

**Titán felületek és biomolekulák kölcsönhatásainak
modellezése molekuladinamikai módszerekkel**

Doktori (Ph. D.) értekezés tézisei

Szerző:

Tarjányi Tamás

Témavezető:

Dr. Tóth Zsolt

egyetemi docens

Fizika Doktori Iskola

Fizika Intézet

SZTE-TTIK

Szeged

2023

1. Bevezetés

A ma elérhető számítástechnikai teljesítmény lehetővé teszi molekuladinamika (MD) módszerek sikeres alkalmazását különböző biomolekulák, úgymint fehérjék és peptidek szimulációjára [1]. Az utóbbi két évtizedben az MD módszereket sikeresen alkalmazzák felületek és biomolekulák kölcsönhatásának tanulmányozására is [2]. Munkám során titán-dioxid (TiO_2) felület és különböző biomolekulák kölcsönhatását vizsgáltam MD szimulációs módszerekkel. A titán fémnek fontos szerepe van orvosi és fogorvosi szempontból is, gyakran alkalmazzák implantátum alapanyagként [3]. A titán implantátum becsontosodása során a véráramból különböző biomolekulák tapadnak meg, létrehozva egy bioréteget, amelyre a későbbiek során a csontsejtek sikeresen megtapadnak [4]. Az értekezésemben e felületre tapadó rövid, tri és tetrapetidekkel foglalkoztam.

2. Célkitűzések

Dolgozatomban célul tűztem ki az összeintegráció szempontjából perspektivikus peptidok TiO_2 felületre való tapadásának tanulmányozását MD módszerekkel. Ehhez különböző polimorf állapotú és amorf TiO_2 számítógépes modelleket alkottam. Célom volt, hogy olyan különböző fizikai mennyiségeket találjak, amelyekkel a peptidok letapadását tudom jellemezni és összehasonlítani. Ilyen mennyiség az adszorpciós időarány vagy a tapadáshoz tartozó kötési energia vagy entalpia.

3. Kutatási módszerek

Elsőként az összeintegrációban szerepet játszó KRSSR molekulát vizsgáltam meg azanatáz felületen, amelyet még eddig MD segítségével nem vizsgáltak korábban. A szimulációkat a GROMACS szoftver csomag segítségével készítettem el [5]. Az anatáz elemi cellából kiindulva megalkottam a TiO_2 modellt, amelyen a KRSSR molekula tapadását tanulmányoztam víz molekulák jelenlétében egy 200 ns szimuláció során, 310 K hőmérsékleten. A titán és oxigén atomok potenciálját Luan és munkatársai által ki-

számított TiO_2 potenciál paraméterek segítségével definiáltam a GROMACS számára [6].

A felületre tapadt KRSR molekula konformációk feltérképezéséhez további REMD (replika kicserélési MD) szimulációkat végeztem, amely során 96 különböző hőmérsékletű 50 ns hosszúságú szimulációt végeztem. A szimulációs rendszereket úgy állítottam be, hogy az egyes replikák közötti kicserélési valószínűség 30% legyen (1,5 K hőmérséklet különbség). A szimulációk során 2 fs időlépésközt használtam és minden szimulációt egyensúlyi állapot keresés előzött meg (NVT és NPT).

Elhúzási szimulációt végeztem, ahol egy harmonikus potenciál segítségével elhúztam az anatáz felületéhez tapadt KRSR molekulát 5 nm/ns sebességgel, majd mintavételezést végeztem 24 pontban a felülettől egységnyi távolságokban 10 ns-on át. Majd a WHAM algoritmus segítségével kiszámítottam a molekulára ható átlagos erőből számított potenciál (PMF) görbét és ezek alapján megállapítottam a kötési szabadentalpiát [7].

Az anatáz mellett készítettem egy rutil modellt a rutil elemi cella segítségével és egy további amorf modellt az

anataz modell hőmérsékletét megemelve 3000 K-re majd hirtelen befagyasztva 310 K-re. A három felületen 6 különböző peptiddel végeztem további 500 ns szimulációkat, ezek a KGD, KRSR, LGD, LRSR, RGD, RSR. A letapadás összehasonlítása céljából kiszámítottam az adszorpció időarányokat, amely a felület 0,5 nm közelében töltött időpillanatok aránya a teljes szimulációhoz képest.

További elhúzási szimulációt végeztem a peptidekkel a különböző felület modelleken, amely során egy harmonikus potenciál segítségével elhúztam a molekula tömegközéppontokat. A kifejtett erő és távolság görbék alapján meghatároztam a tri- és tetrapeptidek kötési energiáit és összehasonlítottam azokat.

4. Téziseim, új tudományos eredményeim

Tézis 1. Molekula dinamikai szimulációt végeztem vizes környezetben a KRSR (Lys-Arg-Ser-Arg) peptid anatóz titán-dioxid felülettel történő kölcsönhatásának vizsgálata céljából. Megállapítottam, hogy 200 ns szimuláció alatt a KRSR molekula a vizes fázisból indulva, megtapad a titán-dioxid felületen és stabilan megkötődik. A kötődés folyamatait három fázisra osztottam. Az első fázis során 1,5 ns alatt a KRSR peptid 0,3 nm-re közelítette meg a felületet (migráció), majd a második fázis során ezt a távolságot tartotta 6 ns-ig. A harmadik fázis során egy szorosabb letapadás alakul ki, a KRSR peptid és a legközelebbi felszíni atom távolsága a szimuláció utolsó 193 ns-ban $0,148 \pm 0,008$ nm-re állt be. Továbbá, ezen szimulációs eredményekkel megmutattam, hogy a KRSR molekula adhéziójában fontos szerepet játszik a peptid N-terminális végén lévő pozitívan töltött lizin (K, Lys), ami a töltött aminocsoportjával tapad meg az anatóz felületen [T1].

Tézis 2. Meghatároztam a KRSR tetrapeptid molekula konformációit az anatóz titán-dioxid felületen REMD (Replica Exchange Molecular Dynamics) módszerrel. A konformációk meghatározásakor figyelembe vettem a vizes környezet hatásait. A REMD szimuláció, amelyet ennek céljából végeztem 96 különböző hőmérsékletű 310 K – 454 K, 50 ns párhuzamosan futó szimulációból állt. Ezzel meghatároztam a KRSR molekula konformációs sokaságait a titán-dioxid felületén a REMD szimulációban szereplő hőmérsékleteken. A 310 K-re jellemző különböző molekula konformációkat 0,1 nm RMSD LINCS klaszterezéssel különítettem el. Ezen klaszterek közül kiválasztottam a legnagyobb populációjút, ami Boltzmann-eloszlást feltételezve a legalacsonyabb energiájú is, amelyhez 4751 szerkezet tartozik. A legalacsonyabb hőmérsékletű (310 K) replika esetén a molekula ezen szerkezetek valamelyikét veszi fel a teljes szimulációs idő mintegy 40%-ban [T1].

Tézis 3. A REMD módszerrel kapott domináns KRSR klaszter reprezentáns állapottal az anatóz titán-dioxid felületen húzási szimulációt végeztem, amellyel meghatá-

rozta a kötési szabadentalpiát vizes fázis figyelembevételével. A húzási szimuláció során a felületre merőleges tengely mentén történt a molekula elhúzása. A kiértékeléshez 24 pontban végeztem 10 ns hosszú mintavételezést (240 ns teljes szimulációs idő) az umbrella sampling módszerrel, amelyhez a húzás során kapott KRSR molekula állapotokat választottam ki egyenletesen elosztott távolságokra a TiO₂ felülettől, a legkisebb távolság 0,156 nm, a legnagyobb 2,77 nm. A mintavételezés során kapott görbéken súlyozott hisztogram elemzést végeztem (WHAM algoritmus), amely segítségével kapott PMF (Potential of Mean Force) görbe alapján meghatároztam a kötési szabadentalpiát, ami $\Delta G = 8,817$ kcal/mol (azaz 0,3823 eV) [T1].

Tézis 4. Összehasonlítottam hat kis méretű peptid adszorpcióját különböző titán-dioxid felületeken vizes környezetben. Az összehasonlítást a KGD, KRSR, LGD, LRSR, RGD, RSR peptidekre végeztem az anatóz, rutil és amorf TiO₂ felületeken. Az adszorpció jellemzésére a kötődési időarányt használtam, ami a peptidnek a TiO₂ felület közelében töltött idejének (távolság < 0,5 nm) és a

teljes szimulációs időnek hányadosaként határoztam meg. Az eredmények alapján azonosítottam azokat a peptideket, melyek kiemelkedő kötődési tulajdonságokat mutatnak az egyes felületeken. A kötési időarány szempontjából a KRSR és RGD magas értékeket mutattak mind a három felület típuson, átlagosan $82,93 \pm 1,13\%$ és $87,26 \pm 10,11\%$ volt az adszorpciós időarányuk. Az LGD és RSR értéke kissé elmarad ezekhez képest: $77,99 \pm 14,7\%$ és $69,79 \pm 18,2\%$. A KGD szintén magas, $80,31 \pm 14,43\%$ átlag értéket mutatott, az adszorpciós időaránya az amorf TiO_2 felületen kiemelkedően nagy volt $91,26\%$. Az LRSR adszorpciós időaránya a többi peptidhez képest jóval alacsonyabbnak adódott: $31,72 \pm 16,34\%$. Megállapítottam, hogy azok a peptidek tudtak hosszabb ideig megtapadni, amelyek N-terminális aminosava a pozitív töltéssel rendelkező lizin (K) vagy arginin (R), míg ha ezeket a töltéssel nem rendelkező leucinnal (L) helyettesítjük, a kötési időarány csökkenése figyelhető meg [T2].

Tézis 5. A választott peptidek (KGD, KRSR, LGD, LRSR, RGD, RSR) különböző TiO_2 felületekre (anatáz, rutil és amorf) történő tapadásának kötési energiáit elhúzás szimulációk segítségével határoztam meg. A számolt kötési energiák néhány eV nagyságrendbe esnek. A legalacsonyabb kötési energiákat az N-terminális leucinnal (L) kezdődő peptidek esetén kaptam, LGD esetén $2,72 \pm 0,77$ eV, az LRSR esetén pedig $2,37 \pm 1,51$ eV. A legnagyobb átlagos értéket a KRSR esetén kaptam $4,98 \pm 1,94$ eV. A maximális elhúzási erő és kötési energia között lineáris összefüggést találtam [T2].

A tézisekhez kapcsolódó publikációk

[T1] Tarjányi, T.; Bogár, F.; Minarovits, J.; Gajdács, M.; Tóth, Z. Interaction of KRSR Peptide with Titanium Dioxide Anatase (100) Surface: A Molecular Dynamics Simulation Study. *Int. J. Mol. Sci* **2021**, *22*, 13251.

[T2] Tarjányi, T.; Bogár, F.; Minarovits, J.; Gajdács, M.; Tóth, Z.; Interaction of biomolecules with anatase, rutile and amorphous TiO₂ surfaces: A molecular dynamics study. *PLOS ONE* **2023**, *18*, e0289467.

Támogatások

A munkát a GINOP-2.3.2-15-2016-00011 számú pályázat támogatta.

A munka eredményeihez kapcsolódó számítások jelentős része a KIFÜ magyarországi superszámítógépes infrastruktúráján valósult meg.

Hivatkozások

- 1 Sinha, S.; Tam, B.; Wang, S. M. Applications of Molecular Dynamics Simulation in Protein Study. *Membranes*, **2022**, *12*, 844. DOI: 10.3390/membranes12090844.
- 2 Song, D.P.; Chen, M.J.; Liang, Y.C.; Bai, Q.S.; Chen, J.X.; Zheng, X.F.Y. Adsorption of tripeptide RGD on rutile TiO₂ nanotopography surface in aqueous solution. *Acta Biomater.* **2010**, *6*, 684–694.
- 3 Kruyt, I. J.; Nelissen, R. C.; Mylanus, E. A. M.; Hol, M. K. S. Three-Year Outcomes of a Randomized Controlled Trial Comparing a 4.5-Mm-Wide to a 3.75-Mm-Wide Titanium Implant for Bone Conduction Hearing. *Otology & Neurotology*, **2018**, *39*, 609–615. DOI: 10.1097/mao.0000000000001761.
- 4 Kasemo, B. Biological Surface Science. *Surface Science*, **2002**, *500*, 656–677. DOI: 10.1016/s0039-6028(01)01809-x.
- 5 Abraham, M. *et al.*; GROMACS 2023.2 Manual. **2023**. DOI: 10.5281/ZENODO.8134388.
- 6 Luan, B.; Huynh, T.; Zhou, R. Simplified TiO₂ force fields for studies of its interaction with biomolecules. *J. Chem. Phys.* **2015**, *142*, 234102.
- 7 Kumar, S.; Rosenberg, J.M.; Bouzida, D.; Swendsen, R.H.; Kollman, P.A. The weighted histogram analysis method for free-energy calculations on biomolecules. *I. Method J. Comput. Chem.* **1992**, *13*, 1011–1021.