

## مدل سازی اثر میدان الکتریکی بر دینامیک یون های کلسیم درون کانال یونی کلسیم

زینب رحیمی، امیر لهراسبی و مرضیه قربانی

گروه فیزیک، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

پست الکترونیکی: lohrasebi@nano.ipm.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۰۲/۲۷؛ دریافت نسخه نهایی: ۱۳۹۷/۰۲/۱۰)

### چکیده

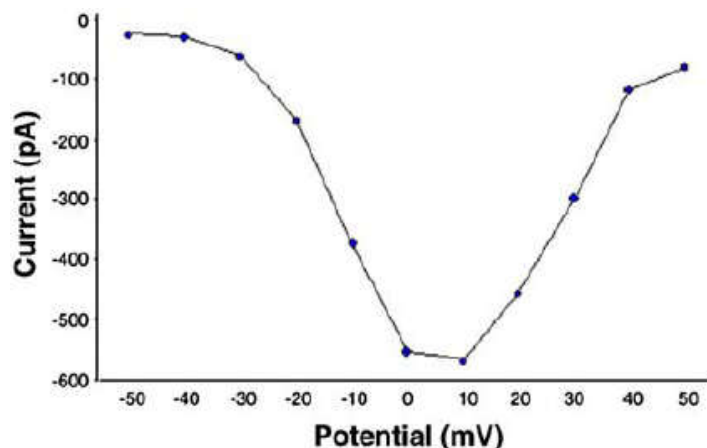
کانال های کلسیم پروتئین های غشای سلول هستند که نقش مهمی در کنترل شارش یون های کلسیم از میان غشا را بر عهده دارند. در این پژوهش اثر میدان الکتریکی یکنواخت بر دینامیک یون های کلسیم درون کانال کلسیم نوع L، که در محیطی آشوبناک قرار دارند، با استفاده از روش شبیه سازی دینامیک مولکولی مدل سازی می شود. نتیجه های به دست آمده نشان می دهند که اعمال میدان های الکتریکی یکنواخت  $0.3 \text{ mV/nm}$  تأثیری بر نحوه حرکت یون های کلسیم درون کانال ندارند. از طرف دیگر وقتی کانال در معرض میدان الکتریکی یکنواخت  $0.3 \text{ mV/nm}$  در جهت محور کانال مذکور قرار می گیرد، حرکت جهت مند یون ها در راستای اعمال میدان الکتریکی مشاهده می شود. همچنین با معکوس کردن جهت میدان الکتریکی هیچ گونه حرکت جهت مندی برای یون ها مشاهده نمی شود.

**واژه های کلیدی:** کانال کلسیم، میدان الکتریکی، شبیه سازی دینامیک مولکولی، یون کلسیم

### ۱. مقدمه

غشاء بسیار حساس هستند [۲ و ۳]. این کانال ها با وارد کردن یون های کلسیم به درون سلول های مختلف از جمله سلول های عصبی و ماهیچه های قلبی، نقش بسیار مهمی در انجام فعالیت های الکتروشیمیایی این سلول ها انجام می دهند [۴-۱۰]. کانال های کلسیم با توجه به حساسیتی که به تغییرات ولتاژ غشاء نشان می دهند، به دو گروه کانال های فعال در ولتاژ پایین (LVA) و کانال های فعال در ولتاژ بالا (HVA) دسته بندی می شوند. درجه کانال های LVA در پاسخ به یک تغییر کوچک در پتانسیل استراحت غشاء باز شده در حالی که کانال های HVA در پاسخ به تغییرات بیشتری در پتانسیل استراحت غشاء فعال می شوند [۱۱-۱۴].

پروتئین ها ماکرومولکول هایی هستند که نقش مهمی در تنظیم فعالیت های سلول دارند و به دلیل دارا بودن ساختار قطبی، انتظار می رود تحت تأثیر تابش امواج الکترومغناطیسی قرار گرفته و در عملکرد آنها تغییراتی ایجاد شود. برخی از اثرات امواج الکترومغناطیسی بر سیستم های زنده ناشی از تأثیر پذیری غشای سلول و کانال های یونی از این امواج است. کانال های یونی پروتئین هایی در غشای سلول هستند که نقش مهمی در کنترل عبور یون ها از غشا سلول به عهده دارند [۱]. گروهی از کانال های یونی مانند کانال های کلسیم دریچه دار، وابسته به اختلاف پتانسیل غشای سلول هستند و در برابر تغییرات ولتاژ



شکل ۱. نمودار جریان بر حسب ولتاژ کانال کلسیم نوع L.

یون‌ها از داخل کانال می‌شود [۱۹]. در سال ۲۰۰۶ نیز با روشی مشابه جهش یون‌های پتاسیم بین جایگاه‌های فیلتر کانال پتاسیم  $Kv1.2$  بررسی شد [۲۰]. همچنین با استفاده از روش تجربی پیچ-کلمپ تغییر جریان یون‌های کلسیم ( $Ca-L$ ) در میوسیت‌های بطنی موش و خوک مورد بررسی قرار گرفته است [۲۱ و ۲۲]. شکل ۱ نمودار تغییرات جریان بر حسب ولتاژ کانال کلسیم نوع L را نشان می‌دهد [۲۱].

در این مقاله نیز با توجه به نقش مهم کانال کلسیم در بدن (سیستم‌های قلبی-عروقی و عصبی) به بررسی اثر میدان الکتریکی یکنواخت بر دینامیک یون‌ها در کانال کلسیم پرداخته شده است. برای انجام این کار از روش شبیه‌سازی دینامیک مولکولی و نرم‌افزار Gromacs4.5.5 استفاده شده است. نتایج نشان دادند که اعمال میدان الکتریکی  $0.03 \text{ mV/nm}$  در راستای کانال باعث حرکت جهتمند یون‌ها و در نتیجه عبور یون از کانال در جهت میدان الکتریکی می‌شود، در حالی که معکوس کردن جهت میدان تأثیری بر ایجاد حرکت جهتمند یون‌ها نمی‌گذارد.

## ۲. روش

برای شروع شبیه‌سازی، از ساختار اولیه کانال کلسیم نوع L با کد 4MVZ.pdb، مستخرج از بانک اطلاعاتی پروتئین‌ها، استفاده شده است که این ساختار دارای ۸۷۶ اسید آمینه و ۷۱۹۹ اتم

به دلیل نقش مهم این کانال‌ها در تنظیم فعالیت سیستم‌های قلبی-عروقی و عصبی، آزمایش‌های زیادی به صورت محاسباتی روی آنها صورت گرفته است. در یکی از تحقیقات انجام شده به روش محاسباتی به بررسی مکانیسم رقابت بار-فضا (Charge/Space Competition) برای چگونگی عبور یون از فیلتر کانال کلسیم، پرداخته شده است و نشان داده می‌شود که دلیل اصلی انتخاب یون‌های کلسیم در مقابل یون‌های سدیم، چگالی بار ذرات است. [۱۵]. همچنین با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک براون‌ی نشان داده شده است که به دلیل جذب الکترواستاتیکی قوی یون‌های دو ظرفیتی نسبت به یون‌های تک ظرفیتی، یون‌های دو ظرفیتی برای برقراری پیوند و عبور از فیلتر انتخاب می‌شوند [۱۶]. در بررسی دیگری با استفاده از روش شبیه‌سازی مولکولی به مطالعه برهم‌کنش داروهای مسدود کننده کانال کلسیم نوع L با کانال کلسیم پرداخته‌اند. این شبیه‌سازی با استفاده از نرم‌افزار ZMM و میدان نیروی امبر انجام شد. نتایج به دست آمده نشان داده‌اند که گیرنده‌های مربوط به این داروها در قسمت‌های سوم و چهارم فیلتر کانال قرار دارند [۱۷، ۱۸]. همچنین با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، در تحقیقی اثر میدان الکتریکی گیگاهرتز بر دینامیک یون‌های پتاسیم درون نوعی از کانال پتاسیم که از نظر ساختاری مشابه کانال کلسیم است، پرداخته شده است. نتایج نشان دادند که اعمال میدان الکتریکی گیگاهرتز باعث اختلال در عبور

جدول ۱. جزئیات شبیه سازی حالت های مختلف

میدان های الکتریکی اعمال شده (mv/nm)	ابعاد جعبه (nm <sup>3</sup> )cubic	تعداد یون های کلر اضافه شده	تعداد اتم ها	ساختار شبیه سازی شده
۰، ۰٫۰۳، -۰٫۰۳، ۰٫۰۳	۷×۱۱×۱۱	۶	۱۸۵۹۸	پروتئین (فریز شده)
۰، ۰٫۳۰، -۰٫۳۰، ۰٫۳۰	۶×۱۵×۱۵	۶	۲۲۶۹۱	پروتئین - غشاء

برندسن برای تثبیت دما در ۳۱۰ کلوین و فشار ۱ بار استفاده شد. با اتمام این مرحله سیستم آماده برای انجام شبیه سازی نهایی است. در جدول ۱ میدان های الکتریکی اعمال شده برای حالت های مختلف نشان داده شده است.

## ۲. نتایج و بحث

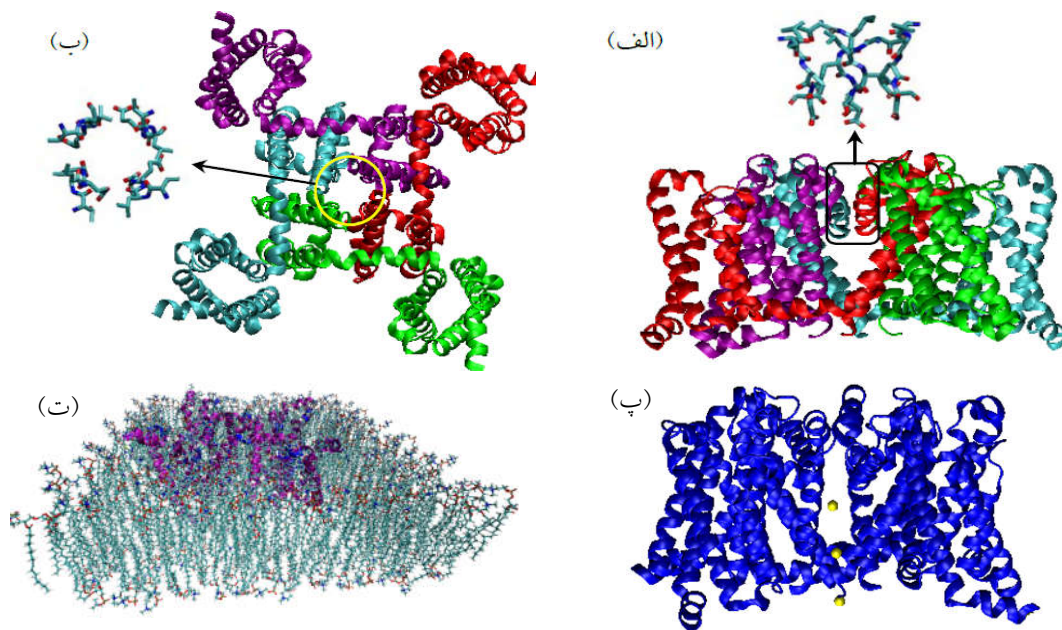
### شبیه سازی کانال کلسیم فریز شده

پس از آماده سازی دستگاه برای انجام شبیه سازی، ابتدا سیستم بدون اعمال میدان الکتریکی به مدت ۲۰ نانوثانیه با گام زمانی ۲ فمتوثانیه شبیه سازی شد. در این حالت به دلیل آن که هیچ نیروی خالصی به یون های کلسیم وارد نمی شود، در حرکت آنها هیچ گونه جهش و شارشی به سمت بیرون یا داخل کانال مشاهده نمی شود. همچنین مشاهده می شود که یون های کلسیم ۲ و ۳ که درون فیلتر کانال قرار دارند، دارای یک حرکت جفت شده می باشند (شکل ۳) مشابه این رفتار نیز در حرکت یون های پتاسیم در کانال پتاسیم نیز گزارش شده است [۱۹].

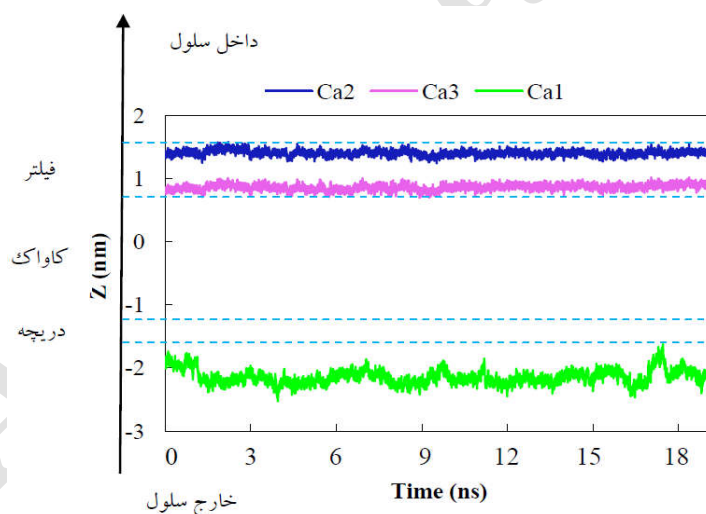
سپس به ترتیب میدان های الکتریکی یکنواخت  $0.03 \text{ mV/nm}$  و  $-0.03 \text{ mV/nm}$  به کانال اعمال شد. در حضور این میدان های الکتریکی مشاهده شد که هر سه یون تنها در جای خود حرکت ارتعاشی دارند و هیچ گونه حرکت جهتمندی از خود نشان نمی دهند و حرکت جفت شده یون های کلسیم درون فیلتر نیز همچنان تکرار می شود (شکل های ۴، الف و ب). چنین نتیجه ای قابل انتظار است، زیرا غشاء در حالت پتانسیل استراحت قرار دارد و در حالت پتانسیل استراحت غشاء هیچ گونه شارشی از یون ها به داخل و یا خارج از کانال وجود ندارد. در مرحله بعد برای مشاهده شارش یون ها، میدان های الکتریکی یکنواخت  $0.3 \text{ mV/nm}$  و  $-0.3 \text{ mV/nm}$  اعمال شد.

است. سپس با کمک نرم افزار VMD کانال پروتئینی در غشاء لیپیدی نوع popc قرار داده شد. در قسمت های شکل ۲ ساختار پروتئین و نحوه چیدمان یون ها درون کانال و نیز چگونگی قرار گرفتن کانال درون غشاء نمایش داده شده است. پارامترهای مورد نیاز در محاسبه برهم کنش ها بین ذرات، با استفاده از میدان نیروی charmm36 و مدل آب TIP3P مورد تولید شدند. برای مطالعه اثر میدان الکتریکی خارجی بر دینامیک یون های کلسیم داخل کانال، دو دسته شبیه سازی مختلف با ساختار اولیه متفاوت در نظر گرفته شد. در دسته اول برای یافتن اندازه میدان الکتریکی که باعث ایجاد حرکت جهتمند یون ها می شود، کانال کلسیم بدون در نظر گرفتن غشاء شبیه سازی شد و به منظور جلوگیری از آشفتگی ساختاری کانال و نیز جلوگیری از حرکت انتقالی کانال خصوصاً در شرایط اعمال میدان الکتریکی خارجی در طول شبیه سازی، هشت اتم کربن مرکزی پیرامونی کانال را (از هر زیر واحد کانال ۲ اتم کربن) در مکان اولیه خود ثابت نگه داشته و به اصطلاح آنها را فریز می کنیم که منجر به مقید شدن کانال می شود. در دسته دوم ساختار کانال کلسیم همراه با غشاء برای انجام شبیه سازی مورد استفاده قرار گرفت. در حالت اول (پروتئین با ۸ اتم فریز شده) جعبه مکعبی ساده با ابعاد  $7 \times 11 \times 11 \text{ nm}^3$  و  $18604$  مولکول آب استفاده شد و برای حالت دیگر (پروتئین - غشاء) جعبه مکعبی ساده با ابعاد  $6 \times 15 \times 15$  نانومتر مکعب و  $22697$  مولکول آب مورد استفاده قرار گرفت. به دلیل قرار دادن سه یون کلسیم در کانال، برای خنثی کردن سیستم، شش یون کلر به جای مولکول های آب به سیستم اضافه شد.

همچنین برای متعادل سازی سیستم به ترتیب شبیه سازی های کانونیک (NVT) و ایزوبار (NPT) به مدت ۲۰ نانوثانیه با گام زمانی ۲ فمتوثانیه انجام شدند. برای این منظور از الگوریتم



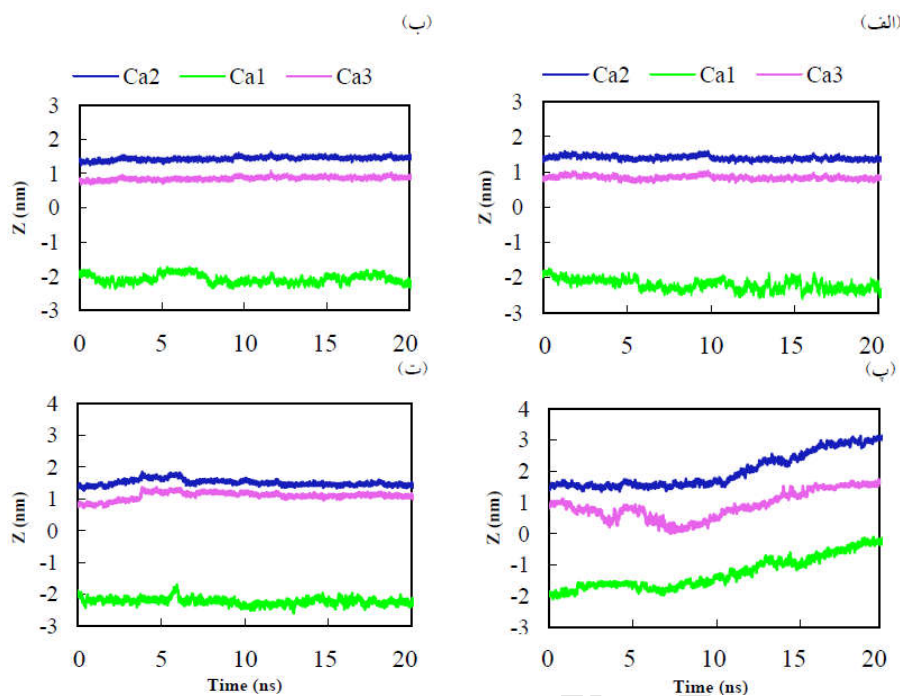
شکل ۲. (رنگی در نسخه الکترونیکی) (الف) ساختار کانال کلسیم و غشاء از نمای جانبی، (ب) ساختار کانال کلسیم از نمای بالایی، (پ) جایگاه اولیه یونها در کانال، (ت) نمایش نحوه قرار گیری کانال در غشاء.



شکل ۳. (رنگی در نسخه الکترونیکی) حرکت یونهای کلسیم (کلسیم ۱ به رنگ سبز، کلسیم ۲: آبی و کلسیم ۳: صورتی) بدون اعمال میدان الکتریکی برای حالت پروتئین فریز شده (بدون غشاء).

در فیلتر ندارند. یون کلسیم ۱ نیز همچنان در خارج از کانال قرار دارد (شکل ۴. ت). چنین آزمایش محاسباتی در سال ۲۰۰۶ برای مشاهده جهش یونها در بین جایگاههای فیلتر کانال پتاسیم انجام شد، یعنی شبیه‌سازی دینامیک یونها در

اعمال میدان الکتریکی  $0.3 \text{ mV/nm}$  باعث شد که یونهای کلسیم در جهت اعمال میدان الکتریکی حرکت کنند. (شکل ۴. پ). در حضور میدان الکتریکی  $-0.3 \text{ mV/nm}$  یونهای کلسیم ۲ و ۳ در حین حرکت جفت شده، هیچ جابه‌جایی جهت‌مندی



شکل ۴. (رنگی در نسخه الکترونیکی) حرکت یون‌های کلسیم (کلسیم ۱ به رنگ سبز، کلسیم ۲: آبی و کلسیم ۳: صورتی) در میدان‌های الکتریکی مختلف برای حالت پروتئین فریز شده (بدون غشاء). (الف)  $E = 0.3 \text{ mV/nm}$ ، (ب)  $E = -0.3 \text{ mV/nm}$ ، (پ)  $E = 0.3 \text{ mV/nm}$ ، (ت)  $E = -0.3 \text{ mV/nm}$ .

کانال تحت اعمال میدان الکتریکی با دامنه‌ای بسیار بزرگ‌تر از مقدار طبیعی، که منجر به مشاهده حرکت یون‌ها بین جایگاه‌های فیلتر شد و توضیحی در مورد نحوه حرکت جمعی یون‌ها بیان شد [۲۰].

در میدان الکتریکی  $0.3 \text{ mV/nm}$  یون‌های کلسیم ۲ و ۳ به صورت جفت شده حرکت می‌کنند و هیچ شارش خالصی به سمت داخل سلول و یا خارج از فیلتر کانال ندارند. یون کلسیم ۱ نیز همچنان در خارج از کانال قرار دارد. در شکل ۵، ت، نمودار حرکت یون‌ها در جهت اعمال میدان الکتریکی نشان داده شده است.

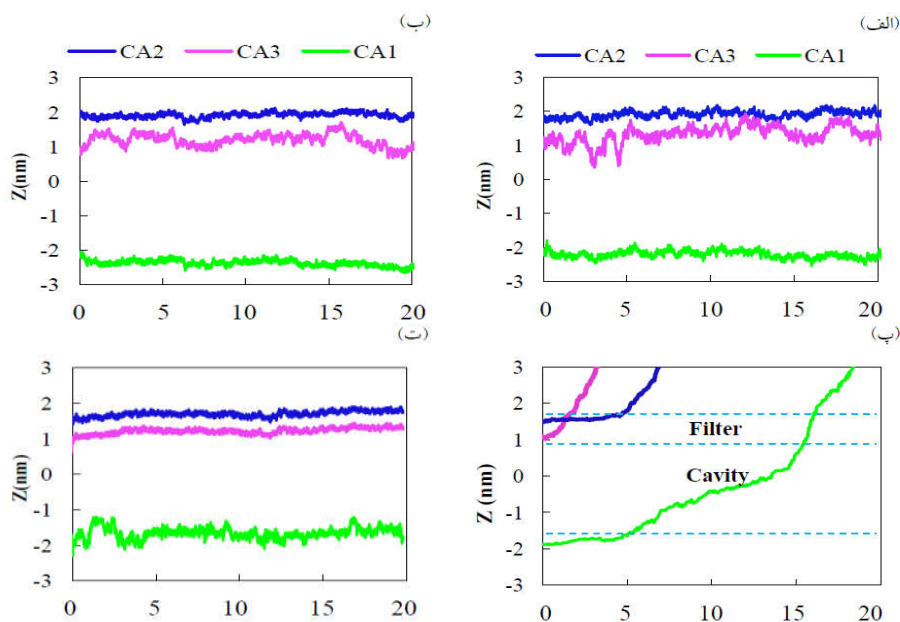
برای بررسی دقیق‌تر در ابتدا کمیت RMSF که بیان‌کننده میزان افت و خیز و نوسان اتم‌های فیلتر و پروتئین است را محاسبه می‌کنیم. نتایج نشان دادند که در حضور میدان الکتریکی  $0.3 \text{ mV/nm}$  به دلیل شارش یون‌ها، فیلتر و پروتئین دارای افت و خیز بیشتری نسبت به حضور در میدان الکتریکی  $0.3 \text{ mV/nm}$  هستند (شکل‌های ۶، الف و ۶، ب). این پارامتر مطابق رابطه (۱) محاسبه می‌شود.

#### شبیه‌سازی کانال کلسیم همراه با غشاء

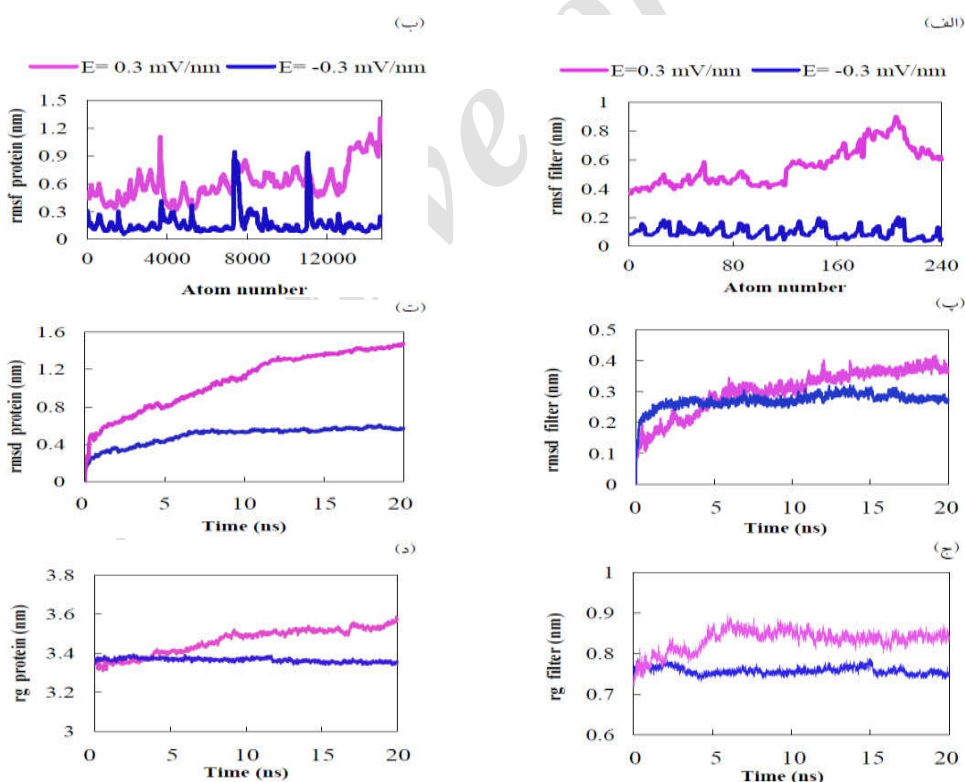
در این مرحله، پس از آماده‌سازی سامانه برای انجام شبیه‌سازی، به مطالعه اثر اعمال میدان‌های الکتریکی یکنواخت  $0.3$  و  $-0.3$   $\text{mV/nm}$  در راستای کانال بر حرکت یون‌ها در کانال پرداخته شد.

هنگامی که شبیه‌سازی تحت اعمال میدان الکتریکی  $0.3$  و  $-0.3 \text{ mV/nm}$  صورت گرفت هیچ‌گونه جهش و حرکتی به سمت بیرون یا داخل کانال مشاهده نشد که این موضوع در شکل ۵، الف و ۵، ب نشان داده شده است.

با اعمال میدان‌های الکتریکی  $0.3$  و  $-0.3 \text{ mV/nm}$  مشاهده



شکل ۵. (رنگی در نسخه الکترونیکی) حرکت یون‌های کلسیم (کلسیم ۱ به رنگ سبز، کلسیم ۲: آبی و کلسیم ۳: صورتی) در حالت کانال کلسیم همراه با غشاء. الف:  $E=0$ ، ب:  $E=-0.3$  mV/nm، پ:  $E=0.3$  mV/nm، ت:  $E=-0.3$  mV/nm



شکل ۶. (رنگی در نسخه الکترونیکی) نمودارهای RMSF (الف و ب)، RMSD (پ و ت) و Rg (ج و د) برای فیلتر و کانال کلسیم در حضور میدان‌های الکتریکی  $E=0.3$  mV/nm (رنگ صورتی) و  $E=-0.3$  mV/nm (رنگ آبی).

جدول ۲. رسانش کانال کلسیم در حالت های مختلف

E(mv/nm)	جریان (pA)
۰٫۰۳	۰
-۰٫۰۳	۰
-۰٫۳	۰
۰٫۳	۱۶

با توجه به شکل ۶. ج و ۶. د مشاهده می شود که کانال کلسیم از نظر ساختاری در حضور میدان الکتریکی  $0.3 \text{ mV/nm}$  بازتر شده، در صورتی که در حالت های دیگر فشرده تر شده است که این مشاهده ناشی از عبور یون از داخل کانال است. جدول ۲ نتایج مربوط به رسانش کانال کلسیم در طول شبیه سازی به مدت  $20 \text{ ns}$  را نشان می دهد.

### ۳. نتیجه گیری

همان گونه که گفته شد به دلیل ساختار قطبی پروتئین ها و با توجه به کاربرد فزاینده امواج الکترومغناطیسی در زندگی روزمره، مطالعه و بررسی تأثیر این امواج بر عملکرد پروتئین ها ضروری به نظر می رسد. در این مقاله نیز به دلیل نقش مهم کانال های کلسیم در عملکرد سیستم های قلبی - عروقی به بررسی اثر میدان الکتریکی یکنواخت بر دینامیک یون های این کانال پرداخته شد. نتایج نشان دادند که حضور میدان الکتریکی طبیعی غشاء ( $0.30 \text{ mV/nm}$  و  $-0.03 \text{ mV/nm}$ ) در حالت های مختلف شبیه سازی باعث ایجاد حرکت جهتمند برای یون ها در کانال نمی شود؛ اما هنگامی که میدان الکتریکی  $10$  برابر شود ( $0.3 \text{ mV/nm}$ )، در هر دو دسته شبیه سازی ها حرکت جهتمند و جهش درون فیلتر کانال مشاهده می شود.

$$RMSF = \left[ \frac{1}{T} \sum_{t_j=1}^T (r_i(t_j) - \bar{r}_i)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \quad (1)$$

همچنین به منظور بررسی تغییرات ساختاری کانال کلسیم در طول شبیه سازی پارامتر  $rmsd$  محاسبه شد. این پارامتر میزان جذر میانگین مربعات تغییرات ساختاری پروتئین نسبت به ساختار اولیه آن (RMSD) است.

$$RMSD(t_1, t_2) = \left[ \frac{1}{N^2} \sum_{i=1}^n r_i(t_1) - r_i(t_2) \right]^{\frac{1}{2}} \quad (2)$$

این پارامتر میزان پایداری ساختار را در طول شبیه سازی نشان می دهد؛ بنابراین تا وقتی این نمودار حالت صعودی داشته باشد، تغییرات ساختاری آن زیاد و پایداری کم است.

همان گونه که شکل های ۶. پ و ۶. ت نشان می دهند، در حضور میدان الکتریکی  $0.3 \text{ mV/nm}$  مقدار پارامتر  $rmsd$  برای فیلتر و پروتئین بیشتر از مقدار آنها در حضور میدان الکتریکی  $0.3 \text{ mV/nm}$  است؛ بنابراین فیلتر و کانال از نظر ساختاری در حضور میدان الکتریکی  $0.3 \text{ mV/nm}$  نسبت به میدان الکتریکی  $0.3 \text{ mV/nm}$  دارای تحرک و ارتعاش بیشتری هستند.

در پایان برای بررسی نحوه تغییرات ساختار در طول شبیه سازی باید شعاع چرخش (Rg) را به دست آوریم. شعاع چرخش معیاری از فشردگی سیستم است. در واقع Rg شعاع کوچک ترین کره ای است که می تواند مولکول را در خود جای دهد و اندازه آن از رابطه (۳) به دست می آید [۲۳]:

$$Rg = \left( \frac{\sum_i r_i^2 m_i}{\sum_i m_i} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (3)$$

با باز شدن ساختار پروتئین در طول فرایند شبیه سازی، میزان این پارامتر افزایش خواهد یافت ولی با جمع شدن ساختار پروتئین این پارامتر روندی نزولی خواهد داشت.

### مراجع

1. J E Hall, "Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology", Enhanced E-book Elsevier Health Sciences (2010)
2. C Suwattanasophon, "Molecular Modeling of Voltage-gated Calcium channels", Uniwien (2012).
3. G W Zamponi, "Voltage-gated calcium channels", Springer (2005).
4. G Fernández-Ballester, A Fernández-Carvajal, J M González-Ros, and A Ferrer-Montiel, *Pharmaceutics* 3 (2011) 932.

- (2010) 459.
15. A Malasics, D Gillespie, W Nonner, D Henderson, B Eisenberg, and D Boda, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* **1788** (2009) 2471.
  16. B Corry, T W Allen, S Kuyucak, and S H Chung, *Biophysical Journal* **80** (2001) 195.
  17. H K Motoike, I Bodi, H Nakayama, A Schwartz, and G Varadi, *Journal of Biological Chemistry* **274** (1999) 9409.
  18. R C Cheng, D B Tikhonov, and B S Zhorov, *Journal of Biological Chemistry* **284** (2009) 28332.
  19. M Sajadi, A Lohrasebi, and H Rafii-Tabar, *Journal of Molecular Simulation* **405** (2014) 399.
  20. F Khalili-Araghi, E Tajkhorshid, and K Schulten, *Biophysical Journal* **91** (2006) L72.
  21. Y Zhao, J Xu, J Bo Gong, and L Qian, *Cell stress society international* **14** (2008)
  22. R Mukherjee, k w Hewett, J D Walker, C G Basler, and F G Spinale, *Cardiovascular Research* **37** (1998) 432.
  23. A Cafilisch and M Karplus, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **91** (1994) 1746.
  5. D Gillespie, *Biophysical journal* **94** (2008) 1169.
  6. T D Helton, W Xu, and D Lipscombe, *The Journal of neuroscience* **25** (2005) 10247.
  7. L Almagor, O Chomsky-Hecht, A Ben-Mocha, D Hendin-Barak, N Dascal, and J A Hirsch, *The Journal of Neuroscience* **32** (2012) 7602.
  8. L Tang, T M G El-Din, J Payandeh, G Q Martinez, T M Heard, T Scheuer, N Zheng, and W A Catterall, *Nature* **505** (2014) 56.
  9. I Bidaud, A Mezghrani, L A Swayne, A Monteil, and P Lory, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research* **1763** (2006) 1169.
  10. W A Catterall, *Cold Spring Harbor perspectives in biology* **3** (2011) a003947.
  11. E Perez-Reyes, *Physiological Reviews* **83** (2003) 117.
  12. D Lipscombe, *Circulation research* **90** (2002) 933.
  13. A Davies, I Kadurin, A Alvarez-Laviada, L Douglas, M Nieto-Rostro, C S Bauer, W S Pratt, and A C Dolphin, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **107** (2010) 1654.
  14. F Findeisen, and J Minor, and Daniel L, *Channels* **4**

Archive of SID