

## 6.2 MECHANIKA MOLEKULARNA

Wymodelowane białko zwykle poddaje się optymalizacji metodami mechaniki molekularnej, w celu znalezienia konformacji o jak najniższej energii dostępnej dla tego białka.

Z chemii kwantowej wiemy, że energia całkowita układu (suma energii kinetycznej i potencjalnej) jest określona przez przybliżone rozwiązanie zależnego od czasu równania Schrödingera. Rozwiązanie takiego równania umożliwiło dopiero, ogłoszone rok później (1927), przybliżenie Borna-Oppenheimera. Przybliżenie zakłada, że ruch jąder można scharakteryzować energią potencjalną elektronów zależną od ustalonych położenia jąder. Czyli jądra atomowe znajdują się w potencjale pochodzącym od gęstości elektronowej i od innych jąder, przy czym potencjał elektronowy zależy oczywiście od położenia jąder. Założenie to uwzględnia fakt, że jądra poruszają się o wiele wolniej niż elektrony. Rozwiązaniem w tym przybliżeniu jest elektronowa funkcja falowa dla ustalonych położenia jąder. Przez wiele lat rozwiązanie takiego równania nawet dla bardzo małych cząsteczek było niemożliwe. Dopiero wprowadzenie komputerów umożliwiło symulacje zachowania prawdziwej cząsteczki na podstawie znanych nam praw chemii kwantowej. Niestety, tylko właściwości niewielkich cząsteczek można przewidywać przy użyciu wzorów mechaniki kwantowej, gdyż konieczne do tego typu przewidywań obliczenia wymagają ogromnych mocy obliczeniowych, nawet dla niewielkich cząsteczek. Dlatego dla bardzo dużych układów stosuje się techniki uproszczone, takie jak metody semiempiryczne czy metody mechaniki molekularnej.

Mechanika molekularna to metoda oparta na prostym mechanicznym modelu struktury cząsteczki. Taki model mechaniczny możemy uzyskać gdy w opisywanym wyżej przybliżeniu Borna-Oppenheimera zastąpimy potencjał pochodzący od gęstości elektronowej odpowiednio sparametryzowanym potencjałem klasycznym. Wtedy to cząsteczka jest traktowana jako zbiór atomów, który podlega zbiorowi klasycznych i mechanicznych funkcji potencjału.

Energia potencjalna jest zazwyczaj reprezentowana w postaci sumy łatwo interpretowalnych i weryfikowalnych eksperymentalnie członów: deformacji wiązań, deformacji kątów między wiązaniami, obrotów wokół wiązań oraz oddziaływań elektrostatycznych i van der Waalsa. W wielu wypadkach funkcja energii potencjalnej posiada dodatkowe człony równania, które dokładniej opisują pewne właściwości molekuly (np.: oddziaływanie pochodzące od wiązań wodorowych<sup>1</sup> czy człon opisujący jednoczesną deformację wiązań i kątów<sup>2</sup>). Parametryzacja funkcji energii potencjalnej jest wykonywana dla stosunkowo małego zbioru niewielkich molekuł zbudowanych

---

<sup>1</sup> Oddziaływanie takie jest uwzględnione w polu siłowym AMBER [72-75]

<sup>2</sup> Oddziaływanie takie jest uwzględnione w polu siłowym CVFF [81]

z typowych fragmentów molekularnych i używana dla wszystkich układów zbudowanych z tych fragmentów. Takie podejście oczywiście zakłada, że atomy wbudowane w pewne otoczenie w jednej molekułe powinny mieć takie same właściwości jak atomy w takim samym otoczeniu w innej molekułe. Taką parametryzację nazywamy polem siłowym (ang. *force field*).

Funkcja energii potencjalnej może być parametryzowana na wiele sposobów. Różne parametryzacje są stosowane do różnych celów, występują również konkurencyjne parametryzacje dla tych samych zastosowań. W badaniach obiektów biologicznych stosowane są pola siłowe:

- AMBER (Kollman i współpracownicy, UCSF) [72-75]
- CHARMM (Karplus i współpracownicy, Harvard) [76-78]
- Gromos (Berendsen i współpracownicy, Nijmegen) [79, 80]
- CVFF i CFF9X (Accelrys Inc,) [81]
- Tripos (Tripos Inc.) [82]

Mechanika molekularna jest oparta na minimalizacji energii układu. W oparciu o fizykę statystyczną można przyjąć, że w niskich temperaturach, właściwości układu są określone przez właściwości stanu podstawowego - czyli stanu o najniższej energii.

Niestety nie jest znany algorytm znajdowania globalnego minimum dla skomplikowanych funkcji wielu zmiennych, w związku z czym w praktyce wykorzystuje się algorytmy lokalnej minimalizacji, znajdujące najbliższe minimum lokalne. Najczęściej używane do tego celu algorytmy to algorytm najszybszego spadku, sprzężonych gradientów i Newtona-Raphsona.

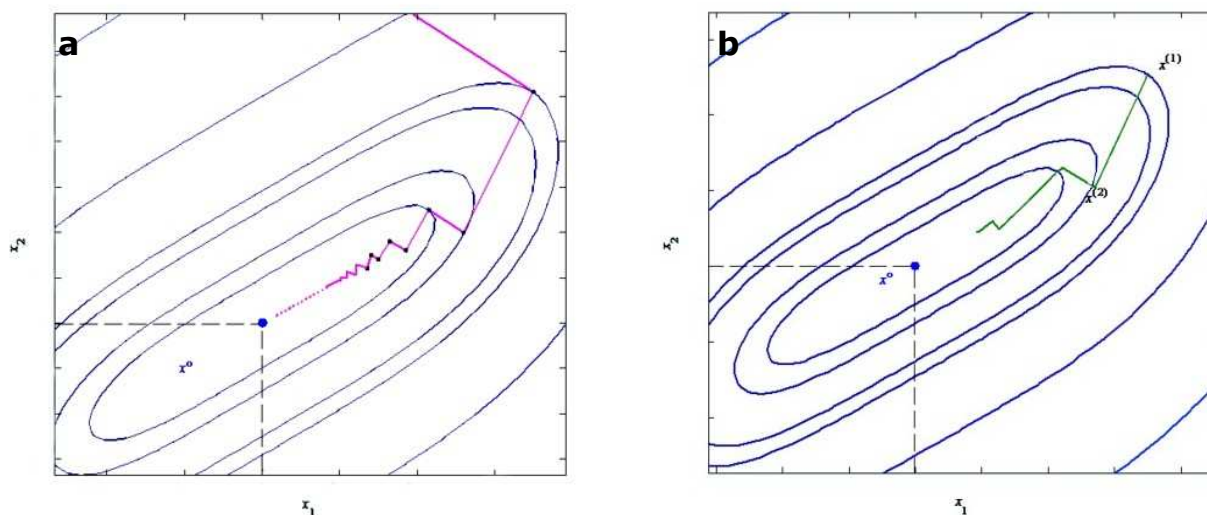
Algorytm najszybszego spadku [83] polega na przesuwaniu atomów wzdłuż linii po hiperpowierzchni, w kierunku najszybciej malejącego gradientu (Rys. 16a). Kiedy funkcja przejdzie przez minimum, zmienia się gradient, a nowy jest prostopadły do poprzedniego, więc poszczególne kierunki minimalizacji będą prostopadłe względem siebie. Algorytm ten jest prosty i niezawodny, ale niestety w okolicy minimum mało efektywny.

Algorytm sprzężonych gradientów [84-86] jest podobny, za wyjątkiem sposobu wybierania kierunku poszukiwania minimum. Kierunek gradientu został zastąpiony kierunkiem, który jest pewną kombinacją bieżącego i poprzednich gradientów (Rys. 16b). Algorytm ten jest szybszy od algorytmu najszybszego spadku.

Obydwa algorytmy są algorytmami używającymi jedynie informacji o pierwszych pochodnych. Dzięki temu są niezawodne ale i wolno zbieżne, zwłaszcza w pobliżu minimum.

Algorytm Newtona wykorzystuje informacje o drugich pochodnych, dlatego jest szybko zbieżny w pobliżu minimum. Ale kiedy molekuła znajduje się daleko od minimum jest niestabilny. Wymaga on również obliczania i przechowywania macierzy drugich pochodnych rozmiaru  $N \times N$ , co dla dużych molekuł jest niepraktyczne.

Dlatego też w praktyce używa się kombinacji tych trzech algorytmów. Najlepiej najpierw wykonać wstępną minimalizację za pomocą algorytmu najszybszego spadku, a następnie użyć algorytmu sprzężonych gradientów. Dla mniejszych układów, ewentualnie możemy zakończyć cykl minimalizacją z użyciem algorytmu Newtona dla szybkiego znalezienia minimum.

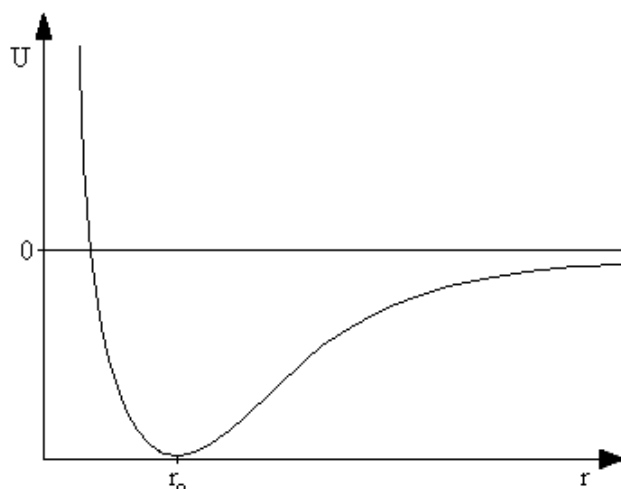


**Rysunek 16. a)** Ilustracja graficzna metody najszybszego spadku. **b)** Ilustracja graficzna metody sprzężonych gradientów.

### 6.2.1 POLE SIŁOWE CHARMM

Pole siłowe opisuje oddziaływania między atomami za pomocą prostych funkcji matematycznych, których wartość można w miarę szybko obliczyć. Wartości parametrów z tych funkcji są wynikiem długiej i żmudnej procedury iteracyjnej, polegającej na dopasowywaniu tych parametrów do wyników obliczeń kwantowo mechanicznych i danych doświadczalnych, takich jak długości wiązań, kąty między wiązaniami, ciepło właściwe, względne równowagi między konformerami związków, częstości drgań. W polu siłowym CHARMM (opis równań w pracy [87]), tak jak we wszystkich polach siłowych, cząsteczka traktowana jest jako układ kulek połączonych sprężynkami, a energia potencjalna opisana jest poprzez wielkości geometryczne i wraz z odpowiednimi parametrami.

Funkcja opisująca zmiany energii potencjalnej dwu atomów w zależności od wzajemnej odległości ich jąder ma kształt krzywej Morse'a (Rys. 17).



**Rysunek 17.** Krzywa Morse'a, gdzie  $r$  oznacza odległość między dwoma atomami połączonymi wiązaniem chemicznym, a  $U$  jest energią potencjalną tego układu.

Z przedstawionego wykresu widać, że minimum energii potencjalnej przypada na odległość  $r_0$ . Wiązanie chemiczne większości molekuł ma skończoną odległość, umiejscowioną w pobliżu  $r_0$ . Dlatego poszukując energii potencjalnej danego wiązania, zamiast rozwiązywać skomplikowane wyrażenie na krzywą Morse'a, możemy w zakresie bliskich odległości od  $r_0$  uprościć funkcję potencjału stosując prawo Hooke'a (równanie 1):

$$U_{bond} = \sum_{bonds\ i} k_i^{bond} (r_i - r_{0i})^2 \quad (1)$$

gdzie  $k_i^{bond}$  oznacza stałą siłową rozciągania wiązania, a  $r_{0i}$  wartość równowagową długości tego wiązania.

Kolejnym parametrem jest potencjał zginania kąta pomiędzy dwoma wiązaniami tego samego atomu. Jest on opisywany również przez funkcję 2-go stopnia (równanie 2):

$$U_{angle} = \sum_{angles\ i} k_i^{angle} (\theta_i - \theta_{0i})^2 \quad (2)$$

Energia potencjalna rośnie gdy wartość kąta  $\theta$  oddala się od wartości kąta  $\theta_0$ .  $k_i^{angle}$  oznacza stałą siłową zginania kąta pomiędzy dwoma wiązaniami, natomiast  $\theta_{0i}$  równowagową wartość tego kąta.

Kiedy cząsteczka składa się z większej liczby atomów do jej opisu potrzebny jest jeszcze człon torsyjny, gdyż nie sposób określić barier rotacyjnych (np.: w etanie) posługując się tylko energią rozciągania wiązań i zginania. W polu siłowym CHARMM energia torsyjna opisana jest następująco (równanie 3):

$$U_{dihedral} = \sum_{dihedral\ i} \begin{cases} k_i^{dihedral} [1 + \cos(n_i \phi_i - \gamma_i)] & \text{dla } n_i \neq 0 \\ k_i^{dihedral} (\phi_i - \gamma_i)^2 & \text{dla } n_i = 0 \end{cases} \quad (3)$$

gdzie  $\phi_i$  jest kątem torsyjnym (dwuściennym), a  $\gamma$  kątem fazowym.

Wyrażenie na całkowitą energię potencjalną powinno również uwzględniać oddziaływania dalekozasięgowe. Do najczęściej uwzględnianych oddziaływań należy: oddziaływanie van der Waalsa i oddziaływanie elektrostatyczne. W polu CHARMM oddziaływania van der Waalsa wyrażone zostały poprzez potencjał Lennarda-Jonesa:

$$U_{vaW} = \sum_i \sum_{j>i} 4 \epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (4)$$

gdzie  $\sigma_{ij}$  jest wielkością stałą.

Oddziaływanie elektrostatyczne jest opisane klasycznym równaniem Coulomba:

$$U_{Coulomb} = \sum_i \sum_{j>i} \frac{q_i q_j}{4\pi \epsilon_0 r_{ij}} \quad (5)$$

gdzie  $q_i, q_j$  to ładunki cząstkowe na atomach  $i$  oraz  $j$ , a  $\epsilon_0$  przenikalność elektryczna.

Kiedy uwzględnimy wszystkie typy oddziaływań otrzymamy wyrażenie pozwalające wyznaczyć całkowitą energię potencjalną badanego układu:

$$U_{total} = U_{bond} + U_{angle} + U_{dihedral} + U_{VdW} + U_{Coulomb} \quad (6)$$

Dla pola siłowego CHARMM [76, 77, 88-92] całkowita energia potencjalna ( $U_{total}$ ) jest sumą energii pochodzących od poszczególnych członów, czyli odpowiednio od energii wiązań ( $U_{bond}$ ), od energii kątów płaskich ( $U_{angle}$ ), od energii kątów dwuściennych ( $U_{dihedral}$ ) oraz od energii oddziaływań van der Waalsa ( $U_{VdW}$ ) i elektrostatycznych ( $U_{Coulomb}$ ).

Trzeba jednak zaznaczyć, że wartość energii całkowitej cząsteczki, jest jedynie energią steryczną zależną od użytej parametryzacji pola siłowego i jej bezwzględna wartość jest нефизyczna.

### 6.3 DYNAMIKA MOLEKULARNA

Dynamika molekularna (MD - ang. *Molecular Dynamics*) służy do obliczania trajektorii w przestrzeni zbioru molekuł, z których każda oddzielnie podlega klasycznym

równaniom ruchu. Ponieważ energia potencjalna jest kluczową częścią symulacji, gdyż odwzorowuje oddziaływania między atomami, dynamika molekularna opiera się na polu siłowym, zwykle tym samym w którym przebiegała minimalizacja układu.

Punktem wyjścia dla symulacji dynamiki molekularnej jest dobrze określony opis mikroskopowy układu. Opis taki można wyrazić bezpośrednio poprzez równania ruchu Newtona:

$$m_{\alpha} \ddot{\vec{r}}_{\alpha} = -\frac{\partial}{\partial \vec{r}_{\alpha}} U_{total}(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N) \quad \alpha = 1, 2, \dots, N \quad (7)$$

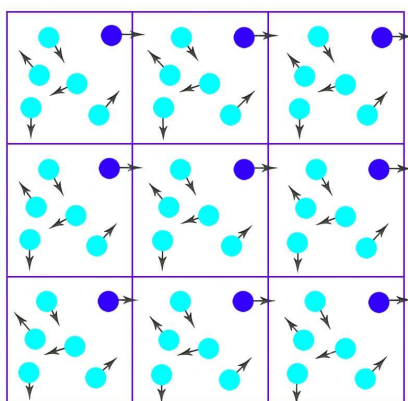
gdzie  $m_{\alpha}$  oznacza masę atomu  $\alpha$ ,  $\vec{r}_i$  oznacza położenie atomu  $\alpha$ , a  $U_{total}$  jest to całkowita energia potencjalna zależna od położenia wszystkich atomów. Następnie przypisujemy losowe prędkości zgodne z rozkładem Maxwella-Boltzmana (odpowiednie dla wybranej temperatury) i rozwiązujemy numerycznie równania ruchu Newtona dla układu. Takie równania można rozwiązać stosując algorytm różnic skończonych. Jeden z wielu stosowanych algorytmów to na przykład algorytm Verleta [93]. Znając położenia atomów w chwili  $t$  możemy obliczyć ich położenia i prędkości w chwili  $t+dt$ . Siłę potrzebną do rozwiązania równania Newtona wyznaczamy ze znajomości potencjałów oddziaływania, dzięki zdefiniowanemu polu siłowemu. Kiedy otrzymamy nowe położenia i prędkości, wyznaczamy nową siłę itd. Całą procedurę powtarza się zadaną ilość razy. Krok czasowy ( $dt$ ) używany w takich obliczeniach musi być odpowiednio mały i nie może przekraczać 10% najkrótszego okresu oscylacji w układzie. Dla układów zawierających atomy wodoru krok czasowy nie może być mniejszy niż 0,5 – 1,0 fs. Algorytm Verleta jest numerycznie efektywny, stabilny i wiernie odwzorowuje trajektorie atomów. Posiada też wiele modyfikacji: algorytm leap-frog [94], metoda Beemana [95], velocity Verlet [96].

Jest kilka warunków, których spełnienie jest wymagane podczas symulacji. Po pierwsze początkowy model musi zostać poddany minimalizacji zanim rozpocznie się symulacja dynamiki molekularnej. Minimalizacja układu prowadzi się w celu przygotowania układu do dalszych obliczeń. Układ wtedy zyskuje najbardziej prawdopodobną konfigurację, zgodną z zadanymi warunkami (temperaturą, ciśnieniem). Następnie, układ należy poddać procesowi termalizacji, w którym temperatura będzie stopniowo podnoszona. Dzięki temu wszystkie ewentualne naprężenia będą mogły ulec relaksacji bez nadawania fragmentom układu dużych prędkości względnych, co mogłoby rozbić lokalną strukturę.

Po drugie, w układach biologicznych makromolekuły zanurzone są w rozpuszczalniku złożonym z wody, jonów, małych cząsteczek organicznych oraz innych makromolekuł. W symulacjach komputerowych możemy włączyć do opisu układu jedynie niewielką część tego skomplikowanego środowiska. Możemy zrobić to na kilka sposobów.

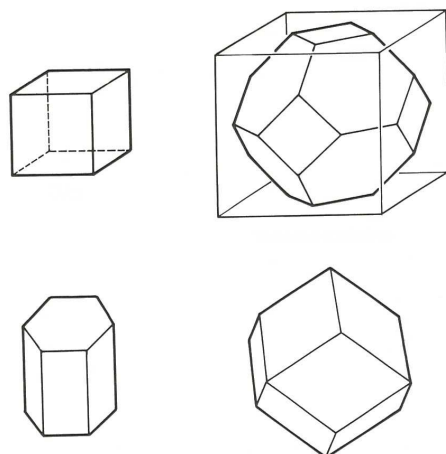
- Przez reprezentację wody z rozpuszczonymi w niej jonami *explicite*.
- Przez reprezentację wody za pomocą modelu kropłowego. W modelu tym molekula jest otoczona otoczką wody o grubości 5 -10 Å.
- Przez reprezentację wody za pomocą modelu ciągłego (PCM - ang. *Polarizable Continuum Model*). W modelu tym molekula jest umieszczana we wnęce o kształcie cząsteczki. Energię oddziaływania elektrostatycznego pomiędzy molekułą a cząsteczkami rozpuszczalnika obliczamy wprowadzając pozorny ładunek powierzchniowy na powierzchnię wnęki. Rozpuszczalnik jest w tej metodzie nieskończonym, jednorodnym, zazwyczaj izotropowym ośrodkiem, który charakteryzuje się określoną stałą dielektryczną.
- Wprowadzenie uproszczonej błony komórkowej.

Włączenie rozpuszczalnika do obliczeń musi wprowadzić do symulacji periodyczne warunki brzegowe (ang. *Periodic Boundary Conditions*). Układ jest wtedy zbudowany z nieskończonej liczby identycznych elementów zwanych „pudełkami” (ang. *Periodic Box*), ułożonymi w taki sposób aby między ich granicami nie było wolnej przestrzeni.



**Rysunek 18.** Periodyczne warunki brzegowe w dwóch wymiarach [97].

Głównym założeniem tej metody jest obecność we wszystkich pudełkach obrazów atomów znajdujących się w pudełku centralnym. Kiedy atom porusza się w pudełku centralnym, jego obrazy we wszystkich pudełkach poruszają się z taką samą prędkością i w tym samym kierunku. Kiedy atom przekracza granicę pudełka, jego obraz przekracza granicę przeciwną, ale zawsze liczba cząsteczek w pudle pozostaje stała (Rys. 18). Chcąc zmniejszyć liczbę cząsteczek rozpuszczalnika lub dostosować kształt komórki elementarnej do kształtu badanej cząsteczki stosuje się różne kształty pudła (Rys. 19).



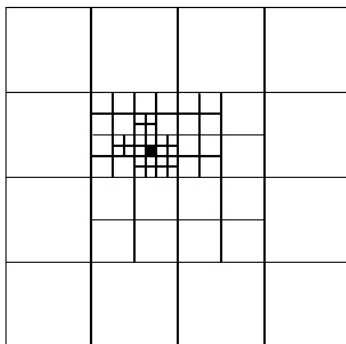
**Rysunek 19.** Przykładowe pudełka używane w komputerowych symulacjach: sześcian, ośmiościan ścięty, graniastostup heksagonalny i dziesięciościan rombowy [97].

Po trzecie, można wprowadzić uproszczony model obliczania oddziaływań dalekozasięgowych, aby przyspieszyć obliczenia, gdyż obliczenia takie są najbardziej czasochłonną częścią MD czy MM. Każde praktyczne rozwiązanie musi brać pod uwagę fakt, że liczba oddziaływań dalekozasięgowych rośnie wraz ze wzrostem wielkości układu. Aby umożliwić wykonanie obliczeń dla realistycznych układów, należy wprowadzić przybliżenia, pozwalające na obliczenie jedynie części oddziaływań w sposób dokładny i uproszczoną reprezentacją pozostałych. Energia oddziaływań dalekozasięgowych maleje z odległością. Dla oddziaływań van der Waalsa oddziaływania te maleją jak  $1/r^6$  dla przyciągania czy  $1/r^{12}$  dla odpychania, gdzie  $r$  jest odległością między cząsteczkami. Dla oddziaływań elektrostatycznych typu dipol – dipol, maleją jak  $1/r^3$ . Istnieje kilka metod przybliżonych obliczania oddziaływań dalekozasięgowych, które korzystają z tego, że maleją one wraz ze wzrostem odległości:

- Metoda odcinania oddziaływań (ang. *cutoff*) zakłada, że dla dostatecznie dalekich obiektów możemy nie liczyć oddziaływań między nimi. Wprowadza się do obliczeń sferyczną granicę oddziaływania potencjału, do której liczymy oddziaływania.
- Metoda multipoli komórkowych (ang. *Cell Multipole Method*) dzieli układ na małe zawierające kilkanaście atomów kostki (Rys. 20). Kostki są grupowane w kostki wyższego rzędu. Dla każdej kostki liczymy wypadkowy ładunek dipol i wyższe multipole. W kostkach elementarnych obliczamy te wielkości z wielkości atomowych. Dla komórek wyższego rzędu obliczamy je z uśredniania wartości dla komórek podstawowych.



- Metoda pola reakcji opiera się na fizycznym modelu oddziaływania układu z ciągłym rozpuszczalnikiem o określonej stałej dielektrycznej i zadanym rozkładzie gęstości jonowej oraz z rozkładem dipoli na brzegu.
- Metoda Ewalda pozwala uwzględnić nieskończony zasięg oddziaływań.



**Rysunek 20.** Metoda multipoli komórkowych - sposób podziału układu na kostki.

Dla oddziaływań van der Waalsa stosuje się najczęściej metodę odcinania. Dla oddziaływań elektrostatycznych pozostałe metody. Metoda multipoli komórkowych metoda Ewalda i metoda pola reakcji, zapewniają wysoką dokładność przy umiarkowanym koszcie obliczeniowym.