

SIMULACIÓ PER DINÀMICA BROWNIANA DE PROCESSOS DE DIFUSIÓ DE PROTEÏNES EN MEDIS INTRACEL·LULARS

Pablo M. Blanco, Mireia Via, Sergio Madurga and Francesc Mas

Secció de Química Física; Departament de Ciència dels Materials i Química Física
Institut de Recerca de Química Teòrica i Computacional (IQTCCUB), Universitat de Barcelona
<http://www.ub.edu/biophyschem/>

INTRODUCCIÓ

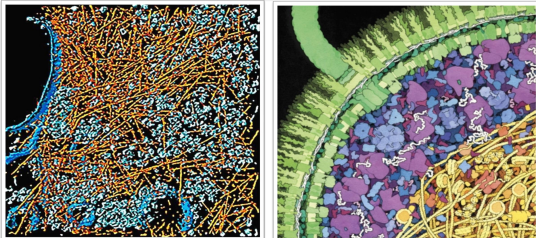
Tant l'interior d'una cèl·lula com la membrana que l'envolta són medis altament estructurats i amb una elevada concentració de macromolècules que, a través d'interaccions no específiques, afecten notablement els processos de difusió i reacció que hi tenen lloc. Els models teòrics actuals permeten la descripció d'aquests processos en solució diluïda però no permeten explicar el seu comportament en el medi cel·lular degut a que no tenen en compte aquesta ocupació macromolecular.^[1]

S'ha desenvolupat un programa de dinàmica browniana per tal de poder comprendre quins són els factors que afecten a la difusió de les macromolècules en aquestes condicions. En aquests tipus de simulacions el solvent s'inclou de manera implícita afegint un terme estocàstic a les equacions del moviment que simula l'efecte dels cocs del solvent amb les macromolècules.

$$x(t + \Delta t) = x(t) - \frac{\Delta t D \nabla V(x)}{k_B T} + \sqrt{2D \Delta t} \eta(t)$$

Força determinista
Força estocàstica

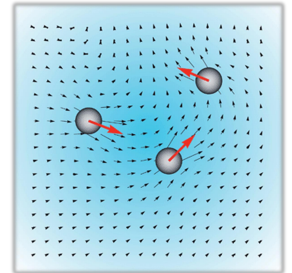
D = Coeficient de difusió
 ∇V = Gradient de potencial
 $k_B T$ = Energia tèrmica
 $\eta(t)$ = Nombre aleatori amb distribució gaussiana



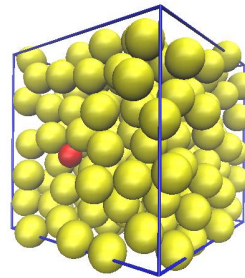
Exemples de medis intracel·lulars amb alta ocupació macromolecular

INTERACCIONS HIDRODINÀMIQUES

El fet d'incloure el solvent com una força aleatòria no és suficient per a obtenir acuradament propietats dinàmiques del sistema, com el coeficient de difusió, ja que no té en compte les anomenades interaccions hidrodinàmiques. Aquest tipus d'interacció sorgeix perquè el moviment brownià de les partícules genera perturbacions al fluid i es produeixen fluxos que afecten el moviment de les partícules veïnes.



Esquema que mostra com el moviment de les partícules provoca fluxos que afecten el moviment de les partícules veïnes.



Representació gràfica d'una de les configuracions obtingudes en les simulacions de dinàmica browniana. En vermell, es representa la proteïna (estreptavidina) que difon a través dels obstacles (dextrans) representats en groc.

El model de Tokuyama^[2] permet incloure les interaccions hidrodinàmiques a les simulacions de dinàmica browniana de manera senzilla realitzant una correcció en el coeficient de difusió a dilució infinita de les partícules:

$$D_{\text{corr}}^{\text{HI}} = \frac{D_0}{1 + H(\phi)} \quad H(\phi) = \frac{2b^2}{1-b} \frac{c}{1+2c} - \frac{bc(2+c)}{(1+c)(1-b+c)}$$

On $b = \sqrt{\frac{9}{8}} \phi$, $c = \frac{11}{16} \phi$ i ϕ és el volum exclòs que es pot calcular com:

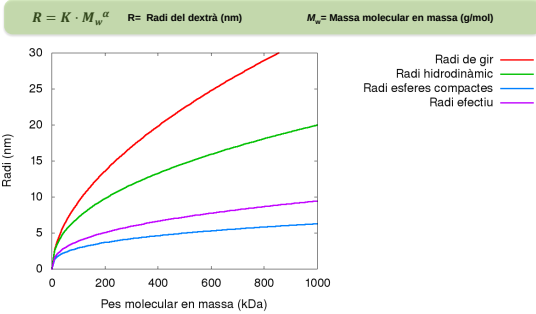
$$\phi = \frac{\sum_{i=1}^N V_i}{V} = \frac{(N-1) \frac{4}{3} \pi r_D^3 + \frac{4}{3} \pi r_p^3}{L^3}$$

N = Número de partícules
 r_D = Radi hidrodinàmic de la proteïna que difon
 r_p = Radi efectiu dels dextrans utilitzats com a obstacles
 L = Longitud de la capsa de simulació

MODELITZACIÓ DELS DEXTRANS

ESTUDI DE LA DIFUSIÓ AMB OBSTACLES (DEXTRANS) DE DIFERENTS MIDES

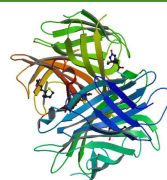
Els dextrans són polisacàrids complexos i ramificats d'estructura llunyana a la globular. Això provoca que utilitzar el seu radi de gir o hidrodinàmic per tal de modelitzar-los com a esferes sigui una sobreestimació del volum que ocupen. Per tal d'estimar el radi que tindria una esfera efectiva que ocupés el volum del dextrà, s'ha utilitzat una llei de potències amb paràmetres a mig camí entre els obtinguts pel radi hidrodinàmic i els que tindria si el dextrà fos una esfera compacta:



Gràfic que mostra la dependència del radi de la partícula amb la seva massa molecular en massa seguint una llei de potències. Els radis de gir i els radis hidrodinàmics s'han ajustat a partir de dades experimentals i el radi d'esferes compactes s'ha calculat a partir de la densitat mitjana dels dextrans (0,625cm³/g).

Radi	K (nm·Da ^{-α})	α
Radi de gir	0,018	0,544
Radi hidrodinàmic	0,043	0,445
Radi esferes compactes	0,063	0,333
Radi efectiu	0,045	0,387

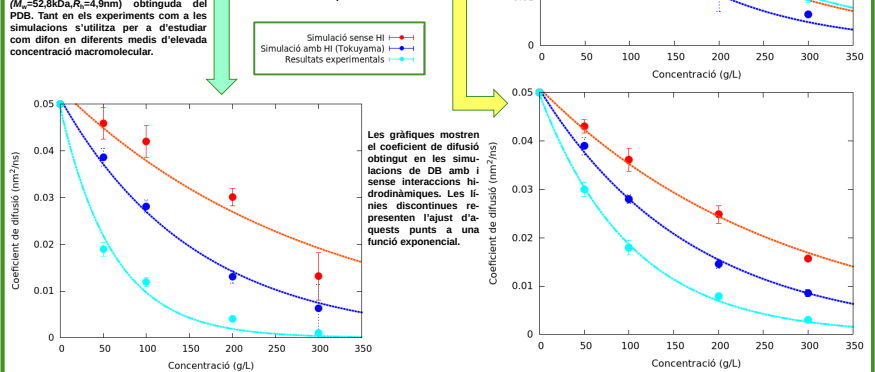
Paràmetres obtinguts de l'ajust de dades experimentals dels diferents radis a una llei de potències.



Estructura de la proteïna estreptavidina ($M_w=52,8$ kDa, $R_g=4,9$ nm) obtinguda del PDB. Tant en els experiments com a les simulacions s'utilitza per a estudiar el moviment de difusió en diferents medis d'elevada concentració macromolecular.

Dextrà	M_w (kDa)	R_g (nm)
D5	5,2	1,23
D50	48,6	2,93
D400	409,8	6,69

Taula amb la massa molecular i el radi efectiu dels dextrans utilitzats a les simulacions i en els experiments com a obstacles.^[3] La tècnica FCS (Fluorescence Correlation Spectroscopy) s'ha utilitzat per determinar experimentalment el coeficient de difusió de la estreptavidina.



CONCLUSIONS

- Les interaccions hidrodinàmiques provoquen un descens significatiu en el coeficient de difusió de partícules en medis amb alta ocupació macromolecular. La seva inclusió és per tant necessària per a una descripció acurada de la dinàmica del sistema.
- Obstacles de major mida provoquen una baixada més ràpida del coeficient de difusió de la proteïna a mesura que n'augmenta la concentració.
- El procediment utilitzat per a calcular el radi efectiu dels dextrans permet descriure qualitativament el comportament observat experimentalment per la difusió de la estreptavidina utilitzant dextrans de diferents mides com a obstacles.
- Els resultats obtinguts pel dextrà més petit (D5) indiquen que el procediment actual per tal de calcular el radi efectiu sobreestima el volum ocupat pel dextrà en dissolució.
- És necessari realitzar càlculs amb descripcions de les forces hidrodinàmiques més acurades (com el tensor de difusió RPY) per tal de discernir si les diferències quantitatives entre el coeficient de difusió obtingut per simulació i l'experimental són degudes a l'aproximació realitzada pel radi dels dextrans o si cal una descripció més precisa de les forces hidrodinàmiques.

REFERÈNCIES

- Zhou, H.X.; Rivas, G.; Minton, A.P. *Annu. Rev. Biophys.* 37 (2008) 375-397; Elcock, A.H. *Current Opinion in Structural Biology*, 20 (2010) 196-206.
- Tokuyama, M.; Moriki, T.; Kimura, Y. *Phys. Review* 83 (2011) 051402
- Banks, D.S.; Fradin, C. *Biophysical Journal* 89 (2005) 2960-2971; Pastor, I.; Vilaseca, E.; Madurga, S.; Garcés, J. L.; Cascante, M.; Mas, F. *J. Phys. Chem.*, 114 (2010) 4028-4034; *ibid* 114 (2010) 12152.