны. (По этим параметрам обычно калибруют МД-протоколы). При этом не наблюдается значительных расхождений для параметров порядка и формы электростатического потенциала с результатами других экспериментов и численных расчетов, использующих несколько иные методики. Коэффициент латеральной диффузии липидов составляет $2.46 \times 10^{-7} \text{ см}^2/\text{с}$ и весьма близок к экспериментальным результатам, в отличие от многих завышенных значений других вычислений. В целом, использованная выше методика приводит систему к локальному равновесию и практически неизменным дальнейшим распределениям и профилям изученных параметров за время порядка 3 нс.

Развиваемый в работе метод управляемой МД позволяет определить анизотропную микровязкость в разных частях липидного бислоя. Отметим, что само понятие вязкости или микровязкости для таких систем нуждается в определенных пояснениях. Речь идет фактически о некоторой количественной характеристике локальных диссипативных свойств, выраженной в единицах вязкости. Гидродинамическим соотношением Стокса при этом можно пользоваться лишь для оценок порядка величины. В этом случае необходима калибровка микровязкости в заданном диапазоне сил по частицам определенного радиуса и химической природы.

Анизотропная микровязкость в разных частях бислоя может различаться на порядок и более. Отметим, что заметные скорости проникновения молекул в бислой за времена порядка 2 нс наблюдаются лишь при действии внешней силы, большей некоторой критической величины. Значение величины критической силы возрастает с увеличением радиуса молекулы. Как и в случае с тетрадекановой мембраной, при скоростях движения начиная с $1 \text{ \AA}/\text{пс}$ начинают наблюдаться неравновесные эффекты.

Отметим, что наибольшие различия для эффективной микровязкости в зависимости от химической природы молекулы-пенетранта наблюдаются в области липидных голов, тогда как рыхлая гидрофобная сердцевина чувствительна к размеру молекулы-пенетранта.

Коэффициент диффузии молекулярного кислорода в направлении нормали к мембране, в силу некоторой неравновесности метода SMD, дает завышенные по сравнению с тетрадекановым бислоем ($1.71 \times 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$) значения как в области липидных голов ($3.12 \times 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$), так и гидрофобной сердцевины бислоя ПОФХ ($6.79 \times 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$).

Полученные величины для коэффициентов трения в направлении нормали к поверхности мембраны при действии силы больше порогового значения (порядка $1 \text{ ккал}/(\text{моль} \cdot \text{Å})$) составляют не более 6 сПз в терминах эффективной микровязкости. При этом центральная область бислоя для ван-дер-ваальсового шара оказывается примерно на порядок менее вязкой, чем поверхностный слой. Отметим также, что при силе, превышающей критическое значение, имеется временная задержка для проникновения частицы в мембрану, причем это время уменьшается при возрастании силы. Вязкость, измеренная в центре бислоя в латеральном направлении, оказывается приблизительно такой же, как и в области алкильных цепей при действии внешней силы в направлении нормали.

Проведенные расчеты, в которых нанотрубка протыкала липидный бислой, позволяют оценить соответствие временных масштабов силовым воздействиям, которое важно учитывать, например, при постановке аналогичных экспериментов атомно-силовой микроскопии. В данном случае внешняя сила соответствует напору кантилевера с присоединенной на конце нанотрубкой.

Полноатомный МД-расчет абсорбции холестерина нанотрубкой подтвердил предположение о возможности использовать углеродные нанотрубки как наноконтейнеры для биомолекул. В самом деле, вне зависимости от того, нанотрубка предварительно гидратирована или нет, она легко может поглотить небольшие негидрофильные молекулы, в том числе холестерин и полиаланин. Другой особенностью подобных наноконтейнеров является их логическое развитие в устройства на основе нанотрубок, такие как «наношприц». Было показано, что базовая конструкция «наношприца» может быть использована для доставки молекул через липидную мембрану.

В будущем, модифицируя нанотрубку (путем добавления функциональных групп) можно достичь как селективной абсорбции, так и селективной посадки нанотрубки на клеточных мембранах. Результаты данного МД-исследования являются мощным инструментом в проектировании будущего реального устройства. На основании вышеизложенных результатов можно сделать следующие выводы.

ВЫВОДЫ

1. Переход молекул из водного раствора в биомембраны и модельные углеводородные слои связан с преодолением значительного кинетического барьера. Бислойная мембрана, состоящая из тетрадекана (объемная плотность от 0.707 до $0.771 \text{ г}/\text{см}^3$, удельная поверхностная площадь углеводорода 19 Å^2 на молеку-

лу) проницаема при давлении 1 атм лишь для очень маленьких и сильно гидрофобных молекул на временах порядка 10 нс. Диффузия молекулярного кислорода приводит к накоплению молекул O_2 в середине бислоя, где наблюдается пониженная плотность. Заметные скорости форсированного проникновения молекул в мембраны (более 1 Å/пс, т.е. 100 м/с) за времена порядка 1 нс наблюдаются лишь при действии внешней силы, большей некоторой критической величины, возрастающей с увеличением радиуса молекулы. При этом наблюдаются нелинейные зависимости скорости дрейфа молекул от величины внешней силы. Гидродинамическое соотношение Стокса работает здесь лишь качественно, что указывает на определенную неравновесность системы.

2. Энергия переноса из воды в тетрадекан для основных типов атомов Amber 1999, варьируется от 0.9 до 5.5 ккал/моль, что находится в тесной корреляции с изменением соответствующей борновской энергии сольватации. При этом в ряду атомов $C_{алиф}$, S, $C_{аро}$, O, N, O^* , $C_{гетеро}$ увеличиваются значения энергии переноса (т.е. гидрофобность уменьшается). Аддитивность вкладов структурных фрагментов молекул в свободную энергию переноса функциональных групп отсутствует.

3. Использование столкновительного термостата и баростата Берендсена с анизотропным баростатированием позволяет компенсировать как эффекты поверхностного натяжения липидного бислоя, так и естественные погрешности параметризации силового поля. Использование специального МД-протокола позволяет получить мембранную структуру ПОФХ в согласии с данными эксперимента по удельной площади липидов и толщине мембраны, параметрам порядка и форме электростатического потенциала. Коэффициент латеральной диффузии липидов при этом составляет 2.46×10^{-7} см²/с и практически совпадает с экспериментальными данными.

4. Численные эксперименты по форсированному транспорту пробных частиц через липидную мембрану дают значение эффективной микровязкости, измеренной в направлении нормали к поверхности мембраны ПОФХ при действии силы больше порогового значения (порядка 1 ккал/(моль·Å)), не более 6 сПз, причем центральная область бислоя оказывается примерно на порядок менее вязкой, чем поверхностный слой. Вязкость, измеренная в центре бислоя в латеральном направлении, оказывается приблизительно такой же, как и в области алкильных цепей при действии внешней силы в направлении нормали. Наиболее чувствительна в терминах сопротивления среды в зависимости от химической природы молекулы-пенетранта область липидных голов, гидрофобная сердцевина более чувствительна к размеру молекулы.

5. Взаимодействие углеродных нанотрубок и их комплексов с пептидами с биомембранами показывает, что в ходе «нановыстрела» из «наношприца» начальная спиральная конформация наиболее сильно деформируется при выбросе полипептида в вакуум и менее всего – в мембрану. Среда играет в этом процессе демпфирующую и структурирующую роль. Преимуществом модели-

руемой конструкции является ее способность к самосборке (продолжительность формирования конфигурации, активной для самосборки структуры нанотрубка-пептид, при 1000 К составила 4.64 нс, при 2000 К – 0.655 нс; это дает оценку величины энергии активации порядка 7.8 ккал/моль, а ожидаемое время самосборки при 300 К составляет 43 мкс). Полноатомный МД-расчет также подтвердил предположение о возможности использовать углеродные нанотрубки как наноконтейнеры, в частности для холестерина (энергия абсорбции – 30 ккал/моль).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Tourleigh Ye.V., Shaitan K.V. “Dynamics of molecular machines” // Proc. of the V Int. Cong. on Mathematical Modelling, Dubna, 2002, vol.2, p. 258.
2. Турлей Е.В. “Динамика молекулярных машин на примере катенанов” // Сборник тезисов Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых по фундаментальным наукам “Ломоносов-2003”, Секция “Физика”. Москва: Физфак МГУ, 2003, с. 27.
3. Tourleigh Ye.V., Shaitan K.V. “Molecular dynamics of catenanes and molecular machines of nonbiological nature” // Eur. Biophys. J., 32 (3), 2003, p. 295.
4. Tourleigh Ye.V., Shaitan K.V. “Molecular dynamics of biological molecules at water – membrane interface” // Biophys. J., 86 (1, part 2), 2004, p. 417A.
5. Tourleigh Ye.V., Shaitan K.V. “Molecular dynamics of biological molecules at the water – membrane interface” // Computational soft matter: from synthetic polymers to proteins, NIC Series Vol. 22, Juelich, 2004, p. 87.
6. Турлей Е.В. “Динамическая гетерогенность полностью гидратированного липидного бислоя и молекулярная динамика трансмембранной диффузии” // Сборник тезисов Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых “Ломоносов-2004”. М.: изд-во МГУ, 2004, т. 1, с. 31.
7. Tourleigh Ye., Shaitan K. “Molecular dynamics of biological molecules at the water – membrane interface” // Abstract book of FEBS Forum for Young Scientists, Warsaw, 2004, p. 32.
8. Tourleigh Ye., Shaitan K. “Molecular dynamics of biological molecules at the water – membrane interface” // Eur. J. Biochem., 271 (s. 1), 2004, p. 190.
9. Tourleigh Ye., Shaitan K. “Molecular diffusion at the water – membrane interface” // Abstracts of the VI Int. Conf. on Diffusion in Materials, Krakow, 2004, O-93.
10. Tourleigh Ye., Shaitan K. “Water – membrane interface and forced transport of molecules” // Abstracts of the 5th Int. Conf. on Biol. Phys., Gothenburg, 2004, p. 61.
11. Турлей Е.В., Шайтан К.В. “Динамическая гетерогенность полностью гидратированного бислоя и молекулярная динамика трансмембранной диффузии” // Вестник молодых ученых. Вып. 1. Сборник лучших докладов XI Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых “ЛОМОНОСОВ-2004”. М.: Гарт, 2004, сс. 17–22.
12. Tourleigh Ye., Shaitan K. “Steered molecular dynamics as “computer viscosimeter”” // Book of abstracts of the VI Int. Congress on Mathematical Modeling, Nizhny Novgorod, 2004, p. 514.
13. Tourleigh Ye.V., Shaitan K.V. “Steered molecular dynamics as “computer viscosimeter”” // Biophys. J., 88 (1, part 2), 2005, p. 514A.
14. Tourleigh Ye.V., Shaitan K.V. “Forced transport of molecules through the membrane by means of a nanosyringe” // Poster Abstracts of NATO ASI “Dynamics of Complex Interconnected Systems: Networks and Bioprocesses”, Geilo, Norway, 2005.
15. Турлей Е.В. “МД расчеты липидной мембраны в столкновительном термостате” // Сборник тезисов XII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых уче-

ных “Ломоносов-2005”, Секция “Биоинженерия и биоинформатика”. Москва: МГУ, 2005, т. 2, сс. 45–46.

16. Tourleigh Ye.V., Shaitan K.V. “Molecular dynamics study of molecular mobility in catenanes” // Defect and Diffusion Forum, 2005, 237–240, pp. 1174–1181.

17. Tourleigh Y.V., Shaitan K.V. “A nanodevice for the targeted delivery of biological agents” // Symposium Handbook of the 1st International EMBL-Monterotondo and Università di Roma di Tor Vergata PhD Students Symposium, Roma, Italy, 2005, p. 57.

18. Tourleigh Ye., Shaitan K. “Simulation of a nanopile-driver based on a carbon nanotube” // Abstracts of NATO ASI “Carbon Nanotubes: From Basic Research to Nanotechnology”, Sozopol, Bulgaria, 2005.

19. Tourleigh Ye., Shaitan K. “Simulation of a nanopile-driver based on a carbon nanotube” // Book of abstracts of NATO ASI “Functional Properties of Nanostructured Materials”, Sozopol, Bulgaria, 2005, p. 75.

20. Tourleigh Ye., Shaitan K. “Catenanes – simpler analogues of biomolecular rotors” // Abstract book of FEBS Forum for Young Scientists, Visegrád, 2005, p. 123.

21. Tourleigh Ye., Shaitan K. “Catenanes – simpler analogues of biomolecular rotors” // The FEBS J., 272 (s. 1), 2005, pp. 347–348.

22. Tourleigh Y.V., Shaitan K.V. “MD simulations of nanotube-membrane interactions and an oligopeptide transmembrane penetration” // Eur. Biophys. J., 34 (6), 2005, p. 747.

23. Турлей Е.В., Шайтан К.В., Балабаев Н.К. “Молекулярная динамика гидратированных углеводородных мембранных структур” // Жур. Физ. Химии, 2005, 79 (8), сс. 1448–1457.

24. Шайтан К.В., Терешкина К.Б., Турлей Е.В., Левцова О.В., Ли А., Голик Д.Н. “Методы управляемой динамики для молекулярного дизайна сложных мембранных структур” // Материалы третьего съезда Общества Биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова, Макс Пресс, Москва, 2005, с. 26.

25. Шайтан К.В., Турлей Е.В., Голик Д.Н., Терешкина К.Б., Левцова О.В., Федик И.В., Шайтан А.К., Кирпичников М.П. “Молекулярная динамика и дизайн био- и наноструктур” // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии, 2005, 1 (1), сс. 66–78.

26. Tourleigh Ye. “Design of a nanosyringe for the targeted delivery of molecules” // Symposium Handbook of the 7th International EMBL PhD Students Symposium, Heidelberg, Germany, 2005, p. 112.

27. Турлей Е.В., Шайтан К.В., Балабаев Н.К. “Молекулярная динамика гидратированного бислоя пальмитоилолеоилфосфатидилхолина в столкновительном термостате” // Биол. мембраны, 2005, 22 (6), сс. 491–502.

28. Mordvintsev D.Yu., Polyak Ya.L., Levtsova O.V., Tourleigh Ye.V., Kasheverov I.E., Shaitan K.V., Utkin Yu.N., Tsetlin V.I. “A model for short α -neurotoxin bound to nicotinic acetylcholine receptor from *Torpedo californica*: comparison with long-chain α -neurotoxins and α -conotoxins” // Computational Biology and Chemistry, 2005, 29 (6), pp. 398–411.

29. Турлей Е.В., Шайтан К.В., Балабаев Н.К. “Динамическая гетерогенность фосфолипидного бислоя и диффузия молекул на границе раздела фаз” // Биофизика, 2005, 50 (6), сс. 1042–1047.

30. Турлей Е.В., Шайтан К.В. “Наноконтейнеры для абсорбции и направленной доставки биологически активных веществ” // Материалы Московской международной конференции “Биотехнология и медицина”, Москва, 2006, с. 32. [Tourleigh Ye.V., Shaitan K.V. “Nanocapsules for absorption and targeted delivery of bioactive compounds” // Proceedings of the Moscow International conference “Biotechnology and medicine”, Moscow, 2006, pp. 32–33.]

31. Шайтан К.В., Турлей Е.В., Голик Д.Н., Терешкина К.Б., Левцова О.В., Федик И.В., Шайтан А.К., Ли А., Кирпичников М.П. “Динамический молекулярный дизайн био- и наноструктур” // Российский химический журнал, 2006, 50 (2), сс. 53–65.

32. Турлей Е.В. “Использование нанотрубок для селективной абсорбции и направленной доставки биологически активных веществ” // Сборник тезисов XIII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых “ЛОМОНОСОВ”. Москва: Изд-во МГУ, 2006, т. 4, сс. 61–62.
33. Shaitan K.V., Tourleigh Ye.V., Golik D.N. “Molecular dynamics of carbon nanotube-polypeptide complexes at the biomembrane – water interface” // “Carbon Nanotubes”, Popov V.N. and Lambin Ph. (Eds.). NATO Science Series II: Mathematics, Physics and Chemistry, Springer, 2006, vol. 222, pp. 233–234.
34. Levtsova O., Tourleigh Ye., Shaitan K. “MD validation of a model for short α -neurotoxin bound to nicotinic acetylcholine receptor from *Torpedo californica*” // Abstracts of the 20th IUBMB Congress and 11th FAOBMB Congress, Kyoto, 2006, p. 612.
35. Tourleigh Ye., Golik D., Shaitan K. “Application of nanotubes for selective absorption and targeted delivery: molecular dynamics study” // Abstract book of the summer school on nanotubes, Cargèse, 2006, p. 124.
36. Shaitan K.V., Tourleigh Y.V., Golik D.N., Kirpichnikov M.P. “Computer-aided molecular design of nanocontainers for inclusion and targeted delivery of bioactive compounds” // Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2006, 16 (4), pp. 253–258.
37. Golik D.N., Tourleigh Ye.V., Shaitan K.V. “Tracing a nanosyringe in action: simulation aspects” // Proceedings of the 16th International Microscopy Congress, Sapporo, 2006, p. 1907.
38. Шайтан К.В., Турлей Е.В., Голик Д.Н., Терешкина К.Б., Левцова О.В., Федик И.В., Шайтан А.К., Ли А., Кирпичников М.П. “Неравновесная молекулярная динамика наноструктур, включая биологические ” // Химическая физика, 2006, 25 (9), сс. 31–48.
39. Shaitan K.V., Tourleigh Ye.V., Shaytan A.K., Tereshkina K.B., Levtsova O.V., Kirpichnikov M.P. “Application of molecular dynamics simulations to study of membrane related structures” // Proceedings of the 2nd Russian-Bavarian Conference on Bio-Medical Engineering, 2006, pp. 59–68.
40. Shaitan K.V., Tereshkina K.B., Tourleigh Ye.V., Levtsova O.V., Shaytan A.K., Kirpichnikov M.P. “Molecular dynamics and design of ion channels and nanostructures” // Proceedings of the 2nd Russian-Bavarian Conference on Bio-Medical Engineering, 2006, pp. 69–75.