بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه صنعتی شریف
دانشکده فیزیک

پایان‌نامه کارشناسی ارشد فیزیک

توسعه نرم‌افزار VCM برای بررسی برهمکنش نانوذرات با غشای لیپیدی

نگارنده

هدی شیرزاد

استاد راهنما

دکتر محمدرضا اجتهادی

دی ماه ۱۳۹۸

چکیده

هدف از این پایان‌نامه توسعه نرم‌افزار ”برنامه سلول مجازی“ (VCM) برای بررسی بسته‌بندی غیرفعال نانوذرات توسط غشای لیپیدی در جریان ترافیک سلولی است.
VCM یک بسته نرم‌افزاری برای انجام شبیه‌سازی های دینامیک مولکولی است که قادر است با مدلسازی درشت‌دانه اجزای مختلف سلول، خواص مکانیکی اجزای سلول را بررسی کند. از آنجا که مدلسازی‌های VCM در دستگاه واحدهای کاهیده صورت می‌گیرد، با ترجمه مناسب واحدهای کاهیده به واحدهای فیزیکی در هر مساله به صورت جداگانه، می توان علاوه بر سلول، طیف وسیعی از پدیده های بیوفیزیکی دیگر در مقیاس‌های طولی متفاوت را به کمک VCM شبیه‌سازی کرد که برهمکنش نانوذرات با غشای لیپیدی یک آبدانک مثالی از آن هاست.
در VCM غشای لیپیدی با نقاط یک مش مثلثی دو بعدی مدل شده است. بین هر دو نقطه از شبکه که با یک یال به یکدیگر متصلند، یک فنر هارمونیک وجود دارد و بین هر دو مثلث همسایه نیز پتانسیل خمشی اعمال می‌شود. مجموع این دو پتانسیل (خمشی و کششی) خواص کشسانی غشا را بازمی‌نماید. همچنین غشاهای زیستی به دلیل پخش سطحی مولکول‌های چربی سازنده شان، مانند مایع دوبعدی عمل می‌کنند. این خاصیت با تغییر اتصال نقاط شبکه در طی شبیه‌سازی بازنمایی می‌شود.طی این فرآیند، انرژی مکانیکی غشا از طریق انتخاب های مونت-کارلو برای یافتن بهترین پیکربندی شبکه کمینه می‌شود
نانوذرات با چندوجهی‌هایی مدل می‌شوند که در دمای شبیه‌سازی صلب باقی می‌مانند. برهمکنش بین نانوذرات و غشای سلولی از طریق پتانسیل لنارد-جونز صورت می‌گیرد که برای مدلسازی برهکنشهای کوتاه برد میان نانوذرات و غشا، نظیر برهمکنش لیگاند-گیرنده، مناسب است.
نتایج شبیه‌سازی ها نشان می‌دهند که در قدرت چسبندگی یکسان نانوذرات به غشا، غشاهای مایع در مقایسه با غشاهای کشسان شانس بیشتری برای بسته‌بندی نانوذرات دارند. همچنین در برهمکنش‌های بیش از یک ذره، غشا به عنوان واسطه، موجب القای نیروی جاذبه میان نانوذرات می‌شود تا با به وجود آوردن بسته‌بندی‌های چندتایی باعث کاهش انرژی آزاد کل سیستم شود.
در بعضی پژوهش‌های پیشین گزارش شده که این مکانیزم منجر به ایجاد برآمدگی‌های لوله‌ای شکل عمود بر سطح روی غشا خواهد شد که در طی شبیه‌سازی‌های این پژوهش چنین چیزی مشاهده نشد. با این حال نتایج ما نشان می‌دهند امکان ایجاد برآمدگی‌های لوله‌ای‌شکل جانبی بر سطح غشا وجود دارد.

فهرست مطالب

۱ مقدمه **۱**

۱.۱ غشای لیپیدی سلول ۱

۲.۱ ترافیک سلولی ۳

۳.۱ فرایندهای تغییر شکل غشای لیپیدی ۵

۴.۱ طرح مسئله ۱۲

۲ روش شبیه سازی **۱۹**

۱.۲ شبیه سازی دینامیک مولکولی ۱۹

۲.۲ مدل سازی غشای لیپیدی ۲۲

۱.۲.۲ پتانسیل کششی ۲۴

۲.۲.۲ پتانسیل Excluded Volume ۲۶

۳.۲.۲ پخش رئوس ۲۷

۳.۲ مدل سازی نانوذرات ۲۸

۴.۲ برهمکنش غشا-نانوذرات ۲۹

۵.۲ سهم این پژوهش در توسعه و تغییرVCM ۳۰

۳ نتایج شبیه‌سازی **۳۴**

۱.۳ شبیه‌سازی غشای تنها ۳۵

۲.۳ برهمکنش یک نانوذره با غشا ۳۸

۳.۳ برهمکنش دو نانوذره با غشا ۴۰

۴.۳ برهمکنش نانوذرات در تعداد بالا با غشا ۴۴

۵.۳ پرمایش VCM ۴۷

۱.۵.۳ اندازه گیری ضریب پخش ۴۷

۴ جمع بندی **۴۹**

۵ چشم انداز پژوهشی **۵۰**

۶ ضمیمه **۵۱**

۱.۶ معرفی برنامه سلول مجازی ۵۱

۱.۱.۶ تاریخچه ۵۱

۲.۱.۶ ساختار داده های کد ۵۲

۳.۱.۶ فایل های تنظیم ۵۹

۴.۱.۶ نقشه برهم‌کنش ۶۲

۵.۱.۶ دستگاه واحدهای کاهیده ۶۳

۶.۱.۶ خروجی برنامه ۶۵

فهرست تصاویر

۱.۱ ساختار یک مولکول فسفولیپید [۲۹] ۲
۲.۱ غشای لیپیدی [۳۰] ۳
۳.۱ روش‌های مختلف درون‌بری [۳۱] ۴
۴.۱ برون‌رانی [۳۲] ۵
۵.۱ نحوه خمش غشا توسط پروتئین اپسین [۱۲] ۷
۶.۱ جهت انحنا غشا [۹] ۷
۷.۱ مرحله ابتدایی جذب سم شیگای باکتریال [۴] ۸
۸.۱ ساختار تمام- اتم از یک پروتئین NBAR [۱۱] ۹
۹.۱ نتایج شبیه‌سازی تمام-اتم برهمکنش N-BAR و غشای لیپیدی. [۱۱] . ۱۰
۱۰.۱ میزان انحنای غشا با افزایش غلظت پروتئین‌های داربست‌زننده [۴] . . . ۱۰
۱۱.۱ قفس خودچین کلترین [۳۳] ۱۱
۱۲.۱ مراحل جوانه زدن ویروس HIV-۱ [۱۳] ۱۲
۱۳.۱ شبیه‌سازی درشت‌دانه ذره‌ای غشا [۱۶] ۱۴
۱۴.۱ نتایج شبیه‌سازی گزارش شده در مقاله [۱۶] ۱۵
۱۵.۱ نتایج شبیه‌سازی مونت کارلو- مدل غشای پیوسته [۲۵] ۱۷

۱.۲ غشای مثلثی- برنامه سلول مجازی ۲۳
۲.۲ دو مثلث مجاور و نقاط درگیر در آن ۲۴
۳.۲ پتانسیل FENE ۲۵
۴.۲ [۱۵] جابه‌جایی یال مشترک دو مثلث همسایه ۲۸
۵.۲ تنظیم فنر FENE ۳۲

۱.۳ غشای کشسان ۳۵
۲.۳ تابع توزیع سرعت‌ها در جهت محور y – – غشای کشسان ۳۶
۳.۳ غشای مایع ۳۷
۴.۳ تابع توزیع سرعت‌ها در جهت محور y – غشای مایع ۳۷
۵.۳ برهمکنش یک نانوذره با غشای الاستیک ۳۹
۶.۳ برهمکنش یک نانوذره با غشای مایع ۳۹
۷.۳ برهمکنش دو نانوذره با غشای مایع- frame=۴۳ . . . . . ۴۰
۸.۳ برهمکنش دو نانوذره با غشای مایع- frame=۹۲ . . . . . ۴۰
۹.۳ برهمکنش دو نانوذره با غشای مایع- frame=۱۲۳ . . . . . ۴۱
۱۰.۳ نیروی موثر میان دو نانوذره ۴۳
۱۱.۳ نتایج آزمایشگاهی اندازه‌گیری پتانسیل میان دو نانوذره در برهمکنش با غشا [۲۷] ۴۴
۱۲.۳ برهمکنش ۱۰ نانوذره با غشا- قاب ابتدایی ۴۵
۱۳.۳ برهمکنش ۱۰ نانوذره با غشا- قاب پس از گذشت ۳۴۰ فریم ۴۶
۱۴.۳ ساختار لوله ای افقی در برهمکنش ۱۰ نانوذره با غشا- قاب پس از گذشت ۶۶۰ فریم ۴۶
۱۵.۳ نمودار میانگین مجذور فاصله نسبی ذرات بر حسب زمان برای محاسبه ضریب پخش ۴۸

۱.۶ نمودار فنرهای هارمونیک (قرمز) و هارمونیک x^4 (بنفش) ۵۶
۲.۶ یک نمونه فایل تنظیم اصلی برای موتور سریال ۵۹
۳.۶ یک نمونه فایل تنظیم اصلی برای موتور موازی ۶۰
۴.۶ فایل تنظیم یک نمونه از کلاس غشا- این فایل برای شبیه‌سازی یک نانوذره که در دمای ۳۰۰ کلوین صلب می‌ماند تنظیم شده است. ۶۱
۵.۶ نقشه برهمکنش برای یک غشا و بیست نانوذره ۶۳
۶.۶ جدول یکاهای OpenMM ۶۴

فصل ۱

مقدمه

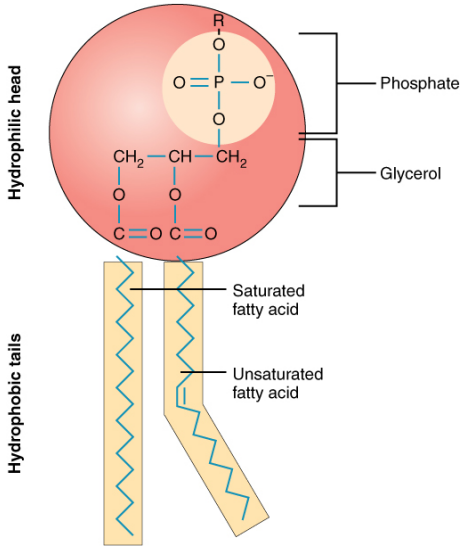
۱.۱ غشای لیپیدی سلول

سلول‌ها و همچنین اندامک‌های درون آن‌ها توسط یک پوسته دو لایه از محیط بیرونی خود جدا می‌شوند . وظیفه اصلی این پوسته، محافظت از سلول و اندامک ها در برابر محیط خارجی است. ساختمان اصلی پوسته یا غشای سلولی شامل دو لایه فسفولیپیدی همراه با پروتئین‌های درون‌پوسته‌ای و سطح‌پوسته‌ای است. مولکول فسفولیپید از اتصال یک سر شامل گروه فسفات به یک یا دو زنجیره هیدروکربنی تشکیل شده است.(شکل ۱.۱)

سر شامل گروه فسفات دارای خاصیت آب‌دوستی و دم شامل زنجیره هیدروکربنی دارای خاصیت آب‌گریزی است. مولکول‌های آب‌دوست عموما قطبیده هستند و می‌توانند پیوند هیدروژنی با مولکول‌های آب برقرار کنند و به راحتی در آب حل می‌شوند. از طرف دیگر مولکول‌های آب‌گریز غیر قطبی هستند و تمایلی به تشکیل پیوند با مولکول‌های آب ندارند. این مولکول ها در محیط آبی تشکیل خوشه [۱] می دهند تا آنتروپی کل محلول افزایش یابد. وجود همزمان سر آب‌گریز و دم آب‌دوست در مولکولهای فسفولیپید باعث می شود که این مولکول‌ها در محیط آبی، در غلظت و دمای مناسب، به صورت خود به خودی و خودچین [۲] ابتدا دولایه لیپیدی و سپس لیپوزوم(پوسته ای با توپولوژی بسته) تشکیل بدهند. [۱]

[۱] cluster

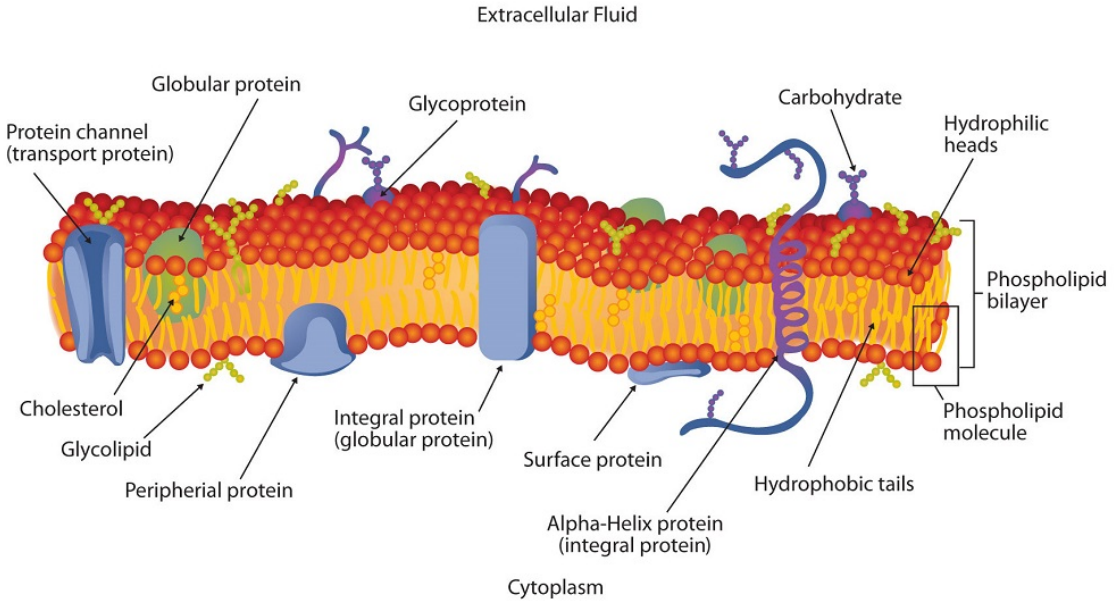
[۲] Self-Assembly



شکل ۱.۱: ساختار یک مولکول فسفولیپید [۲۹]

در شکل ۲.۱ اجزای سازنده غشای سلول به صورت شماتیک نمایش داده شده‌اند. زنجیره‌های هیدروکربنی مولکول‌های فسفولیپید مقابل یکدیگر قرار می‌گیرند و قسمت میانی غشا را تشکیل می‌دهند. سر آب‌دوست لایه بیرونی در تماس با مایع خارج سلولی و سر آب‌دوست لایه داخلی در تماس با سیتوپلاسم قرار می‌گیرند.

به دلیل آب‌گریز بودن قسمت میانی غشای دولایه، مواد محلول در آب نمی توانند به صورت مستقیم از عرض غشا عبور کنند. در عوض اکسیژن، دی اکسید کربن و مواد محلول در چربی می‌توانند از عرض غشا رد شوند.

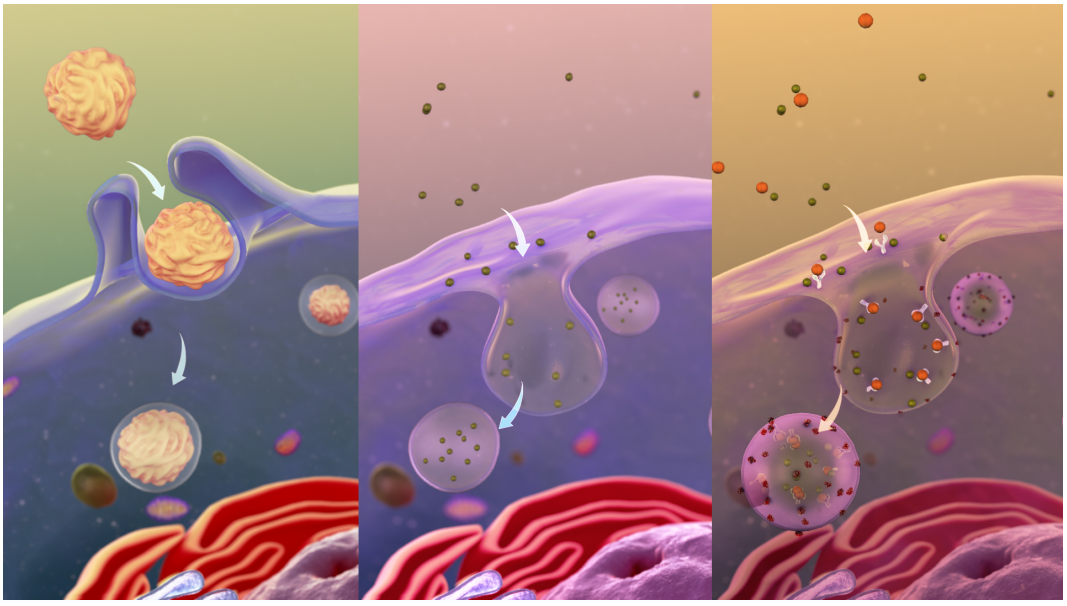


شکل ۲.۱: غشای لیپیدی [۳۰]

۲.۱ ترافیک سلولی

نفوذناپذیری غشای سلولی برای حفظ نظم سلول‌ها و جلوگیری از فرار غیر قابل کنترل اندامک‌ها و مواد درون سلول ضروری است. اما سلول و اندامک‌های درون آن برای حفظ بقا، تنظیم عملکرد و دریافت و ارسال پیام‌های بین‌سلولی و درون‌سلولی نیاز دارند که با دنیای بیرون، طیف گسترده‌ای از مواد، شامل یون‌ها تا ماکرومولکول‌های پیچیده را رد و بدل کنند. [۲]
گیرنده‌ها، کانال‌ها و پمپ‌های یونی از جمله پروتئین های سراسری غشا [۳] هستند که از عرض غشا عبور می‌کنند و عبور یون‌ها و برخی مولکول‌های کوچک را از عرض غشا میسر می‌سازند. اما در مورد محموله‌های بزرگتر و یا پیچیده‌تر، راه حل تبادل مواد عبور مستقیم محموله از عرض غشا نیست. در مورد این محموله‌ها تبادل از طریق درون‌بری [۴] و برون‌رانی [۵] صورت می‌گیرد. هر فرایند درون‌بری شامل سه مرحله است: نخست، محموله به غشای سلولی متصل می‌شود. در گام بعدی، غشای سلولی تغییر شکل داده و محموله را در بر می‌گیرد. در انتها فرایند برش [۶] اتفاق افتاده و محموله در پوششی از غشای لیپیدی وارد سیتوپلاسم شده و به مسیرهای اندوزومی

[۳] Integral membrane protein
[۴] endocytosis
[۵] exocytosis
[۶] scission

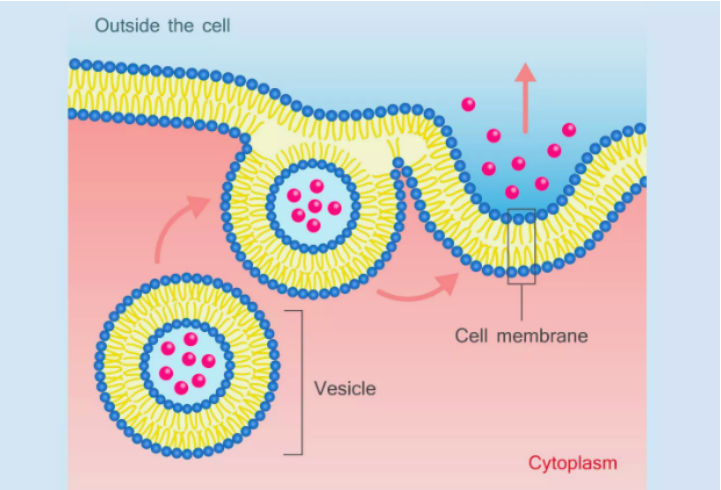


شکل ۳.۱: روش‌های مختلف درون‌بری [۳۱]
تصویر سمت چپ یک فرایند فاگوسیتوز، تصویر وسط فرایند پینوسیتوز و تصویر سمت راست درون‌بری به کمک گیرنده ها را نمایش می‌دهد. فاگوسیتوز به معنای بلعیدن و پینوسیتوز به معنی نوشیدن است.

برای هدایت به مقاصد بعدی منتقل می‌شود. [۲] درون‌بری ،بسته به اندازه و نوع محموله به روش های مختلفی طبقه‌بندی می شود. به ورود محموله‌های بزرگ مانند نانوذرات و سلول‌های دیگر فاگوسیتوز [۷] و به ورود محموله های حاوی ذرات بسیار ریز و یا مایعات، پینوسیتوز [۸] گفته می‌شود. همچنین ویروس‌ها و باکتری‌ها به طریق مشابهی سلول را مورد حمله قرار داده و وارد سلول می‌شوند. [۳]

در شکل ۳.۱ فرایندهای مختلف درون‌بری به صورت شماتیک نمایش داده شده اند. در برون‌رانی فرایند برعکس درون‌بری صورت می‌گیرد و آبدانک‌های [۹] حاوی محموله از درون سلول به بیرون سلول انتقال می‌یابند. (شکل ۴.۱)

[۷] phagocytosis
[۸] pinocytosis
[۹] vesicle



شکل ۴.۱: برون‌رانی [۳۲]

۳.۱ فرایندهای تغییر شکل غشای لیپیدی

چنان که قبل تر اشاره شد، تغییر شکل غشا و در نهایت دربر گرفتن محموله یک گام ضروری برای ترافیک سلولی است. بسته‌بندی محموله‌های مواد مورد انتقال اغلب به صورت فرورفتگی و برآمدگی‌های کیسه‌ای شکل و یا لوله‌ای شکل بر روی غشا اتفاق می‌افتد. برای ایجاد این برآمدگی‌ها لازم است انحنای موضعی غشای لیپیدی تغییر کند. این اتفاق اغلب فرآیندی انرژی بر است و به کمک عوامل دیگری مانند پروتئین‌های غشا و موتورهای پروتئینی انجام می‌گیرد. فرآیندهای منجر به تغییر انحنای غشا به دو دسته کلی فعال [۱۰] و غیرفعال [۱۱] دسته‌بندی می‌شوند. فرایندهای فعال آن دسته از فرایندهایی هستند که برای رخ دادن نیازمند آنزیم های بیوشیمیایی و صرف انرژی هستند. در مقابل در فرایندهای غیرفعال، تغییر شکل غشا بدون صرف انرژی و به صورت خود به خود توسط پروتئین های موجود بر سطح غشا یا محلول در محیط آبی اطراف و یا محموله هایی که نیازمند عبور از دیواره غشا هستند رخ می‌دهد.در اغلب موارد، چین‌خوردگی خودبه‌خودی غشا به سبب برهم خوردن تقارن میان دو لایه‌ی آن اتفاق می‌افتد. [۴]

[۱۰] active

[۱۱] passive

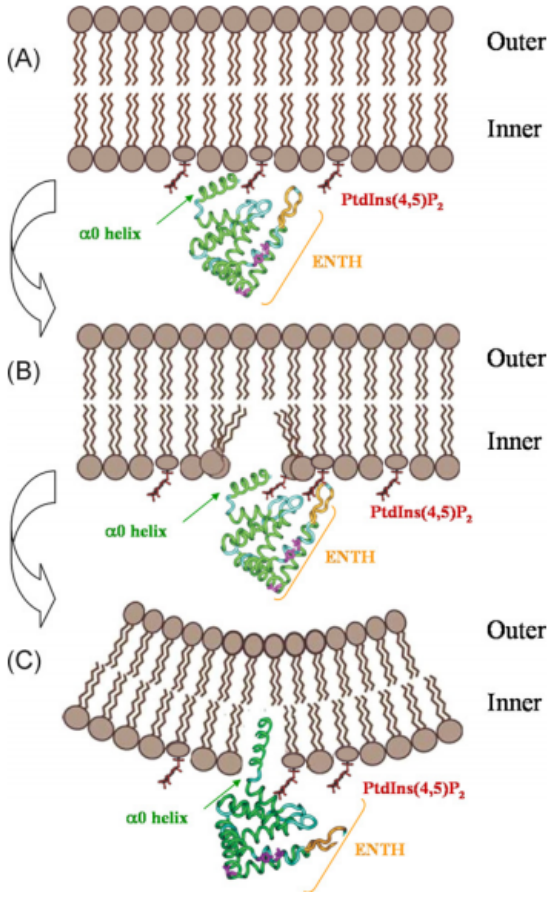
از مهم‌ترین فرآیندهای غیرفعال می‌توان موارد زیر را برشمرد:

- ورود پروتئین‌های شامل ساختارهای آب‌گریز از یک طرف‌غشا:

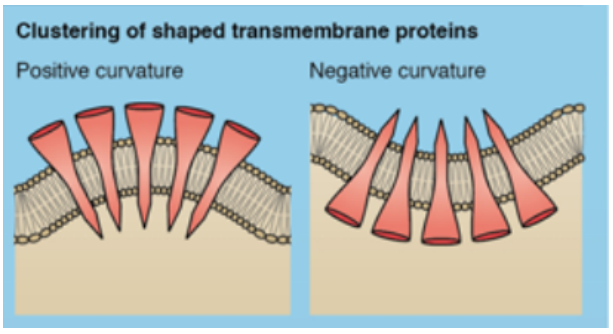
همان طورکه در بخش اول گفته شد، مولکول های چربی با قرار دادن زنجیره هیدروکربنی‌شان رودرروی یکدیگر، تشکیل یک غشای دو لایه می‌دهند. با تجمع پروتئین‌های شامل ساختار آب گریز بر یک طرف غشا، دم آب‌گریز این پروتئین‌ها وارد غشای لیپیدی (یعنی ناحیه شامل زنجیره های هیدروکربنی) می‌شود وبا عملکردی شبیه به گوه می‌تواند منجر به ایجاد انحنا در غشا شود. میزان انحنای غشا به عواملی چون چگالی پروتئین‌ها بر سطح غشا، طول ساختار آب‌گریز و شکل کلی پروتئین‌ها بستگی دارد. به عنوان مثال خانواده پروتئین‌های اپسین [۱۲] نقش مهمی در خمش غشا در برخی از مسیرهای درون‌بری بازی می‌کنند و از این روش برای خمش غشا بهره می‌برند. (شکل ۵.۱) طبق قرارداد رایج در پژوهش‌های مرتبط، اگر پروتئین‌ها منجر به چین‌خوردگی غشا به سمت محیط آبی‌ای که در آن محلول بوده‌اند بشوند جهت انحنای ایجاد شده مثبت و در غیر این صورت جهت انحنا منفی تلقی می‌شود. (شکل ۶.۱) ورود و خروج بسیاری از عوامل بیماری‌زا [۱۳] با القای انحنای منفی بر روی غشای لیپیدی صورت می‌گیرد. [۴]

[۱۲] epsin

[۱۳] Pathogen

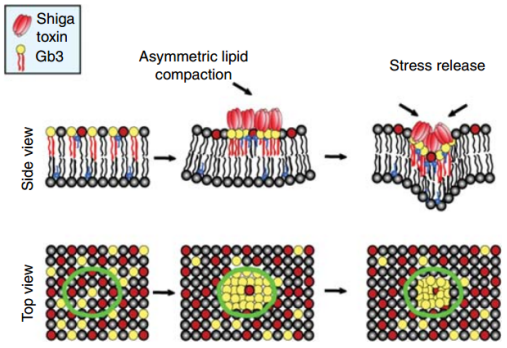


شکل ۵.۱: نحوه خمش غشا توسط پروتئین اپسین [۱۲]
ابتدا قسمت ENTH از اپسین به نواحی از غشا که حاوی $PtdIns(4,5)P_2$ باشند متصل می‌شوند. سپس دم آب‌گریز آن که با HO نمایش داده شده، با ورود به درون غشا موجب خمیدگی آن می شود



شکل ۶.۱: جهت انحنا غشا [۹]

- تجمع لیپیدها: غشا از انواع مختلفی از مولکول‌های چربی ساخته شده که در طول آن پراکنده شده اند. این مولکول‌ها در ترکیب گروه عاملی سازنده، طول زنجیره هیدروکربنی و میزان اشباع با یکدیگر تفاوت دارند. با جمع شدن یک نوع خاص از مولکول‌های چربی در یک ناحیه غشا تقارن موضعی غشا بر هم خورده و ممکن است چین‌خوردگی ایجاد شود. به طور مثال در مورد سم شیگا [۱۴] نشان داده شده که این باکتری تمایل به ایجاد اتصال با گروه عاملی glycosphingolipid دارد و این اتصال به طور موثر موجب تجمع این نوع مولکول لیپیدی در یک ناحیه از غشا می‌شود. ترکیب باکتری و glycosph-ingolipid ها شکلی مخروط مانند می‌سازد که مانند گوه درون غشا عمل کرده و آن را وادار به چین‌خوردگی می کند. [۱۰] (شکل ۷.۱)

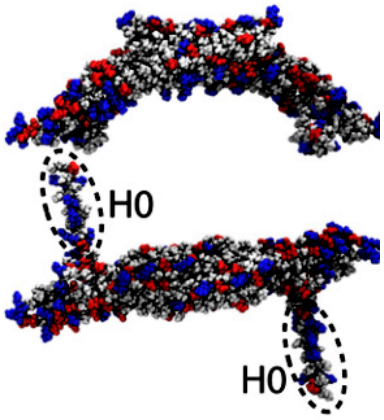


شکل ۷.۱: مرحله ابتدایی جذب سم شیگای باکتریال [۴]

- داربست سازی: برخی پروتئین‌هایی که خود دارای شکل خمیده باشند، با اتصال به غشای لیپیدی انحنای ذاتی خود را به غشا القا می‌کنند. از جمله این پروتئین‌ها می‌توان به خانواده‌ی پروتئین‌های Bin/amphiphysin/Rvs که به اختصار به آنها BAR می‌گوییم اشاره کرد که به طور گسترده در فرآیندهای تغییر شکل غشا شرکت می‌کنند. پروتئین های BAR از α helix هایی تشکیل شده اند که می‌توانند دایمرهایی با شکل پایدار موزی شکل تشکیل دهند. با برهمکنش الکترواستاتیک میان Residue های منفی غشا با Residue های مثبت قسمت منحنی پروتئین، پروتئین‌های شامل BAR به غشا چسبیده و انحنای خود را به آن القا می کنند. [۱۱] در شکل ۸.۱ تصویری از ساختار تمام-اتم یک دومین

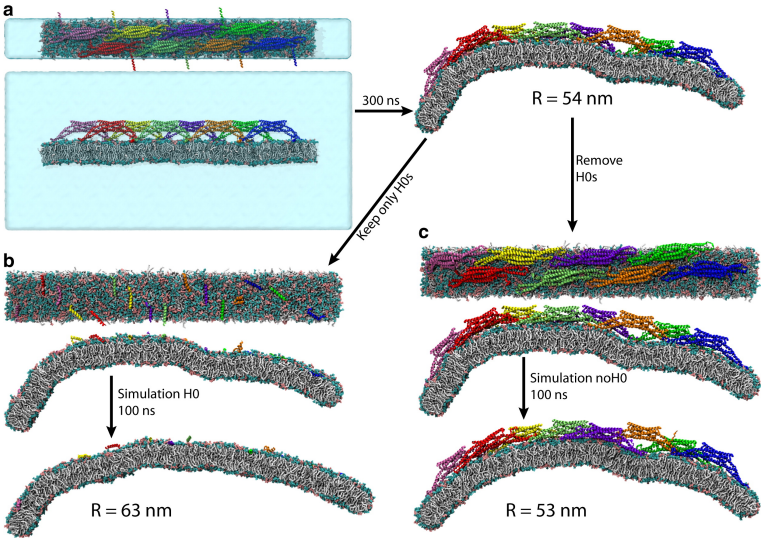
[۱۴] Shiga toxin

N-BAR ارائه می‌دهد. Residue های حامل بار مثبت با رنگ آبی و Residue های حامل بار منفی با رنگ قرمز نمایش داده شده اند.



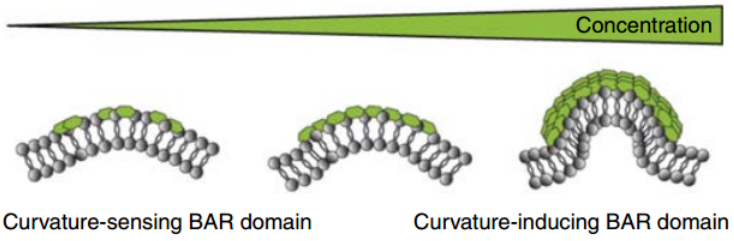
شکل ۸.۱: ساختار تمام- اتم از یک پروتئین NBAR [۱۱]
رنگ قرمز نشان دهنده بار منفی و رنگ آبی نشان دهنده بار مثبت است. ساختار از کنار و از بالا نمایش داده شده. H0 دم آب گریز متصل به ترمینال N پروتئین N-BAR است.

در N-BAR ها علاوه بر ساختار موزی شکل، به ترمینال N در هر مونومر، ساختار آب-گریزی متصل است که در ساختار کریستالی پروتئین حل نشده باقی مانده و می‌تواند با ورود به غشا به کمک عملکرد گوه‌ای خود به خمش غشا کمک کند. اما چنان که از نتایج شبیه‌سازی گزارش شده در شکل ۹.۱ مشاهده می‌شود در مورد پروتئین‌های N-BAR داربست سازی فرآیند اصلی خمش غشا است.



شکل ۹.۱: نتایج شبیه‌سازی تمام-اتم برهمکنش N-BAR و غشای لیپیدی. [۱۱] شبیه سازی یک بار به حضور و یک بار در عدم حضور دم آب‌گریز پروتئین و همچنین برای ساختار آب‌گریز به تنهایی انجام شده است.

میزان انحنای موضعی غشا در حضور پروتئین هایی نظیر خانواده پروتئین‌های BAR به چگالی آن‌ها وابسته است. با افزایش چگالی پروتئین انحنای غشا تا آن‌جا افزایش می‌یابد که با انحنای اولیه پروتئین‌های داربست‌زننده، یکی شود. (شکل ۱۰.۱)

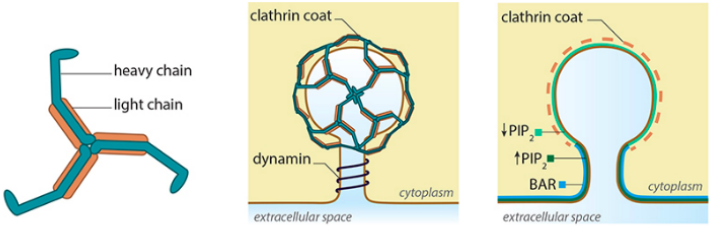


شکل ۱۰.۱: میزان انحنای غشا با افزایش غلظت پروتئین‌های داربست‌زننده [۴]

- ایجاد قفس پروتئینی خودساز بر روی غشای لیپیدی: یکی از روش‌های مرسوم انحنای غشا در فرایندهای درون‌بری و برون‌رانی، تشکیل خود به خودی و خودچین پوسته‌های سخت و پروتئینی روی غشای لیپیدی است. شکل نهایی پوسته، بسته به پروتئین تشکیل دهنده آن می تواند کروی و یا لوله ای باشد. از معروف‌ترین مثال‌های این نوع تغییر شکل غشا، قفس های کروی پروتئن کلترین [۱۵] هستند. کلترین یک پروتئین سه شاخه است.

[۱۵] clathrin

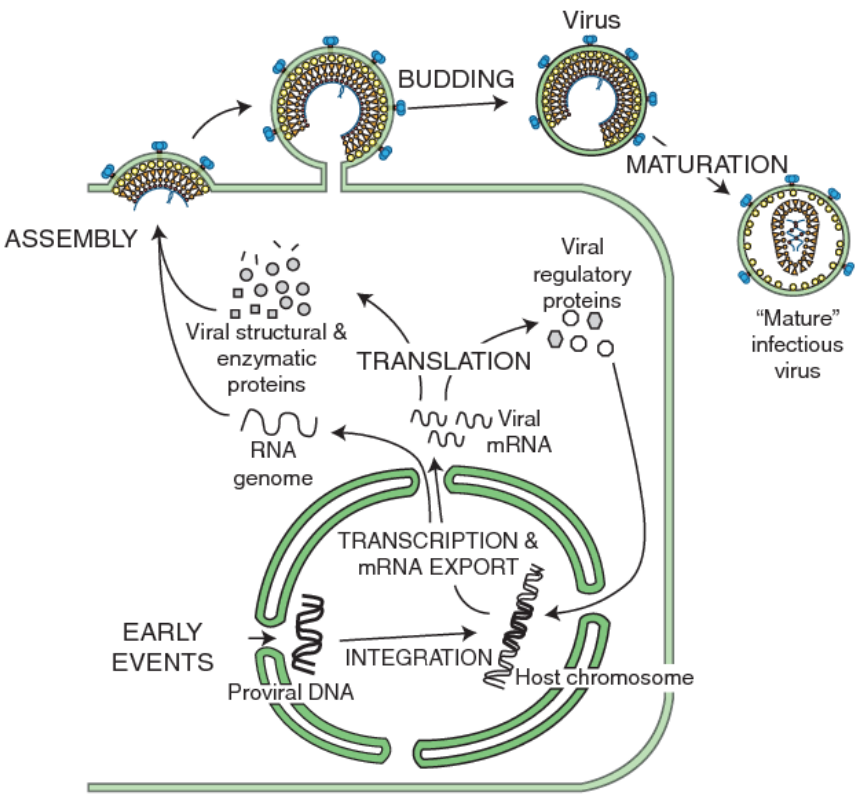
با پیوند شاخه‌های کلترین‌ها با یکدیگر، پوشش کروی سختی بر روی غشا ایجاد می‌شود. با تشکیل این قفس غشای دربرگیرنده آن به اندازه انحنای قفس ایجاد شده دچار انحنای موضعی می‌شود. اهمیت کلاترین تا آنجاست که یکی از تقسیم‌بندی های مرسوم برای توصیف فرایندهای درون‌بری، فرایندهای وابسته به کلاترین و فرآیندهای غیر وابسته به آن است. در شکل ۱۱.۱ پروتئین کلترین و نحوه تشکیل آبدانک در یک فرآیند درون‌بری وابسته به کلترین به صورت شماتیک نمایش داده شده. در جریان شکل‌گیری آبدانک، علاوه بر ایجاد قفس خودچین کلترین، در قسمت پایینی قفس تغییر انحنای غشا به کمک پروتئین‌های دیگر مانند پروتئین‌های BAR صورت می‌گیرد.



شکل ۱۱.۱: قفس خودچین کلترین [۳۳]

جوانه زدن [۱۶] ویروس HIV-۱ مثال دیگری از این نوع فرآیند است. پروتئین‌های سازنده کپسید ویروس با تشکیل خود به خودی و خودچین بر روی غشای سلولی انحنای کپسید نهایی را به غشا تحمیل می‌کنند. (شکل ۱۲.۱)

[۱۶] Budding



شکل ۱۲.۱: مراحل جوانه زدن ویروس HIV-۱ [۱۳]

علاوه بر روش‌های بالا در برخی مطالعات پیشین نشان داده شده که در مورد برخی محموله‌ها خود محموله بدون کمک پروتئین‌ها و سایر عوامل کمکی توانسته‌است غشا را دور خود بپوشاند. به عنوان مثال در مورد ذرات کلوئیدی باردار، [۵] و آلفاویروس‌های پیش‌ساخته [۱۷] و رتروویروس های نوع D [۶، ۷] خمش غشا بدون کمک پروتئین‌های غشا صورت می‌گیرد.

۴.۱ طرح مسئله

تمرکز این پایان نامه، بر بسته‌بندی آن دسته از محموله‌هایی است که در فرآیند ترافیک سلولی، بدون احتیاج به عوامل کمکی و تنها به دلیل جاذبه میان خود محموله و غشا، موفق به تغییر شکل غشا می‌شوند. فهم این مساله می‌تواند در شناخت ساز و کار حمله برخی ویروس‌ها به سلول و همچنین گسترش داروهای مولکولی مفید باشد. از آنجا که مسئله بسته‌بندی تعداد زیاد نانوذرات توسط غشا، دارای اجزای بسیار زیاد و همچنین مقیاس بزرگ است، شبیه‌سازی های ریزمقیاس

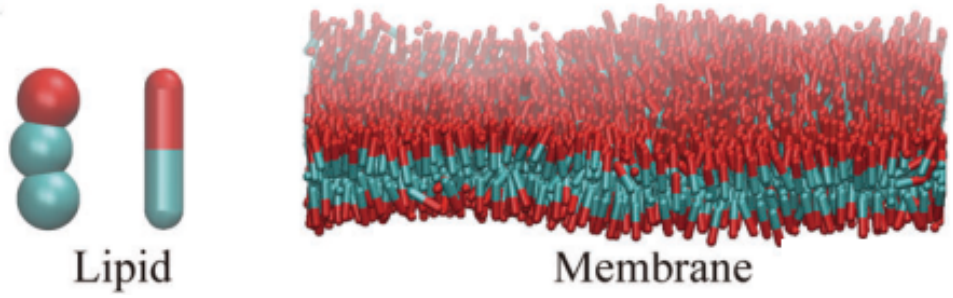
[۱۷] pre-assembled

برای بررسی آن عملاً از لحاظ هزینه محاسباتی غیرممکن است. به همین دلیل شبیه‌سازی‌هایی که در این خصوص انجام می‌شوند از مدل‌های درشت‌دانه شده استفاده می‌کنند. همان‌طور که در مقدمه نیز اشاره شد، با قرارگرفتن دم آب‌گریز مولکول‌های چربی رورروی یکدیگر یک پوسته‌ی دو بعدی ایجاد می‌شود. ضخامت دولایه از مولکول‌های چربی از مرتبه نانومتر و طول جانبی غشا ار مرتبه میکرون است. غشا در برابر افت و خیز گرمایی بسیار انعطاف پذیر است و در برابر خمش و کشش مقاومت نشان می‌دهد. همچنین مولکولهای چربی روی سطح غشا توانایی پخش شدن [۱۸] دارند و می‌توانند بدون هزینه انرژی جابه‌جا شوند. مجموع این خواص باعث شده غشاها به صورت مایع دوبعدی رفتار کنند. هرگونه شبیه‌سازی از غشاها باید بتواند خواص فوق را بازنمایی کند. به طور کلی مدل‌های درشت‌دانه برای شبیه‌سازی غشای لیپیدی به دو دسته کلی تقسیم می‌شوند: [۱۵]

۱. مدل‌های ذره‌ای:

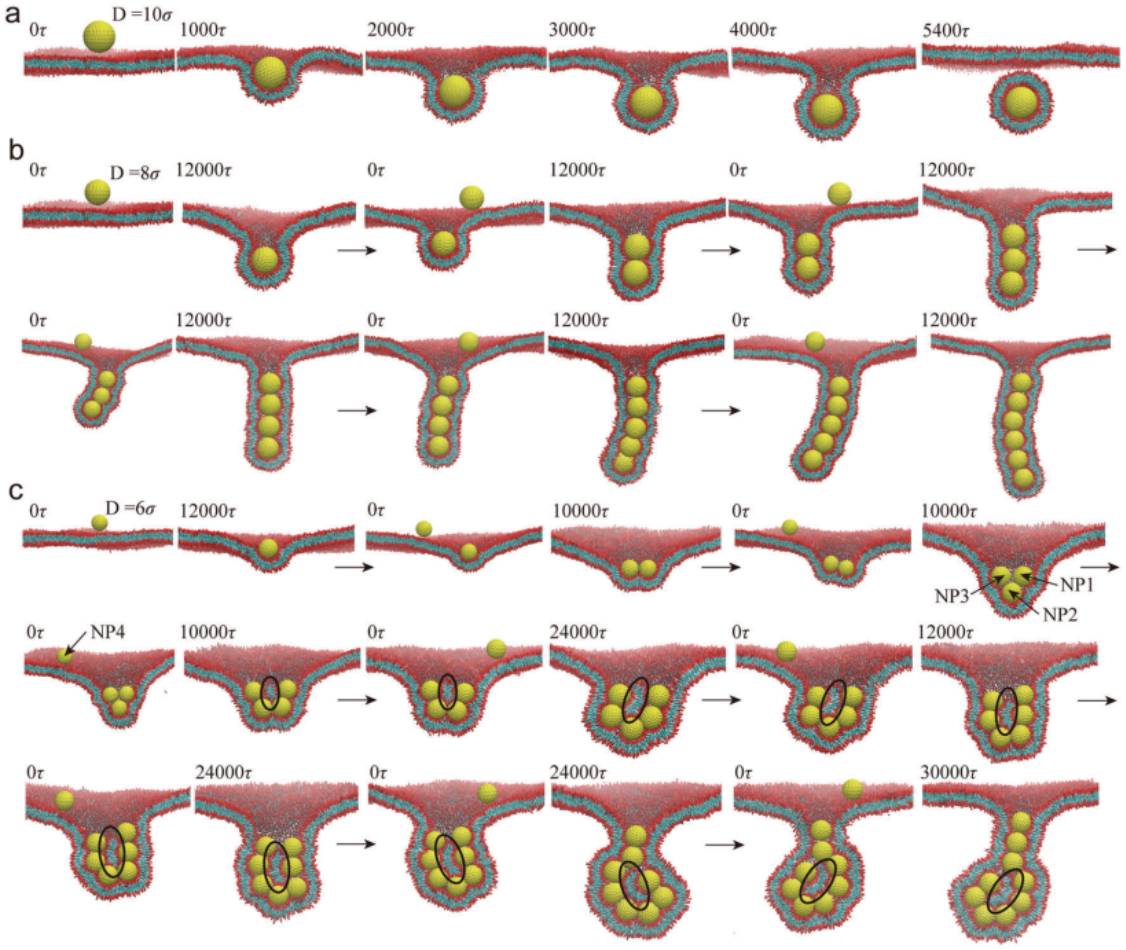
در این نوع شبیه‌سازی، مولکول‌های لیپید با دو نوع ذره متفاوت آب‌گریز و آب دوست مدل می‌شوند و پتانسیل مناسب برای بازنمایی خواص غشا بین آنها اعمال می‌شود. اندازه این ذرات بسته به مقیاس درشت‌دانه‌سازی شدن مدل از ابعاد یک آنگستروم در شبیه‌سازی های تمام-اتم تا یک نانومتر متفاوت است. همچنین محیط آبی که غشا درون آن قرارگرفته به صورت صریح یا ضمنی وارد شبیه‌سازی می‌شود. با کاهش مقیاس درشت‌دانه بودن مدل (تا رسیدن به حد نهایی شبیه‌سازی تمام-اتم)، هزینه محاسباتی برای بررسی ابعاد یکسان افزایش خواهد داشت. در شکل ۱۳.۱ تصویری از مدل ذره‌ای برای شبیه‌سازی غشا در [۱۶] نمایش داده شده‌است.

[۱۸] diffusion



شکل ۱۳.۱: شبیه‌سازی درشت‌دانه ذره‌ای غشا [۱۶]

در این پژوهش، Xiong و همکارانش، به کمک شبیه‌سازی دینامیک مولکولی و استفاده از مدل ذره ای برای غشا مساله بسته‌بندی تعدادی نانوذره در برهمکنش با غشا را بررسی کرده اند. آنها با اعمال کشش سطحی ثابت بر روی سطح غشا و ثابت نگه داشتن فشار، با تعریف برهمکنش لنارد جونز بین غشا و سه نوع نانوذره در هندسه های متفاوت، دینامیک و شکل نهایی پوشش نانوذرات را بررسی کرده اند. در شکل ۱۴.۱ نتایج شبیه‌سازی‌های این پژوهش برای نانوذرات کروی قابل مشاهده است. نتایج این پژوهش نشان می‌دهند که با کوچکتر شدن ابعاد ذره، بسته‌بندی های چندتایی نانوذرات در اشکال مختلف لوله‌ای و کیسه‌ای شکل صورت می‌گیرد.



شکل ۱۴.۱: نتایج شبیه‌سازی گزارش شده در مقاله [۱۶]
برای برهمکنش تعداد مختلف نانوذره با غشا- نانوذرات کروی در نظر گرفته شده اند و از بالا به پایین اندازه آن‌ها کوچکتر شده‌است

۲. مدل‌های پیوسته:

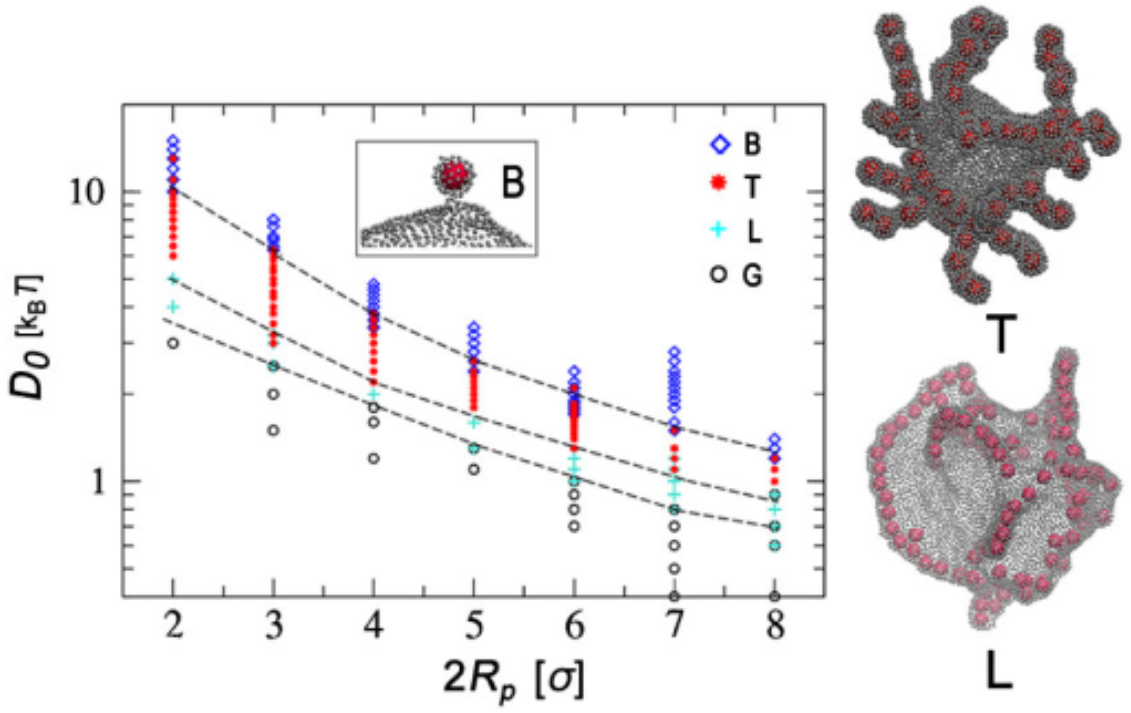
در این نوع مدل‌ها، غشا به عنوان یک پوسته دوبعدی در نظر گرفته می‌شود. چنین کاری به دلیل ناچیز بودن ضخامت غشا در مقایسه با سطح آن مجاز است. به این ترتیب هر ناحیه غشا نماینده تعداد زیادی مولکول است که رفتار آنها توسط پتانسیل‌های موثری که به نوعی برآیند برهم‌کنش های بین تعداد زیادی مولکول است،توصیف می‌شود. المان‌بندی فضا می‌تواند به صورت مش‌بندی و یا بدون مش صورت بگیرد.

انرژی آزاد غشای بدون لبه از رابطه زیر می‌آید:

$$F = \int \left[\gamma + \frac{\kappa}{2}(C_1 + C_2)^2\right] dA \qquad (۴,۱.۱)$$

در رابطه فوق، γ کشش سطحی، κ ضریب سختی خمشی، و C_1 و C_2 انحناهای اصلی [۱۹] پوسته در هر نقطه آن هستند. انتگرال گیری روی سطح غشا انجام می‌گیرد. [۱۷] مدل‌های پیوسته تلاش می‌کنند انرژی آزاد فوق را بازنمایی کنند. به عنوان مثال، در مقاله Saric و Cacciuto [۲۵] انرژی آزاد فوق بر روی مدل پیوسته مش‌بندی شده از غشا در حضور نانوذراتی که با آن برهمکنش می‌کنند و به کمک شبیه‌سازی مونت کارلو، کمینه شده است. پیکربندی های دلخواه سیستم به لحاظ انرژي برای پارامترهای متفاوت در شکل ۱۵.۱ گزارش شده است.

[۱۹] principal curvature



شکل ۱۵.۱: نتایج شبیه‌سازی مونت کارلو- مدل غشای پیوسته [۲۵]

در این شبیه‌سازی نانوذرات، با کره هایی با شعاع R_p مدل شده اند که با مش مثلث بندی شده غشا برهمکنشی با پتانسیل

$$V_{att}(r) = -D_0(\frac{\sigma}{r})^6$$

دارند. پیکربندی‌های مشاهده شده در این شبیه سازی به چهار دسته کلی تقسیم می شوند:

- پیکربندی های گازی شکل (G) که در آنها نانوذرات به صورت پراکنده درون غشای کروی قرار دارند.
- پیکربندی های خطی (L) که در آنها نانوذرات به صورت پیوسته و رشته ای روی سطح داخلی غشا قرار می گیرند.
- پیکربندی های لوله ای شکل (T) که در آنها نانوذرات لوله هایی عمود بر سطح غشا ایجاد می کنند.
- پیکربندی های ناشی از جوانه زدن (B) که در آنها هر تک نانوذره غشا را به طور

کامل دور خودش پوشانده است.

در شکل ۱۵.۱ هر کدام از این انواع پیکربندی ها در قاب های جداگانه نشان داده شده‌اند. نتایج این مقاله نشان می‌دهد برای نانوذراتی با اندازه مشخص، هر چه قدرت چسبندگی نانوذره–غشا افزایش یابد، پیکربندی مطلوب برای سیستم به ترتیب از حالت گازی به حالت خطی ، لوله ای و سپس جوانه زدن تغییر خواهد کرد. همچنین برای اندازه های بزرگتر نانوذرات، قدرت چسبندگی کمتری برای بسته‌بندی ذرات لازم است.

در این پژوهش هدف اصلی مشاهده دینامیک تغییر حالت سیستم بعد از برهمکنش تعدادی نانوذره با غشا بوده است که این کار به کمک بسته نرم افزاری سلول مجازی [۲۰] انجام شده است. مدل استفاده شده برای شبیه‌سازی غشا در این بسته، مدل پیوسته با مش‌بندی مثلثی است که در فصل بعد به توصیف آن می‌پردازیم.

[۲۰] Virtual Cell Model

فصل ۲

روش شبیه سازی

۱.۲ شبیه سازی دینامیک مولکولی

دینامیک مولکولی یک روش شبیه‌سازی شامل حل قدم به قدم معادله حرکت کلاسیک دستگاهی از ذرات است. برای یک دستگاه ساده از ذرات داریم:

$$m_i \ddot{r}_i = f_i \tag{۱,۱.۲}$$

$$f_i = -\frac{\partial}{\partial r_i} U \tag{۱,۲.۲}$$

برای حل عددی این معادلات لازم است در هر مرحله بتوانیم نیروهایی که به هر ذره وارد می شوند را محاسبه کنیم. به این منظور برهمکنش های میان ذرات را ”حدس” می زنیم تا بتوانیم خواص کل سیستم را به صورت دقیق پیش‌بینی کنیم. دقت پیش‌بینی به این معناست که مادامی که توان محاسباتی اجازه دهد، می توانیم به مقدار دلخواه جواب را دقیق کنیم. [۸] برهمکنش بین ذرات، باید به گونه‌ای انتخاب شوند که کل سیستم رفتاری منطبق بر مشاهده‌های آزمایشگاهی و فیزیکی انجام دهد. در واقع شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، مشابه یک آزمایشگاه مجازی عمل می‌کند که به دلیل دسترسی به اجزای درونی کل سیستم اطلاعات بیشتری از مشاهده آزمایشگاهی به

دست می‌دهد. در شبیه سازی درشت دانه شده، ذرات برهم‌کنش کننده دیگر اتم‌ها نیستند. بسته به مقیاس درشت‌کردن سیستم، این ذرات می‌توانند مجموعه ای از مولکول‌ها و یا اجزای مدل فیزیکی‌ای باشند که سیستم را توصیف می‌کند.

یکی از الگوریتم‌های معمول در شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی، الگوریتم ورله سرعتی [۱] است که به نحو زیر عمل می‌کند:

$$x(t+\Delta t) = x(t) + v(t)\Delta t + \frac{1}{2}a(\Delta t)^2 \qquad (۱,۳.۲)$$

،

$$v(t+\Delta t) = v(t) + \frac{a(t)+a(t+\Delta t)}{2}\Delta t \qquad (۱,۴.۲)$$

در عبارات بالا، $x(t)$ ، $v(t)$ و $a(t)$ به ترتیب مکان، سرعت، و شتاب هر ذره در لحظه t هستند و Δt طول زمانی انتگرال گیری است که به آن قدم زمانی MD می‌گوییم. الگوریتم ورله سرعتی انرژی سیستم را ثابت نگه می‌دارد و به این ترتیب برای شبیه سازی‌های میکروکانونیکال مناسب است. اما شبیه‌سازی های محیط‌های زیستی باید در شرایطی صورت بگیرد که سیستم با کل محیط زیستی در تعادل ترمودینامیکی باشد. بنابراین در این شبیه‌سازی ها، به جای انرژی کل، دما و در نتیجه آن متوسط انرژی جنبشی ذرات سیستم باید ثابت بماند. برای این منظور می‌توان بدون تغییر الگوریتم سرعتی، توابع ترموستاتی تعریف کرد که بعد از سپری شدن تعداد معینی از قدم‌های MD ، اجرا شده و متوسط انرژی سیستم را کنترل کنند. ساده ترین ترموستات مورد استفاده، ترموستات مقیاسی [۲] است که به نحو زیر عمل می‌کند:

ابتدا دمای اولیه سیستم با محاسبه انرژی جنبشی کل و استفاده از قضیه همپاری انرژی [۳] محاسبه

[۱] velocity-verlet

[۲] rescaling thermostat

[۳] equipartition theorem

می شود:

$$K_B T_{init} = \frac{\sum_i m_i (V_i - V_{COM})^2}{3(N-1)} \qquad (۱,۵.۲)$$

که در رابطه بالا N تعداد ذارت، m_i جرم هر ذره، V_i سرعت آن، و V_{COM} سرعت مرکز جرم سیستم است. سپس ضریب تصحیح $\alpha = \sqrt{\frac{T}{T_{init}}}$ در سرعت نسبی هر ذره نسبت به مرکز جرم ضرب می‌شود. به این ترتیب با جایگزینی سرعت‌های جدید در رابطه همپاری انرژی، دمای به دست آمده برابر با دمای مطلوب T خواهد شد. ترموستات مقیاسی اگرچه دما را ثابت نگه می‌دارد اما از جهت آن که نمی تواند حرکات کاتوره‌ای ذرات در اثر افت و خیز دمایی را شبیه‌سازی کند، برای شبیه‌سازی ذرات در محیط سیال چندان مناسب نیست. یکی از روش های مرسوم برای حل این مشکل استفاده از دینامیک لانژوین [۴] به جای معادلات کلاسیک حرکت ذرات است. دینامیک لانژون از معادلاتی به شکل زیر پیروی می‌کند:

$$F(q_i) = m_i \frac{d^2 q_i(t)}{dt^2} + \lambda p_i - Ri(t) \qquad (۱,۶.۲)$$

در رابطه بالا $F(q_i)$ نیرویی است که از طرف سایر ذرات به ذره‌ای با جرم m_i اعمال می‌شود که مکان و تکانه‌اش به ترتیب با qi و pi برچسب خورده‌است. معادله فوق تصحیحی از معادله نیوتن با دو جمله اضافه است. ضریب λ در جمله دوم سمت راست معادله، ضریب تلف است و نقش اصطکاک را ایفا می‌کند و بیانگر این است که سیستم در برخورد با حمام گرمایی چقدر دچار تلف می‌شود. هر چه λ بزرگتر باشد دینامیک سیستم کندتر خواهد بود. بنابراین باید λ را کمینه مقداری انتخاب کرد که دما را ثابت نگه می‌دارد. $R_i(t)$ نیز نیرویی تصادفی است که در اثر برخود ذرات سیستم با حمام گرمایی به هر ذره وارد می‌شود. [۱۴] رابطه λ و $R_i(t)$ مطابق

[۴] Langevin dynamics

قضیه افت و خیز-تلف [۵] تعیین می‌شود:

$$\langle R_i(t)\rangle = 0 \quad , \int \langle R_i(0)R_i(t)\rangle\, dt = 6k_BT\lambda_i \qquad (۱,۷.۲)$$

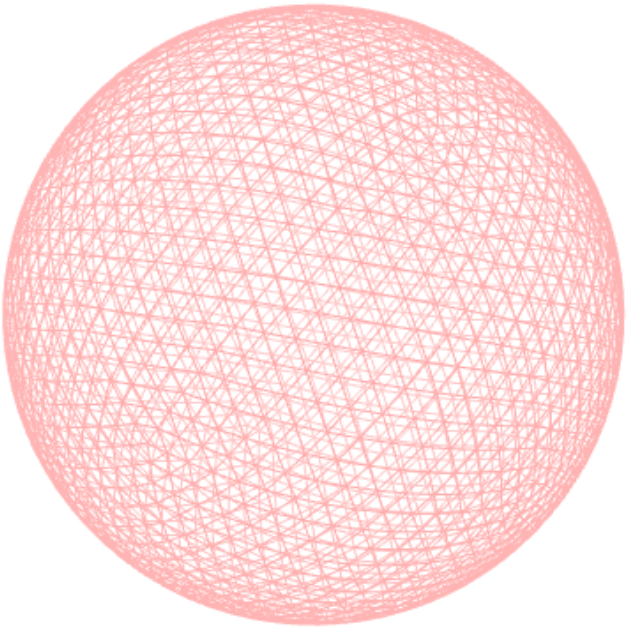
به این ترتیب با حل معادله دیفرانسیل تصادفی لانژون می‌توان سیستم غوطه‌ور در حمام گرمایی را شبیه‌سازی کرد. در طی فرایند شبیه‌سازی دینامیک‌مولکولی، بسته به سیستم مورد نظر و شرایط ترمودینامیکی حاکم بر آن طیف متنوعی از ترموستات‌ها و باروستات‌ها به کار گرفته می‌شوند. برای سیستم زیستی ترموستات لانژون انتخاب مناسبی خواهد بود. شبیه‌سازی‌های انجام شده در این پروژه در بستر برنامه مدل سلول مجازی [۶] انجام شده‌اند که در گروه ماده چگال نرم دانشکده فیزیک دانشگاه صنعتی شریف نوشته شده است. در این برنامه ترموستات مقیاسی، ترموستات لانژون، ترموستات براونی و ترموستات بوسی قابلیت اجرا دارند. برای شبیه‌سازی‌های مربوط بسته‌بندی نانوذرات توسط غشااز دینامیک لانژون بهره‌برده‌ایم. در قسمت بعدی به معرفی اجزای مورد استفاده در مدل شبیه‌سازی می‌پردازیم.

۲.۲ مدل سازی غشای لیپیدی

غشای لیپیدی در برنامه سلول مجازی با یک مش کروی مثلثی دوبعدی مدل شده است. (شکل ۱.۲) به نقاط روی مش جرم m نسبت داده می‌شود. هر دو نقطه‌ای که با یک یال مثلث به یکدیگر متصل باشند، از طریق پتانسیل فنری به یکدیگر نیرو وارد می‌کنند. همچنین انرژی خمشی میان هر دو مثلث همسایه تعریف می‌شود. برنامه سلول مجازی می‌تواند از مش‌های مثلثی تولید شده توسط برنامه Gmsh [۲۳] و Blender [۲۴] استفاده کند. پوسته دوبعدی غشا توسط مثلث‌ها گسسته سازی شده است. به این ترتیب انحنای یک ناحیه کوچک پوسته با اختلاف زاویه میان بردار نرمال یک مثلث با مثلث‌های همسایه اش تقریب زده می‌شود. هر چه تعداد مثلث‌ها برای یک پوسته با مساحت ثابت بیشتر باشد این تقریب دقیق‌تر خواهد بود.

[۵] Fluctuation-dissipation theorem

[۶] Virtual Cell Model



شکل ۱.۲: غشای مثلثی- برنامه سلول مجازی

برای دو مثلث همسایه که در شکل ۲.۲ نمایش داده شده‌اند، انرژی پتانسیل خمشی به صورت زیر تعریف می شود:

$$U_{bend} = k_{bend} cos(dihedral(p_1, p_2, p_3, p_4)) \qquad (۲,۸.۲)$$

در رابطه بالا k_{bend} ضریب پتانسیل خمشی است که با سختی خمشی غشا متناسب است. p_1 تا p_4 ذراتی هستند که در رئوس دو مثلث همسایه قرار گرفته اند. زاویه dihedral میان این چهار ذره در واقع تعیین می کند که دو صفحه گذرنده از آن‌ها چه زاویه‌ای با هم تشکیل می‌دهند. اگر معادله گذرنده از صفحه ها را به صورت زیر داشته باشیم:

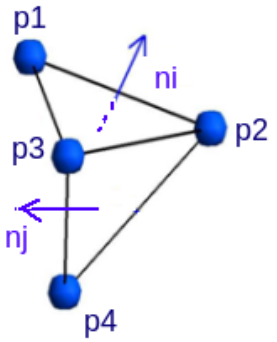
$$a_1x + b_1y + c_1z + d_1 = 0$$

$$a_2x + b_2y + c_2z + d_2 = 0$$

زاویه dihedral به این نحو محاسبه می‌شود:

$$cos\phi = \frac{|a_1a_2 + b_1b_2 + c_1c_2|}{\sqrt{a_1^2 + b_1^2 + c_1^2}\sqrt{a_2^2 + b_2^2 + c_2^2}} \qquad (۲,۹.۲)$$

ضرایب صفحه با ضرب خارجی بردارهای یال مثلث‌ها به دست می‌آیند. با این تعریف، کمینه حالت انرژی خمشی میان دو مثلث وقتی رخ می دهد که دو مثلث با یکدیگر زاویه ۱۸۰ درجه بسازند و در یک صفحه قرار بگیرند. ضریب سختی خمشی در شبیه‌سازی‌های ما در بازه ی ۱۰ تا ۲۰ برابر k_BT انتخاب شده‌است. این عدد برای داشتن یک آبدانک کروی در حالتی که غشا به صورت تنها شبیه‌سازی می‌شود مناسب است و در بازه اعدادی است که برای غشاهای کروی در آزمایشگاه معرفی شده.



شکل ۲.۲: دو مثلث مجاور و نقاط درگیر در آن

۱.۲.۲ پتانسیل کششی

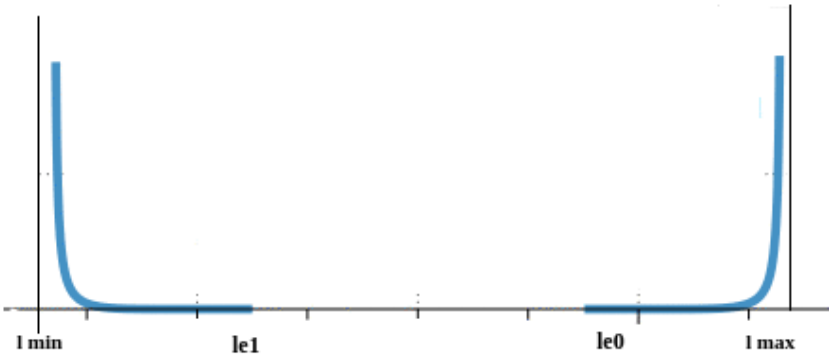
برای بازنمایی کشش سطحی غشا، بین هر دو نقطه‌ای از مش که توسط یک یال به یکدیگر متصل باشند، یک فنر تعریف شده‌است. فنری که پیشتر در VCM برای شبیه‌سازی های غشا از آن بهره برده می‌شد، فنر FENE [۷] بوده است. فنر FENE یک پتانسیل غیرخطی کششی روی یک باند تعریف می‌کند که به کمک پتانسیل‌هایی که در کمینه و بیشینه طول، رفتار مجانبی

[۷] Finite Extensible Nonlinear Elastic

دارند، اجازه نمی‌دهد طول باند از محدوده ای معین خارج شود. پتانسیل فنر FENE مورد استفاده در VCM به صورت زیر تعریف شده است:

$$U_{FENE}(r_{ij}) = \begin{cases} k\frac{\exp\frac{1}{l_{e0}-r_{ij}}}{l_{max}-r_{ij}}\Theta(r_{ij}-l_{e0}) & \text{attractive} \\ k\frac{\exp\frac{1}{r_{ij}-l_{e1}}}{r_{ij}-l_{min}}\Theta(l_{e1}-r_{ij}) & \text{repulsive} \end{cases} \quad (۲,۱۰.۲)$$

در شکل ۳.۲ نمودار پتانسیل FENE به صورت شماتیک دیده می‌شود. در این پتانسل علاوه بر رفتار مجانبی در کمینه و بیشینه طول مجاز، یک ناحیه آزاد در نظر گرفته شده که چنانچه اندازه فاصله دو ذره در آن محدوده قرار بگیرد، نیرویی از جانب یکدیگر احساس نمی‌کنند و می‌توانند آزادانه حرکت کنند. این محدوده توسط l_{e1} و l_{e0} تعیین می‌شود. همچنین l_{min} و l_{max} حد نهایی میزان طول باند را معلوم می‌کنند. در عبارت بالا Θ تابع پله است و k سختی فنر را تنظیم می‌کند. پتانسیل معرفی شده برای فنر FENE در گذر از ناحیه آزاد به ناحیه مجانبی به صورت نرم رفتار می‌کند تا مشتق آن که معرف نیروست، فیزیکی باشد.



شکل ۳.۲: پتانسیل FENE

پتانسیل FENE با رفتار فیزیکی مولکولهای چربی در غشا همخوانی دارد: مولکولهای چربی غشا نمی‌توانند درون هم فرو بروند، بنابراین به نیرویی دفعی در فواصل بسیار نزدیک برای توصیف آن‌ها نیازمندیم. همچنین این مولکول‌ها در سطح غشا خاصیت پخشی دارند بنابراین در مجاورت یکدیگر می‌توانند به صورت آزادانه حرکت کنند که این رفتار آنها با ناحیه آزاد

پتانسیل توصیف می‌شود. از طرفی رفتار پخشی مولکولهای چربی باعث نمی‌شود که دو ذره مجاور در زمانهای قابل مشاهده، در فواصل بسیار دور از یکدیگر قرار بگیرند. بنابراین به کمک نیروی جاذبه در پتانسیل FENE می‌توان این فاصله را کنترل کرد.

این پتانسیل در شبیه‌سازی های که مستقیماً خاصیت مایع بودن غشا دخیل نباشد، به نحو قابل قبولی عمل می‌کند. اما در صورت استفاده از خاصیت پخش رئوس برای بازنمایی خاصیت مایع گون بودن غشا دیگر کارآمد نیست. (زیربخش ۳.۲.۲) بنابراین در شبیه‌سازی‌های این پژوهش بین هر دو راس متصل به یک یال از فنر هارمونیک استفاده شده است:

$$U_{bond} = \frac{1}{2}k_{bond}(r_{ij} - l_0)^2 \qquad (۲,۱۱.۲)$$

r_{ij} فاصله نقطه i و j از یکدیگر است که توسط یک یال به یکدیگر متصلند. k_{bond} بسته به متوسط طول باندهایی که مش ورودی دارد به نحوی انتخاب می‌شود که انرژی فنرها از مرتبه k_BT باشد. l_0 نیز برابر با متوسط طول یال‌های مش قبل از شروع شبیه‌سازی در نظر گرفته می‌شود.

۲.۲.۲ پتانسیل Excluded Volume

در واقعیت فیزیکی، مولکول‌های لیپید غشا در یکدیگر فرو نمی‌روند. در شبیه‌سازی‌هایی که شکل غشا به طرز قابل توجهی تغییر نمی‌کند، فنرهای باند فاصله نقاط از یکدیگر را کنترل می‌کنند و مانع از این می‌شوند که دو نقطه از مش بیش در هم فرو روند. اما در مساله تغییر شکل غشا، ممکنه است چین‌خوردگی‌های غشا باعث آن شود که غشا روی خودش تا بخورد و ذراتی که با یکدیگر اتصال باندی ندارند، در فاصله بسیار نزدیک از هم قرار بگیرند. در چنین موردی برای جلوگیری از فرو رفتن غشا در خودش، میان ذرات غیر متصل پتانسیل Excluded

Volume به صورت زیر تعریف می‌شود:

$$U_{ev} = \epsilon_{ev}(\frac{\sigma}{r_{ij}})^{12} \qquad (۲,۱۲.۲)$$

در رابطه بالا r_{ij} فاصله هر دو نقطه‌ای از مش است که با یکدیگر پیوندی ندارند. σ مشخص می‌کند که ذرات از چه فاصله‌ای نمی‌توانند به یکدیگر نزدیک شوند. این فاصله برابر نصف کمینه طول باند مش اولیه قبل از شروع شبیه‌سازی در نظر گرفته می‌شود. ϵ_{ev} بسته به مش مورد استفاده در شبیه‌سازی تنظیم می‌شود. در شبیه‌سازی‌های این پروژه $\epsilon_{ev} = 10$ در نظر گرفته‌شده. نقاط غیر متصلی از مش که فاصله شان از یکدیگر کمتر از 2.5σ شود، تحت پتانسیل Excluded Volume قرار می‌گیرند.

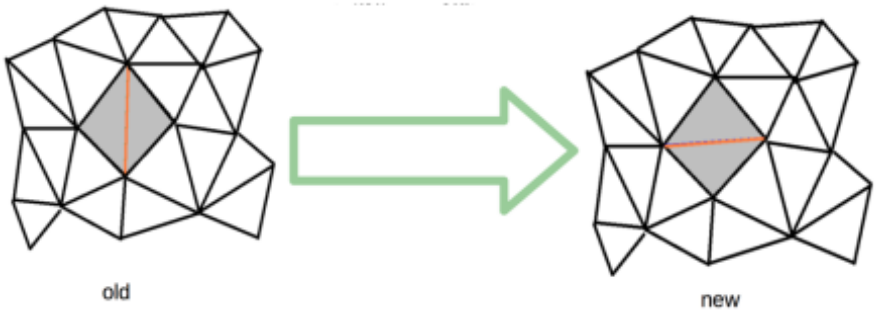
۳.۲.۲ پخش رئوس

اگر مدل‌سازی را تنها به پتانسیل‌های کششی بین یال‌ها و پتانسیل خمشی بین مثلث‌های همسایه منحصر کنیم، رویه‌ای تولید کرده‌ایم که هر گونه تغییر شکلی در آن کشسان خواهد بود. اما چنان که پیشتر هم گفته شد، غشاهای زیستی به دلیل خاصیت پخش مولکول‌های لیپید بر روی سطح، خاصیت مایع‌گونه دارند. برای بازنمایی این ویژگی غشاها، بعد از تعداد معینی گام MD ، به کمک تلاش‌های مونت کارلو سعی می کنیم یال مشترک بین دو مثلث همسایه را کنیم. به این ترتیب برای دو راسی که در مش‌بندی اولیه با یکدیگر پیوند داشته‌اند این احتمال فراهم می‌آید که از هم آزاد شوند. در شکل ۴.۲ نحوه تغییر یال مشترک نمایش داده‌شده. مثلث‌های همسایه به صورت تصادفی انتخاب می‌شوند.

احتمال پذیرفته شدن این تغییر در مش به اختلاف انرژی پیکربندی اولیه و نهایی بستگی دارد:

$$P_{old\rightarrow new} = max\{exp(-(\frac{U_{new} - U_{old}}{k_B T})), 1\} \qquad (۲,۱۳.۲)$$

تغییر انرژی پیکربندی ناشی از تغییر انرژی کششی (به دلیل تغییر طول پیوند) و تغییر انرژی خمشی (به دلیل عوض شدن مثلث‌های همسایه) است. واضح است که اگر تغییر یال باعث



شکل ۴.۲: [۱۵] جابه‌جایی یال مشترک دو مثلث همسایه

کاهش انرژی پیکربندی شود، تلاش مونت کارلو حتما پذیرفته خواهد شد. به این ترتیب غشا می‌تواند با دمپ کردن تنش‌های بیرونی تغییر شکل‌های غیرکشسان داشته باشد.

۳.۲ مدل سازی نانوذرات

ذرات مورد نظر در این شبیه‌سازی، ویروس‌های پیش‌ساخته [۸] ، ذرات شبه ویروس و ذرات کلوئیدی است. منظور از ویروس‌های پیش‌ساخته، آن دسته از ویروس‌هایی است که قبل از برهمکنش با غشا شکل یافته‌اند. به طور مثال ویروس HIV-۱ که پروتئین‌های سازنده کپسید آن بعد از اتصال به غشا به طور خودچین به شکل یک قفس پروتئینی در می‌آیند مورد مطالعه این پژوهش نیست.

ابعاد ذرات مورد بررسی عموماً یک مرتبه بزرگی بزرگتر از پروتئین‌ها و در مرتبه نانومتر است. بسیاری از این ذرات انعطاف پذیری به مراتب کمتری از غشا در مقابل افت و خیزهای گرمایی دارند و در مقایسه با غشای سلولی صلب هستند. به این ترتیب درجات آزادی آنها بسیار کمتر است و تنها می توانند حرکت انتقالی و یا چرخشی حول مرکز جرمشان انجام دهند. برای مدل‌کردن آنها می‌توان کلاس متفاوتی تعریف کرد که نیروها و گشتاورهای ناشی از برهمکنش با غشا به نحو مناسبی بین نقاط تشکیل دهنده پخش می‌شود. اما ما در این پروژه ذرات را به نحو

[۸] preassembled viruses

مشابهی با غشا با یک مش مثلثی تعریف کرده‌ایم. اما ضرایب سختی خمشی و کششی آن‌ها به قدری سخت انتخاب شده‌اند که پتانسیل بین نقاط یک نانوذره از مرتبه ۱۰۰ برابر k_BT باشد. به این ترتیب مطمئن خواهیم‌بود که ذره در اثر افت و خیزهای گرمایی و همچنین برهمکنش با غشا تغییر شکل نداده و تقریباً صلب باقی می‌ماند. به خاطر صلب بودن نانوذرات مورد بررسی نیازی به تعریف پتانسیل Excluded Volume بین نقاط تشکیل دهنده مش یک ذره نیست. اما برای جلوگیری از درهم فرورفتن نانوذرات متفاوت پتانسیل زیر بین نقاط دو نانوذره تعریف می‌شود:

$$U_{np-np} = (\frac{\sigma}{r_{ij} - \sigma})^{12} \qquad (۳,۱۴.۲)$$

برای تعیین σ به نقاط هر نانوذره یک شعاع نسبت داده می‌شود و σ برابر با میانگین شعاع نقاط دو نانوذره خواهد بود. اندازه شعاع نقاط با توجه به اندازه مش تعیین می‌شود.

۴.۲ برهمکنش غشا-نانوذرات

برهمکنش میان ذرات نانوذرات و غشا توسط یک پتانسیل لناردجونز تنظیم می‌شود:

$$\epsilon \left((\frac{\sigma_{LJ}}{r_{ij}})^{12} - 2(\frac{\sigma}{r})^{6} \right)$$

برهمکنش لنارد جونز برای مدلسازی برهکنشهای کوتاه برد میان نانوذرات و غشا، نظیر برهمکنش لیگاند-گیرنده، مناسب است.

۵.۲ سهم این پژوهش در توسعه و تغییرVCM

VCM برنامه‌ای است که به صورت شیء گرا نوشته شده. بنابراین برای هر جزء قابل شبیه‌سازی در برنامه، کلاس متفاوتی وجود دارد که اعضای آن را متغیرها و توابع مختص آن جزء تشکیل می‌دهند. برای شبیه‌سازی های این پایان نامه منحصراً از کلاس Membrane استفاده شده که توابع و متغیرهای مربوط به مدل فیزیکی غشا و همچنین نانوذرات را در بر می‌گیرد و بیشترین تغییرات و همچنین توسعه مدل در توابع این کلاس صورت گرفته است. در ادامه مختصرا به این تغییرات اشاره خواهیم‌کرد.

- تبدیل کد از ساختار ماژولار به ساختار شیء گرا

  در نسخه اولیه VCM در زمان شروع این پژوهش، توابع مختلفی برای خواندن اطلاعات مش ورودی، محاسبه نیروی کششی و خمشی و سایر ویژگی‌های غشا تعریف شده بود که در یک حلقه سراسری در قسمت اصلی برنامه فراخوانی می‌شدند. با تغییر ساختار VCM به ساختاری شیء گرا، کلاس Membrane ایجاد شد و تمامی متغیرها و توابع مربوط به غشا، پس از تغییر و اصلاح و بهینه شدن برای اجرا در ساختار شیء گرا به آن انتقال یافت. به این ترتیب VCM قابلیت تعریف همزمان چندین نمونه از کلاس Membrane ، در اندازه‌ها و با پارامترهای نیروی مختلف را پیدا کرد که فراخوانی هر تابع با توجه به نمونه‌ی ایجاد شده از کلاس می تواند صورت پذیرد یا نپذیرد. به عنوان مثال، در شبیه‌سازی‌های ما تابع پخش نقاط برای ایجاد غشای مایع، تنها برای نمونه‌ی نماینده غشای لیپیدی فراخوانده می‌شود و در مورد سایر نمونه‌های کلاس، که نانوذرات را نمایندگی می‌کنند، این تابع فراخوانی نمی‌شود.

- تنظیم خودکار پارامترهای نیروی کششی برای مش‌هایی با سایز مختلف

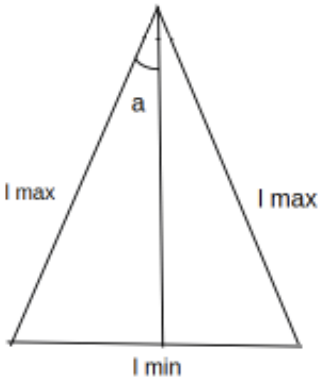
  پیش از شروع این پژوهش توابع کلاس Membrane تنها برای شبیه‌سازی یک غشای لیپیدی به عنوان قسمتی از یک سلول کلی به کار گرفته می‌شد. پارامترهای پتانسیل نیروی کششی برای یک مش معین در اندازه و تعداد نقاط مشخص تنظیم شده بود و برای استفاده از مش‌های جدید در اندازه‌های دیگر، تنظیمات باید به صورت دستی صورت می‌گرفت. در روند انجام این پایان‌نامه، پتانسیل کششی به نحوی اصلاح شد که بتواند

پارامترهای مربوط به ویژگی های مش را به صورت خودکار محاسبه کند. به عنوان مثال، طول آزاد فنر برای باندهای هر مش با محاسبه متوسط طول باندهای مش معین می‌شود. به این ترتیب می‌توان بدون محاسبه قبلی، به صورت همزمان از نمونه‌هایی با اندازه‌های مختلف در شبیه‌سازی استفاده کرد.

- تنظیم فنر FENE برای حل مشکل فروپاشی غشا در شبیه‌سازی هایی که تنها شامل غشا بوده‌اند.

پیش از این، در هیچ یک از استفاده‌های قبلی از VCM از غشا به صورت تنها استفاده نشده بود و همواره در شبیه‌سازی‌ها شبکه اکتینی به غشا متصل بوده است. از آن جا که با اتصال شبکه اکتینی به غشا، به علت وجود تلف‌کننده [۹] در مدل شبکه اکتینی، انرژی مکانیکی غشا تلف می‌شد، بسیاری از مشکلات موجود در مدل‌سازی غشای تنها در شبیه‌سازی‌های پیشین مشاهده نشده‌بود. در شبیه‌سازی‌هایی که با نسخه ابتدایی کد انجام می‌گرفتند، در صورت استفاده از فنر FENE برای بازنمایی پتانسیل کششی غشا، پس از اجرای چند صد گام MD انرژی غشا افزایش یافته و غشا دچار مچالگی و درنهایت فروپاشی می‌شد.این مشکل که کشف علت و حل آن چندین ماه به طول انجامید، از آنجا ناشی می‌شد که در یک گام به خصوص، نقاط سازنده‌ی یک مثلث از مش شانس آن را می‌یافتند که روی یک خط قرار بگیرند. به این ترتیب با از بین رفتن مثلث،پتانسیل خمشی که میان مثلث‌های همسایه تعریف می‌شود دچار مشکل شده و باعث فروپاشی کل غشا می‌شد. این اتفاق در مورد فنرهای دیگر نظیر فنر هارمونیک رخ نمی‌داد و دلیل این امر این بود که این فنرها فاقد ناحیه آزاد هستند و بنابراین در تمام طول باندهای ممکن با اعمال نیرو مانع از آن می‌شوند که طول باندها در یک مثلث در محدوده غیر مجاز برای ساختار مثلثی مش قرار بگیرند. برای حل این مشکل با گذاشتن قیدی روی حدود کمینه و بیشینه طول مجاز برای باندها در پتانسیل FENE شانس بهم ریختگی غشا را کاهش دادیم. این قید به صورت زیر تعیین می‌شود: فرض کنیم در حالت حدی دو ضلع یک مثلث بیشینه طول مجاز و ضلع سوم کمینه طول مجاز باشند. (شکل ۵.۲)

[۹] Damper



شکل ۵.۲: تنظیم فنر FENE

برای جلوگیری از حالتی که دو ضلع مثلث روی هم بیفتند، قیدی اعمال می‌کنیم که زاویه a از ده درجه کوچکتر نشود. با اعمال این قید کمینه طول مجاز را برابر 0.34 بیشینه طول مجاز قرار می‌دهیم. پتانسیل FENE به صورت متقارن حول طول آزاد فنر که برابر متوسط طول باندهای مش است تنظیم می‌شود.

با اعمال این قید مشکل فروپاشی غشا برطرف شد.

- اعمال تابع Relaxation برای ایجاد ساختار منظم کروی و اصلاح نامنظمی مثلث‌های مش

برای شروع شبیه‌سازی از شرایط اولیه یکسان برای مش‌هایی با سایزهای مختلف، شبیه‌سازی‌ها باید از پیکربندی مشابه شروع شوند. کمینه انرژی غشایی با پتانسیل خمشی و کششی نظیر آنچه در VCM تعریف می‌شود در پیکربندی کروی اتفاق می‌افتد. اما در نسخه ابتدایی، در گام‌های ابتدایی شبیه‌سازی و پیش از به تعادل رسیدن سیستم، غشا در اشکال نامنظمی شبیه سیب‌زمینی به دام می افتاد. این مشکل به علت نامنظم بودن مش‌های تولیدی توسط نرم افزار Gmsh ایجاد می‌شد. در مواردی که از فنر FENE در شبیه‌سازی‌ها استفاده می‌کردیم این مشکل بغرنج‌تر بود زیرا طول یال‌های اولیه مش در محدوده مجاز فنر FENE قرار نمی‌گرفت و در همان ابتدای شبیه‌سازی بعضی ذرات در محدوده شیب مجانبی پتانسیل FENE قرار می‌گرفتند. بنابراین به اعمال تابع Relaxation برای اصلاح ساختار اولیه مش احتیاج داشتیم. در این تابع طی چند ده هزار قدم MD ،روی باندهای شبکه، پتانسیل FENE با محدوده مجازی برابر بیشینه و کمینه

طول یال در مش اولیه اعمال می‌شود. در این حالت پتانسیل خمشی خاموش خواهد بود تا سیستم دچار فروپاشی نشود. محدوده مجاز FENE به صورت مرحله به مرحله کاهش می‌یابد تا به محدوده مجاز برای پتانسیل خمشی برسیم. پس از این مرحله با روشن کردن پتانسیل خمشی و اعمال پتانسیل FENE اصلی، با استفاده از ترموستات مقیاسی دمای سیستم را مرحله به مرحله کاهش می‌دهیم تا به ساختار کمینه انرژی سیستم برسیم. فرآیند ریلکس کردن مش‌های نامنظم بسیار زمان‌بر است. همچنین خودکار کردن پارامترهای فنر برای گستره‌ی وسیعی از اندازه‌های مورد استفاده برای غشا، عملاً ممکن نیست و برای هر مش باید به طور جداگانه تنظیم شود. مجموع این شرایط ما را بر آن داشت که در ادامه مسیر توسعه VCM به سراغ تولید مش‌هایی با مثلث‌بندی منظم برویم. یکی از نرم‌افزارهای قدرتمند در تولید مش‌های دو و سه بعدی نرم‌افزار Blender است که به دلیل سهولت ساخت مش با آن و همچنین خروجی مناسب مش برای این منظور مورد استفاده قرار گرفت. در این نرم‌افزار برای ساخت یک مش دوبعدی از یک ساختار بیست وجهی شروع می کنیم و در هر مرحله با تقسیم مثلث‌های اولیه به چهار مثلث هم‌اندازه تعداد نودهای شبکه را افزایش می‌دهیم.

- ایجاد خاصیت پخش ذرات

در نسخه‌های اولیه کد تابعی تحت عنوان mont-carlo-flip برای پخش رئوس وجود داشت اما از آنجا که خاصیت مایع بودن غشا در موضوعات پیشینی که توسط VCM شبیه‌سازی شده بودند اهمیت ویژه ای نداشت، چندان مورد محک جدی قرار نگرفته بود. همچنین به دلیل تغییر کلی ساختار کد و استفاده از موتور موازی، توابع مربوط به پخش رئوس از ابتدا نوشته و اجرا شدند. اجرای این توابع بخش مهمی از قسمت فنی انجام شبیه‌سازی‌ها را به خود اختصاص داد. علت استفاده از فنرهای هارمونیک برای شبیه‌سازی غشاهای مایع آن است که عملاً در صورت استفاده از فنرهای FENE شانس تایید تلاش‌های مونت کارلو برای تعویض یال مشترک بین دو مثلث همسایه عملاً ناچیز خواهد بود، چرا که بازه مجاز فنر FENE برای جلوگیری از بهم ریختن پتانسیل خمشی کوچک است و در این صورت تایید تلاش‌های مونت‌کارلو در عمل از پتانسیل خمشی مستقل می‌شود.

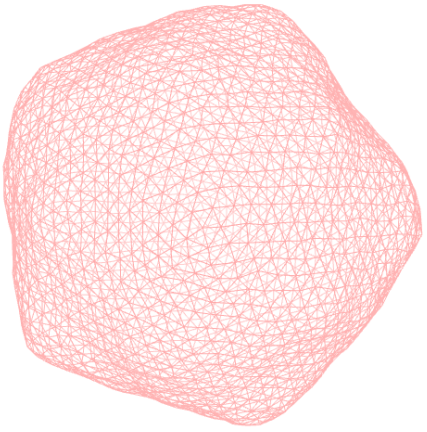
فصل ۳

نتایج شبیه‌سازی

در آماده سازی چیدمان سیستم غشا، پارامترها به نحوی انتخاب شده اند که غشای بسته در دمای واحد در دستگاه انرژی کاهیده نزدیک به کروی باقی بماند. در نتایجی که در زیر گزارش می‌شوند برای شبیه‌سازی غشا از مش مثلث بندی شده منظمی با ۲۵۶۲ راس و ۵۱۲۰ مثلث استفاده شده است. شعاع این کره در دستگاه کاهیده برابر ۲۰ در نظر گرفته شده است. ضریب سختی خمشی غشا برابر $20k_BT$ و ضریب سختی فنرهای باند برابر $8.5\frac{k_BT}{R^2}$ است که R واحد طول در دستگاه واحدهای کاهیده VCM است. در این شبیه‌سازی ها از فنر هارمونیک (و نه فنر FENE)برای پتانسیل باندها استفاده شده است. دلیل این امر این است که با توجه به محدودیت طول باندها در پتانسیل FENE اگر خاصیت پخش رئوس را برای غشا روشن کنیم، تایید تلاش های مونت کارلو عملاً تنها توسط اندازه باند قبل و بعد از پذیرفته شدن تلاش تعیین می‌شود. چرا که در بسیاری از تلاشهایی که به لحاظ پتانسیل خمشی برای سیستم مطلوب خواهد بود به دلیل قرارگیری طول باند جدید در خارج از محدوده طول باندهای مجاز برای فنر FENE تلاش مونت کارلو عملا پذیرفته نخواهند شد.

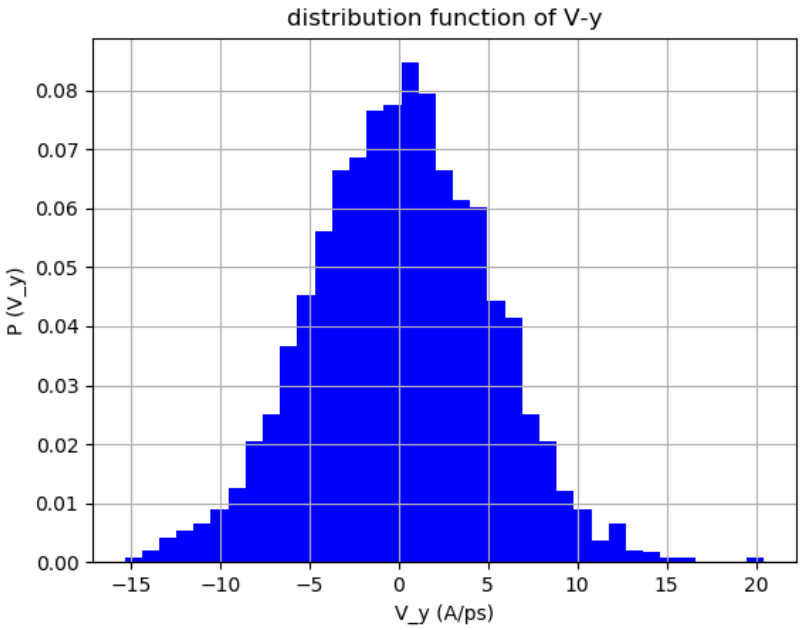
۱.۳ شبیه‌سازی غشای تنها

در گام اول منحصراً غشا را شبیه‌سازی کردیم و نتایج را در حضور و عدم حضور خاصیت پخش رئوس برای غشا مقایسه کردیم. خاصیت پخش رئوس منجر به دینامیک مش و در نتیجه پخش ذرات در شبکه می‌شود و برای بازنمایی خاصیت مایع بودن غشا استفاده می‌شود. بنابراین نتایج در حضور و عدم حضور این خاصیت، به ترتیب مربوط به غشاهای کشسان و غشاهای مایع خواهند بود. شکل ۱.۳ قابی از غشای کشسان (در عدم حضور خاصیت پخش رئوس) را بعد از گذشت ۲۰۰ فریم از شروع شبیه‌سازی نمایش می‌دهد.



شکل ۱.۳: غشای کشسان

در شکل ۲.۳ تابع توزیع سرعت های ذرات سازنده غشا (در راستای محور y) در زمان نمایش داده شده رسم شده است. انتظار داریم که در تعادل ترمودینامیکی سرعت ها با وزن بولتزمن توزیع شوند. بنابراین توزیع سرعت در یک راستای معین برای ذرات یک دستگاه در تعادل ترمودینامیکی به صورت گاوسی خواهد بود. چنانکه در شکل ۲.۳ مشاهده می‌شود، قاب نمایش داده شده از غشای کشسان در شرایط تعادل ترمودینامیکی ثبت شده است.

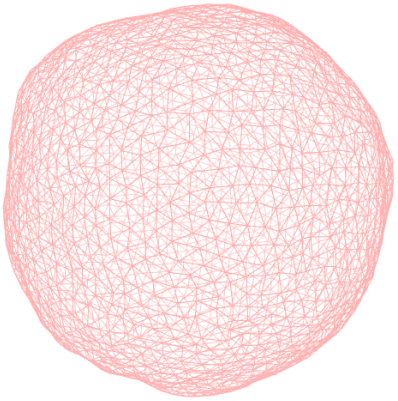


شکل ۲.۳: تابع توزیع سرعت‌ها در جهت محور y – – غشای کشسان

در تصویر ۱.۳ به نظر می رسد که غشا به سمت ساختار چند وجهی رفته است. چنین ساختارهای چندوجهی در مشاهده و شبیه‌سازی کپسید ویروس‌های شبه کروی شناخته شده هستند. [۲۶] دلیل مشاهده این ساختار چند وجهی از قرار زیر است: مثلث های سطح با قرار گرفتن کنار یکدیگر،کاشی‌های پنج، شش، و هفت ضلعی به وجود می آورند تا بتوانند سطح را بپوشانند. با کاشی‌های شش ضلعی که بیشترین تقارن ممکن را حفظ می‌کنند می توان یک سطح صاف را پوشاند اما برای پوشاندن سطح بسته، ناگزیر از ایجاد نقص هایی [۱] به صورت کاشی های پنج و هفت ضلعی هستیم. تعداد این نقص‌های کریستالی با توجه به تعداد مثلث های سازنده یک پوسته معلوم است. بسته به سختی خمشی و کششی سطح، ممکن است کمینه انرژی سیستم وقتی اتفاق بیفتد که نقص‌ها با نظم مشخصی در پوسته توزیع شوند و این امر منجر به چندوجهی شدن پیکربندی مطلوب سیستم خواهد شد.

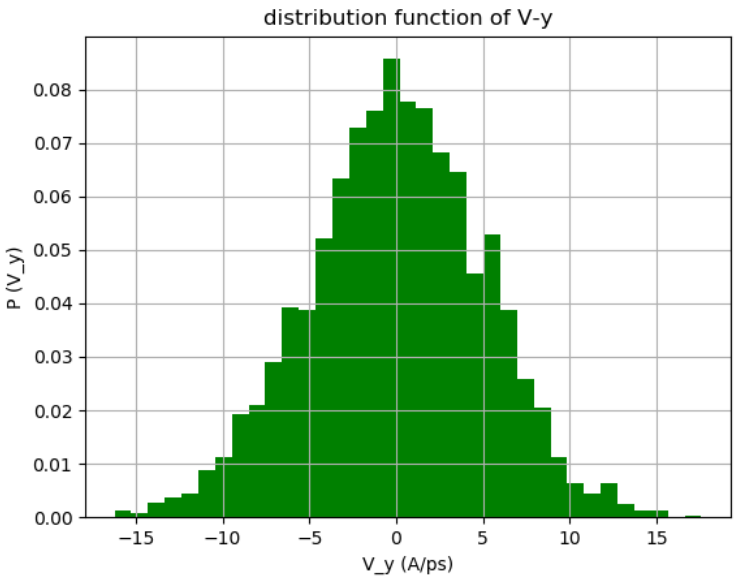
شکل ۳.۳ قابی از غشای مایع (در حضور خاصیت پخش رئوس) پس از گذشت ۲۰۰ فریم از شروع شبیه‌سازی را نمایش می‌دهد.

[۱] defect



شکل ۳.۳: غشای مایع

در این تصویر، همان طور که انتظار داشتیم خاصیت مایع گون بودن به غشا کمک کرده تا انرژی کشسانی در گوشه‌های تیز را تلف کرده و به سرعت از ساختارهای چند وجهی فاصله بگیرد و به شکل کروی برسد. تابع توزیع سرعت برای غشای مایع(شکل ۴.۳) از تعادل ترمودینامیکی غشا اطمینان می‌دهد.

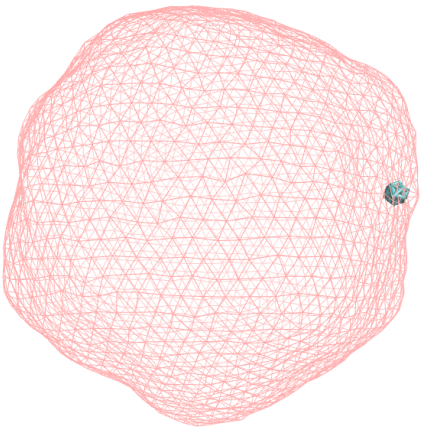


شکل ۴.۳: تابع توزیع سرعت‌ها در جهت محور y − غشای مایع

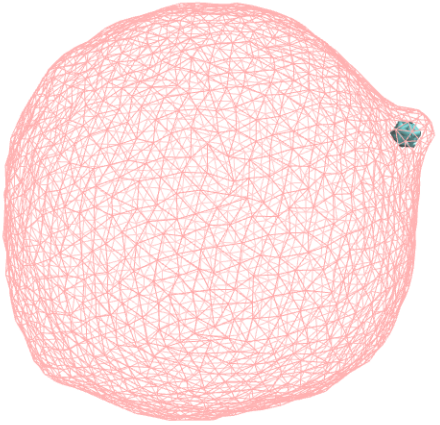
۲.۳ برهمکنش یک نانوذره با غشا

همان طور که در فصل دو توضیح داده شد، ذرات تشکیل‌دهنده نانوذره تحت پتانسیل لنارد جونز با ذرات تشکیل دهنده غشا برهمکنش می‌کنند. برای آن‌که ذره تحت پتانسیل غشا قرار بگیرد، باید نقاط آن در محدوده معیار برش [۲] پتانسیل قرار بگیرند. بنابراین با انتقال ذره در چیدمان اولیه، ذره را در معرض برهمکنش قرار می‌دهیم. در شبیه‌سازی های فعلی برای نمایش یک نانوذره از یک بیست وجهی منتظم استفاده کرده ایم. σ برهمکنش با توجه به تعداد نقاط در واحد سطح بزرگتر، به گونه‌ای تعیین می‌شود که نقاط نانوذره نتوانند بدون این که در معرض پتانسیل دافعه لنارد جونز قرار بگیرند از مش بیرونی خارج شوند. همچنین افزایش میزان σ عملاً شبیه آن است که ابعاد ذره را بسیار بیشتر از میزان تعیین شده در نظر گرفته‌ایم که مطلوب ما نخواهد بود. اگر عمق چاه لنارد جونز کمتر و یا هم مرتبه k_BT باشد، ذره نمی‌تواند به غشا متصل بماند، زیرا افت و خیزهای گرمایی می توانند بر نیروی لنارد جونز غلبه کرده و ذره را از محل اتصالش به غشا آزاد کنند. همچنین برای آن که ذره موفق شود پس از اتصال به غشا، غشا را دور خود بپوشاند، لازم است عمق چاه لنارد جونز با سختی خمشی غشا قابل مقایسه باشد. غشاهای مایع در مقایسه با غشاهای کشسان در ϵ های کوچکتر موفق می‌شوند نانوذرات را دربر بگیرند. شکل‌های ۵.۳ و ۶.۳ قاب‌هایی از یک زمان یکسان را برای غشاهای کشسان و مایع نشان می‌دهند. در هر دو، ضریب سختی خمشی غشا برابر $k_{bend} = 20k_BT$ است و پارامترهای برهمکنش نانوذره–غشا برابر $\epsilon = 4.6k_BT$ $\sigma = 1.6R_{nanoparticle}$ هستند. نسبت اندازه نانوذره به غشا $\frac{1}{20}$ است.

[۲] cut off



شکل ۵.۳: برهمکنش یک نانوذره با غشای الاستیک
قاب در فریم ۲۵۰- ذره به غشا متصل است اما نتوانسته آن را خم کند.

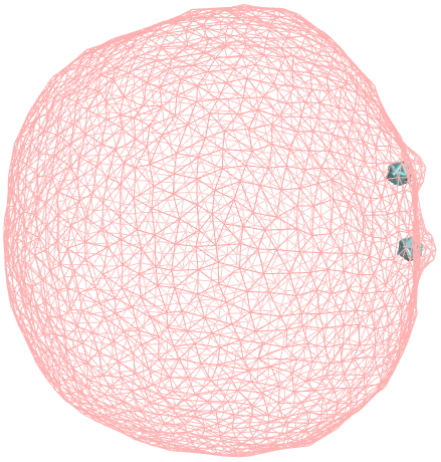


شکل ۶.۳: برهمکنش یک نانوذره با غشای مایع
قاب در فریم ۲۵۰ -غشا کاملا توسط نانوذره خمیده شده است .

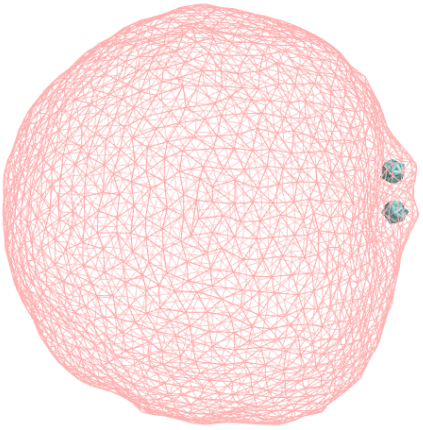
با افزایش قدرت برهمکنش نانوذره- غشا، غشای کشسان نیز قادر به پوشاندن نانوذره خواهد شد. اما برای قدرت یکسان چسبندگی، غشای مایع شانس بیشتری برای بسته بندی نانوذره دارد.

۳.۳ برهمکنش دو نانوذره با غشا

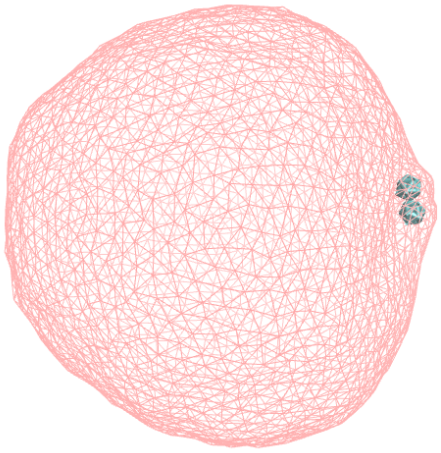
نتایج شبیه‌سازی‌ها نشان می‌دهند چنانچه دو نانوذره با غشا برهمکنش کنند، بسیار محتمل است که در طی تحول به یکدیگر نزدیک شده و در یک ناحیه به غشا متصل شوند. (شکل های ۷.۳ تا ۹.۳) از آنجا که مستقیماً هیچ نیروی جاذبه‌ای میان دو نانوذره تعریف نشده، این نزدیک شدن به دلیل نیروی موثری است که برهمکنش همزمان دو ذره با غشا باعث ایجاد آن می‌شود. به این ترتیب غشا هزینه انرژی خمشی کمتری برای در بر گرفتن هر دو ذره متحمل خواهد شد. چگونگی محاسبه این نیرو در بخش بعد توضیح داده خواهد شد.



شکل ۷.۳: برهمکنش دو نانوذره با غشای مایع- frame=۴۳



شکل ۸.۳: برهمکنش دو نانوذره با غشای مایع- frame=۹۲



شکل ۹.۳: برهمکنش دو نانوذره با غشای مایع- frame=۱۲۳

محاسبه نیروی جاذبه موثری که توسط غشا بین دو ذره القا می شود

برای اندازه‌گیری نیروی موثری که دو ذره به دلیل برهمکنش با غشا به یکدیگر وارد می‌کنند، اقدامات زیر انجام می‌شوند:

۱. شبیه‌سازی شروع می‌شود. اجازه می‌دهیم سیستم چندین قدم به پیش برود تا مطمئن شویم اندازه گیری‌ها در حالت تعادل ترمودینامیکی صورت می‌پذیرند.

۲. پس از گذشت زمان کافی، بین مرکز جرم دو نانوذره یک فنر هارمونیک با مشخصات زیر قرار می‌دهیم:

$$K = 100\frac{k_B T}{R^2}$$

$$l = \Delta r$$

که در عبارت بالا k سختی فنر، l طول تعادلی آن، و Δr فاصله مرکز جرم دو ذره از یکدیگر است. (R طول واحد در دستگاه واحدهای کاهیده است.) انتخاب این سختی برای فنر تضمین می‌کند که طبق قضیه همپاری انرژی، نوسان نانوذرات به دلیل افت و خیزهای گرمایی از مرتبه $0.01R$ باشد.

۳. اجازه می دهیم دینامیک سیستم به اندازه کافی پیش برود تا سیستم در حالت تعادلی خود باشد. سپس برای چندین قدم MD ، Δr را اندازه گیری کرده و میانگین می‌گیریم. هر چه

تعداد فریم هایی که میانگیری روی آن ها انجام می شود بیشتر باشد، خطای گزارش Δr کمتر خواهد بود. به این ترتیب $\langle \Delta x \rangle = \langle \Delta r \rangle - l$ که متوسط تغییرات طول فنر است را خواهیم داشت. اگر نیروی خارجی به نانوذره‌وارد نشود،

$$\langle \Delta x \rangle = 0$$

و

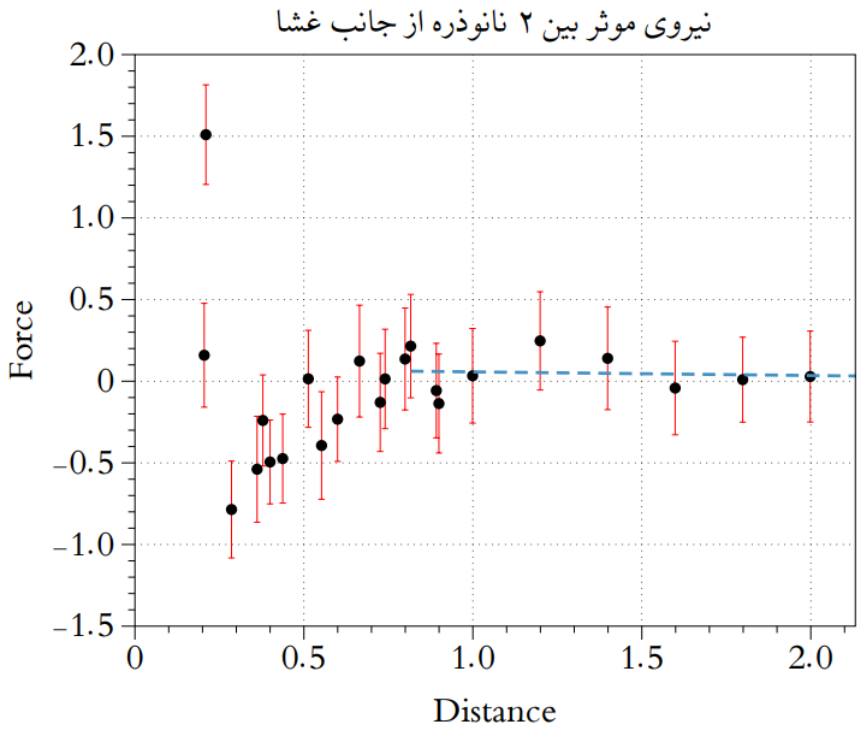
$$\langle \Delta x^2 \rangle = \frac{k_B T}{k}$$

خواهد بود اما انتظار داریم نیروی خارجی غشا به نانوذرات مکان تعادلی فنر را اندکی به سمت داخل جابه‌جا کرده باشد. این نیرو برابر خواهد بود با

$$\langle f \rangle = k \langle \Delta x \rangle$$

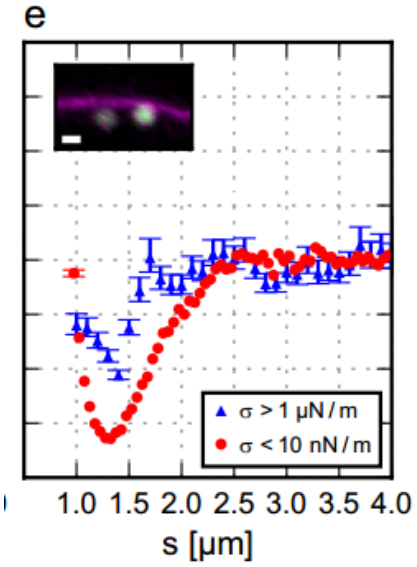
۴. با تقسیم بندی فاصله اولیه نانوذرات تا کمترین فاصله آنها (که برابر قطر یه نانوذره خواهد بود) به قسمت های کوچک، هر بار l فنر را به اندازه یک قسمت کاهش می‌دهیم و مراحل ۱ و ۲ را تکرار می کنیم. به این ترتیب قادر خواهیم بود نمودار نیرو بر حسب فاصله دو نانوذره را رسم کنیم.

نمودار ۱۰.۳ برای همان غشا و نانوذرات شکل ۷.۳ رسم شده است. این نمودار در دستگاه واحدهای کاهیده گزارش شده و روند کیفی تغییر نیرو را نمایش می‌دهد. قطر نانوذرات در دستگاه واحدهای کاهیده برابر 0.25 بوده است و ذرات از فاصله 2.5 برابر قطر یکدیگر نیروی جاذبه را احساس کرده‌اند.



شکل ۱۰.۳: نیروی موثر میان دو نانوذره

در نتیجه گزارش شده هر نقطه با میانگیری از ۴۲۰ فریم به دست آمده است. نتیجه اندازه گیری نمایانگر آن است که اگر فاصله دو ذره به اندازه کافی از هم دور باشد، نیروی موثری از طرف غشا بین آن دو اعمال نمی‌شود. (دو ذره یکدیگر را احساس نمی کنند.) در فواصل نزدیک تر، که دو انحنای موضعی غشا به اندازه کافی به یکدیگر نزدیک باشند، به لحاظ انرژی برای سیستم به صرفه خواهد بود تا دو ذره به یکدیگر نزدیک شده و حباب های جداگانه آنها به یک حباب یکسان تبدیل شود. بنابراین دو ذره یک نیروی جاذبه موثر احساس می کنند. چنانچه دو ذره آن قدر نزدیک شوند تا در تماس با یکدیگر قرار بگیرند، در نتیجه پتانسیل excluded volume که مانع از فرو رفتن دو ذره درون یک دیگر می‌شود، نانوذرات یک نیروی دافعه احساس خواهند کرد. در شکل ۱۱.۳ نتایج آزمایشگاهی اندازه گیری پتانسیل جاذبه بین دو نانوذره که در سطح بیرونی غشا قرار داده شده اند نمایش داده شده است. روند کیفی نمودار به دست آمده از شبیه‌سازی های VCM با این نتایج همخوانی دارد.

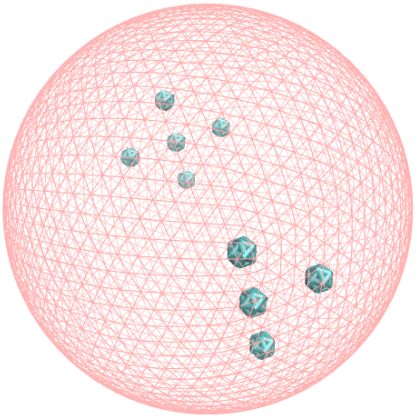


شکل ۱۱.۳: نتایج آزمایشگاهی اندازه‌گیری پتانسیل میان دو نانوذره در برهمکنش با غشا [۲۷]

برای برازش کردن منحنی دقیق‌تر به داده‌ها لازم است نقاط اندازه‌گیری و همچنین تعداد میانگیری روی داده ها افزایش یابند که چنین امری با انتقال VCM بر روی خوشه های محاسباتی در آینده میسر خواهد شد. در حال حاضر محاسبات VCM قابلیت اجرا روی چند CPU و یا یک GPU از کامپیوترهای خانگی را دارا می باشد. همچنین برای دقت عددی نمودار گزارش شده لازم است برنامه VCM پرمایش شود تا بتوان واحدهای کاهیده را با اندازه‌های واقعی اجزای مدل که در آزمایشگاه قابل اندازه گیری است مقایسه کرد. چنین کاری با اندازه گیری کمیت‌های فیزیکی در VCM در دستگاه واحدهای کاهیده و مقایسه آنها با مقدار شناخته شده در آزمایشگاه قابل انجام خواهد بود. نمونه‌ای از روند پرمایش VCM در بخش ۱۵.۳ انجام شده است.

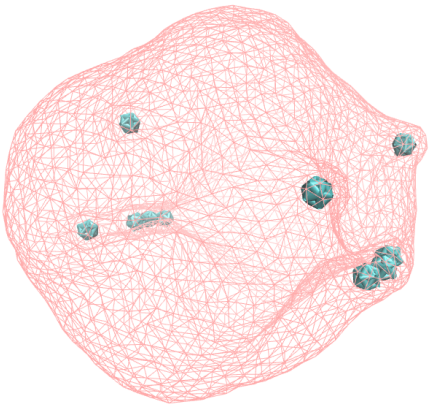
۴.۳ برهمکنش نانوذرات در تعداد بالا با غشا

همان طور که در مقدمه نتایج [۱۶] و [۲۵] شرح داده شد، غشا در حضور تعداد زیادی ذره حالت‌های جدیدی از تغییر شکل را تجربه می‌کند که در برهمکنش تک ذره و یا تعداد کم رخ نمی‌دهد. در هر دو این شبیه‌سازی ها ساختارهای لوله ای عمود بر سطح روی غشا مشاهده شده اند. در شبیه‌سازی هایی که توسط VCM انجام شده است، با قدرت محاسباتی در دسترس در کامپیوترهای خانگی، حداکثر امکان شبیه سازی برهمکنش ده نانوذره با غشای لیپیدی میسر

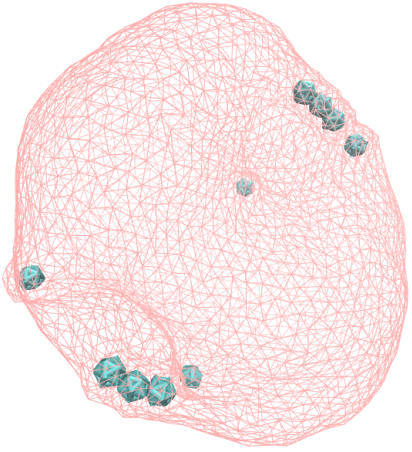


شکل ۱۲.۳: برهمکنش ۱۰ نانوذره با غشا- قاب ابتدایی

شد که نتایج آن در زیر نشان داده شده است. اندازه نسبی شعاع نانوذرات و غشا برابر $\frac{1}{20}$ است. قدرت چسبندگی نانوذرات به غشا در این شبیه‌سازی ها برابر $\epsilon = 4.6k_BT$ است. در این شبیه‌سازی ها ساختارهای لوله ای عمود بر سطح دیده نشدند و در عوض شاهد ساختار های لوله ای افقی بوده‌ایم. (شکل ۱۲.۳)



شکل ۱۳.۳: برهمکنش ۱۰ نانوذره با غشا- قاب پس از گذشت ۳۴۰ فریم



شکل ۱۴.۳: ساختار لوله ای افقی در برهمکنش ۱۰ نانوذره با غشا- قاب پس از گذشت ۶۶۰ فریم

۵.۳ پرمایش VCM

همان طور که پیشتر اشاره شد، مدلسازی‌های VCM در دستگاه واحدهای کاهیده صورت می‌گیرد. در مورد هر پدیده فیزیکی مورد بررسی، لازم است با ترجمه مناسب واحدهای کاهیده به واحدهای فیزیکی زمینه بررسی کمی نتایج را فراهم کنیم. این کار را می‌توان با اندازه گیری کمیت‌هایی که مقدار عددی آنها را از آزمایشگاه می‌دانیم، در دستگاه واحدهای کاهیده VCM انجام داد. این کار برای یافتن مقیاس زمانی شبیه‌سازی های غشای لیپیدی به کمک اندازه گیری ضریب پخش انجام شده است.

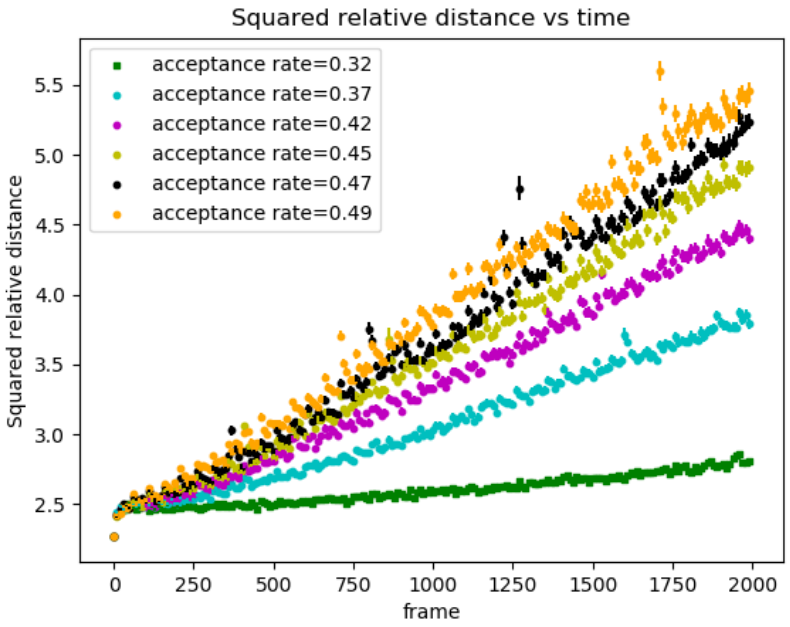
۱.۵.۳ اندازه گیری ضریب پخش

چنان که پیشتر اشاره شد، مولکولهای چربی در سطح غشای لیپیدی خاصیت پخشی دارند. ضریب پخش آنها در آزمایشگاه اندازه گیری شده است. به عنوان مثال در مقاله [۲۸] مرتبه بزرگی ضریب پخش گزارش شده برای مولکولهای لیپید در سطح غشا در یک آبدانک بزرگ از حدود $5 \times 10^{-8} \frac{cm^2}{s}$ است. (ضریب این عدد بسته به ترکیب مولکولهای لیپید در ساختار غشا و همچنین تکنیک‌های اندازه گیری متفاوت گزارش شده است.) برای ترجمه پارامترها ضریب پخش غشای شبیه سازی شده را اندازه می‌گیریم. از قانون پخش [۳] داریم:

$$MSD = 2nDt \tag{۵,۱.۳}$$

که در آن MSD میانگین مجذور جابه‌جایی ذره در حال انجام ولگشت، n بعد فضا، D ضریب پخش و t زمان از لحظه شروع ولگشت است. بنابراین با رسم نمودار میانگین مجذور جابه جایی ذرات در غشا بر حسب زمان و محاسبه شیب آن ضریب پخش را به دست خواهیم آورد. از آنجا که مبدا مکان مشخصی برای ذرات نداریم برای محاسبه MSD کافیست میانگین فاصله نسبی دو ذره را در طی زمان مشاهده کنیم. در هر قاب زمانی میانگین‌گیری روی مجذور فاصله ذرات باندهای مش اولیه انجام می‌شود. نمودار زیر رابطه MSD و زمان را برای ۶ اجرای مختلف نشان می‌دهد.

[۳] diffusion law



شکل ۱۵.۳: نمودار میانگین مجذور فاصله نسبی ذرات بر حسب زمان برای محاسبه ضریب پخش

هر نقطه نتایج میانگین‌گیری روی ۷۶۸۰ باند است. رفتار خطی MSD بر حسب زمان در نمودار فوق نشان از آن دارد که تلاش مونت-کارلو برای تغییر باند مشترک مثلث‌های همسایه به خوبی خاصیت پخشی مولکولهای چربی در سطح غشا را بازنمایی می‌کند. در اجراهای مختلف نمایش داده شده، با تغییر دمای مونت-کارلو میانگین نرخ پذیرش تلاش‌های مونت-کارلو را تغییر داده‌ایم. مشاهده می‌شود که هر چه نرخ پذیرش تلاشها زیادتر باشد، شیب نمودار و در نتیجه ضریب پخش افزایش خواهد یافت. به این ترتیب با تغییر نرخ پذیرش می‌توانیم میزان مایع بودگی غشا را تعیین کنیم.

برای اجرایی با میانگین نرخ پذیرش 0.49 ، ضریب پخش در دستگاه واحدهای کاهیده برابر است با $(40 \pm 1) \times 10^{-5} \frac{R^2}{Frame}$.

اگر فرض کنیم که غشای شبیه‌سازی شده، نماینده یک آبدانک به قطر ۱۰۰ نانومتر است، و با توجه به میزان واقعی ضریب پخش غشاها، نتیجه خواهیم گرفت که هر یک واحد طول در دستگاه واحدهای کاهیده ما برای این مساله برابر ۵ نانومتر و هر فریم برابر با ۲ نانوثانیه خواهد بود. (به این ترتیب کل زمان شبیه سازی برای این اجرا برابر با ۴ میکروثانیه است)

فصل ۴

جمع بندی

در این پایان‌نامه با تغییر و توسعه برنامه سلول مجازی (VCM) زمینه برای شبیه‌سازی بسته بندی غیرفعال نانوذرات توسط غشا در جریان فرآیندهای مربوط به ترافیک سلولی فراهم شد. نتایج شبیه‌سازی ها نشان می‌دهند که در قدرت چسبندگی یکسان نانوذرات به غشا، غشاهای مایع در مقایسه با غشاهای کشسان شانس بیشتری برای بسته‌بندی نانوذرات دارند. همچنین در برهمکنش‌های بیش از یک ذره، غشا به عنوان واسطه، موجب القای نیروی جاذبه میان نانوذرات می‌شود تا با به وجود آوردن بسته‌بندی‌های چندتایی باعث کاهش انرژی آزاد کل سیستم شود. در بعضی پژوهش‌های پیشین گزارش شده که این مکانیزم منجر به ایجاد برآمدگی‌های لوله‌ای شکل عمود بر سطح روی غشا خواهد شد که در طی شبیه‌سازی‌های این پژوهش چنین چیزی مشاهده نشد. با این حال نتایج ما نشان می‌دهند امکان ایجاد برآمدگی‌های لوله‌ای‌شکل جانبی بر سطح غشا وجود دارد.

فصل ۵

چشم انداز پژوهشی

با تکمیل برنامه سلول مجازی به صورت یک بسته نرم‌افزاری، و امکان اجرای آن در خوشه های محاسباتی در آینده نزدیک، اندازه‌گیری های مختلفی در زمینه مساله ترافیک سلولی قابل انجام است که در مهلت انجام این پایان نامه میسر نشدند.به عنوان مثال با تغییر اندازه نسبی نانوذرات و غشای سلولی و همچنین تغییر قدرت چسبندگی نانوذرات به غشا در اجراهای متعدد برنامه می توان به فضای فاز تغییر شکل غشای سلولی نظیر آنچه در [۲۵] گزارش شده دست یافت. همچنین همین مساله را می‌توان برای هندسه‌های مختلف نانوذرات صلب بررسی کرد. با افزایش قدرت محاسباتی این امکان فراهم می‌شود که شبیه‌سازی ها برای غشاهایی با رزولوشن بالاتر (تعداد ذرات بیشتر شبکه) و تعداد بیشتر نانوذرات (از مرتبه ۱۰۰) نتایج جدیدی به دست آورد.

فصل ۶

ضمیمه

۱.۶ معرفی برنامه سلول مجازی

۱.۱.۶ تاریخچه

برنامه سلول مجازی [۱] که به اختصار آن را VCM می‌نامیم، برنامه‌ای به زبان C++ است که به زودی به عنوان نرم‌افزار عرضه خواهد شد. این برنامه در گروه ماده چگال نرم دانشکده فیزیک دانشگاه شریف تولید شده است. نوشتن برنامه از سال ۹۳ توسط آقایان مازیار حیدری و تیام حیدری آغاز شد و هدف از تولید آن مدل‌سازی رفتار مکانیکی سلول و اجزای آن در شرایط مختلف بوده است. پیشتر یک پایان‌نامه کارشناسی ارشد و دو مقاله به کمک VCM به چاپ رسیده‌اند. [۱۵] [۱۸] [۱۹] در این مدل قسمت‌های مختلف سلول از جمله غشا، شبکه اکتینی، هسته، کروماتین و ماتریس برون یاخته‌ای به کمک درشت‌دانه پیوسته قابل شبیه‌سازی هستند. عناصر تشکیل‌دهنده مدل در همه‌ی اجزای قابل شبیه‌سازی مش‌های مثلث بندی شده دو و سه بعدی هستند و نیروهای باندی و غیرباندی بسته به مدل فیزیکی مساله مورد شبیه‌سازی به نقاط اعمال می‌شوند. در روند استفاده و توسعه از VCM، ساختار آن به تدریج از حالت کد اسپاگتی به کدی ماژولار تبدیل شد و در حال حاضر ساختاری شیءگرا دارد. در نسخه فعلی کد، هر کدام از اجزای سلولی دارای کلاسی جداگانه و فایل‌های تنظیم مخصوص به خود هستند که استفاده از برنامه را به عنوان یک نرم‌افزار برای کاربر آسان می‌کند. همچنین نسخه‌ی فعلی VCM، با

[۱] Virtual Cell Model

استفاده از برنامه OpenMM [۲۰] موازی سازی شده‌است و به این ترتیب قابلیت اجرا بر روی خوشه‌های محاسباتی را داراست.
مازیار حیدری، تیام حیدری، شهرزاد زارع و اویس شیبانی، دانشجویان سابق کارشناسی ارشد و کارشناسی گروه ماده چگال نرم بوده‌اند که در ایجاد و توسعه مدل نقش بسزایی ایفا کرده‌اند. در حال حاضر علی فرنودی (دانشجوی دکتری- شبیه‌سازی فیبرهای کروماتینی) ، سجاد صادق‌زاده (دانشجوی کارشناسی‌ارشد- مهاجرت سلولی) و نویسنده این پایان‌نامه، پژوهش‌های خود را با استفاده از VCM و توسعه آن پیش می‌برند. همچنین سینا فلکیان (دانشجوی کارشناسی) در مستندسازی VCM دخیل بوده است. در بخش بعدی ساختار فعلی VCM به اختصار معرفی می‌شود.

۲.۱.۶ ساختار داده های کد

VCM برنامه‌ای است که به صورت شیء گرا نوشته شده. بنابراین برای هر جزء قابل شبیه‌سازی در برنامه، کلاس متفاوتی وجود دارد که اعضای آن را متغیرها و توابع مختص آن جزء تشکیل می‌دهند. کلاس‌های اصلی برنامه شامل موارد زیر هستند:

- Membrane.h

از کلاس Membrane برای شبیه‌سازی غشا و نانوذرات استفاده می‌شود. ورودی لازم برای ایجاد یک نمونه از کلاس، یک فایل مش مثلثی دو بعدی است که می‌تواند توسط برنامه های Gmsh [۲۳] و یا Blender [۲۴] تولید شود.

- Actin.h

از کلاس Actin برای شبیه‌سازی شبکه اکتینی در سلول استفاده می شود و ساخت یک نمونه از آن نیازمند یک فایل مش مثلثی سه بعدی است. مش‌های سه بعدی را می توان به کمک برنامه Gmsh تولید کرد.

- Chromatin.h

از کلاس Chromatin برای شبیه‌سازی فیبرهای کروماتینی استفاده می‌شود. برای ایجاد یک نمونه از این کلاس احتیاجی به ورودی نیست و خود VCM به کمک پارامترهایی

که در فایل تنظیم نمونه‌ی کروماتینی توسط کاربر تعیین می‌شود زنجیره‌های کروماتینی را تولید می‌کند.

- ECM.h

کلاس ECM برای شبیه‌سازی ماتریس برون‌یاخته‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای ایجاد یک نمونه از این کلاس به یک فایل مش سه بعدی احتیاج داریم.

- point-particle.hpp

از کلاس point particle برای ایجاد یک ذره آزاد استفاده می‌کنیم. نمونه‌های این کلاس تک ذره‌هایی هستند که می‌توانند به عنوان ذره آزمون برای کنترل نتایج فیزیکی شبیه‌سازی‌های مختلف مورد استفاده قرار بگیرند. برای ایجاد هر نمونه کافیست مختصات و جرم ذره را در فایل تنظیم مربوط به آن وارد کنیم.

در حال حاضر VCM هم می‌تواند با موتور موازی و هم با موتور سریال اجرا شود. کلاس‌های بالا برای اجرای برنامه به صورت سریال کافی هستند. اما برای موازی‌سازی VCM، ساختمان‌های دیگری در کد تعریف شده‌اند که وظیفه ترجمه اطلاعات کلاس‌های اصلی به اطلاعات قابل استفاده برای OpenMM را برعهده دارند:

- MyOpenMMData

ساختمان MyOpenMMData وظیفه اصلی پیش بردن دینامیک سیستم را برعهده دارد و شامل سه عضو اصلی است:

۱. system

system نماینده یک سیستم مولکولی است. اطلاعات مربوط به تعداد ذرات برهمکنش‌کننده و نیروهای موجود در بین آنها در system ثبت می‌شوند.

۲. context

در این عضو تمام اطلاعات مربوط به شبیه‌سازی و در واقع حالت سیستم نگهداری

می‌شوند. برای تغییر پارامترهای برهمکنش ،باندها و هرگونه تغییری در وضعیت سیستم باید از context اطلاعات مربوطه را فراخوانی کرده و تغییر دهیم.

۳. integrator

integrator تعیین می‌کند که سیستم باید با چه دینامیکی تحول پیدا کند. در VCM بسته به موضوع شبیه‌سازی از انتگرال‌گیری های ورله سرعتی و یا لانژون استفاده می‌شود که در فصل ۲ مختصراً به آن‌ها اشاره کرده‌ایم.

چنانچه در شبیه‌سازی‌ها لازم بود به نیروهای داخلی OpenMM دسترسی پیدا کنیم تا در حین شبیه‌سازی پارامترهای آن را عوض کنیم، لازم است اشاره‌گر آن نیرو را به عنوان عضوی از ساختمان MyOpenMMData تعریف کنیم. به عنوان مثال برای شبیه‌سازی خاصیت پخش رئوس غشا لازم است در حین شبیه‌سازی باندهای نیروی کششی تغییر کنند. به همین منظور نیروی کششی از اعضای دیگری است که در ساختمان MyOpen-MMData تعریف شده است.

- MyAtomInfo

هر ذره برهمکنش کننده در VCM نمونه‌ای از ساختمان MyAtomInfo است. این ساختمان شامل تمامی اطلاعات مربوط به یک ذره از جمله مختصات، سرعت، برآیند نیرویی که به آن وارد می شود و جرم می‌باشد. همچنین در تعریف نیروهای غیر پیوندی مانند نیروی Volume Excluded و یا لنارد جونز پارامترهای σ (معیاری از طول تعادلی برهمکنش) و ϵ(معیاری از قدرت برهمکنش) به هر ذره نسبت داده می‌شود. اگر ذره a و b در برهمکنش غیر پیوندی با یکدیگر شرکت کنند، پارامترهای پتانسیلی که احساس می کنند به صورت زیر تعریف می‌شود:

$$\sigma = \frac{1}{2}(\sigma_a + \sigma_b) \qquad (۱,۱.۶)$$

$$\epsilon = \sqrt{\epsilon_a \epsilon_b} \qquad (۱,۲.۶)$$

- Bonds

اعضای کلاس باند به ترتیب زیرند:

- بردار دو عضوی atoms که تعیین کننده شماره دو اتمی است که به یکدیگر متصلند.
- type

این متغیر یک intiger است که نوع پتانسیل فنری بین دو اتم را مشخص می‌کند. در حال حاضر ۴ نوع فنر مختلف را در VCM می‌توان انتخاب کرد:

۱. فنر FENE [۲]

فنر FENE یک پتانسیل غیرخطی کششی روی یک باند تعریف می‌کند که با کنترل طول باند به کمک پتانسیل‌هایی که در کمینه و بیشینه طول رفتار مجانبی دارند، اجازه نمی‌دهد طول باند از محدوده ای معین خارج شود.

۲. پتانسیل هارمونیک

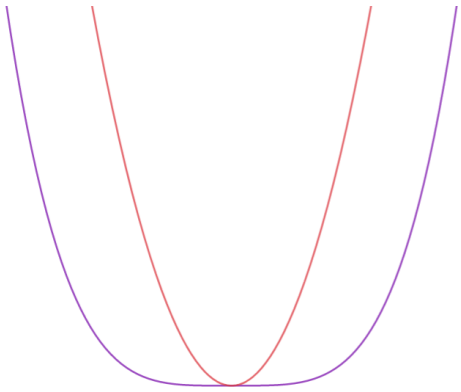
(برای شبیه‌سازی غشا و نانوذرات از این فنر استفاده شده است.)

۳. پتانسیل هارمونیک X^4 پتانسیل این فنر از رابطه زیر می‌آید:

$$U_{x^4} = 1/4(\frac{r_{ij}}{l_0} - 1)^4 \qquad (۱,۳.۶)$$

در رابطه فوق k سختی فنر و l_0 طول فنر در حالت تعادل است. این فنر همانند فنر هارمونیک کشسان است و مانند فنر FENE طول باند را محدود نمی کند، اما نسبت به فنر هارمونیک حول و حوش نقطه تعادل نیروی کمتری به ذرات برهمکنش کننده وارد می آورد و در فواصل دورتر از نقطه تعادل با نیروی بیشتری ذرات را به سمت حالت تعادل می‌راند.(شکل ۱.۶)

[۲] Finite Extensible Nonlinear Elastic



شکل ۱.۶: نمودار فنرهای هارمونیک (قرمز) و هارمونیک x^4 (بنفش)

۴. پتانسیل کلوین-ویت [۳]

این فنر برای مدل کردن رفتار ویسوالاستیک استفاده می‌شود. و در واقع ترکیب یک فنر هارمونیک و دمپر است.

با نسبت دادن هر کدام از شماره‌های ۱ تا ۴ به spring-model در فایل‌های تنظیم اجزای شبیه‌سازی، می‌توان نوع برهم‌کنش کششی آن‌ها را معین کرد. در غیر این صورت VCM به صورت خودکار از فنر هارمونیک بین باندها استفاده خواهد کرد.

- class-label

این عضو از ساختمان باند مشخص می‌کند که باند ایجاد شده متعلق به کدام نمونه از کدام کلاس است. به عنوان مثال اگر در یک شبیه‌سازی ۵ نمونه از کلاس membrane و یک نمونه از کلاس ECM تعریف شده باشد،VCM به صورت خودکار به هر کدام از ۶ جزء مدل یک برچسب نسبت می‌دهد. این برچسب به عنوان عضوی از ساختمان bonds مشخص می‌کند پارامترهای مربوط به نیروهای کششی باندهای متناظر، باید از اطلاعات کدام نمونه از کلاس‌ها خوانده شوند.

- همه‌ی پارامترهای قابل تنظیم در هر کدام از ۴ نوع فنر معرفی شده عضوی از ساختمان bonds هستند. اما بر اساس نوع فنر انتخاب شده تنها آن متغیرهایی مقداردهی می‌شوند که در پتانسیل فنری انتخاب شده نقش ایفا می‌کنند. سختی فنر از فایل تنظیم مقداردهی می‌شود و سایر پارامترها نظیر طول تعادلی در فنرهای هارمونیک و یا حدود قابل تعریف برای فنر FENE بسته به ابعاد و اندازه‌های مش

[۳] Kelvin-Voigt

ورودی به صورت خودکار توسط VCM محاسبه و مقداردهی می‌شوند. (به عنوان مثال طول تعادلی فنرهای هارمونیک برابر با متوسط طول باندهای مش اولیه درنظر گرفته می‌شود)

- Dihedrals

این ساختمان اطلاعات مربوط به مثلث‌های همسایه در کلاس Membrane را برای استفاده OpenMM ذخیره می‌کند. کلاس Membrane تنها کلاسی است که در آن نیروی خمشی دارای اهمیت است و بنابراین علاوه بر یال ها، مثلث‌های همسایه در مش نیز به یکدیگر نیرو وارد می‌کنند. اعضای این ساختمان عبارتند از:

- class-label که کارکرد مشابهی با عضو هم‌نامش در ساختمان bonds دارد.
- atoms که یک آرایه ۴ عضوی برای ذخیره رئوس مثلث‌های همسایه است. در یک جفت مثلث همسایه، رئوس غیر مشترک در خانه‌های اول و چهارم و رئوس باند مشترک در خانه‌های دوم و سوم ذخیره می‌شوند.
- سختی خمشی که از فایل‌های تنظیم مربوط به نمونه‌های کلاس Membrane خوانده و مقداردهی می‌شود.

در اجرای برنامه با موتور سریال، توابعی که عضو کلاس‌های اصلی هستند شبیه‌سازی را پیش می‌برند. هر کلاس شامل دو تابع با نام‌های MD-Evolution-beginning() و MD-Evolution-End() هستند که وظیفه انتگرال‌گیری از معادلات حرکت را برعهده دارند. مطابق الگوریتم ورله سرعتی که در فصل ۲ به آن اشاره شد، تابع ابتدایی قبل از محاسبه نیروها (و در واقع شتاب) و تابع نهایی بعد از محاسبه نیروها فراخوانی می‌شوند. هر گام MD شامل فراخوانی هردوی این توابع خواهد بود. بعد از تعداد مشخصی گام MD (که در فایل‌های تنظیم قابل تغییر است) مختصه‌های مکانی ذرات در فایل خروجی ثبت می‌شوند. در اجرای برنامه با موتور موازی، ابتدا اطلاعات کلاس ها در ساختمان‌های مورد استفاده OpenMM ذخیره سازی می‌شوند. سپس با فراخوانی تابع MyStepWithOpenMM() دینامیک سیستم بپیش می‌رود. در این تابع integrator از ساختمان داده‌های MyOpenMMData() فراخوانده می‌شود. پس از میزان مشخصی از پیشرفت دینامیک، به کمک تابع myWritePDBFrame() اطلاعات سیستم

شامل مختصات ذره‌ها و باندهای سیستم در فایلی با فرمت PDB نوشته می‌شود.

۳.۱.۶ فایل های تنظیم

فایل تنظیم اصلی

با اجرای VCM ، از کاربر خواسته می‌شود تا نام فایل تنظیم اصلی شبیه‌سازی را وارد کند. در این فایل (که ما آن را general config می‌نامیم) کاربر تعداد نمونه از هر کدام از کلاس‌های اصلی (Membrane,Actin,ECM, Chromatin, Point-particle) را به همراه آدرس و نام فایل‌های تنظیم هر کدام وارد می‌کند. سایر ورودی‌های فایل تنظیم بسته به اجرای برنامه با موتور سریال و یا موتور موازی متفاوت است. در شکل ۲.۶ و ۳.۶ نمونه یک general config برای اجرای یک شبیه‌سازی با هر کدام از دو موتور سریال و موازی آورده شده‌است. در نمونه فایل متعلق به موتور

```
//general config for running the VCM on serial engine

MD_num_of_steps 1000000
MD_traj_save_step       100
K       1
MD_T    0.1
Num_of_Membranes        1       configs/chromo/chromo_mem.txt
Num_of_Actins           0       actin_config.txt
Num_of_ECMs             0       configs/bacteria/bacteria_ecm_config.txt
Num_of_Chromatins       4       configs/chromo/chromo_0.txt configs/chromo/chromo_1.txt
                                configs/chromo/chromo_2.txt configs/chromo/chromo_3.txt
Actin_Membrane_Bond_Coefficient 400
MC_step 200
trajectory_file_name    1       chromo
Interaction_map 1       chromo_interaction_map.txt
```

شکل ۲.۶: یک نمونه فایل تنظیم اصلی برای موتور سریال

سریال، MD-T نشان‌دهنده اندازه دما و K ثابت بولتزمن در واحدهای کاهیده است. MC-Step نیز تعداد تلاش‌های مونت کارلو برای پخش رئوس غشا را مشخص می‌کند. بنابراین برای شبیه‌سازی غشای کشسان کافیست مقدار MC-Step در فایل تنظیم برابر صفر قرار داده شود. در خط اول تا سوم زمان اجرای شبیه‌سازی، زمان ذخیره‌سازی داده ها و طول قدم انتگرال‌گیری مشخص شده اند. واحدهای استفاده شده برای مقداردهی بر اساس دستگاه واحدهای کاهیده است. (زیربخش ۵.۱.۶) integrator-type مشخص می کند که سیستم با دینامیک معادلات نیوتن و تحت الگوریتم ورله سرعتی تحول یابد (مقدار ۱) و یا با دینامیک لانژون. (مقدار۲)

```
//general config for running the VCM on parallel engine

Simulation_Time_In_Ps   190
Report_Interval_In_Fs   100
Step_Size_In_Fs 0.1
Integrator_type 2
temperature     300
frictionInPs    5
Num_of_Membranes        10      nano_c/previous/nano_mem_high.txt nano_c/previous/rescale1/nano_particle_1
                        nano_c/previous/rescale1/nano_particle_2 nano_c/previous/rescale1/nano_particle_3
                        nano_c/previous/rescale1/nano_particle_4 nano_c/previous/rescale1/nano_particle_5
                        nano_c/previous/rescale1/nano_particle_6 nano_c/previous/rescale1/nano_particle_7
                        nano_c/previous/rescale1/nano_particle_8 nano_c/previous/rescale1/nano_particle_9
Num_of_Actins           0
Num_of_ECMs             0
Num_of_Chromatins       0
MC_step 60
trajectory_file_name    1       nano
Interaction_map 1       interaction_map.txt
```

شکل ۳.۶: یک نمونه فایل تنظیم اصلی برای موتور موازی

همچنین دما و اصطکاک در دینامیک لانژون نیز در فایل تنظیم مشخص شده‌است که در صورت استفاده از انتگرال گیر ۲ خوانده می‌شوند. همچنین در config general مشخص می‌شود که نقشه برهم‌کنش اجزای اصلی سیستم از چه فایلی خوانده شود. در صورت صفر بودن مقدار interaction-map، نقشه برهمکنش از فایل پیش‌فرض خوانده می‌شود. در بخش ۴.۱.۶ نحوه عملکرد نقشه برهمکنش به اختصار بیان شده‌است.

فایل‌های تنظیم اجزای شبیه‌سازی

همان طور که گفته شد در فایل تنظیم اصلی آدرس فایل‌های تنظیم اجزای شبیه‌سازی به VCM ارجاع داده می‌شود در تصویر ۴.۶ نمونه‌ای از فایل تنظیم یک نمونه از کلاس Membrane نمایش داده شده. در MakeFile برنامه VCM در پوشه Examples نمونه فایل‌های تنظیم برای اجزای دیگر با توضیحات مناسب قرار داده شده تا کاربر بتواند مطابق آنها فایل تنظیم شبیه‌سازی خود را مقداردهی کند.

```
//Set to 1 if you want to continue an finished/interrupted simulation
// Followed by the directory of the resume file.
//The resume file is automatically generated during specific steps of the simulation
//that may be adjusted in the general configuration file. Default 0
Resume  0       Results/Relaxation/Resume_Membrane_0_2019_02_27_time_14_39.txt

//Set 1 for mesh files produced with gmsh V2, and 2 for .ply files (blender).
// Followed by the directory of the mesh file relative to the executable.
Mesh_file_name  2       particle.ply

//The mass of each membrane node. Default 1
Node_Mass       10

//Radius of each membrane node. Default 1
Node_radius     0.4

//1) FENE 2) Harmonic spring. 3) x4harmonic 4)Kelvin-Voigt. Defaul2
spring_model    2

//Harmonic spring coefficient in Kcal per Angestrom squared per mol.
Spring_coefficient      400

//Dihedral bending energy coefficent of triangle pairs in kcal per mol
Bending_coefficient     80

//Shift membrane position in the x direction in nanometers. Default 0
Shift_in_X_direction 14

//Shift membrane position in the y direction in nanometers. Default 0
Shift_in_Y_direction    0

//Shift membrane position in the z direction in nanometers. Default 0
Shift_in_Z_direction    0

//rescale the whole membrane
rescale_factor  1

sigma_LJ_12_6   1.6
epsilon_LJ_12_6 15

//1 Fix the center of mass by assigning  harmonic springs between nodes and center of mass.
//Default 0
fixing_com      1
```

شکل ۴.۶: فایل تنظیم یک نمونه از کلاس غشا- این فایل برای شبیه‌سازی یک نانوذره که در دمای ۳۰۰ کلوین صلب می‌ماند تنظیم شده است.

۴.۱.۶ نقشه برهم‌کنش

ذرات داخلی یک نمونه از کلاس‌های اصلی توسط باندهای دوتایی و یا چهارتایی (در مورد نیروی خمشی تعریف شده برای کلاس Membrane)با یکدیگر برهمکنش می‌کنند. اما ذرات دو نمونه مختلف به یکدیگر اتصالی ندارند و بنابراین برای برهمکنش میان نمونه‌ها لازم است نیروهای غیرباندی تعریف کنیم. در VCM برهمکنش‌های غیرباندی excluded volume و لنارد جونز می‌توانند در سیستم اعمال شوند. برای آن که VCM تشخیص دهد میان ذرات هر دو نمونه چه نیرویی اعمال کند به یک نقشه برهمکنش احتیاج داریم. نقشه برهمکنش یک ماتریس است که هر درایه آن نشان می‌دهد نمونه شماره i و نمونه شماره j چه نیرویی به یکدیگر وارد می‌کنند. (بنابراین ماتریس برهمکنش متقارن است و می توان تنها از قسمت پایین مثلثی آن بهره برد.) اگر درایه $interaction_{ij}$ برابر یک باشد پتانسیل excluded volume واگر برابر دو باشد پتانسیل لنارد جونز میان ذرات دو نمونه اعمال می‌شود. مقدار صفر درایه نشاندهنده آن است که دو نمونه هیچ برهمکنشی با یکدیگر ندارند. برای نسبت دادن شماره به نمونه‌ها ترتیب زیر رعایت می‌شود: ابتدا همه نمونه های کلاس Membrane (به ترتیب ورود فایل تنظیم) و سپس نمونه های Actin, Chromatin, ECM و point-particle به ترتیب شماره‌گذاری می‌شوند.اگر درایه‌ای از قطر اصلی ناصفر بود به معنای آن‌است که در یک نمونه میان همه‌ذراتی که پیوندی با یکدیگر ندارند نیروی غیرباندی اعمال می‌شود. در شکل ۵.۶ نمونه‌ای از فایل نقشه برهمکنش میان غشا و نانوذرات مشاهده می‌شود.

```
mem0    2
mem1    1 0
mem2    1 2 0
mem3    1 2 2 0
mem4    1 2 2 2 0
mem5    1 2 2 2 2 0
mem6    1 2 2 2 2 2 0
mem7    1 2 2 2 2 2 2 0
mem8    1 2 2 2 2 2 2 2 2 0
mem9    1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 0
mem10   1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 0
mem11   1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 0
mem12   1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 0
mem13   1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 0
mem14   1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 0
mem15   1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 0
mem16   1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 0
mem17   1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 0
mem18   1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 0
mem19   1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 0
mem20   1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 0
mem21   1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 0
```

شکل ۵.۶: نقشه برهمکنش برای یک غشا و بیست نانوذره

۵.۱.۶ دستگاه واحدهای کاهیده

یکاهایی که OpenMM از آنها استفاده می‌کند در جدول ۶.۶ آمده اند. با استفاده از موتور موازی، همه‌ی کمیت‌ها در دستگاه یکاهای ۶.۶ گزارش می‌شوند. اما از آنجا که VCM مدلی درشت‌دانه سازی شده است، صرف اعداد گزارش شده فاقد معنای فیزیکی است. زمان اتفاق افتادن پدیده‌ای که شبیه‌سازی متناظر آن در VCM در واحدهای OpenMM ، ۲۰۰ ps به طول انجامیده است، لزوماً برابر این عدد نیست. اما در شبیه‌سازی ها کوشیده می‌شود چیدمان برنامه به نحوی صورت پذیرد که کمیت‌های نسبی دارای معنای فیزیکی باشند. به طور مثال اندازه نانوذرات برهمکنش کننده با غشا در شبیه‌سازی های فعلی بین 0.02 تا 0.5 مطابق با اندازه نسبی واقعی نانوذرات به آبدانک ها در نظر گرفته شده است.

برای آن که مقداردهی به کمیت‌ها در فایل‌های تنظیم در محدوده اعداد نه خیلی بزرگ و نه خیلی کوچک باشند، در فایل‌های تنظیم واحد طول آنگستروم و واحد انرژی $kcal/mol$ در نظر گرفته شده. همه کمیت‌ها با تبدیل واحد در طول اجرای شبیه‌سازی به کمیت‌های مورد استفاده در OpenMM تبدیل می‌شوند. در دستگاه یکاهای فایل تنظیم، k_BT در دمای ۳۰۰ کلوین برابر $0.59kcal/mol$ است. از آنجا که بیشتر شبیه‌سازی ها در دمای ۳۰۰ کلوین انجام شده‌اند این عدد معیار خوبی برای تنظیم سایر کمیت‌های فیزیکی در فایل‌های تنظیم و برابر با واحد انرژی

طول	nm
زمان	ps
جرم	amu
دما	k
انرژی	kJ/mol
نیرو	kJ/mol/nm

شکل ۶.۶: جدول یکاهای OpenMM

در دستگاه واحدهای کاهیده VCM است. همچنین واحد کاهیده طول نیز برابر با شعاع مش نانوذره در نظر گرفته می‌شود.

۶.۱.۶ خروجی برنامه

نتیجه شبیه‌سازی MD ، مسیر ذرات سیستم در حین تحول است. در فایل خروجی مکان تمام ذرات سیستم در زمان‌های مختلف ذخیره می‌شود. VCM در صورت اجرا با موتور سریال قادر است خروجی‌ها را به صورت یک فایل مسیر با پسوند xyz. و یا چندین فایل (به تعدادقاب‌های ذخیره شده از شبیه‌سازی) با پسوند pov. ذخیره کند. فایل‌های pov. با برنامه POVRay [۲۱] قابلیت نمایش دارند. این برنامه با داشتن انتخاب‌هایی چون محل قرارگیری دوربین و زاویه تصویر، نمایش گرافیکی باکیفیتی از هر قاب از شبیه‌سازی ارائه می‌دهد. همچنین می‌توان به کمک همین برنامه با اتصال قاب‌ها، فیلم تحول سیستم در شبیه‌سازی را ایجاد کرد. همچنین در صورت اجرای VCM با موتور موازی، نتایج به صورت فایل های pdb ذخیره می‌شوند. یک فایل pdb علاوه بر داشتن اطلاعات مکانی ذرات سیستم در هر قاب با فرمت مخصوص به خود سایر اطلاعات مربوط به شبیه‌سازی را نیز ذخیره می‌کند . بنابراین این خروجی برای آنالیز داده‌های شبیه‌سازی مناسب خواهد بود.

فایل های xyz. و pdb. در نرم‌افزار VMD [۲۲] قابلیت نمایش گرافیکی را دارا هستند.

کتاب‌نامه

[1] P. Nelson *Biological Physics: Energy, Information, Life , 2002.*

[2] M. Simunovic, C. Prévost, A. Callan-Jones, and P. Bassereau1 *Physical basis of some membrane shaping mechanisms, 2016.*

[3] P. Cossart1, A. Helenius *Endocytosis of Viruses and Bacteria, 2014.*

[4] L. Johannes, C. Wunder, P. Bassereau *Bending "On the Rocks"—A Cocktail of Biophysical Modules to Build Endocytic Pathways, 2014.*

[5] Y. Yu, S. Granick *Pearling of Lipid Vesicles Induced by Nanoparticles, 2009*

[6] B.J. Chen, R. A. Lamb *Mechanisms for enveloped virus budding: can some viruses do without an ESCRT? , 2008*

[7] H. Garoff, R. Hewson, D.J. E. Opstelten *Virus maturation by budding, 1998*

[8] M. P. Allen *Introduction to Molecular Dynamics Simulation, 2004.*

[9] H. T. McMahon , E. Boucrot *Membrane curvature at a glance, 2015.*

[10] W. Romer and coauthors *Shiga toxin induces tubular membrane invaginations for its uptake into cells, 2007.*

[11] A. Arkhipov, Y. Yin, K. Schulten *Membrane-Bending Mechanism of Amphiphysin N-BAR Domains,2009*

[12] C.A.J. Horvath, D. Vanden Broeck, G.A.V. Boulet, J. Bogers, M.J.S. De Wolf *Epsin: Inducing membrane curvature,2007*

[13] W.I. Sundquist, H.G. Krausslich *HIV-1 Assembly, Budding, and Maturation*

[14] P.G. Jambrina, J. Aldegundex *Computational Tools for the Study of Biomolecules, 2016*

[15] Tiam Heydari *Mechanical model in cell and nucleus deformation, 2016*

[16] K. Xiong,J. Zhao, D. Yang, Q. Cheng, J. Wang, H. Ji *Cooperative wrapping of nanoparticles of various sizes and shapes by lipid membranes, 2017*

[17] H. Noguchia, G. Gompper *Dynamics of vesicle self-assembly and dissolution, 2006*

[18] MR Ejtehadi, M Heidari, T Heydari, M Mahmoudi *Virtual cell simulator, 2017*

[19] T. Heydari, M. Heidari, O. Mashinchian, M. Wojcik, K. Xu, M. John Dalby, M. Mahmoudi, M.R. Ejtehadi *Development of a virtual cell model to predict cell response to substrate topography, 2017*

[20] P. Eastman, J. Swails, J.D. Chodera, R.T. McGibbon, Y. Zhao, K.A. Beauchamp, L.P. Wang, A.C. Simmonett, M.P. Harrigan, C.D. Stern, R.P. Wiewiora, B.R. Brooks, V.S. Pande. *OpenMM 7: Rapid development of high performance algorithms for molecular dynamics, 2017*

[21] *Persistence of Vision Pty. Ltd. (2004) [Computer software]*

[22] W. Humphrey, A. Dalke, K. Schulten. *VMD - Visual Molecular Dynamics, 1996*

[23] C. Geuzaine, J.F. Remacle. *Gmsh: a three-dimensional finite element mesh generator with built-in pre- and post-processing facilities, 2009*

[24] Community BO. *Blender - a 3D modelling and rendering package [Internet]. Stichting Blender Foundation, Amsterdam; 2018. Available from: http://www.blender.org*

[25] A. Saric, A. Cacciuto *Mechanism of Membrane Tube Formation Induced by Adhesive Nanocomponents,2012*

[26] J. Lidmar, L. Mirny, D. R. Nelson *Virus shapes and buckling transitions in spherical shells,2003*

[27] C. Wel1, A. Vahid, A. Šarić, T. Idema, D. Heinrich, D. J. Kraft *Lipid membrane-mediated attraction between curvature inducing objects,2016*

[28] L. Guo, J.Y. Har,J. Sankaran, Y. Hong, B. Kannan,T. Wohland *Molecular Diffusion Measurement in Lipid Bilayers over Wide Concentration Ranges: A Comparative Study,2008*

[29] *https://cnx.org/contents/FPtK1zmh@8.108:q2X995E3@12/The-Cell-Membrane*

[30] *https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Biological_Chemistry/Supplemental_Modules_(Biological_Chemistry)/Lipids/Applications_of_Lipids/Lipid_Bilayer_Membranes*

[31] *scientificanimations.com*

[32] *https://www.thoughtco.com/what-is-exocytosis-4114427*

[33] *http://www.mechanobio.info/what-is-the-plasma-membrane/what-is-membrane-trafficking/what-is-clathrin-mediated-endocytosis/*

Abstract

The aim of this thesis is to investigate the passive wrapping of nanoparticles by a lipid membrane in the uptake process using molecular dynamics computer simulations. The simulations are carried out by the Virtual Cell Model (VCM) software package, a computational framework that creates a large scale coarse-grained multi-component cell model developed by Prof Mohammad Reza Ejtehadi's Soft Matter Group at Sharif University of Technology. VCM can model the dynamics of different parts of the cell and investigate their mechanical properties.

A chapter of this thesis contributes to further development of the membrane model used in the VCM to simulate nanoparticles interactions with a membrane. The membrane is represented by nodes that are on a closed triangular mesh network with bending rigidity between adjacent triangles and harmonic springs between connected nodes. The fluid-like behavior of the membrane (Which is caused by the diffusion of lipid molecules on the surface of it) is mimicked by changing the structure of the node connections. The mechanical energy of the membrane is minimized through a Monte Carlo selection of the best network configuration of triangles through the course of the simulation.The nanoparticles are simulated as very rigid membranes that have a constant shape (polyhedral) and network throughout the simulation.

The results show that membranes that mimic fluid-like behavior have a higher chance to wrap the nanoparticles compared to membranes that only have elastic properties. As a result of minimizing the total free energy of the system, multiple nanoparticles attached to the inner wall of the membrane, are guided to each other to reduce the overall bending energy of the membrane wall.We were not able to observe vertical tubular-shaped protrusions in our membrane model which has been previously reported in the literature.However, we showed that in our simulations nanoparticles that create small clusters can result in lateral tubular-shape protrusions.

Sharif University of Technology

Department of Physics

A thesis submitted in partial fulfillment
of the requirements for the M.Sc.degree

Topic

"A study on the process of passive uptake of nanoparticles by coarse-grained MD simulation".

By

Hoda Shirzad

Supervisor

Dr. MohammadReza Ejtehadi

December 2019