مجله مهندسی مکانیک مدرس، آبان 1395، دوره 16، شماره 8، ص‌ص 375-383

ماهنامه علمی پژوهشی

مهندسی مکانیک مدرس

mme.modares.ac.ir

مطالعه خواص مکانیکی پروتئین اکتین تحت بارگذاری کششی با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

بهزاد مهرافروز[1]، امیر شاملو[2*]، کیخسرو فیروز بخش[3]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی شریف، تهران
2- دانشیار، مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی شریف، تهران
3- استاد، مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی شریف، تهران
* تهران، صندوق پستی 11365-8639، shamloo@sharif.ir

اطلاعات مقاله

مقاله پژوهشی کامل
دریافت: 18 اردیبهشت 1395
پذیرش: 04 مرداد 1395
ارائه در سایت: 21 شهریور 1395

کلید واژگان:
اکتین
رفتار مکانیکی
شبیه‌سازی دینامیک مولکولی هدایت‌شده
نانو مکانیک

چکیده

اکتین فراوان‌ترین پروتئین درون یاخته‌ای و یکی از سه جزء اصلی چارچوب یاخته است که در مقابل بارهای کششی از یاخته محافظت می‌کند. بدین منظور، با توجه به دقت و اعتبار روش‌های مبتنی بر رفتار اتمی مانند دینامیک مولکولی، در این مقاله با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی به بررسی رفتار مکانیکی پروتئین اکتین پرداخته شده است. اکتین در داخل یاخته به دو صورت تکپار ای‌تی‌پی و ای‌دی‌پی وجود دارد. در همین راستا در این پژوهش رفتار مکانیکی هر دو فرم تکپار اکتین مطالعه شده است. با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی هدایت‌شده، تکپار اکتین تحت بارگذاری کششی قرار گرفته و تأثیر ضریب ثابت فنر مجازی دینامیک مولکولی هدایت‌شده بر رفتار مکانیکی اکتین بررسی شده است. نتایج شبیه‌سازی‌ها حاکی از است که با افزایش ضریب ثابت فنر مجازی دینامیک مولکولی هدایت‌شده، سختی معادل تکپار اکتین افزایش یافته در حالت اکتین ای‌دی‌پی به 215.16 pN/Å و برای حالت ای‌تی‌پی به 228.24 pN/Å همگرا می‌شود. همچنین نشان داده شد که تکپار اکتین ای‌تی‌پی در بارگذاری کششی، رفتار سخت‌تری نسبت به تکپار ای‌دی‌پی نشان می‌دهد. به‌منظور مطالعه دقیق‌تر رفتار تکپار ای‌تی‌پی و ای‌دی‌پی، تعداد پیوندهای هیدروژنی و انرژی غیر پیوندی میان این مولکول نوکلئوتیدی و پروتئین اکتین مطالعه شده است. صحه‌گذاری نتایج پژوهش بر مبنای مقایسه طول پایسته محاسبه شده و مطالعات گذشتگان، صورت گرفته است. طول پایسته محاسبه شده برای اکتین برابر 15.61 آنگستروم است که خطای قابل قبول 2.38 درصدی با مقادیر گزارش شده در مطالعات گذشتگان دارد.

Mechanical behavior of actin monomers under axial tensile loads: A molecular dynamics study

Behzad Mehrafrooz, Amir Shamloo*, Keikhosrow Firoozbakhsh

Department of Mechanical Engineering, Sharif University of Technology, Tehran, Iran.
* P.O.B. 11365-8639 Tehran, Iran, shamloo@sharif.ir

ARTICLE INFORMATION

Original Research Paper
Received 07 May 2016
Accepted 25 July 2016
Available Online 11 September 2016

Keywords:
Actin
Mechanical behavior
Steered molecular dynamics
Nanomechanics

ABSTRACT

This paper deals with atomistic modeling of nanomechanical behavior of actin monomer. The major cytoskeletal protein of most cells is actin, which is responsible for the mechanical properties of the cells. Actin also plays critical mechanical roles in many cellular processes which give structural support to cells and links the interior of the cell with its surroundings. Based on the accuracy of atomistic-based methods such as molecular dynamics simulations, in this paper, we perform a series of steered molecular dynamics simulations on both ATP and ADP single actin monomers to determine their intrinsic molecular strength. The effect of virtual spring of steered molecular dynamics on the mechanical behavior of actin monomer is investigated. The results reveal increasing the virtual spring constant leads to convergence of the stiffness. The stiffness of ADP actin and ATP actin is calculated as 215.16 and 228.24 pN/Å, respectively. The results also show higher stiffness and Young's modulus for ATP G-actin in comparison to ADP G-actin. In order to compare the behavior of ATP and ADP G-actins, the number of hydrogen bonds and nonbonded energies between the nucleotide and the protein are analyzed. The obtained persistent length is 15.61 µm which is in good agreement with the other reported literature values.

1-مقدمه

چارچوب یاخته[1] یکی از اجزای اصلی سازنده یاخته[2] است که به مانند داربست یا استخوان‌بندی آن می‌باشد و از پروتئین‌های گوناگونی تشکیل شده است. وظیفه اصلی چارچوب یاخته تشکیل پیکره‌ی یاخته و تأمین استحکام مکانیکی آن در برابر بارهای داخلی و خارجی است [1]. جز اصلی چارچوب یاخته، اکتین نام دارد که پروتئین سیتوپلاسمی[3] است و به دو شکل تکپار[4] و

[1] Cytoskeleton
[2] Cell
[3] Cytoplasm
[4] Monomer

برای ارجاع به این مقاله از عبارت ذیل استفاده نمایید:

Please cite this article using:
B. Mehrafrooz, A. Shamloo, K. Firoozbakhsh, Mechanical behavior of actin monomers under axial tensile loads: A molecular dynamics study, *Modares Mechanical Engineering*, Vol. 16, No. 8, pp. 375-383, 2016 (in Persian)

[Downloaded from mme.modares.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.10275940.1395.16.8.19.6]

رشته‌ای در یاخته‌ها وجود دارد. اکتین فراوان‌ترین پروتئین درون‌یاخته‌ای است به طوری که برای یاخته‌های غیر عضلانی 1 تا 5 درصد از وزن کل یاخته را در برمی‌گیرد و حتی این مقدار برای یاخته‌های عضلانی به 10 درصد نیز افزایش می‌یابد [2]. اکتین همچنین نقش مهمی در فعالیت‌های یاخته از جمله مهاجرت یاخته‌ای، پیکربندی یاخته، تقسیم یاخته‌ای، انقباض عضلات و تحمل بارهای کششی در عضلات [3] را بر عهده دارد. عملکرد اکتین به طور قابل‌توجهی تابع خواص مکانیکی آن است [4]. به عبارت بهتر، اکتین در طی فعالیت‌های گوناگون محتمل بارهای مکانیکی مختلفی از جمله کشش، خمش و پیچش می‌شود که موجب تغییر شکل آن در مقیاس مولکولی می‌گردد. ازاین‌رو مطالعه رفتار مکانیکی اکتین تحت بارهای مکانیکی از جمله بارگذاری کششی بسیار حائز اهمیت می‌باشد؛ بنابراین در این مقاله به مطالعه رفتار مکانیکی اکتین پرداخته خواهد شد.

تکپار اکتین یا اکتین کروی[1] از توالی 375 آمینواسید تشکیل می‌شود، که به صورت دو ناحیه لولایی شکل گرفته‌اند. این پروتئین ابعادی در حدود 55×55×35 آنگستروم دارد و وزن مولکولی آن معادل 42 کیلودالتون است. اگرچه اکتین در بررسی‌های میکروسکوپی به صورت کروی دیده می‌شود، ولی تحقیقات بیشتر توسط میکروسکوپ اشعه ایکس مشخص نموده است که اکتین توسط یک شکاف[2] از وسط به دو لبه تقریباً برابر تقسیم شده است. این دو لبه در پروتئین، یک مولکول نوکلئوتید[3] ای‌دی‌پی[4] یا ای‌تی‌پی[5] و یک یون Ca^{+2} یا Mg^{+2} را احاطه می‌کند [5]. مولکول نوکلئوتید در پایین شکاف قرار می‌گیرد. این مولکول باعث تماس دو لبه به یکدیگر می‌شود و در نتیجه پایداری پروتئین را به همراه دارد. در داخل یاخته غلظت تکپار اکتین ای‌تی‌پی بیشتر از تکپار ای‌دی‌پی می‌باشد. مشاهدات حاکی از آن است که در صورت عدم وجود مولکول نوکلئوتیدی، پروتئین اکتین تجزیه می‌گردد [6].

هر لبه از پروتئین تکپار اکتین، خود به دو زیر ناحیه[6] تبدیل می‌شود؛ لذا درمجموع چهار زیر ناحیه را برای پروتئین تکپار اکتین می‌توان متصور شد که با چهار زیر ناحیه اول تا چهارم شناخته می‌شوند. شکاف میانی پروتئین، بین زیرناحیه‌های دو و چهار قرار گرفته است. ناحیه پایینی این شکاف، به‌مانند لولایی عمل می‌کند و باعث ایجاد انعطاف‌پذیری و حرکت دورانی نسبی دو لبه نسبت به یکدیگر می‌گردد. هر دو ترمینال C و N این پروتئین در زیر ناحیه یک قرار گرفته‌اند. در میان چهار زیرناحیه پروتئین تکپار اکتین، ناحیه دو نسبت به دیگر نواحی، کوچک‌تر و انعطاف‌پذیرتر می‌باشد. همچنین این زیرناحیه شامل حلقه‌ای است که محل اتصال پروتئین دناز[7] I است. ساختار کلی تکپار اکتین در شکل 1 نشان داده شده است. در این شکل همچنین، دسته‌بندی زیرناحیه‌های تکپار اکتین، مولکول نوکلئوتید، شکاف میانی و ترمینال C و N مشخص شده است.

بسته به نوع مولکول نوکلئوتید ای‌تی‌پی یا ای‌دی‌پی، وجود این مولکول در پروتئین تکپار اکتین باعث ایجاد تغییراتی در ساختار آن می‌شود. برای مثال، مطالعات پیشین نشان می‌دهد که شکل حلقه دناز I تابع نوع مولکول نوکلئوتیدی موجود در پروتئین است [7]. همچنین انتظار می‌رود که این تفاوت‌ها باعث ایجاد تغییراتی در خواص مکانیکی این پروتئین گردد. در نتیجه، مطالعه این امر یکی از اهداف پژوهش پیشرو را تشکیل می‌دهد.

[1] Globular
[2] Clef
[3] Nucleotide
[4] ADP
[5] ATP
[6] Subdomain
[7] DNase I binding loop

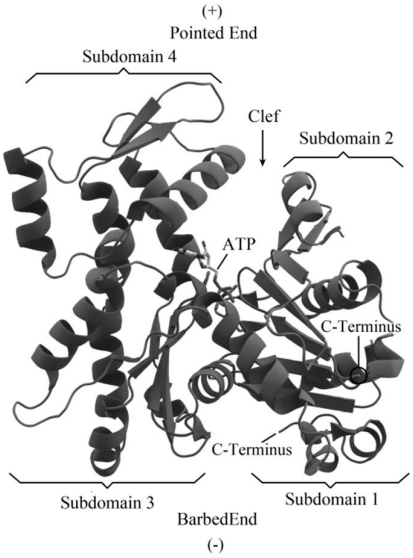
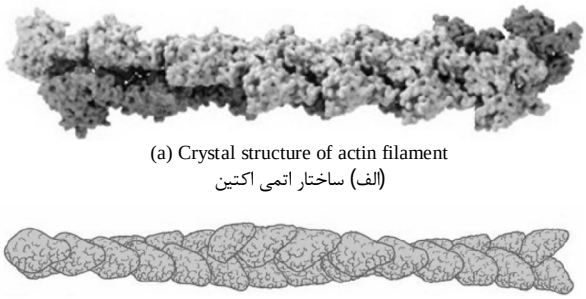


Fig. 1 Molecular structure of actin monomer [5]

شکل 1 ساختار مولکولی تکپار اکتین [5]

اکتین رشته‌ای[8]، فیبر پروتئینی نازک و انعطاف‌پذیر با شعاع تقریبی 7 نانومتر است که می‌تواند طولی بالغ بر چندین میکرومتر داشته باشد. اکتین رشته‌ای از بسپارش[9] تکپار اکتین در یک جهت خاص ایجاد می‌گردد. به عبارت بهتر تکپار اکتین واحد سازنده اکتین رشته‌ای می‌باشد. اکتین رشته‌ای دارای ساختار دینامیکی است که به نوع نوکلئوتید تکپار سازنده آن وابسته می‌باشد. تکپار اکتین ای‌تی‌پی قدرت بیشتری در تشکیل اکتین رشته‌ای نسبت به تکپار ای‌دی‌پی دارد. اکتین رشته‌ای در شکل 2 نشان داده است. همان طور که در این شکل مشخص است، اکتین رشته‌ای یک رشته مارپیچ است که از چرخش و انتقال تکپارهای اکتین به وجود آمده است. مطالعات آزمایشگاهی نشان می‌دهد که هر واحد تکپار اکتین چرخشی معادل 166 درجه و انتقالی برابر 27.5 آنگستروم نسبت به تکپار قبلی دارد که موجب ایجاد ساختار مارپیچی برای اکتین می‌گردد. لذا با توجه به چرخش 166 هر تکپار اکتین، به ازای هر 13 تکپار اکتین 180 درجه چرخش مارپیچ حاصل می‌گردد. همچنین با توجه به 27.5 آنگستروم هر تکپار، دوره تناوب هر مارپیچ اکتین رشته‌ای، 370 نانومتر است [8].



(a) Crystal structure of actin filament
(الف) ساختار اتمی اکتین

(b) Orientation of monomers in actin filament
(ب) طرحواره چیدمان تکپار های اکتین در رشته اکتین

Fig. 2 Schematic representation of Actin filament and the orientation of its monomers [10]

شکل 2 طرحواره اکتین رشته‌ای و نحوه چیدمان تکپار های اکتین در آن [10]

[8] Actin filament
[9] Polymerization

[Downloaded from mme.modares.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.10275940.1395.16.8.19.6]

یکی از اولین شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی تکپار اکتین توسط سودا و همکاران [9] در سال 1994 صورت گرفت. در این پژوهش، تکپار اکتین بدون در نظر گرفتن پیوند Ca^{+2}، بخش نوکلئوتیدی و بخش دناز در مدت 100 پیکوثانیه شبیه‌سازی شده است. هدف اصلی این مقاله بررسی پایداری و نوسانات تکپار اکتین در محیط حلال است. از جمله نقدهای وارد بر این مقاله، می‌توان به بازه بسیار کوتاه شبیه‌سازی اشاره کرد که با توجه به پیشرفت تکنولوژی محاسباتی و روش‌های نوین درشت‌دانه سازی امروزه شبیه‌سازی‌ها در گستره زمانی بزرگ‌تر انجام می‌پذیرند. همچنین به‌منظور ساده‌سازی شبیه‌سازی، از ساختار نوکلئوتیدی و بخش دناز تکپار صرف نظر شده است در حالی که در بسیاری از مطالعات مانند مراجع [12 ,11] مشاهده شده است که این بخش‌ها اثر قابل توجهی بر رفتار تکپار اکتین دارد.

یکی از تکنیک‌های رایج در شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی، استفاده از دینامیک مولکولی هدایت‌شده[1] [13] است که امکان اعمال نیرو یا سرعت ثابت به قسمتی از اتم‌های انتخابی فراهم می‌سازد. از روش دینامیک مولکولی هدایت‌شده همچنین در بررسی رفتار و خواص مکانیکی زیست ساختارهای گوناگون استفاده شده است. به عنوان مثال طهانی و ناصریان نیک [14] با استفاده از دینامیک مولکولی هدایت‌شده به بررسی رفتار نانو مکانیکی مولکول دو رشته‌ای دی‌ان‌ای تحت بارگذاری کششی پرداخته‌اند و نقش سرعت کشش و زاویه کشش در تعیین خواص بیومکانیکی دو رشته‌ای دی‌ان-ای طول کوتاه بررسی کرده‌اند. حسنی اردکانی [15] نیز با استفاده از این روش به بررسی مکانیزم مولکولی جدایش پیوند پی‌سلکتین/PSGL-1 پرداخته است. علاوه بر این، مطالعات بسیاری بر روی پروتئین‌های مکانیکی صورت گرفته است. از جمله این مطالعات می‌توان به رشته کلاژن[2] [16] اشاره داشت. کلاژن فراوان‌ترین پروتئین موجود در بدن است که جز اصلی تشکیل‌دهنده تاندون‌ها و لیگامان‌ها است. از دیگر پروتئین‌های مکانیکی می‌توان از پروتئین‌های سازنده چارچوب یاخته نام برد. تاکنون مطالعاتی با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی هدایت‌شده بر روی اجزای چارچوب نظیر اینترمدیت فلامنت‌ها[3] [17] و میکروتیوبیول[4] [18] صورت گرفته است. از این تکنیک در بررسی رفتار مکانیکی اکتین نیز استفاده شده است. ریگز و همکاران [19] با استفاده از این تکنیک رفتار فسفات در تکپار اکتین بررسی کردند. در این مقاله با اعمال نیروی کششی به فسفات به تحلیل نیروی بحرانی که به ازای آن مولکول فسفات از تکپار اکتین جدا می‌شود پرداخته شده است.

قدسی و همکاران [20] با استفاده از روش دینامیک مولکولی هدایت‌شده به مدل‌سازی خواص مکانیکی اکتین پرداخته‌اند. در مطالعات این مقاله، پروتئین اکتین در دو صورت تکپار و رشته‌ای در نظر گرفته شده است. همچنین با در نظر گرفتن حالات متفاوت نوکلئوتیدی شامل نوکلئوتید ای‌دی‌پی، نوکلئوتید ای‌تی‌پی و اکتین بدون نوکلئوتید، اثر حالات متفاوت نوکلئوتیدی بر روی پروتئین اکتین بررسی شده است. در طی شبیه‌سازی‌های با انجام بارگذاری‌های کششی و برشی، ضریب الاستیسیته کششی و برشی حالات متفاوت پروتئین اکتین محاسبه شده است. نتایج این مقاله حاکی از آن است که مولکول نوکلئوتیدی تأثیر بسزایی در خواص مکانیکی اکتین دارد. از نقاط قوت این کار می‌توان به شبیه‌سازی تمام اتمی اشاره کرد که باعث افزایش دقت نتایج می‌گردد. از آن جایی که مطالعات این مقاله شامل مطالعه رفتار پلاستیک نیز می‌شود، یکی از نقاط ضعف این کار مدل‌سازی با استفاده از میدان‌های غیرفعال[5] است که صحت نتایج را در کرنش‌های بیشتر از 20 درصد زیر سؤال می‌برد. همچنین با توجه به استفاده دینامیک هدایت‌شده، ضریب فنر مجازی ثابت فرض شده است و در نتیجه انتظار می‌رود که نتایج این مقاله تابع ثابت فنر دینامیک هدایت باشد. در مقاله مذکور حالت تکپار اکتین بدون نوکلئوتید نیز بررسی شده است که حالتی ناپایدار است و در طبیعت موجود نیست.

در مقاله حاضر، به بررسی رفتار مکانیکی اکتین تحت بارگذاری کششی پرداخته می‌شود. نوآوری این مقاله، استفاده از روش نوین، محاسبه مدول یانگ و طول پایسته[6] تکپار اکتین، به صورت مستقل از ضریب فنر مجازی دینامیک مولکولی هدایت‌شده است. همچنین از ساختار یکسان اتمی برای دو تکپار اکتین ای‌دی‌پی و ای‌تی‌پی استفاده شده است که دارای توالی کاملاً مشابه می‌باشند و تنها در مولکول نوکلئوتید اکتین تفاوت دارند. نوآوری دیگر این مقاله، مقایسه رفتار مکانیکی تکپار اکتین ای‌تی‌پی و ای‌دی‌پی است.

2- ابزارها و روش‌ها

کلیه شبیه‌سازی‌ها به وسیله برنامه نمد[7] [21] و میدان نیرویی چارم[8] [22] صورت پذیرفته است. میدان نیرویی چارم دارای دو دسته عبارات هارمونیک و غیرهارمونیک است. عبارات هارمونیک، بیانگر انرژی پیوندی، خمشی و پیچشی می‌باشند، در حالی که برهمکنش غیرپیوندی واندروالسی و الکترواستاتیکی توسط عبارات غیر هارمونیک بیان می‌گردد. ساختار اولیه پروتئین تکپار اکتین از فایل پی‌دی‌بی[9] 1ATN [23] و 2ZWH [19] استخراج شده است. فایل 1ATN دارای نوکلئوتید ای‌تی‌پی و فایل 2ZWH دارای نوکلئوتید ای‌دی‌پی است. لازم به ذکر است که در ساختار 1ATN دارای مولکول دناز I نیز می‌باشد که در این پژوهش این بخش از مولکول تکپار اکتین جدا شده است. ساختار انتخابی دو پروتئین، دقیقاً یکسان و دارای توالی مشابه است و تنها تفاوت این دو پروتئین در مولکول ای‌دی‌پی و ای‌تی‌پی است.

هر پروتئین در یک مکعب حاوی سیال آب به ابعاد 120×90×70 آنگستروم قرار داده شده است. برای مدل‌سازی آب نیز از مدل TIP3 استفاده شده است. به‌منظور شبیه‌سازی شرایط سیال درون یاخته و همچنین خنثی‌سازی بار الکتریکی سیستم، ترکیب پتاسیم کلراید با غلظت 150mM به سیستم افزوده شده است. در جدول 1 جزئیات تعداد اتم هر دو سیستم ارائه گردیده است.

لازم به ذکر است که هر دو ساختار 1ATN و 2ZWH دارای یک آمینواسید غیرمتعارف HIC می‌باشند که همان آمینواسید هیستیدین[10] است ولی یک گروه عاملی متیل جایگزین یک اتم هیدروژن شده است. در مطالعات

جدول 1 جزئیات ابعاد سیستم‌های مورد مطالعه

Table 1 Overview of the studied models by molecular dynamics simulation

نوع سیستم	تعداد اتم پروتئین	ابعاد سیستم (nm^3)	اتم سیستم
1ATN (ATP)	5863	70×90×120	78596
2ZWH (ADP)	5869	70×90×120	78649

[1] Steered Molecular Dynamics (SMD)
[2] Collagen
[3] Intermediate filaments
[4] Microtubule

[5] Non-reactive force field
[6] Persistence length
[7] NAMD
[8] CHARMM
[9] PDB
[10] Histidine

[Downloaded from mme.modares.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.10275940.1395.16.8.19.6]

پیشین نشان داده شده است که اتصال این گروه عاملی نقش مهمی در ساختار تکپار اکتین دارد [24]. بنابراین مدل‌سازی این جز از اهمیت بالایی برخوردار است. از آنجایی که میدان نیرویی چارم برای آمینواسیدهای استاندارد نوشته شده است لذا پارامترهای این آمینواسید در میدان نیرویی چارم موجود نیست و بایستی پارامترهای این آمینواسید را به میدان نیرویی افزود. در این پژوهش با استفاده از برنامه سی‌جن‌اف‌اف[1] [25] پارامترهای آمینواسید غیرمتعارف HIC تولید شده است و به میدان نیرویی افزوده شده است. برای ایجاد پارامترهای این آمینواسید، فایل مختصات اتمی آن به عنوان ورودی در برنامه سی‌جن‌اف‌اف بارگذاری گردید سپس پارامترهای میدان نیرویی چارم برای این آمینواسید توسط برنامه تولید گشت. این برنامه همچنین در خروجی معیاری به عنوان ضریب اطمینان پارامترها ارائه می‌کند برای آمینواسید HIC در محدوده قابل قبولی قرار داشت. لازم به ذکر است که، یکی دیگر از راه‌های تولید پارامترهای جدید در میدان نیرویی چارم استفاده از نرم‌افزار اسپارتان[2] است که در راهنمای استفاده از نرم‌افزار نمد به آن پرداخته شده است. پارامترهای تولیدی برای آمینواسید HIC، توسط نرم‌افزار اسپارتان نیز در بوته آزمایش قرار گرفت و از صحت این پارامترها اطمینان حاصل شد.

در شبیه‌سازی‌ها، برهم‌کنش‌های واندروالسی با شعاع قطع 13.5 آنگستروم و تابع سویچ[3] 10 آنگستروم محاسبه می‌گردند. در محاسبه برهمکنش‌های الکترواستاتیکی از روش PME[4] استفاده شده است. گام زمانی حل عددی برابر 1 فمتوثانیه تعیین شده است و انرژی سیستم به ازای 15000 مرحله با الگوریتم گرادیان‌های مزدوج[5] کمینه شده است. سپس دمای سیستم توسط ترموستات لنجوین[6] با ضریب ثابت $5\ \mathrm{ps}^{-1}$ 5 هر 1000 پیکوثانیه 15 درجه افزایش می‌یابد تا به دمای 300 کلوین برسد و همچنین فشار سیستم توسط پیستون نوز-هوور[7] به مقدار 1 اتمسفر ثابت می‌گردد. با توجه به فشار و دمای ثابت در طول شبیه‌سازی، سیستم یک هنگرد[8] NPT را تشکیل دهد. پس رسیدن به دمای بیولوژیک 300 کلوین (دمای در نظر گرفته شده در مطالعات آزمایشگاهی)، سیستم برای مدت یک نانوثانیه متعادل می‌گردد و سپس تحت تأثیر دینامیک مولکولی هدایت‌شده قرار می‌گیرد. دینامیک مولکولی هدایت‌شده روشی کاملاً مناسب برای شرایطی است که مولکول تحت تغییر شکل‌های بزرگ در بازه زمانی قابل‌دسترس شبیه‌سازی رایانه‌ای قرار می‌گیرد. به عبارت دیگر، دینامیک مولکولی هدایت‌شده، شبیه‌سازی اعمال نیرو خارجی به مولکول توسط میکروسکوپ نیروی اتمی[9] می‌باشد. در ادامه به معرفی مختصر اصول حاکم بر این روش پرداخته می‌شود. در این روش، عبارت پتانسیل موجود در رابطه (1) به میدان نیرویی افزوده می‌شود:

$$U = k\frac{\left(z_{\mathrm{p}}(t) - z(t)\right)^2}{2} \qquad \text{(1- الف)}$$

$$z(t) = Vt + z_0 \qquad \text{(1- ب)}$$

در رابطه (1)، $z_{\mathrm{p}}(t)$ موقعیت مکان مرکز جرم اتم‌هایی است که تحت تأثیر نیرو قرار می‌گیرند و z_0 طول آزاد فنر مجازی است که به این اتم‌ها متصل شده است. همچنین k ضریب ثابت فنر مجازی، V سرعت ثابت کشش و U انرژی پتانسیل فنر است که به میدان نیرویی کل افزوده می‌گردد. نیروی اعمالی به اتم‌های مولکول نیز توسط رابطه (2) محاسبه می‌گردد:

$$F_{\mathrm{P}} = -k\left|z_{\mathrm{p}}(t) - z(t)\right| \qquad \text{(1- ج)}$$

در این مقاله مقدار سرعت ثابت کشش برابر 0.1 Å/ps فرض شده است. این سرعت به عنوان مقدار بهینه سرعت کشش در مرجع [26] گزارش شده است. به کمک این اطلاعات، محاسبه نیروی مورد نیاز برای کشش برحسب زمان شبیه‌سازی و مختصات واکنشی ممکن خواهد بود. همان طور که از رابطه (1- ج) مشخص است، نیروی دینامیک هدایت‌شده تابعی از ضریب ثابت فنر مجازی استفاده شده است. به عبارت بهتر، زمانی که مولکول اکتین به فنر دینامیک مولکولی هدایت‌شده متصل می‌گردد، با فرض ضریب ثابت فنر k_{act} برای مولکول اکتین، کل مجموعه مانند دو فنر سری عمل می‌کنند و می‌توان نوشت:

$$\frac{1}{k_{\mathrm{sys}}} = \frac{1}{k_{\mathrm{act}}} + \frac{1}{k} \qquad (2)$$

که در رابطه (2)، k_{sys} ضریب ثابت فنر کل مجموعه است. همان طور که از این رابطه مشخص است اگر مقدار k کوچک باشد، رفتار سیستم تحت تأثیر غالب فنر مجازی دینامیک هدایت‌شده است و اطلاعاتی از ضریب فنر مولکول اکتین نمی‌توان به دست آورد. در حالت دیگر، اگر مقدار k بزرگ انتخاب گردد، رفتار سیستم تابع ضریب فنر پروتئین است و بهتر می‌توان رفتار سیستم را مطالعه نمود. از آنجایی که ضریب فنر مولکول اکتین عامل اصلی در تست کشش و محاسبه مدول یانگ می‌باشد و مقدار آن مجهول می باشد، در این مقاله دینامیک مولکولی هدایت‌شده به ازای ده مقدار مختلف ثابت فنر $[0.5\text{-}9.5]\ \mathrm{kCal/mol/Å^2}$ شبیه‌سازی می‌گردد. سپس با استفاده از شیب ناحیه خطی نمودار نیرو-تغییر طول پروتئین اکتین، ضریب فنر اکتین k_{act} به دست می‌آید. در ادامه با استفاده نمودار k_{act}-k آزمون همگرایی برای ضریب فنر پروتئین اتخاذ می‌گردد. با این روش مقدار ضریب ثابت فنر به‌دست‌آمده برای اکتین مستقل از ضریب ثابت فنر مجازی دینامیک هدایت‌شده خواهد بود. همچنین به‌منظور اطمینان از صحت نتایج و حذف تأثیر نیروهای تصادفی دینامیک مولکولی هر شبیه‌سازی 3 مرتبه تکرار شده است و میانگین نتایج سه شبیه سازی در نظر گرفته می‌شود. در مجموع با توجه به دو سیستم ای‌دی‌پی و ای‌تی‌پی، 10 ضریب ثابت فنر مختلف و سه مرتبه تکرار هر، 60 شبیه‌سازی مجزا صورت پذیرفته است.

همان طور که پیش‌تر اشاره گردید، تکپار اکتین به صورت رشته‌ای در داخل سلول وجود دارد. در رشته اکتین، تکپارهای اکتین در جهت طولی به یکدیگر متصل شده و رشته‌ی اکتین را تشکیل می‌دهند. اتصال تکپارها به رشته اکتین از ناحیه مثبت، و انفصال تکپارها از جهت منفی صورت می‌گیرد. در شبیه‌سازی دینامیک مولکولی هدایت‌شده اتم‌های C_α موجود در سر مثبت تحت تأثیر نیروی کششی قرار گرفته و اتم‌ها سر منفی به صورت ثابت نگه داشته می‌شوند. اتم‌های C_α این دو گروه، اتم‌هایی هستند که در دو تکپار اکتین مجاور در رشته اکتین با یکدیگر برهمکنش دارند که از مرجع [27] استخراج شده است. جدول 2 نشان‌دهنده گروه‌بندی این اتم‌ها می‌باشد. از آن جایی که برهمکنش میان تکپارها در داخل رشته اکتین به صورت غیر پیوندی می‌باشد، برای تشخیص میان اتم‌های برهمکنش کننده میان دو تکپار مجاور بایستی ساختار رشته اکتین مورد مطالعه قرار گیرد. در مرجع [27] لیست

[1] CGenFF
[2] SPARTAN
[3] Switching function
[4] Particle Mesh Ewald (PME)
[5] Conjugate gradient
[6] Langevin
[7] Nosé–Hoover
[8] Ensemble
[9] Atomic-Force Microscopy (AFM)

[Downloaded from mme.modares.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.10275940.1395.16.8.19.6]

جدول 2 دسته‌بندی اتم‌های ثابت و اتم‌های تحت بارگذاری کششی

Table 2 Classification of fixed and SMD atoms

نوع گروه اتمی	شماره توالی	نوع آمینواسید
اتم‌های ثابت	168	GLY
	288	ASP
	351	THR
	354	GLN
	374	CYS
	45	VAL
اتم‌های تحت نیروی کششی	197	GLY
	204	GLY
	245	ALA

اتم‌های برهمکنش کننده میان دو تکپار ذکر شده است. در مقاله حاضر اتم‌های ثابت و اتم‌های تحت بارگذاری مطابق مرجع مذکور انتخاب شده‌اند. این اتم‌ها در شکل 3 نشان داده شده‌اند. شکل 4 ساده‌سازی بارگذاری کششی وارد بر تکپار اکتین را نشان می‌دهد.

مدول یانگ[1] تکپار اکتین نیز با استفاده از ثابت فنر آن به وسیله رابطه‌ی (3) محاسبه می‌گردد:

$$E = \frac{F\,L_0}{A\,\Delta L} = \frac{F}{\Delta L} \times \frac{L_0}{A} = K_{\mathrm{atn}} \times \frac{L_0}{A} \qquad (3)$$

که در رابطه (3)، F نیروی کشش، ΔL تغییر طول تکپار در راستای کشش، L_0 طول اولیه تکپار در راستای کشش و A مساحت سطح مقطع معادل تکپار است.

Fig. 3 Classification of fixed and SMD atoms

شکل 3 دسته‌بندی اتم‌های ثابت و اتم‌های تحت بارگذاری کششی

Fig. 4 Overview of tensile load on actin monomer in this study

شکل 4 ساده‌سازی بارگذاری کششی تکپار اکتین

[1] Young's modulus

همچنین در این مقاله به محاسبه طول پایسته[2] پرداخته شده است. طول پایسته یک ویژگی مکانیکی است که سختی یک زنجیره‌ی پلیمری را توصیف می‌کند. طول پایستار با استفاده از رابطه (4) محاسبه می‌گردد [28]:

$$\xi_P = \frac{EI}{K_B T} \qquad (4)$$

که در رابطه (3)، K_B ثابت بولتزمن[3]، T دمای شبیه‌سازی، I ممان اینرسی سطح و E مدول یانگ است. برای نمایش ساختار مولکولی و ساخت سیستم از برنامه وی‌ام‌دی[4] [29] استفاده شده است. طرحواره کلی سیستم در شکل 5 نشان داده است. این شکل نمایش پروتئین در محیط حلال اب است

تمامی شبیه‌سازی‌های انجام شده در این مقاله بر روی سیستم پردازش سریع[5] دانشگاه صنعتی شریف با 24 هسته پردازشی و همراه باپردازش GPU اجرا شده است. متعادل سازی هر سیستم 15 ساعت و هر تست کشش 3 ساعت به طول انجامید که در مجموع زمان اجرای تمامی شبیه‌سازی صورت گرفته در این مقاله برابر در حدود 210 ساعت است. در ادامه به بررسی نتایج حاصل از شبیه‌سازی ها پرداخته می‌شود.

3- نتایج و بحث

همان طور که پیش‌تر اشاره گردید، هر دو سیستم ابتدا به مدت یک نانوثانیه متعادل شدند. در مدت متعادل‌سازی جذر متوسط مربع[6] اتم‌های پروتئین تکپار اکتین ای‌دی‌پی برابر 3.47 آنگستروم و برای سیستم تکپار اکتین ای‌تی‌پی برابر 3.46 آنگستروم بود.

شبیه‌سازی‌ها برای 10 ضریب ثابت فنر مختلف، در دو سیستم مختلف ای‌تی‌پی و ای‌دی‌پی در بازی زمانی 350 پیکو ثانیه انجام پذیرفت و هر شبیه‌سازی سه مرتبه تکرار شد. به این ترتیب 60 شبیه‌سازی مجزا صورت گرفته است و مقدار نیروی لازم برای کشش پروتئین در هر شبیه‌سازی استخراج شده است. منحنی این نیرو در شکل 6 درج شده است. سرعت کشش دینامیک مولکولی هدایت‌شده برابر 0.1 آنگستروم بر پیکوثانیه انتخاب شده و مدت زمان کل شبیه‌سازی برابر 350 پیکوثانیه است، لذا در مجموع پروتئین به مقدار 35 آنگستروم تغییر طول می‌دهد. با توجه به طول اولیه پروتئین که 83 آنگستروم می‌باشد، کرنش این مجموعه در 42 درصد است.

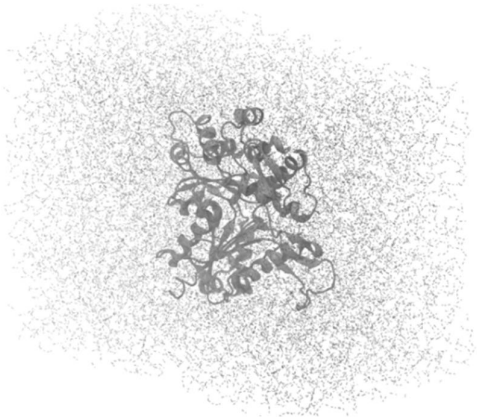


Fig. 5 System setup: New cartoon view of the solvated actin monomer

شکل 5 سیستم شبیه‌سازی شامل تکپار اکتین و حلال آب

[2] Persistence length
[3] Boltzmann's constant
[4] VMD
[5] High Performance Computer (HPC)
[6] Root mean square

[Downloaded from mme.modares.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.10275940.1395.16.8.19.6]

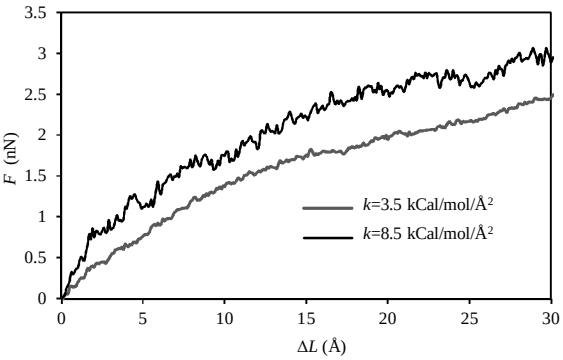


Fig. 6 Force plotted against molecular elongation for the soft and the stiff spring constants *k*

شکل 6 منحنی تغییرات نیرو برحسب تغییر طول تکپار اکتین به ازای دو ضریب ثابت فنر مجازی دینامیک مولکولی هدایت‌شده

در این مقاله از میدان نیرویی چارم استفاده شده است که میدانی غیرفعال است و توانایی مدل‌سازی تشکیل و شکسته شدن پیوندها را ندارد. لذا استفاده از این میدان‌های نیرویی در محدوده تغییر شکل‌های پلاستیک می‌تواند منجر به تولید خطای چشم‌گیر در نتایج شبیه‌سازی گردد. بنابراین در این مقاله تنها ناحیه خطی و ابتدایی در نظر گرفته می‌شود و تغییر طول 5 آنگستروم که معادل کرنش 6 درصد است، به عنوان تغییر طول الاستیک مدنظر قرار می‌گیرد [20]. مشاهده می‌گردد که با استفاده از ثابت فنر متفاوت، رفتار مکانیکی پروتئین تغییر می‌کند و نتایج شبیه‌سازی‌ها حاکی از آن است که هرچه ثابت فنر بزرگ‌تر باشد، پروتئین رفتار سخت‌تری از خود نشان می‌دهد.

شیب‌خط مماس بر ناحیه کرنش شش درصد منحنی نیرو-تغییر شکل سیستم، برای تمامی شبیه‌سازی در هر دو سیستم اکتین تکپار ای‌دی‌پی و ای‌تی‌پی محاسبه شده است و در شکل 7 نشان داده شده است. در این شکل مقدار میانگین و انحراف معیار هر سه شبیه‌سازی یک ثابت فنر همچنین مقدار همگرایی سختی پروتئین‌های ای‌دی‌پی و ای‌تی‌پی نشان داده شده است. مقدار همگرایی سختی پروتئین اکتین در حالت ای‌دی‌پی برابر 215.16 pN/Å و برای حالت ای‌تی‌پی برابر 228.24 pN/Å است. شیب مثبت و روند صعودی منحنی‌ها حاکی از افزایش سختی پروتئین در ازای افزایش ضریب ثابت فنر دینامیک مولکولی هدایت‌شده است. در ادامه مدول یانگ پروتئین تکپار اکتین توسط رابطه (4) محاسبه شده است. مدول یانگ تکپار اکتین ای‌تی‌پی برابر 643.21 MPa و برای تکپار ای‌دی‌پی برابر 606.35 MPa استخراج شده است. مقادیر مدول یانگ به‌دست‌آمده در محدوده مدول یانگ دیگر پروتئین‌های مکانیکی داخل سلول است. در جدول 3 مدول یانگ دو جز اصلی دیگر چارچوب یاخته (اینترمیدیت فلامنت و میکروتیوبیول)، درج شده است. مقدار مدول یانگ بدست آمده برای تکپار اکیتن به طور تقریبی دو برابر مدول یانگ دو جز دیگر چارچوب یاخته است.

در مطالعات پیشین [20] مدول یانگ 800 MPa برای تکپار اکتین ای‌تی‌پی و 430 MPa برای تکپار ای‌دی‌پی محاسبه شده است. تفاوت نتایج مطالعه حاضر و مرجع [20] در ساختار پی‌دی‌بی انتخابی و استفاده از یک ثابت فنر دینامیک مولکولی هدایت‌شده است. در این مقاله تنها از یک ثابت فنر استفاده شده است در حالی در مطالعه حاضر نشان داده شد که مدل‌سازی رفتار مکانیکی تکپار اکتین با استفاده از دینامیک مولکولی هدایت شده تابع ثابت فنر انتخابی است و نتایج از همگرایی 10 ضریب ثابت فنر

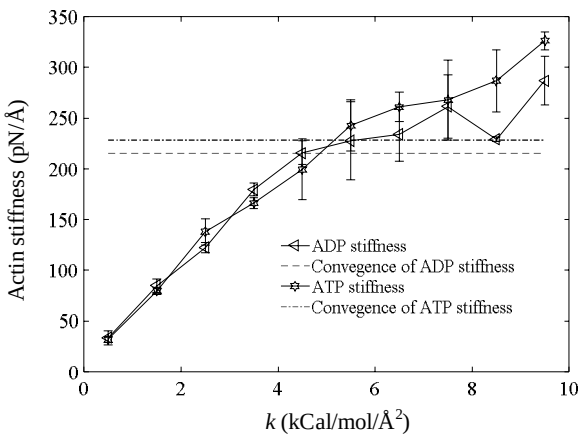


Fig. 7 Molecular spring constant k_{atn} plotted against the external spring constant *k*.

شکل 7 نمودار تغییرات سختی تکپار اکتین در مقابل ثابت فنر مجازی دینامیک مولکولی هدایت‌شده

جدول 3 مقایسه مدول یانگ اجزای چارچوب یاخته با تکپار اکتین

Table 3 Comparison of Young's modulus of cytoskeleton components with actin monomer

نام جز	مرجع	روش محاسبه	مدول یانگ (MPa)
اینترمدیت فلامنت	[16]	شبیه‌سازی دینامیک مولکولی	380-540
اینترمدیت فلامنت	[30]	میکروسکوپ نیروی اتمی	300-900
میکروتیوبیول	[17]	دینامیک مولکولی	380
میکروتیوبیول	[31]	میکروسکوپ نیروی اتمی	130-170

مستقل به دست آمده است. همچنین در این مقاله برای مطالعه رفتار مکانیکی دو حالت مختلف تکپار از ساختارهایی استفاده شده است که دارای تفاوت ساختاری علاوه بر مولکول نوکلئوتیدی است.

در مقاله مزبور از ساختار پی‌دی‌بی 2ZWH برای تکپار اکتین ای‌تی‌پی استفاده شده است که دارای حلقه دناز I باز است و از ارائه ساختار دقیق این حلقه صرف نظر شده است که در نتیجه باعث ایجاد تفاوت ساختاری با تکپار ای‌دی‌پی اکتین می‌شود. همچنین با توجه به اینکه تنها تفاوت دو ساختار تکپار اکتین ای‌دی‌پی و ای‌تی‌پی در مولکول نوکلئوتید است و تعداد اتم‌های مولکول‌های ای‌دی‌پی و ای‌تی‌پی به ترتیب برابر 42 و 47 اتم است؛ لذا با توجه به تعداد کل اتم‌های تکپار اکتین، مولکول نوکلئوتیدی کم‌تر از 1 درصد اتم‌های پروتئین اکتین را تشکیل می‌دهد، در نتیجه انتظار می‌رود اختلاف کمی میان رفتار مکانیکی دو تکپار وجود داشته باشد در حالی که در مرجع مزبور اختلاف مدول یانگ دو تکپار 400 MPa گزارش شده است که حدودا 50 درصد با یکدیگر اختلاف دارند.

چقرمگی* به‌صورت میزان انرژی جذب‌شده در ازای اعمال نیروی کششی در واحد حجم مواد تعریف می‌شود و سطح زیر نمودار تنش-کرنش می‌باشد که با استفاده از رابطه (5) محاسبه می‌گردد.

$$\vartheta^* = \int_0^{\varepsilon_{5\%}} \sigma d\varepsilon \qquad (5)$$

در رابطه (5)، σ و ε به ترتیب تنش و کرنش تکپار می باشند. در جدول 4 میزان چقرمگی* پروتئین اکتین برای کرنش 5 درصد محاسبه شده است. از آن جایی که سختی تکپار اکتین در محدوده ضریب ثابت فنر 6.5-9.5 kCal/mol/Å^2 همگرا شده است، در این جدول تنها چقرمگی* برای این

[Downloaded from mme.modares.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.10275940.1395.16.8.19.6]

ضرایب ثابت فنر گزارش شده است. همان طور که مشاهده می‌گردد اکتین ای‌تی‌پی از اکتین ای‌دی‌پی چقرم تر است و هر چه یک جسم رفتار چقرم تری از خود نشان دهد به این معنی است که در برابر ضربه و جذب انرژی تغییر شکل کششی بهتر عمل می‌کند. با توجه به تفاوت سختی و چقرمگی* دو نوع تکپار اکتین در ادامه بررسی دقیق‌تر رفتار مولکول نوکلئوتیدی در طی شبیه‌سازی‌ها پرداخته می‌شود.

به‌منظور مقایسه رفتار مکانیکی تکپار اکتین ای‌دی‌پی و ای‌تی‌پی و تأثیر مولکول نوکلئوتید، اکنون به ارائه برهمکنش این مولکول و پروتئین پرداخته می‌شود. بدین منظور رفتار این مولکول در طی بارگذاری کششی بررسی می‌گردد. از بین 60 شبیه‌سازی صورت گرفته، شبیه‌سازی‌های با ثابت فنر 9.5- 6.5 به عنوان نمونه مدنظر قرار می‌گیرد. درنتیجه مجموعاً برای هر تکپار 12 شبیه‌سازی مجزا مورد تحلیل قرار گرفته است و برهمکنش این مولکول با پروتئین برای این شبیه‌سازی بررسی می‌گردد. معیار مقایسه‌ی رفتار دو تکپار، تعداد پیوندهای هیدروژنی و انرژی برهمکنش غیر پیوندی است. پیوند هیدروژنی بین اتم‌های هیدروژن و اتم‌هایی که الکترونگاتیوی بالایی دارند برقرار می‌شود. این پیوندها می‌توانند بین مولکول‌های مختلف و یا بین اتم‌های مختلف یک مولکول (درون‌مولکولی) ایجاد شوند [32]. انرژی برهمکنش‌های غیر پیوندی نیز شامل برهمکنش‌های واندروالسی و الکترواستاتیکی می‌باشد. پیوند هیدروژنی و برهمکنش‌های غیر پیوندی برای هر شبیه‌سازی، توسط نرم‌افزار وی‌ام‌دی محاسبه شده است. در شکل‌های 8 و 9 به ترتیب تابع چگالی احتمال[1] تعداد پیوندهای هیدروژنی میان مولکول ای‌دی‌پی و پروتئین و همچنین مولکول ای‌تی‌پی و پروتئین در 12 شبیه‌سازی هر تکپار نشان داده شده است. در این شکل‌ها، منحنی برآورد چگالی کرنل[2] به داده‌ها منطبق شده است. همان‌طور که مشاهده می‌گردد تعداد پیوندهای

جدول 4 چقرمگی* تکپار اکتین برای کرنش 5 درصد

Table 4 Toughness* of actin monomer for 5% strain

K (kCal//mol/Å^2)	چقرمگی (مگاپاسکال) ATP	ADP
6.5	10.538	10.057
7.5	11.619	10.179
8.5	12.859	9.957
9.5	14.234	12.708
میانگین	12.312	10.725

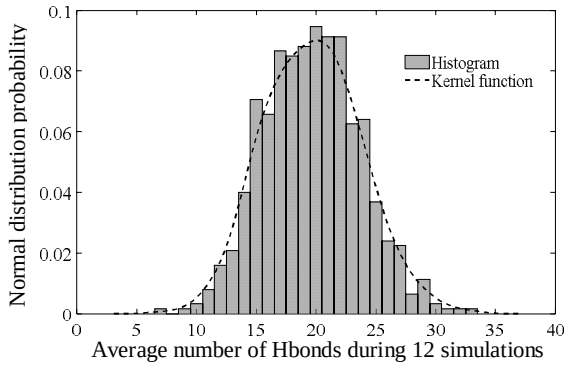


Fig. 8 Number of hydrogen bonds between ATP and actin monomer

شکل 8 تعداد پیوندهای هیدروژنی بین مولکول ای‌تی‌پی و تکپار اکتین

[1] Probability density function
[2] Kernel density estimation

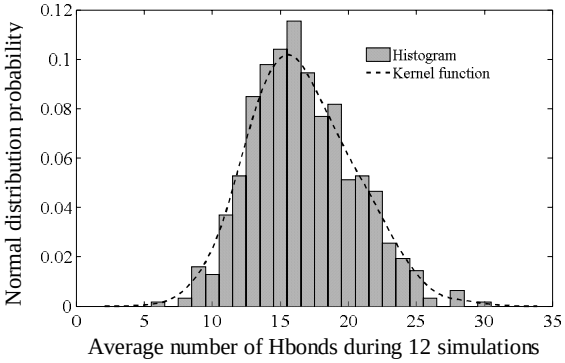


Fig. 9 Number of hydrogen bonds between ADP and actin monomer

شکل 9 تعداد پیوندهای هیدروژنی بین مولکول ای‌دی‌پی و تکپار اکتین

هیدروژنی میان مولکول ای‌تی‌پی و پروتئین به طور میانگین بیشتر از مولکول ای‌دی‌پی و پروتئین است. به طوری که میانگین تعداد پیوند برای تکپار ای‌دی‌پی، 20 پیوند و برای تکپار ای‌دی‌پی، 16 پیوند است. تعداد بیشتر پیوندهای هیدروژنی در تکپار ای‌تی‌پی سبب افزایش سختی مولکول در تغییر شکل می‌گردد. در نتیجه یکی از علل تفاوت سختی تکپار ای‌تی‌پی و ای‌دی‌پی تفاوت در پیوندهای هیدروژنی است.

همچنین در شکل 10 به مقایسه انرژی غیر پیوندی این دو تکپار پرداخته شده است. در میدان نیرویی چارم انرژی غیر پیوندی توسط رابطه (6) محاسبه می‌گردد.

$$U_{\text{non bonded}} = U_{\text{LJ}} + U_{\text{elec}} \qquad \text{(6- الف)}$$

$$U_{\text{LJ}} = \sum_{\text{nonb.pairs}} \varepsilon_{ij}\left[\left(\frac{r_{ij}^{\min}}{r_{ij}}\right)^{12} - 2\left(\frac{r_{ij}^{\min}}{r_{ij}}\right)^{6}\right] \qquad \text{(6- ب)}$$

$$U_{\text{elec}} = \sum_{\text{nonb.pairs}} \frac{q_i q_j}{\epsilon\, r_{ij}} \qquad \text{(6- ج)}$$

که در رابطه (6) فوق U_{LJ} پتانسیل واندروالسی و U_{elec} پتانسیل الکترواستاتیکی است. همچنین ε_{ij} ثابت لنارد جونز برای دو اتم i و j، $r_{ij}^{\min}$ شعاع متوسط دو اتم ،که مقداری معلوم برای دو اتم است، r_{ij} فاصله دو اتم، q_i بار الکتریکی ذره i ام و ϵ ثابت گذردهی است. همان طور که مشاهده می‌گردد، انرژی غیر پیوندی رابطه معکوس با فاصله دو اتم دارد. با توجه به بارگذاری کششی بر روی تکپار اکتین و تغییر شکل اکتین، فاصله اتم‌ها

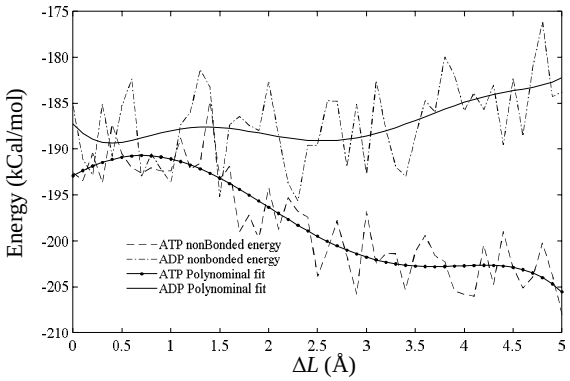


Fig. 10 Nonbonded energy between nucleotide molecule and actin monomer

شکل 10 انرژی غیر پیوندی میان مولکول نوکلئوتید و تکپار اکتین

[Downloaded from mme.modares.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.10275940.1395.16.8.19.6]

مولکول نوکلئوتید با پروتئین تغییر می‌کند و در نتیجه انتظار می‌رود انرژی غیر پیوندی میان این دو جز در طی بارگذاری کششی تغییر کند.

بر مبنای رابطه (6) انرژی غیر پیوندی مولکول نوکلئوتید و پروتئین اکتین محاسبه شده است. همان طور که در شکل 10 مشخص است، میزان انرژی غیر پیوندی میان مولکول ای‌تی‌پی و پروتئین اکتین بیشتر از میزان این انرژی در حالت ای‌دی‌پی و پروتئین اکتین است. به‌منظور حذف نوسانات و نویز انرژی محاسبه شده، یک چندجمله‌ای مرتبه 6 در هر حالت به انرژی محاسبه شده منطبق شده است. از نتایج به دست آمده می‌توان استنباط نمود که به دلیل اینکه تعداد پیوندهای هیدروژنی و انرژی‌های غیر پیوندی در حالت اکتین ای‌تی‌پی بیشتر از حالت اکتین ای‌دی‌پی است، لذا وجود سختی بیشتر در این مولکول امری منطقی است.

اکنون با استفاده از محاسبه طول پایسته اکتین و مقایسه آن با داده‌های آزمایشگاهی موجود، به بررسی صحت‌وسقم نتایج این شبیه‌سازی پرداخته می‌شود. با توجه به اینکه در مقاله حاضر، تکپارهای اکتین ای‌دی‌پی و ای‌تی‌پی بررسی شده است، برای محاسبه طول پایسته، نیز دو مقدار می‌توان گزارش کرد. با استفاده از رابطه (4) طول پایسته اکتین ای‌دی‌پی برابر 15.15 میکرومتر و اکتین ای‌تی‌پی برابر 16.07 میکرومتر به دست آمده است. به دلیل اینکه معمولاً در رشته اکتین هر دو تکپار به صورت هم‌زمان حضور دارند و در سر مثبت اکتین تجمع تکپار اکتین ای‌تی‌پی و در سر منفی رشته تجمع تکپار ای‌دی‌پی بیشتر است، لذا نمی‌توان رشته اکتین را متشکل یک نوع تکپار در نظر گرفت لذا در این مقاله برای گزارش طول پایسته اکتین مقدار میانگین دو طول طول پایسته به دست آمده، گزارش می‌شود که برابر 15.61 میکرومتر می‌باشد. در جدول 5 به مقایسه مقادیر به دست آمده طول پایسته رشته اکتین با مقادیر آزمایشگاهی، پرداخته شده است. همان طور مشخص است مقدار به دست آمده از مطالعه حاضر هم‌خوانی قابل قبولی با داده‌های آزمایشگاهی دارد. با توجه به مقادیر متفاوت گزارش شده برای طول پایسته اکتین، به طور تقریبی طول پایسته 16μm در مرجع [36] به عنوان مقدار مشترک تمامی روش‌ها پیشنهاد شده است. با در نظر گرفتن این مقدار، خطای نتایج پژوهش حاضر برابر 2.38% است که میزان خطای قابل قبولی است و نشان‌دهنده اعتبار و صحت نتایج شبیه‌سازی می‌باشد.

5- نتیجه‌گیری

اکتین فراوان‌ترین پروتئین درون یاخته است و جز اصلی تحمل بارهای کششی وارد بر یاخته به حساب می‌آید. در این مقاله بر روی رفتار مکانیکی اکتین تحت بارگذاری کششی بحث شده است. تکپارهای اکتین ای‌دی‌پی و ای‌تی‌پی با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی هدایت‌شده، تحت بارگذاری کششی قرار گرفته‌اند. با توجه به اینکه، در دینامیک مولکولی هدایت‌شده، اعمال کشش توسط اتصال فنر مجازی صورت می‌گیرد؛ لذا رفتار اکتین تابع ثابت فنر مجازی دینامیک مولکولی هدایت‌شده می‌باشد. در این پژوهش رفتار مکانیکی اکتین به ازای 10 ضریب ثابت فنر مختلف شبیه‌سازی شد. نتایج نشان می‌دهد که افزایش ثابت فنر مجازی منجر به همگرایی نتایج می‌گردد. همچنین تکپار ای‌تی‌پی دارای مدول یانگ و سختی بیشتری نسبت به تکپار ای‌دی‌پی است. به‌منظور اثبات این ادعا دو معیار تعداد پیوندهای هیدروژنی و مقدار انرژی غیر پیوندی میان مولکول نوکلئوتید و تکپار اکتین ارائه گردید و مشاهده شد که تعداد پیوندهای هیدروژنی به صورت میانگین برای تکپار اکتین ای‌تی‌پی بیشتر از تکپار ای‌دی‌پی است. مدول یانگ محاسبه برای تکپار اکتین ای‌دی‌پی و ای‌تی‌پی به ترتیب برابر 606.35 و 643.21 مگاپاسکال محاسبه گردید. همچنین به منظور صحه‌گذاری و اعتبار سنجی نتایج، طول پایسته رشته اکتین محاسبه گردید. با مقایسه طول پایسته بدست آمده با نتایج آزمایشگاهی و تحقیقات گذشتگان، همخوانی قابل قبولی میان نتایج مشهود است. در آینده می‌توان، تحقیقات را بر روی مطالعه تنش برشی تکپار اکتین، نقش پروتئین‌های متصل شونده به اکتین در رفتار مکانیکی آن و مطالعه نرخ کرنش در رفتار ویسکوالاستیک اکتین بسط داد. . همچنین مطالعه تاثیر تغییرات دما بر رفتار مکانیکی اکتین می تواند چالش جدیدی در ادامه این مسیر باشد. علاوه بر این، در روند پیش رو می‌توان به بررسی رفتار مکانیکی رشته اکتین اشاره داشت و با توجه به افزایش ابعاد سیستم در حالت اکتین رشته‌ای، استفاده از روش‌های درشت‌دانه سازی می‌تواند مسیر جدیدی در مطالعات صورت گرفته ایجاد سازد.

جدول 5 مقایسه طول پایسته رشته اکتین با مطالعه گذشتگان

Table 5 Persistence length of actin filament in various studies

مرجع	روش	طول پایسته (μm)
[33]	میکروسکوپ فلوروسنس	17.5±1.1
[34]	حرکت بروانی میکروسکوپ فلوروسنس	16.7±0.02
[7]	نوسانات دمایی	18.0
[35]	محاسبه آماری طول ابتدا – انتها رشته اکتین	15.69
مطالعه حاضر	دینامیک مولکولی	15.61±0.65

6- مراجع

[1] G. M. Cooper, R. E. Hausman, *The Cell: A Molecular Approach*, Fifth Edittion, pp. 473-474, Washington D.C., ASM Press, 2007.

[2] B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, D. Morgan, M. Raff, K. Roberts, P. Walter, *Molecular Biology of the Cell*, Sixth Edittion, pp. 898-810, New York, Taylor & Francis, 2014.

[3] T. D. Pollard, J. A. Cooper, Actin and actin-binding proteins. A critical evaluation of mechanisms and functions, *Annual Review of Biochemistry*, Vol. 55, No. 1, pp. 987-1035, 1986.

[4] Y. Tsuda, H. Yasutake, A. Ishijima, T. Yanagida, Torsional rigidity of single actin filaments and actin–actin bond breaking force under torsion measured directly by in vitro micromanipulation, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 93, No. 23, pp. 12937-12942, 1996.

[5] R. Dominguez, K. C. Holmes, Actin structure and function, *Annual Review of Biophysics*, Vol. 40, No. 6, pp. 169, 2011.

[6] G. M. Cooper, R. E. Hausman, *The Cell: A Molecular Approach*, Fourth Edittion, pp. 474-476, Washington D.C., ASM Press, 2007.

[7] H. Isambert, P. Venier, A. C. Maggs, A. Fattoum, R. Kassab, D. Pantaloni, M.-F. Carlier, Flexibility of actin filaments derived from thermal fluctuations. Effect of bound nucleotide, phalloidin, and muscle regulatory proteins, *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 270, No. 19, pp. 11437-11444, 1995.

[8] T. Splettstoesser, K. C. Holmes, F. Noé, J. C. Smith, Structural modeling and molecular dynamics simulation of the actin filament, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, Vol. 79, No. 7, pp. 2033-2043, 2011.

[9] H. Suda, M. Saito, Molecular dynamics simulations for actin monomers in solution, *Journal of theoretical biology*, Vol. 171, No. 3, pp. 347-349, 1994.

[10] T. Oda, M. Iwasa, T. Aihara, Y. Maéda, A. Narita, The nature of the globular-to fibrous-actin transition, *Nature Publishing Group*, Vol. 457, No. 7228, pp. 441-445, 2009.

[11] L. R. Otterbein, P. Graceffa, R. Dominguez, The crystal structure of uncomplexed actin in the ADP state, *Science*, Vol. 293, No. 5530, pp. 708-711, 2001.

[12] P. Graceffa, R. Dominguez, Crystal structure of monomeric actin in the ATP state structural basis of nucleotide-dependent actin

[Downloaded from mme.modares.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.10275940.1395.16.8.19.6]

Chemistry, Vol. 274, No. 52, pp. 37443-37449, 1999.

[25]K. Vanommeslaeghe, E. Hatcher, C. Acharya, S. Kundu, S. Zhong, J. Shim, E. Darian, O. Guvench, P. Lopes, I. Vorobyov, CHARMM general force field: A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields, *Journal of Computational Chemistry*, Vol. 31, No. 4, pp. 671-690, 2010.

[26]A. C. Lorenzo, E. R. Caffarena, Elastic properties, Young's modulus determination and structural stability of the tropocollagen molecule: a computational study by steered molecular dynamics, *Journal of Biomechanics*, Vol. 38, No. 7, pp. 1527-1533, 2005.

[27]K. C. Holmes, D. Popp, W. Gebhard, W. Kabsch, Atomic model of the actin filament, *Nature Publishing Group*, Vol. 347, No. 6288, pp. 44-49, 1990.

[28]M. J. Buehler, Atomistic and continuum modeling of mechanical properties of collagen: elasticity, fracture, and self-assembly, *Journal of Materials Research*, Vol. 21, No. 08, pp. 1947-1961, 2006.

[29]W. Humphrey, A. Dalke, K. Schulten, VMD: visual molecular dynamics, *Journal of Molecular Graphics*, Vol. 14, No. 1, pp. 33-38, 1996.

[30]C. Guzman, S. Jeney, L. Kreplak, S. Kasas, A. Kulik, U. Aebi, L. Forro, Exploring the mechanical properties of single vimentin intermediate filaments by atomic force microscopy, *Journal of Molecular Biology*, Vol. 360, No. 3, pp. 623-630, 2006.

[31]A. Kis, S. Kasas, A. Kulik, S. Catsicas, L. Forró, Temperature-dependent elasticity of microtubules, *Langmuir*, Vol. 24, No. 12, pp. 6176-6181, 2008.

[32]Mortimer, C.E., *Chemistry: A Conceptual Approach*, pp. 263-265, New York, Van Nostrand Reinhold Company, 1971.

[33]F. Gittes, B. Mickey, J. Nettleton, J. Howard, Flexural rigidity of microtubules and actin filaments measured from thermal fluctuations in shape, *The Journal of cell biology*, Vol. 120, No. 4, pp. 923-934, 1993.

[34]A. Ott, M. Magnasco, A. Simon, A. Libchaber, Measurement of the persistence length of polymerized actin using fluorescence microscopy, *Physical Review E*, Vol. 48, No. 3, pp. 1642-1645, 1993.

[35] T. Yanagida, M. Nakase, K. Nishiyama, F. Oosawa, Direct observation of motion of single F-actin filaments in the presence of myosin, *Nature Publishing Group*, Vol. 307, No. 5946, pp. 58-60, 1984.

[36]D. E. Dupuis, W. H. Guilford, J. Wu, D. Warshaw, Actin filament mechanics in the laser trap, *Journal of Muscle Research & Cell Motility*, Vol. 18, No. 1, pp. 17-30, 1997.

dynamics, *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 278, No. 36, pp. 34172-34180, 2003.

[13]B. Isralewitz, M. Gao, K. Schulten, Steered molecular dynamics and mechanical functions of proteins, *Current Opinion in Structural Biology*, Vol. 11, No. 2, pp. 224-230, 2001.

[14]M. Tahani, A. M. Naserian Nik, Study of nanomechanical behavior of double-stranded DNA molecule under tensile forces, *Modares Mechanical Engineering*, Vol. 14, No. 12, pp. 104-112, 2014. (in Persian فارسی)

[15]H. Hassani-Ardekani, Investigation of the mechanism of dissociation of P-selectin/PSGL-1 complex under stretching with molecular dynamics method, *Modares Mechanical Engineering*, Vol. 16, No. 6, pp. 63-70, 2016. (in Persian فارسی)

[16]M. J. Buehler, S. Y. Wong, Entropic elasticity controls nanomechanics of single tropocollagen molecules, *Biophysical Journal*, Vol. 93, No. 1, pp. 37-43, 2007.

[17]Z. Qin, L. Kreplak, M. J. Buehler, Nanomechanical properties of vimentin intermediate filament dimers, *Nanotechnology*, Vol. 20, No. 42, pp. 425101, 2009.

[18]D. Sept, F. C. MacKintosh, Microtubule elasticity: connecting all-atom simulations with continuum mechanics, *Physical Review Letters*, Vol. 104, No. 1, pp. 018101, 2010.

[19]W. Wriggers, K. Schulten, Investigating a back door mechanism of actin phosphate release by steered molecular dynamics, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, Vol. 35, No. 2, pp. 262-273, 1999.

[20] H. Ghodsi, M. Kazemi, Elastic properties of actin assemblies in different states of nucleotide binding, *Cellular and Molecular Bioengineering*, Vol. 5, No. 1, pp. 1-13, 2012.

[21]J. C. Phillips, R. Braun, W. Wang, J. Gumbart, E. Tajkhorshid, E. Villa, C. Chipot, R. D. Skeel, L. Kale, K. Schulten, Scalable molecular dynamics with NAMD, *Journal of computational chemistry*, Vol. 26, No. 16, pp. 1781-1802, 2005.

[22]A. D. MacKerell Jr, D. Bashford, M. Bellott, R. L. Dunbrack Jr, J. D. Evanseck, M. J. Field, S. Fischer, J. Gao, H. Guo, S. Ha, All-atom empirical potential for molecular modeling and dynamics studies of proteins, *The Journal of Physical Chemistry B*, Vol. 102, No. 18, pp. 3586-3616, 1998.

[23]W. Kabsch, H. G. Mannherz, D. Suck, E. F. Pai, K. C. Holmes, Atomic structure of the actin: DNase I complex, *Nature Publishing Group*, Vol. 347, No. 6288, pp. 37-44, 1990.

[24]X. Yao, S. Grade, W. Wriggers, P. A. Rubenstein, His73, often methylated, is an important structural determinant for actin a mutagenic analysis of His73 of yeast actin, *Journal of Biological*

[Downloaded from mme.modares.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.10275940.1395.16.8.19.6]