

SIMULACIÓN POR DINÁMICA BROWNIANA DEL TRANSPORTE IÓNICO A TRAVÉS DEL CANAL GRAMICIDINA A

Camilo Andrés Aponte^(1,2), José Daniel Muñoz^(1,2), Ramón Fayad²

¹Grupo de Simulación de Sistemas Físicos, Universidad Nacional de Colombia.

²Departamento de Física, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

(Recibido 09 de Sep.2005; Aceptado 20 de Jun. 2006; Publicado 20 de Nov. 2006)

RESUMEN

En este trabajo se simula por dinámica browniana el transporte de iones a través del canal Gramicidina A y se calcula la corriente que fluye a través del canal en función del voltaje aplicado y de la concentración iónica de los medios. Para mantener dichas concentraciones constantes se propone un nuevo método. Al utilizar una versión suavizada del perfil de energía potencial reportado en la literatura más reciente y una fuerza de fila india proporcional a $1/r^9$ se obtienen corrientes muy por debajo de las experimentales. Sólo tomando un perfil de energía hipotético con la mitad de la altura de la barrera de potencial reportada en la literatura se obtiene un valor de conductancia que discrepa en un 4.9% del valor experimental, pero se pierde la saturación del canal que se observa experimentalmente al aumentar la concentración. Estos son los mismos problemas que afrontan las simulaciones de punta en el área y son tema actual de investigación.

Palabras claves: Canal iónico, dinámica browniana, Gramicidina A, transporte iónico.

ABSTRACT

We use brownian dynamics to simulate the ion permeation through Gramicidin A channel and to compute the current through the channel as a function of the applied voltage and the ionic concentration in the media. A new method is proposed to maintain the ionic concentrations in the intracellular and extracellular media. The current obtained by using a smoothed version of the most recently reported potential mean force profile and a single-file force proportional to $1/r^9$ are much smaller than the experimental ones. By using an hypothetical potential mean force profile with one-half the potential barrier reported in the literature we obtained a conductance that differs just in 4.9% of the experimental one, but the channel saturation with concentration increases, observed in experiments, is lost. These difficulties are the same ones that are confronted by all simulations in this area, and they are topic of research at the present time.

Keywords: Ion channels, brownian dynamics, Gramicidin A, ionic transport.

1. Introducción

Los canales iónicos son poros macromoleculares que se insertan en la membrana celular para permitir el paso de sustancias cargadas [1]. Dichos poros intervienen en tareas vitales para la célula, como la producción energética, la estabilización osmótica y el mantenimiento de gradientes de concentración iónica, entre otras [2]. Además intervienen como sofisticados dispositivos altamente específicos en la producción y transmisión de señales eléctricas en células excitables [1, 3]. El estudio de los canales iónicos es fundamental para entender el funcionamiento del cerebro y el sistema nervioso, para la fabricación de medicamentos y para el diseño de biosensores y otros dispositivos biotecnológicos [2, 4].

En los últimos años la dinámica molecular se ha usado con mucho éxito en la simulación de canales iónicos [2, 5, 6]. Sin embargo, este método tiene la dificultad de que los tiempos máximos que puede simular son del orden de 10 a 100 ns [5, 6], en tanto que el tiempo en que ocurren los procesos de transporte a través de canales iónicos está en escalas superiores a los microsegundos [1]. Una alternativa para simular el transporte iónico en esta escala es el método de dinámica browniana, donde las moléculas del solvente no se tienen en cuenta explícitamente [7, 8].

El objetivo de este trabajo es simular por dinámica browniana el canal Gramicidina A, que es por su simplicidad el canal más estudiado tanto teórica como experimentalmente [5]. De esta manera se puede obtener la corriente que circula a través del canal en función del voltaje externo aplicado y de la concentración de iones presentes en los medios intracelular y extracelular. En la sección 2 se revisan las bases físicas del método de dinámica browniana y se presenta el algoritmo utilizado. En la sección 3 se muestran y discuten los resultados de la simulación del canal Gramicidina A. El artículo termina con las conclusiones y algunas sugerencias para trabajos futuros.

2. EL MÉTODO DE DINÁMICA BROWNIANA

El propósito del método de dinámica browniana es encontrar la trayectoria de un conjunto de partículas (iones en nuestro caso) utilizando la ecuación de Langevin como ecuación de movimiento. El método se fundamenta en el hecho de que los iones en un líquido ejecutan un movimiento térmico aleatorio, conocido como movimiento browniano [7], que puede describirse por una fuerza viscosa proporcional a la velocidad más una fuerza aleatoria que fluctúa rápidamente. Entonces la ecuación de movimiento para un ión es

$$m \frac{dv}{dt} = -m\gamma v + R(t) + f(t), \quad (1)$$

donde m es la masa y $v(t)$ es la velocidad del ión. El primer término de la derecha corresponde a la fuerza de fricción viscosa promedio, con coeficiente de fricción $m\gamma$, donde γ^{-1} es el tiempo de relajación del sistema. El segundo término representa la parte aleatoria del movimiento y es una función que fluctúa rápidamente con valor promedio cero. El tercer término corresponde a fuerzas externas adicionales [7, 9].

En 1982, Van Gunsteren y Berendsen [9] propusieron un método para integrar la ecuación (1) en pasos de tiempo discreto Δt mucho mayores y así predecir la posición $x(t_n)$ de forma más eficiente. En el régimen difusivo, cuando la fricción es tan fuerte que las velocidades se relajan en un tiempo menor o igual a Δt , dicha integración conduce a

$$x(t_n + \Delta t) = x(t_n) + (m\gamma)^{-1} \left\{ f(t_n)\Delta t + \frac{1}{2} \dot{f}(t_n) (\Delta t)^2 \right\} + X_n(\Delta t), \quad (2)$$

donde $X_n(\Delta t)$ es un valor aleatorio obtenido a partir de una distribución gaussiana con promedio cero y ancho dado por

$$\langle X_n^2(\Delta t) \rangle = 2kT(m\gamma)^{-1}\Delta t = 2D\Delta t, \quad (3)$$

con k la constante de Boltzmann, T la temperatura y D el coeficiente de difusión. La ecuación (2) da la posición de cada ión en un instante $t_{n+1} = t_n + \Delta t$ conociendo la posición actual, $x(t_n)$; la fuerza externa, $f(t_n)$, y su derivada con respecto al tiempo, $\dot{f}(t_n)$.

3. SIMULACIÓN DEL CANAL GRAMICIDINA A

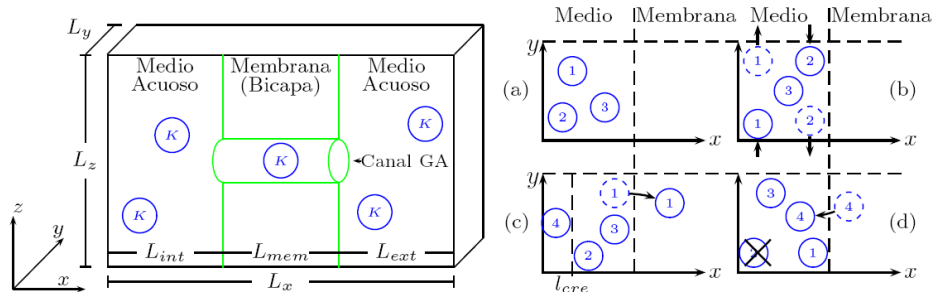


Figura 1. (Izquierda) El Canal Gramicidina A en la membrana celular.

Figura 2. (Derecha) Para mantener el número de iones constante en los medios acuosos.

Para simular el paso de iones de potasio a través del canal Gramicidina A asumimos que la membrana es una pared rígida de ancho $L_{mem}=30\text{\AA}$ y que el canal es un hueco cilíndrico a través de la membrana de 4\AA de diámetro (figura 1). Los iones colisionan elásticamente con la membrana y con las paredes del canal. Para mantener la concentración constante en los medios se impusieron condiciones de frontera periódicas en el eje y y z (figura 2b). En el eje x cada vez que salía un ión, colocamos un nuevo ión en una región apartada de la membrana comprendida entre $x = 0$ y $x = l_{cre}$ y permitimos que el otro ión continuara con su movimiento (figura 2c). Si entraba un ión al medio destruimos el ión que se encontraba más lejos de la membrana (figura 2d). Este método reproduce bastante bien las corrientes y distribuciones de iones debidas a diferencias de concentración [10].

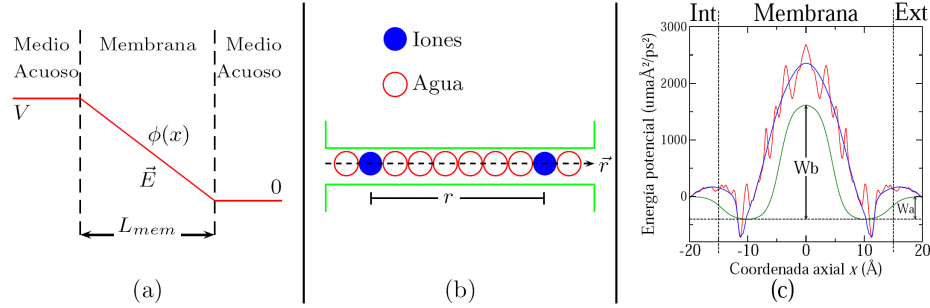


Figura 3. Fuerzas externas consideradas ($f(t_n)$).

Dentro del canal, se consideraron la fuerza debido al voltaje externo (figura 3a), la interacción Coulombiana entre iones y una fuerza de corto rango proporcional a $1/r^9$ para tomar en cuenta el movimiento en fila india de iones y moléculas de agua (figura 3b). Para la interacción con el canal se consideraron una versión suavizada (línea azul en la figura 3c) del perfil de energía potencial del ión dentro del canal reportado más recientemente (Allen et al. 2004 [6]) (línea roja en la figura 3c) y perfiles de energía hipotéticos con la altura de la barrera, W_b , y la profundidad del pozo, W_a , variables (línea verde en la figura 3c). Dentro del canal consideramos un coeficiente de difusión 0.68 veces el valor fuera [6] (para potasio $D_{fuera} = 0,196 \text{ \AA}^2/\text{ps}$ [1]). La corriente se calculó haciendo la cuenta del número neto de iones que atravesaban el canal por unidad de tiempo. En un computador de 2,8 GHz de velocidad y 1 Gigabyte de memoria, la simulación de un tiempo de 1,2 μs duró alrededor de 5 horas, tomando $\Delta t = 0,1 \text{ ps}$ y considerando 100 iones.

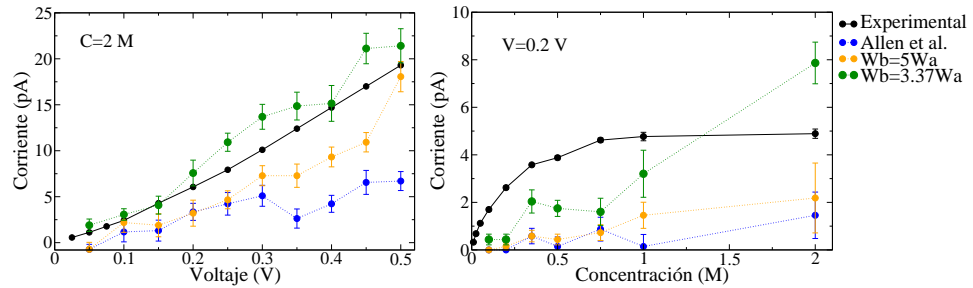


Figura 4. Corriente en función del voltaje externo y de la concentración iónica.

Usando la versión suavizada del perfil de energía potencial obtenido por Allen et al., 2004 [6] se obtienen valores (puntos azules en la figura 4) muy por debajo de los experimentales [11, 12]. Para un perfil de energía hipotético con $W_b \simeq 3,37W_a$, en la curva de corriente contra voltaje (figura 4, Izquierda) se obtienen resultados que concuerdan más con los experimentales (puntos verdes). En particular, para $V = 0,15 \text{ V}$ se obtiene una conductancia que difiere en un 4.9 % del valor medido. Sin embargo, no se observa

la saturación de la corriente que sí se observa en el experimento (figura 4, Derecha).

4. CONCLUSIONES

Hemos desarrollado una simulación por el método de dinámica browniana del transporte de iones a través del canal Gramicidina A. Para mantener constante la concentración iónica constante en los medios se propuso un método alternativo en donde la creación y destrucción de iones tiene cabida. Al igual que en estudios similares, los resultados muestran que los perfiles de energía potencial reportados en la literatura predicen valores de corriente muy por debajo de los experimentales y se pierden las propiedades de saturación. Por lo tanto es necesario tomar en cuenta nuevos fenómenos como fuerzas de vacío, deformaciones del canal debido a polarizaciones, etc.

Referencias

- [1] B. Hille, *Ionic channels of excitable membranes*, Sinauer Associates, (1992).
- [2] A. Mamonov et al., *Biophys. J.* **84**, 3646 (2003).
- [3] B. Hille, C. M. Armstrong y R. Mackinnon, *Nature Medicine* **5**(10), 1105 (1999).
- [4] B. Nadler et al., *J. Phys. Cond. Mat.* **16**, 2153 (2004).
- [5] B. Roux, *Acc. Chem. Res.* **35**, 366 (2002).
- [6] T. W. Allen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**(1), 117 (2004).
- [7] S. Chung et al., *Biophys. J.* **75**, 793 (1998).
- [8] W. Im et al., *Biophys. J.* **79**, 788 (2000).
- [9] W. F. Van Gunsteren y H. J. C. Berendsen, *Mol. Phys.* **45**(3), 637 (1982).
- [10] C. A. Aponte, *El canal Gramicidina A: comparación entre un modelo elemental de permeación y una simulación por el método de dinámica browniana*, Universidad Nacional de Colombia, Tesis de Grado (2005).
- [11] O. S. Andersen, *Biophys. J.* **41**(2), 116 (1983).
- [12] C. D. Cole et al., *Biophys. J.* **83**, 1974 (2002).