

N° d'ordre:

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LILLE

THESE DE DOCTORAT

Discipline: Instrumentation et Analyses Avancées

*SIMULATION PAR DYNAMIQUE MOLECULAIRE D'UNE
BICOUCHE LIPIDIQUE.
DEVELOPPEMENT D'UNE STRATEGIE DE CALCUL DES
INTERACTIONS NON LIEES:
POTENTIEL TRONQUE ADAPTE AUX SYSTEMES NON
SPHERIQUES*

présentée et soutenue publiquement par

Valérie LEDAUPHIN

Le Novembre 1999, devant le jury ci-après



- Rapporteurs:** Pr. M. GHOMI, *Professeur*, Université de Paris VI
Pr. J. DE CONINCK, *Professeur*, Université de Mons-Hainaut (Belgique)
- Examineurs:** Pr. P. LEGRAND, *Professeur*, Université de Lille I
Dr. J. MAZURIER, *Directeur de Recherches CNRS*, Université de Lille I
- Directeur de thèse:** Pr. G. VERGOTEN, *Professeur*, Université de Lille I

SOMMAIRE

Introduction générale	p 1
Chapitre 1. Structure des biomembranes.	
Introduction	p 6
I. <u>Le polymorphisme des phospholipides.</u>	p 9
I.1. Généralités.	p 9
I.2. L'agencement architectural.	p 10
I.3. Les diagrammes de phase.	p 15
II. <u>Caractérisation des différentes phases: les méthodes expérimentales.</u>	p 18
II.1. Les informations structurales.	p 18
II.1.1. La diffraction des rayons X.	p 18
II.1.2. La diffraction des neutrons.	p 20
II.2. Les informations dynamiques.	p 20
II.2.1. Les spectroscopies vibrationnelles.	p 20
II.2.2. La spectroscopie de fluorescence.	p 21
II.2.3. Les spectroscopies de résonance.	p 22
Conclusion	p 24
Bibliographie	p 25
Chapitre 2. Dynamique de modèles de membranes biologiques.	
Introduction	p 29
I. <u>Base conceptuelle de la dynamique moléculaire.</u>	p 31
I.1. L'équation de Newton.	p 31
I.2. Méthode de résolution numérique.	p 33
I.2.1. L'algorithme de Verlet.	p 33
I.2.2. Le choix du pas d'intégration.	p 36
I.2.3. Les systèmes thermodynamiques.	p 38
I.3. Les diverses étapes de la dynamique moléculaire.	p 40
I.3.1. Choix de la structure initiale.	p 40
I.3.2. Minimisation de la structure initiale.	p 41
I.3.2.1. La méthode de la plus grande pente.	p 42
I.3.2.2. La méthode du gradient conjugué.	p 42
I.3.3. Introduction de l'énergie cinétique.	p 43

I.3.4. La période d'équilibrage.	p 44
I.3.5. L'établissement de la trajectoire.	p 45
I.4. Introduction du solvant.	p 46
I.4.1. Modélisation de la solvatation.	p 46
I.4.2. Les conditions périodiques aux frontières (PBC).	p 47
II. <u>La fonction d'énergie potentielle SPASIBA.</u>	p 49
II.1. La forme analytique de la fonction énergie potentielle SPASIBA.	p 50
II.2. Paramétrisation de la fonction énergie potentielle SPASIBA: les phospholipides.	p 53
Conclusion	p 55
Bibliographie	p 56

Chapitre 3. Le traitement des interactions moléculaires non liantes.

Introduction	p 60
I. <u>La convention minimum image associée à un potentiel tronqué.</u>	p 63
I.1. Principe.	p 63
I.2. Critère de choix du "cutoff".	p 64
I.3. Etablissement des listes des paires d'atomes non liés.	p 65
I.4. Utilisation d'un double "cutoff".	p 66
I.5. Les fonctions d'atténuation ou de lissage.	p 67
I.6. La notion de groupes.	p 69
II. <u>La méthode d'Ewald.</u>	p 71
II.1. Principe.	p 71
II.1.1. Le premier terme.	p 72
II.1.2. Le second terme.	p 73
II.1.3. Les troisième et quatrième termes.	p 74
II.1.4. Conclusion	p 74
II.2. Avantages et inconvénients.	p 75
Conclusion	p 77
Bibliographie	p 79

Chapitre 4. Nouvelle méthodologie de calcul des interactions moléculaires non liantes.

Introduction	p 82
I. <u>Calcul des interactions non liées: notre stratégie.</u>	p 85
II. <u>Dynamique moléculaire de l'ion sodium dans un bain d'eau.</u>	p 87
II.1. Conditions de simulation par dynamique moléculaire.	p 87
II.2. Analyse de la dynamique moléculaire.	p 92
III. <u>Etude structurale de l'environnement aqueux.</u>	p 94
III.1. Distribution spatiale des molécules d'eau.	p 94
III.2. Orientation des dipôles des molécules d'eau.	p 102
III.2.1. Profils de distribution angulaire.	p 102
III.2.2. Influence du mode de calcul des interactions non liées.	p 111
Conclusion	p 114
Bibliographie	p 116

Chapitre 5. Construction d'un modèle de bicouche lipidique.

Introduction	p 118
I. <u>Construction du modèle de bicouche lipidique.</u>	p 120
I.1. Limites des renseignements expérimentaux.	p 120
I.2. Proposition d'un modèle de bicouche lipidique.	p 121
I.2.1. Conformation initiale des molécules lipidiques.	p 122
I.2.2. Arrangement moléculaire spatial initial.	p 125
II. <u>Paramètres du champ de forces SPABIBA. Charges et modèle de l'eau.</u>	p 130
III. <u>Simulation moléculaire du modèle de bicouche lipidique.</u>	p 135
III.1. Première étape: la minimisation.	p 135
III.2. Seconde étape: les premiers pas de dynamique moléculaire.	p 135
III.3. Troisième étape: recherche de la stabilité du système.	p 136
Conclusion	p 139
Bibliographie	p 140

- Résultats -

Chapitre 6. Dynamique moléculaire d'une bicouche lipidique.

Introduction	p 143
I. <u>Simulations par dynamique moléculaire: méthodologie.</u>	p 146

Partie 1:

Analyse des résultats de la simulation par dynamique moléculaire de modèles de bicouches lipidiques:

Définition des paramètres structuraux renseignant sur la conformation et l'assemblage moléculaire. Programmation informatique des relations mathématiques permettant cette analyse.

II. <u>Définition des paramètres d'étude structurale d'une bicouche lipidique.</u>	p 150
II.1. Paramètres mesurés pour une étude structurale d'ordre moléculaire.	p 150
II.1.1. Distribution des atomes le long de la normale à la bicouche. (Programme DisANorm)	p 150
II.1.2. Etude de la densité électronique (De-). (Programme DensE)	p 151
II.2. Paramètres pour une étude structurale d'ordre atomique.	p 151
II.2.1. Etude conformationnelle des torsions lipidiques. (Programme ConFLip)	p 152
II.2.2. Orientation des têtes polaires par rapport à la normale à la bicouche. (Programme AngTet)	p 152
II.2.3. Orientation des chaînes aliphatiques par rapport à la normale. (Programme AngChain)	p 152
II.2.4. Paramètre d'ordre S_{CD} (Programme SCD)	p 154
II.2.5. Distribution radiale des molécules d'eau autour des têtes polaires. (Programme DistRad)	p 156

Partie 2:

**Simulation par dynamique moléculaire de type NVT (300ps) d'une bicouche lipidique:
Analyse structurale des effets de l'utilisation d'un potentiel tronqué de type sphérique pour
le calcul des interactions non liées.**

III. <u>Méthode classique de calcul des interactions non liées.</u>	p 158
III.1. Caractéristiques structurales d'ordre moléculaire de la bicouche.	p 158

III.1.1. Distribution atomique le long de la normale à la bicouche.	p 158
III.1.2. Profil de densité électronique.	p 161
III.2. Etude structurale lipidique à l'échelle atomique.	p 162
III.2.1. Etude structurale des têtes polaires.	p 162
III.2.1.1. Orientation des têtes polaires.	p 163
III.2.1.2. Conformation des têtes polaires.	p 164
III.2.2. Etude structurale des chaînes aliphatiques.	p 166
III.2.2.1. Distribution angulaire des chaînes aliphatiques.	p 166
III.2.2.2. Conformation des chaînes aliphatiques.	p 168
III.2.2.3. Paramètre d'ordre S_{CD} .	p 168
III.3. Etude structurale de l'environnement aqueux des têtes polaires.	p 171
III.3.1. Distribution radiale de l'eau autour de l'azote.	p 171
III.3.2. Distribution radiale de l'eau autour du phosphore.	p 172
III.3.3. Distribution radiale de l'eau autour des oxygènes phosphatés.	p 174
III.3.4. Distribution radiale de l'eau autour des carbones glycérol.	p 174

Partie 3:

**Simulation par dynamique moléculaire de type NVT (300ps) d'une bicouche lipidique:
Analyse structurale des effets de l'utilisation d'un potentiel tronqué non sphérique pour le
calcul des interactions non liées.**

Développement d'une nouvelle méthodologie de calcul.

IV. <u>Méthode modifiée de calcul des interactions non liées.</u>	p 178
IV.1. Caractéristiques structurales d'ordre moléculaire de la bicouche.	p 178
IV.1.1. Distribution atomique le long de la normale à la bicouche.	p 178
IV.1.2. Profil de densité électronique.	p 180
IV.2. Etude structurale lipidique à l'échelle atomique.	p 181
IV.2.1. Etude structurale des têtes polaires.	p 181
IV.2.1.1. Orientation des têtes polaires.	p 182
IV.2.1.2. Conformation des têtes polaires.	p 182
IV.2.2. Etude structurale des chaînes aliphatiques.	p 184
IV.2.2.1. Distribution angulaire des chaînes aliphatiques.	p 184
IV.2.2.2. Conformation des chaînes aliphatiques.	p 185
IV.2.2.3. Paramètre d'ordre S_{CD} .	p 185
IV.3. Etude structurale de l'environnement aqueux des têtes polaires.	p 187
IV.3.1. Distribution radiale de l'eau autour de l'azote.	p 187
IV.3.2. Distribution radiale de l'eau autour du phosphore.	p 187
IV.3.3. Distribution radiale de l'eau autour des oxygènes phosphatés.	p 189
IV.3.4. Distribution radiale de l'eau autour des carbones glycérol.	p 189

Partie 4:
Discussion:
Performances du champ de forces SPASIBA.
Validation de notre méthodologie de simulation.
Influence du mode de calcul des interactions non liées.

<u>V. Discussion.</u>	p 192
V.1. Performances du champ de forces SPASIBA et validation de notre méthodologie de simulation.	p 192
Etude de l'effet des conditions périodiques aux frontières (PBC) et des interactions de van der Waals. (dynamique n°3)	p 195
Exaltation des mouvements des chaînes aliphatiques. Evaluation de leur encombrement stérique. (dynamique n°4)	p 195
V.2. Influence du mode de calcul des interactions non liées. Etude comparative.	p 200
Potentiel tronqué de type sphérique.	p 200
Potentiel tronqué de type non sphérique.	p 200
Conclusion	p 206
Bibliographie	p 207
 Conclusion générale	 p 209

INTRODUCTION GENERALE

La finalité de la recherche en modélisation et simulation moléculaires des constituants moléculaires des bicouches phospholipidiques est de prédire les propriétés de la membrane biologique en tant qu'assemblage supramoléculaire. Elle est également de comprendre ses propriétés fonctionnelles en tant que barrière sélective entre les milieux intra- et extra-cellulaire. Ceci constitue un vaste champ de recherche impliquant diverses disciplines. Cependant, l'aspect physico-chimique et notamment l'aspect moléculaire est l'une des clefs du fonctionnement de ces bicouches. Ceci passe évidemment et nécessairement par la compréhension de son organisation structurale. Or, en termes de modélisation moléculaire, ceci se traduit par l'étude de la structure tridimensionnelle (3D) à la fois dans son aspect statique mais également dans son aspect dynamique. Une étude ne saurait être complète et approfondie sans ce caractère dynamique.

L'objet de cette thèse est donc double. Dans un premier temps, il concerne la modélisation moléculaire d'un modèle de bicouche lipidique et dans un deuxième temps l'étude par dynamique moléculaire de la flexibilité de cette organisation structurale.

Proposition d'un modèle de bicouche lipidique.

La construction d'un modèle de bicouche lipidique n'est pas une étape aisée. En effet, elle nécessite de s'intéresser à la fois à la structure tridimensionnelle du constituant élémentaire de l'assemblage moléculaire, à savoir, le phospholipide, et aux modalités d'assemblage supramoléculaire. Il s'agit donc de déterminer l'organisation tridimensionnelle de constituants très flexibles. La difficulté d'une proposition d'un modèle de bicouche lipidique réside dans le manque de renseignements d'ordre structural de type 3D. En effet, toute approche de construction n'est basée que sur un ensemble de renseignements indirects

obtenus par des méthodes ou des outils physiques expérimentaux. C'est donc la combinaison de plusieurs renseignements qui valide le modèle.

Par ailleurs, si on examine la littérature, et cela se fera au travers des divers chapitres de cette thèse, il existe plusieurs modèles ayant été proposés par diverses communautés scientifiques. De cet examen, nous avons retiré les éléments suivants:

- la sélection et la combinaison des renseignements d'ordre expérimentaux indirects concernant l'assemblage moléculaire est un principe nécessaire et acquis.

- il existe un pluralisme de pensées concernant le sujet et dépendant de l'origine des écoles scientifiques. En effet, un examen minutieux des publications scientifiques, surtout au début des années 90, révèle un engouement de travaux. Cet engouement s'est traduit par une confusion entre la possibilité d'effectuer, d'une part, des calculs scientifiques (auparavant complexes et inaccessibles) plus rapidement (développement des moyens informatiques) et, d'autre part, la non-existence d'algorithmes spécifiques aux bicouches lipidiques. Concernant ce dernier aspect, on peut noter les remarques suivantes:

- l'extrapolation de champs de forces spécifiques aux protéines à des bicouches lipidiques.

- l'utilisation de méthodes de contraintes tel que l'algorithme "shake" comme moyen d'accélérer le calcul sans aucune justification scientifique valable.

- l'omission des atomes d'hydrogène lors des calculs.

- le traitement des interactions non liantes par une méthode standard et non spécifique à un assemblage de type phospholipidique dont les conséquences dans le traitement des interactions agissant à longue distance de type coulombien peuvent être très importantes.

Dans cette thèse, l'ensemble de ces questions a été tout d'abord passé en revue. Puis, une étude préliminaire de la faisabilité des calculs a été effectuée. Nous avons donc établi les objectifs suivants:

-utiliser un champ de force spécifique aux molécules lipidiques, propre à notre laboratoire, à savoir le champ de force SPASIBA.

-adapter le programme SPASIBA à la simulation de bicouches lipidiques.

-modifier l'algorithme traitant des interactions non liantes afin de prendre en considération la particularité du type d'assemblage des phospholipides de forme non sphérique et donc nécessitant un traitement spécifique et adapté.

-prendre en considération, lors de la construction du modèle, l'orientation des dipôles engendrés par la tête polaire zwitterionique.

-s'assurer dès le départ de la concordance de tous les éléments architecturaux introduits avec les renseignements expérimentaux disponibles.

Etude par dynamique moléculaire de la flexibilité de la bicouche lipidique.

Le second volet de cette thèse est la réalisation d'une étude par dynamique moléculaire de la flexibilité de l'assemblage supramoléculaire que constitue la bicouche lipidique. Il a consisté, tout d'abord, en la prise en compte des améliorations et des modifications des algorithmes cités précédemment qui, par comparaison avec la littérature, nous ont permis:

-de ne pas fragmenter le phospholipide en plusieurs sous-structures et de pouvoir étudier cette influence sur la flexibilité de l'ensemble architectural.

-de ne pas utiliser d'artifices de calculs (tel que le "shake" ou la non prise en considération des atomes d'hydrogène).

Par ailleurs, une étude préliminaire par simulation de dynamique moléculaire consistant en l'étude de la solvataion d'un cation sodium nous a permis de vérifier la

faisabilité des modifications apportées au traitement correct des interactions non liantes à la fois de type van der Waals et de type coulombien. Cette approche est à la fois:

- une réflexion sur l'utilisation de ces potentiels tels qu'ils sont introduits dans l'ensemble des fonctions énergies potentielles pour le traitement des interactions entre molécules.

- de proposer une autre alternative à la méthode d'Ewald en rendant spécifique les potentiels tronqués classiques. Car, à notre sens, le succès de la méthode d'Ewald reste encore un traitement standard qui n'est pas forcément spécifique et adapté à la simulation des bicouches lipidiques.

CHAPITRE 1

Structures des biomembranes

Introduction

L'évolution des connaissances sur la nature chimique et les propriétés physicochimiques des constituants de cellules simples, depuis le début de ce siècle, furent pour beaucoup dans l'établissement de modèles d'organisation membranaires. C'est en 1925 avec Gorter et Grendel [1] que l'on voit apparaître le premier modèle de bicouche lipidique. Puis, vont suivre de nombreux modèles tels que le modèle en "sandwich" de Danielli [2] et le modèle micellaire de Lucy [3] et enfin, le modèle de mosaïque fluide de Singer et Nicholson [4] qui est aujourd'hui celui universellement admis (figure n°1).

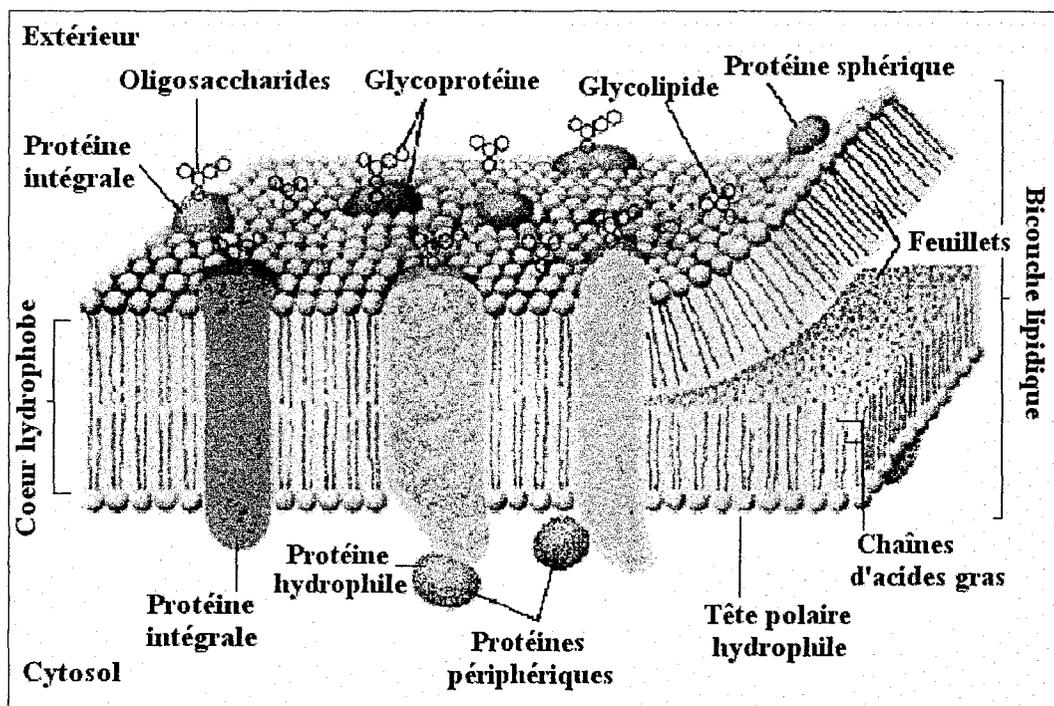


Figure n°1: Représentation du modèle de mosaïque fluide d'une bicouche lipidique selon Singer et Nicholson [4].

Ce modèle est décrit comme le résultat d'une juxtaposition en continu de molécules lipidiques et protéiques d'où son appellation de mosaïque. Les deux monocouches phospholipidiques présentent face à face leurs chaînes d'acide gras formant la partie hydrophobe de la membrane. Les têtes polaires hydrophiles sont dirigées vers le milieu

hydrophobe de la membrane. Les têtes polaires hydrophiles sont dirigées vers le milieu aqueux environnant. Les protéines s'insèrent à la fois à la surface et dans la profondeur de la bicouche. On parle alors de protéines périphériques et intégrales. Des complexes oligosaccharidiques et glycoprotéiques viennent se greffer sur ces dernières ou directement aux constituants de base de la membrane: les phospholipides. Ces divers composants se juxtaposent les uns par rapport aux autres tout en présentant une certaine mobilité. La bicouche membranaire ne doit donc pas être représentée comme une architecture statique mais comme un ensemble fluide conservant sa cohésion.

La compréhension de la structure et du fonctionnement des membranes est donc un enjeu important dans la compréhension des processus biochimiques vitaux. Cette compréhension passe nécessairement par l'étude de la structure et de la dynamique des constituants de base de la membrane à savoir les molécules lipidiques. Nous verrons donc dans ce chapitre quels sont les divers types de phospholipides et leur classification. Puis nous aborderons leur polymorphisme. Enfin, nous verrons quels renseignements structuraux et dynamiques peuvent être obtenus expérimentalement.

La figure n°2 présente un organigramme des points d'étude de ce chapitre.

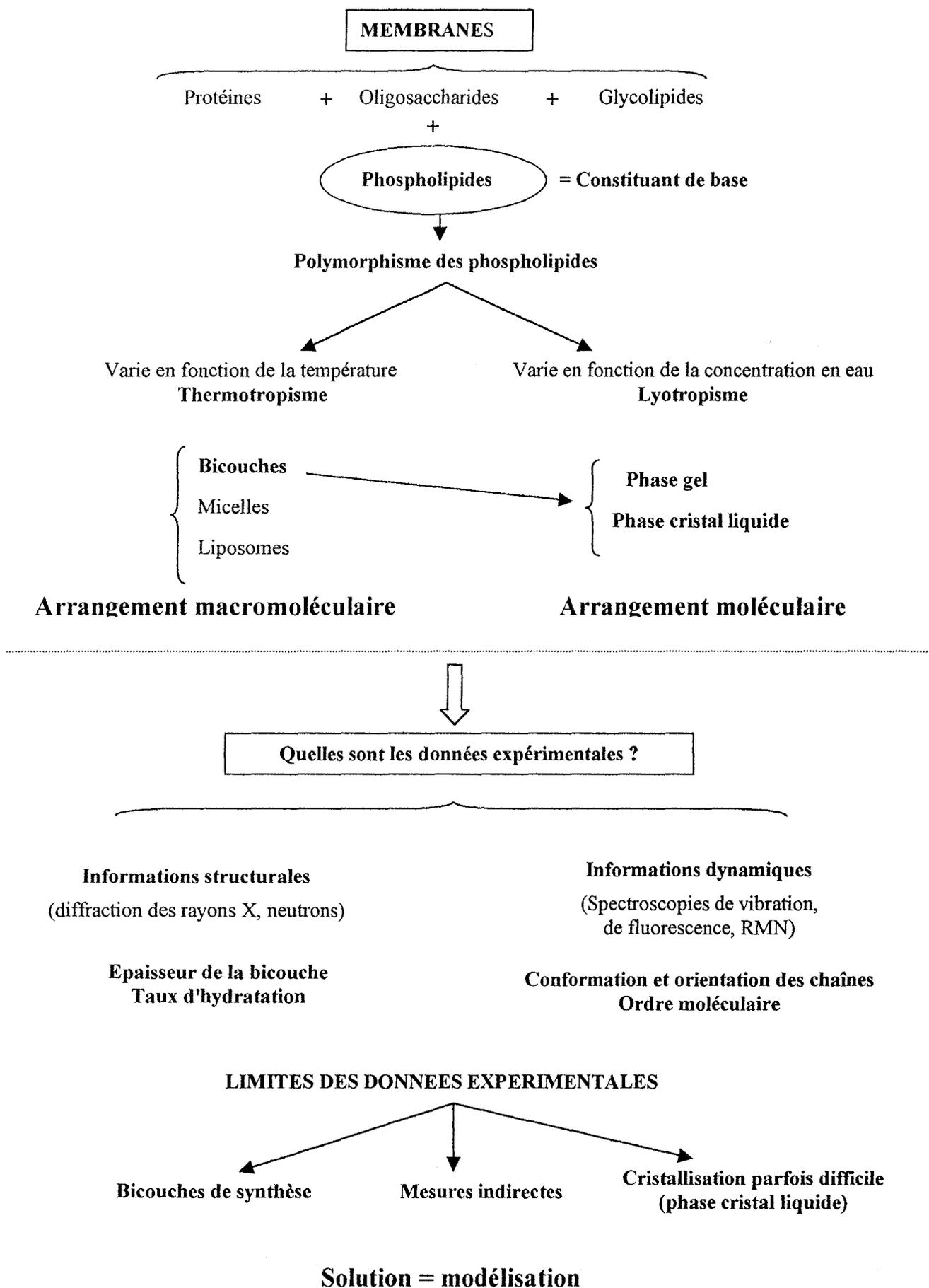


Figure n°2: Polymorphisme des phospholipides. Limites des méthodes expérimentales dans la description de ces architectures lipidiques.

I. Le polymorphisme des phospholipides.

I.1. Généralités.

Les glycérophospholipides ou "phospholipides" font partie au même titre que les glycolipides et les stérols des principaux types de molécules lipidiques membranaires. L'intérêt particulier qui leur est porté est certainement lié au fait qu'ils sont les plus nombreux dans la composition lipidique des membranes (jusqu'à 50% pour les membranes érythrocytaires humaines).

Comme leur nom l'indique, ce sont des dérivés du glycérol dont deux des fonctions alcools sont estérifiées par des acides gras (R_1 et R_2) (figure n°3) à longues chaînes non ramifiées de 14 à 24 carbones.

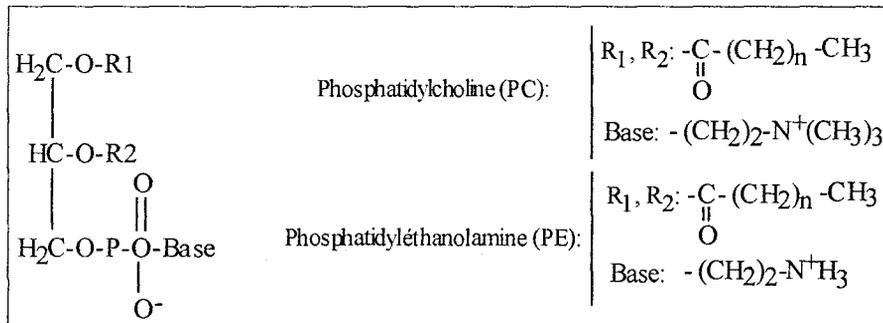


Figure n°3: Squelette général des glycérophospholipides.

Ces chaînes peuvent être saturées ou comporter une ou plusieurs doubles liaisons non conjuguées. La troisième fonction alcool est substituée par une tête polaire (Base) qui provient de l'estérification de cette fonction alcool par un acide phosphorique qui est lui-même estérifié par des groupements azotés. C'est à partir de la nature de cette tête polaire que se fait la classification des phospholipides.

Comme le montre la figure n°4a, les phospholipides participent majoritairement dans la composition des membranes. Concernant les membranes érythrocytaires humaines (figure

n°4b), approximativement 70% des phospholipides sont composés par les phosphatidylcholines (PC), les phosphatidyléthanolamines (PE) et les sphingomyélines (SM). Les phosphatidylsérines (PS) ne représentent que 10% de cette composition. Ces proportions varient selon les espèces mammifères. Cependant, les phospholipides de type phosphatidylinositol (PI) restent minoritaires dans tous les cas de figure [5].

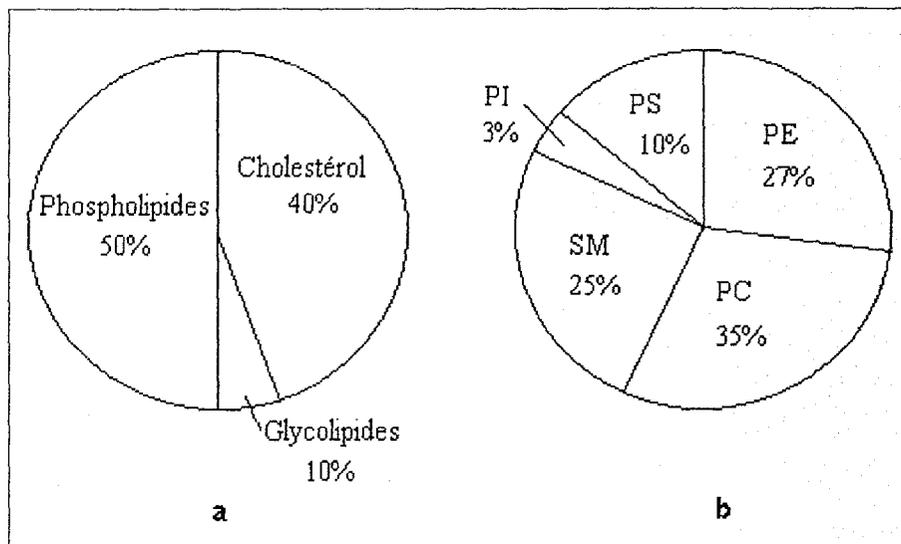


Figure n°4: Composition lipidique de la membrane érythrocytaire humaine (a) et proportion (b) des différents types de phospholipides [5].

I.2. L'agencement architectural.

La particularité des phospholipides est donc de contenir des groupements non polaires aliphatiques et des groupements polaires variés. La structure générale des phospholipides est représentée par la figure n°5.

De ce caractère amphiphile découle une propriété structurale fondamentale: la capacité des phospholipides à s'associer pour former des édifices supramoléculaires. On rencontre ainsi trois grands types d'architectures: les micelles, les feuilletts et les liposomes tendant à réaliser un état d'équilibre entre la propriété amphiphile des phospholipides et le milieu environnant fortement aqueux [6].

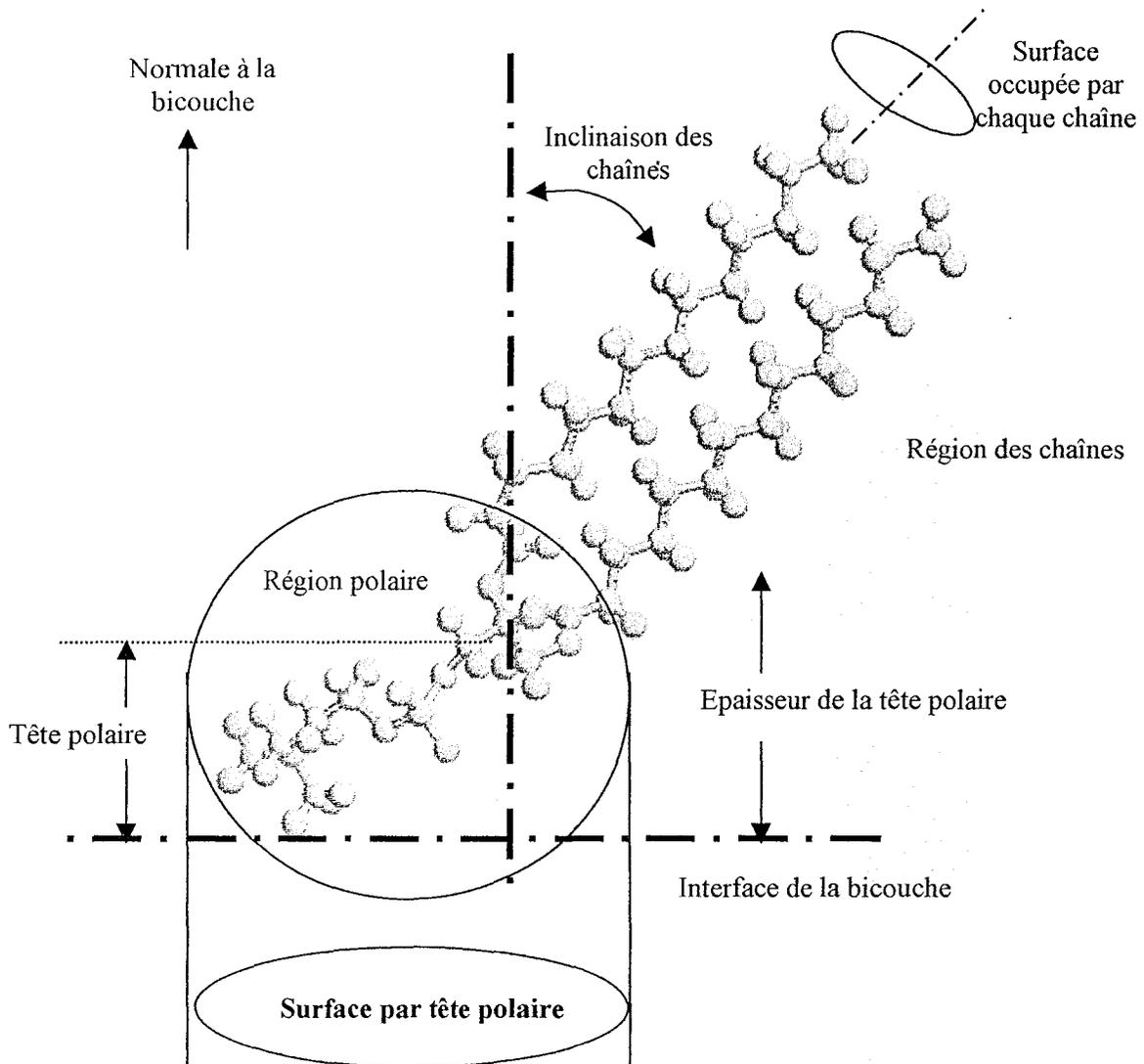


Figure n°5: Structure schématique d'une molécule de phosphatidylcholine illustrant les diverses définitions relatives à la tête polaire et aux chaînes aliphatiques.

Dans l'architecture du type cylindrique des micelles (figure n°6a), les têtes polaires sont orientées vers la surface c'est-à-dire vers le milieu aqueux tandis que les chaînes aliphatiques se retrouvent à l'intérieur de cette sphère. La balance hydrophile /lipophile est respectée. Ces cylindres se juxtaposent en réseaux hexagonaux.

Comme l'illustre la figure n°6b, l'organisation des phospholipides en micelles peut être inversée par rapport à l'agencement précédent: c'est alors l'eau qui est piégée au centre du tube.

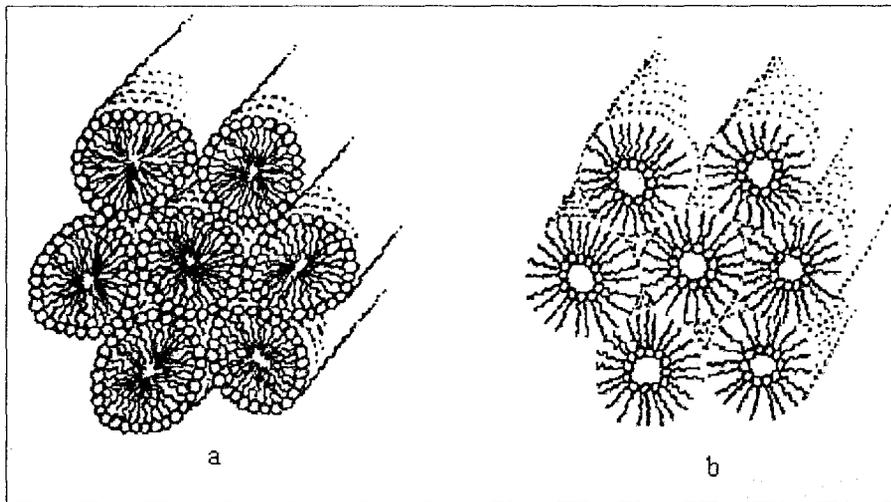


Figure n°6: Représentation schématique des arrangements en micelles des phospholipides.

Dans la structure en feuillets (ou bicouche), les lipides s'organisent en lamelles composées de deux monocouches de phospholipides (figure n°7). Les chaînes y sont bout à bout et les têtes polaires sont disposées régulièrement la long de la surface de la bicouche. Ces dernières sont donc en contact avec le milieu aqueux tandis que les chaînes en restent éloignées. Les bicouches peuvent également s'aggréger pour former une phase multilamellaire où plusieurs bicouches se superposent.

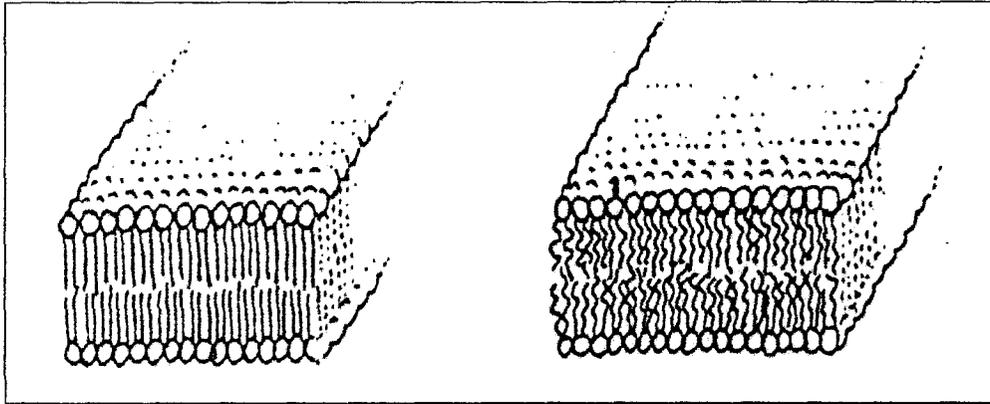


Figure n°7: Représentation schématique de l'organisation en feuillets de phospholipides. Les phases gel (gauche) et cristal liquide (droite) présentent cette architecture en feuillets.

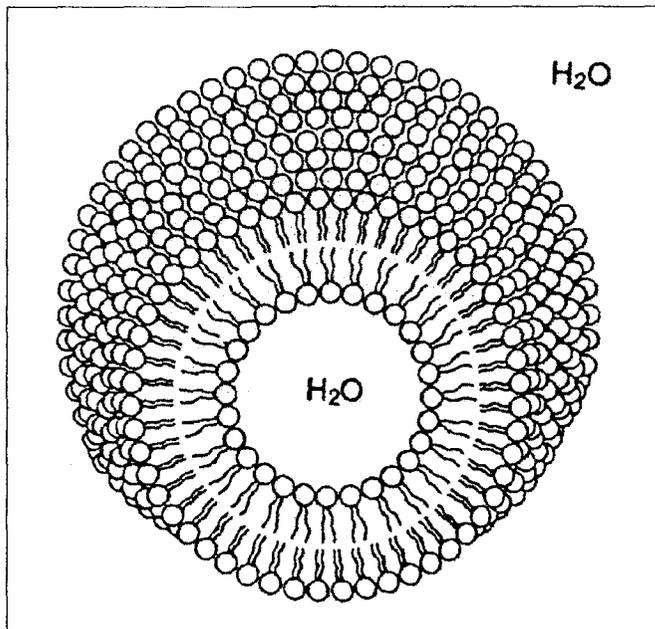


Figure n°8: Représentation schématique de l'organisation en vésicule des phospholipides.

Les liposomes sont des structures intermédiaires des deux précédentes puisqu'elles présentent à la fois la forme sphérique des micelles et l'organisation en doubles couches des feuilletts. Elles prennent donc la forme de vésicules fermées piégeant l'eau en son milieu comme l'illustre la figure n°8.

La préférence pour l'une ou l'autre de ces architectures est déterminée par plusieurs facteurs: la concentration en lipides, la température, la pression, la force ionique du solvant et enfin, les caractéristiques structurales du lipide lui-même. Les aires occupées par les têtes polaires (surface par tête polaire) et les chaînes aliphatiques sont des points cruciaux dans la détermination de la structure lipidique (figure n°5). Une structure de type micellaire sera favorisée par des lipides présentant des têtes polaires plus volumineuses que les chaînes aliphatiques (figure n°9a) tandis qu'une structure de type micelle inverse devra être composée par des lipides de forme conique (figure n°9b). La structure lamellaire est quant à elle favorisée quand la tête polaire du lipide et ses chaînes aliphatiques présentent des aires occupées de même dimensions (figure n°9c).

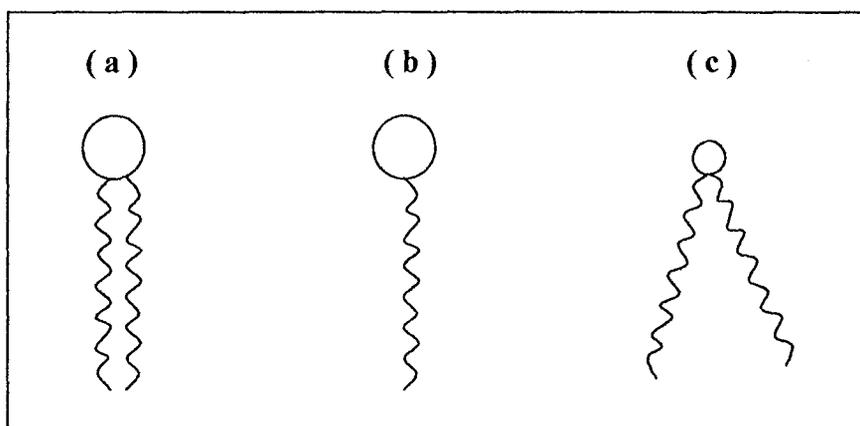


Figure n°9: Caractéristiques structurales des monomères lipidiques. (a) La tête polaire et les chaînes aliphatiques présentent une surface de même taille. (b) La surface occupée par les chaînes est inférieure à celle occupée par les têtes polaires (cône). (c) La surface par tête polaire est plus petite que celles des chaînes aliphatiques.

La nature chimique de la tête polaire est aussi un facteur important dans l'organisation moléculaire des lipides. Par exemple, une molécule de dilauroylphosphatidyléthanolamine (DLPE), dont la tête polaire est relativement petite (groupe ammonium NH_3^+), aura tendance à former des structures compactes résultant des interactions intra- et inter- moléculaires de type liaison hydrogènes entre ce groupement et les oxygènes non estérifiés du groupement phosphate. Une bicouche de DLPE possède une surface par tête polaire variant de 39 à 51\AA^2 selon la température du système [7,8]. Cet arrangement moléculaire très compacte restreint le taux d'hydratation des têtes polaires de DLPE. En opposition, les bicouches de DMPC, pour lesquelles les têtes polaires sont représentées par un groupement choline ($\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$ au lieu de NH_3^+), ne forment pas d'interactions de type liaison hydrogènes entre ses monomères lipidiques. La surface par tête polaire s'en trouve largement augmentée par rapport au DLPE, pour atteindre des valeurs de 60 à 70\AA^2 selon le taux d'hydratation et la température [9-11].

I.3. Les diagrammes de phases.

Ces agrégats lipidiques subissent, en fonction des variables externes, des modifications structurales au niveau du monomère. L'influence de la température (polymorphisme thermotropique) et de la concentration (polymorphisme lyotropique) ont été largement étudiés [7,12,13].

Compte tenu du fait que le sujet de ce présent travail porte sur les architectures de type bicouche lamellaire, la description des phases présentée ci-après sera limitée à celles présentes dans ce type d'architecture.

A basse température, les bicouches lipidiques présentent une phase dite "gel" (notée L_β) caractérisée par une surface par tête polaire petite et une faible mobilité lipidique (figure n°10). Les chaînes aliphatiques présentent une configuration totalement *trans* et sont parallèles entre elles. Les chaînes aliphatiques des monocouches sont disposées bout à bout

tandis que les têtes polaires sont orientées vers la surface des bicouches. En ce qui concerne les phospholipides de type phosphatidylcholine, on observe une inclinaison des chaînes hydrocarbonées pouvant aller de 12 à 33° par rapport à la normale à la bicouche [14]. On parle alors de phase gel L_{β} .

Cette phase gel se transforme en une phase cristal liquide (notée L_{α}) pour une température de transition (T_m) caractéristique à chaque type de phospholipide (figure n°10). Les chaînes présentent des conformations gauches les rendant désordonnées et statistiquement normale à la bicouche. Ceci leur confère une plus grande mobilité. L'augmentation de la

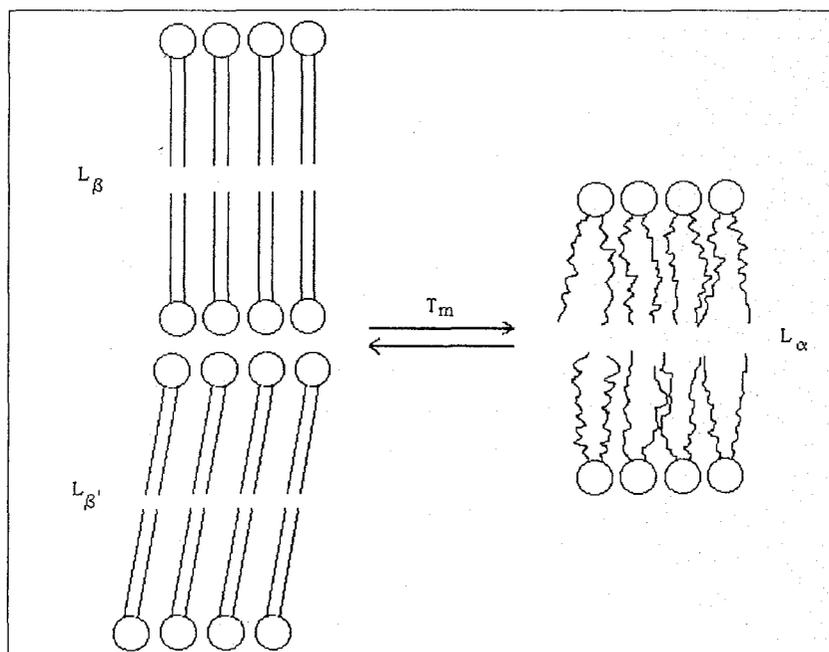


Figure n°10: Représentation schématique de la transition entre la phase gel (L_{β} ou $L_{\beta'}$) et la phase cristal liquide (L_{α}) d'une bicouche lipidique. T_m représente la température de transition de phase. La nomenclature de ce diagramme est celle de Luzzati [16]. La lettre latine majuscule caractérise l'architecture moléculaire et la lettre grecque minuscule spécifie la conformation des chaînes hydrocarbonées.

teneur en eau d'une phase à l'autre a pour conséquence l'augmentation de la surface par tête polaire et la diminution de l'épaisseur du feuillet. L'hydratation augmentant, l'épaisseur de la couche d'eau ne peut qu'augmenter. Elle entraîne l'affaiblissement des interactions intermoléculaires entre molécules lipidiques. Les molécules d'eau peuvent alors s'intercaler entre les phospholipides augmentant alors l'espace entre têtes polaires. Au niveau des chaînes, une diminution de la cohésion est observée entraînant une augmentation de leur mobilité et donc laissant aux chaînes la possibilité de se replier. L'épaisseur du feuillet décroît.

Cette phase cristal liquide ainsi que la transition de phase (gel \leftrightarrow cristal liquide) sont d'un intérêt considérable étant donné que, dans les conditions physiologiques des membranes, cette phase est prédominante.

La transition de température (T_m) augmente avec la longueur des chaînes aliphatiques mais diminue avec le taux d'hydratation des têtes polaires et le taux d'insaturation de ces chaînes [3]. Cette température est également sensible à la position des doubles liaisons dans le cas de phospholipides présentant une insaturation des chaînes aliphatiques. La nature chimique de la tête polaire est aussi un facteur de variation de cette température. Dans le cas de bicouches lipidiques pures, la phase de transition est très étroite et se déroule sur une gamme de température de l'ordre de 0,8 à 1,5K. Enfin, les caractéristiques de cette transition de phases sont très sensibles à la présence de constituants membranaires tels que les protéines ou les ions [15].

II. Caractérisation des différentes phases: les méthodes expérimentales.

Au cours de ce paragraphe, les diverses méthodes expérimentales permettant d'accéder à la compréhension et la description des bicouche lipidiques vont être présentées. Nous verrons successivement quelles sont les informations structurales et dynamiques fournies par ces méthodes.

II.1. Les informations structurales.

Les informations d'ordre structurales concernent essentiellement l'étude de l'architecture lipidique.

II.1.1 La diffraction des rayons X.

La diffraction des rayons X est certainement la méthode de choix quant à la détermination de la structure au niveau atomique. La littérature est riche de travaux de ce type d'études relatives aux bicouches lipidiques [8,14,17-24]. L'intensité des rayons diffractés étant proportionnelle à la densité des nuages électroniques des atomes, dans le cas des phospholipides, ce sont principalement les atomes de phosphore suivis des atomes d'oxygène, des atomes d'azote, des atomes de carbone et enfin faiblement des atomes d'hydrogène qui diffractent. Autrement dit, la partie la plus sensible à cette méthode sera celle des têtes polaires. Ces dernières étant placées en plans parallèles dans les feuillettes lipidiques, l'analyse des diagrammes fournit les renseignements suivants:

- le paramètre d .

Il représente la distance répétitive entre les couches bimoléculaires, c'est-à-dire entre le centre d'une double couche et celui d'une double couche voisine. En l'absence d'eau dans le système étudié, d représente donc l'épaisseur de la bicouche.

En connaissant les fractions pondérales en eau (C_{eau}) et en lipides (C_{lip}) ainsi que leur masse volumique (∂_{eau} et ∂_{lip}), on détermine alors les épaisseurs en eau (d_{eau}) et en lipide (d_{lip}) de la bicouche à partir des équations (1.1) et (1.2):

$$d_{lip} = \frac{C_{lip} \cdot \partial_{lip}^{-1} \cdot d}{C_{lip} \cdot \partial_{lip}^{-1} + C_{eau} \cdot \partial_{eau}^{-1}} \quad (1.1)$$

$$d_{eau} = \frac{C_{eau} \cdot \partial_{eau}^{-1} \cdot d}{C_{lip} \cdot \partial_{lip}^{-1} + C_{eau} \cdot \partial_{eau}^{-1}} \quad (1.2)$$

De même, si l'on connaît la masse molaire M du lipide, on peut déterminer la surface S occupée par chaque molécule lipidique dans le plan du feuillet qui s'exprime selon la relation suivante:

$$S = \frac{2 M}{d_{lip} N \partial_{lip}} \quad (1.3)$$

où d_{lip} représente l'épaisseur en lipide de la bicouche, N le nombre d'Avogadro et ∂_{lip} la masse volumique en lipide.

Ce paramètre est primordial dans la validation des simulations lorsque celles-ci sont menées à volume constant.

- le profil de densité électronique.

L'étude de l'intensité diffractée selon l'axe perpendiculaire au plan de la bicouche permet d'établir un profil de densité électronique, c'est-à-dire la distribution atomique le long de cet axe. Il s'agit d'une "coupe transversale" de la bicouche.

II.1.2. La diffraction des neutrons.

Cette méthode est en fait complémentaire de la précédente par le fait qu'elle met en jeu non plus les cortèges électroniques des atomes mais leur noyau. Les noyaux légers étant ceux qui diffractent le plus, ce seront donc les atomes d'hydrogènes qui seront mis d'abord en évidence.

La diffraction des neutrons apporte donc des renseignements uniques en ce qui concerne l'organisation structurale au centre de la bicouche [25-27].

II.2. Les informations dynamiques.

Tout renseignement sur l'aspect conformationnel des monomères lipidiques est considéré comme une information d'ordre dynamique. Les méthodes spectroscopiques sont donc directement reliées à ce type d'informations.

II.2.1. Les spectroscopies vibrationnelles.

Les spectroscopies Infra rouge à transformée de Fourier (IRTF) et Raman permettent essentiellement de décrire l'état des chaînes aliphatiques des bicouches lipidiques durant des périodes de temps très courts ($<10^{-13}$ s) [28-33].

Les différences de niveaux de vibration des différents groupes étant bien marquées, ceux-ci peuvent donc être facilement distingués. Ainsi, les bandes de fréquences des groupements méthylènes se distinguent des bandes groupements méthyles terminaux. De même, il est possible de caractériser les bandes correspondant aux groupements carbonyles 1 et 2 de la partie glycérol et enfin celles associées aux liaisons CN de basse fréquence.

C'est au travers de l'analyse des bandes vibrationnelles que l'on peut atteindre une connaissance de l'état de déformation globale des chaînes. En effet, les fréquences des bandes sont proportionnelles à la longueur du segment des chaînes: on observe un déplacement des

bandes vers les hautes fréquences lorsqu'un raccourcissement des chaînes s'opère, cela traduisant l'apparition d'un désordre et donc la disparition d'une configuration totalement trans. Vogel et al [28] ont notamment observé le déplacement vers les hautes fréquences des bandes à $150\text{-}160\text{ cm}^{-1}$ caractéristiques des chaînes C_{14} à C_{16} lors du passage de la phase gel à la phase cristal liquide. De même dans le cas d'une organisation totalement *trans* spécifique de la phase gel, les bandes d'élongation C-C apparaissent vers 1130 cm^{-1} . L'apparition de formes gauche en phase cristal liquide déplace cette bande vers 1090 cm^{-1} . En plus de la détermination qualitative du désordre, l'analyse des spectres permet également, au travers des rapports d'intensité entre bandes, d'évaluer les populations des deux états de conformation trans et gauche pour chacun des chaînes.

II.2.2. La spectroscopie de fluorescence.

Les niveaux d'énergie mis en jeu par cette méthode sont beaucoup plus élevés que ceux mis en jeu par d'autres méthodes telles que les spectroscopies de résonance magnétique nucléaire. En effet, ce sont les transitions quantiques des électrons périphériques qui sont observées. L'application de cette méthode aux systèmes biologiques telles que les membranes biologiques nécessite l'utilisation de sondes moléculaires fluorescentes. La position de cette sonde dans la membrane est donc à déterminer avec précision. Par absorption de lumière polarisée, on porte la sonde dans un état excité ce qui entraîne une modification légère de sa structure et par-là même modifie l'orientation de son moment dipolaire. C'est donc ce changement d'orientation qui sera mesuré.

L'avantage principal de cette méthode réside dans sa relative simplicité de mise en œuvre (sauf peut être l'étape de marquage qui nécessite une forte précision). L'étude par spectroscopie de fluorescence permet notamment d'obtenir des informations sur l'ordre moléculaire à l'intérieure de la bicouche [34-36].

Cependant, du fait que la plupart des marqueurs utilisés sont chimiquement et géométriquement très différents des phospholipides, les propriétés déduites par cette méthode sont à interpréter avec prudence.

II.2.3. Les spectroscopies de résonance.

La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) et la spectroscopie de résonance paramagnétique électronique (RPE) sont des méthodes adaptées à l'étude des membranes [37-58]. En effet, la présence du champ magnétique statique indispensable à la levée de dégénérescence des niveaux privilégie un axe particulier de l'espace et fournit donc un repère directionnel d'une grande précision. On obtient donc des informations sur l'organisation spatiale des systèmes membranaires. De plus, par suite des faibles énergies mises en jeu, les fréquences électromagnétiques sont faibles et de l'ordre de grandeur de celles caractérisant les mouvements moléculaires présents dans les bicouches. Ces méthodes sont donc très sensibles à la détection de ces mouvements.

La spectroscopie RMN ^1H et ^{13}C de lipides deutérés permet de mesurer les temps de relaxation spin réseau T_1 . Or, ce temps est inversement proportionnel au temps de corrélation de rotation t_c de l'atome étudié en résonance. Les variations de ce temps de corrélation sont à mettre en parallèle à celles du paramètre d'ordre local. Par une deutération précise des atomes le long de la chaîne aliphatique, la RMN permet de différencier les groupements CH_2 et ainsi d'obtenir un profil du paramètre d'ordre. C'est par cette méthode qu'a été prouvée l'existence d'un gradient de mouvement le long des chaînes aliphatiques. Les temps de corrélation obtenus pour les atomes de carbones du groupement glycérol du DPPC en phase L_α sont de l'ordre de 10^{-9} s contre $10^{-11}/10^{-12}$ pour les groupes méthyles et éthyles terminaux.

D'autre part, l'observation par RMN à très haute résolution du noyau ^{31}P renseigne sur la disposition des têtes polaires et donc de leur interaction avec le milieu environnant.

L'inconvénient majeur de cette méthode réside dans la difficulté et le coût de la préparation des membranes phospholipidiques fortement deutérées et enfin dans l'assurance de la précision de cette deutération.

La RPE a aussi fortement contribué à démontrer l'existence d'un gradient de flexibilité dans les bicouches par l'observation indirecte des mouvements locaux des atomes de carbone. Elle a aussi permis de fournir de nombreux renseignements relatifs à l'effet de la transition de phase sur la mobilité des divers groupements chimiques des lipides.

Les bicouches lipidiques ne présentant pas naturellement de substances paramagnétiques, l'introduction de marqueurs de spin stables servant de sondes moléculaires est nécessaire. Généralement, les radicaux libres utilisés sont de la famille des nitroxydes. La RPE mesure donc l'écart résiduel de la réorientation de ce groupe nitroxyde. Les propriétés structurales et dynamiques des groupements lipidiques portant ce marqueur en sont alors déduites. La plupart des marqueurs utilisés étant chimiquement et géométriquement différents des phospholipides et présentant souvent une forte anisotropie, l'interprétation des résultats doit être menée avec précaution.

Conclusion

Au travers de ce chapitre, nous avons pu constater la complexité des architectures phospholipidiques. De même, la limite des techniques expérimentales à fournir des renseignements sur la structure et la dynamique de ces macromolécules a été mise en évidence. Le point faible des méthodes expérimentales relève en fait de la nature flexible des phospholipides et de leur polymorphisme. Il est en effet parfois difficile de les cristalliser, et dans le cas d'une cristallisation possible, l'homogénéité des cristaux n'est pas assurée. Malgré tout, des progrès récents sont en cours afin d'élucider la structure des bicouches par des méthodes combinant notamment les diffractions des rayons X et des neutrons [59,60].

D'autre part, un esprit critique doit être maintenu face à certaines techniques ne permettant pas de mesurer de manière directe les caractéristiques de la membrane. Tel est le cas des méthodes de fluorescence où les résultats sont extrapolés à partir des émissions de molécules sondes intriduites dans la membrane. De même, le fait qu'un bon nombre de mesures expérimentales soient effectuées à partir de membranes de synthèse et non naturelles est un point important à ne pas négliger.

Les méthodes de simulation se présentent donc à la fois comme un appui aux résultats expérimentaux et comme un moyen d'en dépasser les limites.

Bibliographie

1. E. Görter and F. Grendel, *J. Exp. Med.*, 41, 439 (1925).
2. J.F. Danielli and H. Davson, *J. Cell. Comp. Physiol.*, 5, 495 (1935).
3. F. Leterrier and Cl. Gary-Bobo, "Biologie Membranaire: structure et dynamique des membranes biologiques", Eds Hermann (1989).
4. S.J. Singer and G.L. Nicholson, *Science*, 175, 720 (1972).
5. Roelofsen and al, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 41, 111 (1981).
6. W. Hoppe, W. Lohman, H. Markl and H. Ziegler, "Biophysics", Springer –Verlag (1983).
7. D. Marsh, "CRC Handbook of Lipids Bilayers", CRC press, Boca Raton, Boston, 1990.
8. T.J. McIntosh and S.A. Simon, *Biochemistry*, 25, 4958 (1986).
9. M.J. Janiak, D.M. Small and G.G. Shipley, *Biochemistry*, 15, 4575 (1976).
10. M.J. Janiak, D.M. Small and G.G. Shipley, *J. Biol. Chem.*, 254, 6068 (1979).
11. L.J. Lis, M. McAlister, N. Fuller and R.P. Rand, *Biophys. J.*, 37, 657 (1982).
12. A. Blume, *Biochemistry*, 22, 5436 (1983).
13. G. Cevc and D. Marsh, *Biophys. J.*, 47, 21 (1985).
14. H. Hauser, I. Pascher, R.H. Pearson and S. Sundell, *Biochim. Biophys. Acta*, 650, 21, (1981).
15. M.K. Jain and R.C. Wagner, "Introduction to Biological Membranes", Wiley, New York (1980).
16. V. Luzzati, "Biological Membranes", Chapman D., Academic press, London (1968).
17. I. Pascher, S. Sundell and H. Hauser, *J. Mol. Biol.*, 153, 807 (1981).
18. H. Hauser, I. Pascher and S. Sundell, *Biochemistry*, 27, 9166 (1988).
19. N. P. Franks, *J. Mol. Biol.*, 100, 345 (1976).
20. T.J. McIntosh, *Biochim. Biophys. Acta*, 513, 43 (1978).
21. W. Lesslauer, J.E. Cain and J.K. Blasie, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 69, 1499 (1972).
22. A. Lewis and D.M. Engelman, *J. Mol. Biol.*, 166, 211 (1983).
23. I. Pascher, M. Lundmark, P.G. Nyholm and S. Sundell, *Biochim. Biophys. Acta*, 1113, 339 (1992).
24. R.H. Pearson and I. Pascher, *Nature*, 281, 499 (1979).
25. G. Büldt, H.U. Gally, A. Seelig and J. Seelig, *Nature*, 271, 182 (1978).
26. G. Zaccai, G. Büldt, A. Seelig and J. Seelig, *J. Mol. Biol.*, 134, 693 (1979).
27. G. Büldt, H.U. Gally, J. Seelig and G. Zaccai, *J. Mol. Biol.*, 134, 673 (1979).
28. H. Vogel and F. Jahnig, *Chem. Phys. Lipids*, 21, 83 (1981).
29. H.L. Casal and R.N. McElhaney, *Biochemistry*, 29, 5423 (1990).

30. R. Mendelsohn, M.A. Davies, H.F. Schuster, Z. Xu and R. Bittman, *Biochemistry*, 30, 8558 (1991).
31. R. Mendelsohn, M.A. Davies, J.W. Brauner, H.F. Schuster and R.A. Dluhy, *Biochemistry*, 28, 8934 (1989).
32. D.J. Moore, M. Wyrwa, C.P. Reboulleau and R. Mendelsohn, *Biochemistry*, 32, 6281 (1993).
33. H. Akutsu, *Biochemistry*, 20, 7359 (1981).
34. R.J. Cherry, *Biochim. Biophys. Acta*, 559, 289 (1979).
35. J. Schlessinger and E.L. Elson, in "Biophysics: methods of experimental physics", vol 20, G. Ehrenstein and H. Lecar, Academic Press, New-York (1982).
36. K.R. Thulborn and W.H. Sawyer, *Biochim. Biophys. Acta*, 511, 125 (1978).
37. B.J. Gaffney and H.M. McConnell, *J. Magn. Res.*, 16, 1 (1974).
38. P. Meyer, E. Ohmes and G. Kothe, *J. Chem. Phys.*, 85, 3598 (1986).
39. E. Oldfield, M. Meadows, D. Rice and R. Jacobs, *Biochemistry*, 17, 2727 (1978).
40. D. Rice and E. Oldfield, *Biochemistry*, 18, 3272 (1979).
41. M.A. McCabe, G.L. Griffith, W.D. Ehringer, W. Stillwell and S.R. Wassall, *Biochemistry*, 33, 7203 (1994).
42. F. Borle and J. Seelig, *Biochim. Biophys. Acta*, 735, 131 (1983).
43. N.O Petersen and S.I. Chan, *Biochemistry*, 16, 2657 (1977).
44. X. Han, X. Chen and R.W. Gross, *J. Am. Chem. Soc.*, 113, 7104 (1991).
45. H.U. Gally, W. Niederberger and J. Seelig, *Biochemistry*, 14, 3647 (1975).
46. J.H. Davis, *Biochim. Biophys. Acta*, 737, 117 (1983).
47. J. Seelig and H.U. Gally, *Biochemistry*, 15, 5199 (1976).
48. A. Seelig and J. Seelig, *Biochemistry*, 13, 4839 (1974).
49. C.R. Sanders II and J.P. Schwonek, *Biochemistry*, 31, 8898 (1992).
50. M. Lafleur, P.R. Curlis and M. Bloom, *Eur. Biophys. J.*, 19, 55 (1990).
51. J. Seelig and J.L. Browning, *FEBS Letters*, 92, 41 (1978).
52. J. Seelig, *Quat. Rev. Biophys.*, 10, 353 (1977).
53. J. Seelig and A. Seelig, *Quat. Rev. Biophys.*, 13, 19 (1981).
54. R. Skarjune and E. Oldfield, *Biochemistry*, 18, 5903 (1979).
55. J.F. Nagle, *Biophys. J.*, 64, 1476 (1993).
56. H. Hauser, W. Guyer, I. Parscher, P. Skrabal and S. Sundell, *Biochemistry*, 19, 366 (1980).
57. J. Seelig, H.U. Gally and R. Wohlgemuth, *Biochim. Biophys. Acta*, 467, 109 (1977).

58. H. Akutsu and T. Nagamori, *Biochemistry*, 30, 4510 (1991).
59. M.C. Wiener and S.H. White, *Biophys. J.*, 61, 434 (1992).
60. D.P. Tieleman, S.J. Marrink and H.J.C. Berendsen, *Biochim. Biophys. Acta*, 1331, 235 (1997).

CHAPITRE 2

**Dynamique moléculaire de modèles de
membranes biologiques.**

Introduction

Les bicouches lipidiques sont des architectures complexes dont les fonctionnalités sont multiples. En tant que "barrière" physique entre les milieux intra- et extra- cellulaires, elles ne sont pas de simples "coquilles" rigides mais sont le siège d'une multitude d'échanges physicochimiques entraînant inévitablement une dynamique de ses constituants. De cette flexibilité résultent divers mouvements que ce soit au niveau des segments moléculaires lipidiques ou au niveau des monomères eux-mêmes (figure n°1).

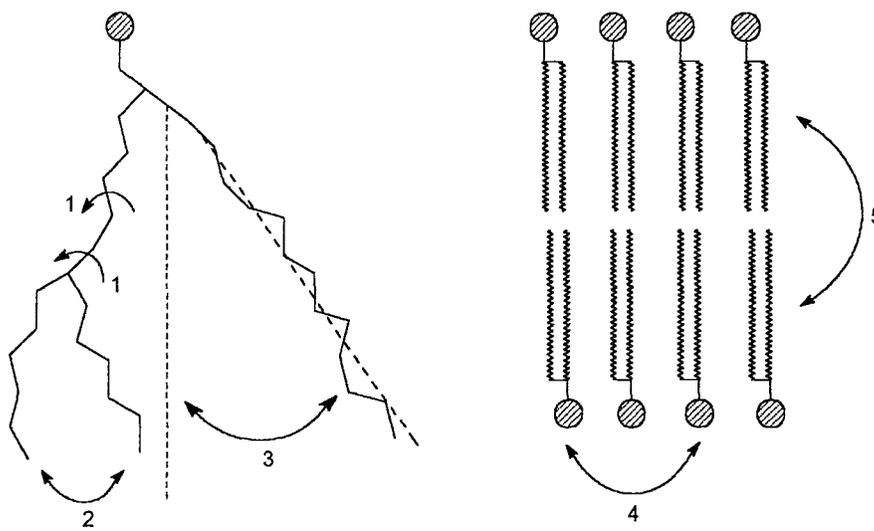


Figure n°1: Représentation des différents mouvements moléculaires lipidiques observables expérimentalement. Les mouvements locaux représentent les rotations (1) et les oscillations (2 et 3) des chaînes lipidiques. Les mouvements de déplacement d'une molécule lipidique en sa totalité, aussi appelés "flip-flop", peuvent être du type latéral (4) ou transverse (5).

L'étude de l'architecture membranaire et de ses mouvements permettrait de pouvoir accéder à la compréhension de ses diverses fonctionnalités. Or, de par sa complexité, les mesures expérimentales réalisées sur les membranes ne concernent que des bicouches lipidiques de synthèse ne pouvant être considérées que comme des modèles et non comme la pure réalité. D'autre part, les méthodes expérimentales telles que les diffractions des rayons X, des neutrons et la spectroscopie RMN ne permettent d'atteindre qu'une connaissance

fragmentaire de la biomembrane du fait de la nature cristal liquide des phospholipides. Il n'existe donc que peu de renseignements au niveau atomique sur l'organisation et la dynamique de la bicouche lipidique.

Face à cette faiblesse, les méthodes de modélisation moléculaire ont un rôle important à jouer dans la compréhension du fonctionnement des membranes. Tout en s'appuyant sur les renseignements expérimentaux disponibles, les techniques de modélisation telle que la dynamique moléculaire peuvent prétendre combler ces lacunes en accédant à la connaissance à la fois à l'échelle atomique et moléculaire de la flexibilité des constituants membranaires. Etablir une relation entre les mouvements, l'organisation moléculaire et la fonctionnalité des membranes est donc l'objectif de la modélisation par simulation de dynamique moléculaire. En effet, cette méthode permet de simuler l'évolution des mouvements moléculaires dans le temps. Autrement dit, elle étudie le déplacement des atomes via leur position dans l'espace en fonction du temps.

Dans ce chapitre, nous verrons dans un premier temps le principe de la simulation de dynamique moléculaire et son formalisme. Nous verrons qu'une étude par simulation de dynamique moléculaire d'une bicouche membranaire exige de faire divers choix stratégiques en fonction de l'objectif même de l'étude et qu'il n'existe pas une simulation de dynamique moléculaire type mais une multitude de simulations de dynamique moléculaire possibles.

La seconde partie de ce chapitre sera consacrée à l'étude de ce qu'on appelle le "champ de forces". La simulation de dynamique moléculaire en tant que méthode de modélisation moléculaire dite empirique nécessite l'emploi d'une expression mathématique traduisant l'énergie potentielle relative d'une molécule. Nous verrons donc quelle est l'expression du champ de forces SPASIBA (Spectroscopic Potential Algorithm for Simulating Biomolecular Adaptability) [48-58] développée par notre laboratoire et employée dans cette étude.

Un résumé des points stratégiques de ce chapitre est représenté par la figure n°2.

Dynamique moléculaire d'un modèle de bicouche lipidique

Quelques réflexions pour mener à bien une dynamique moléculaire:

?

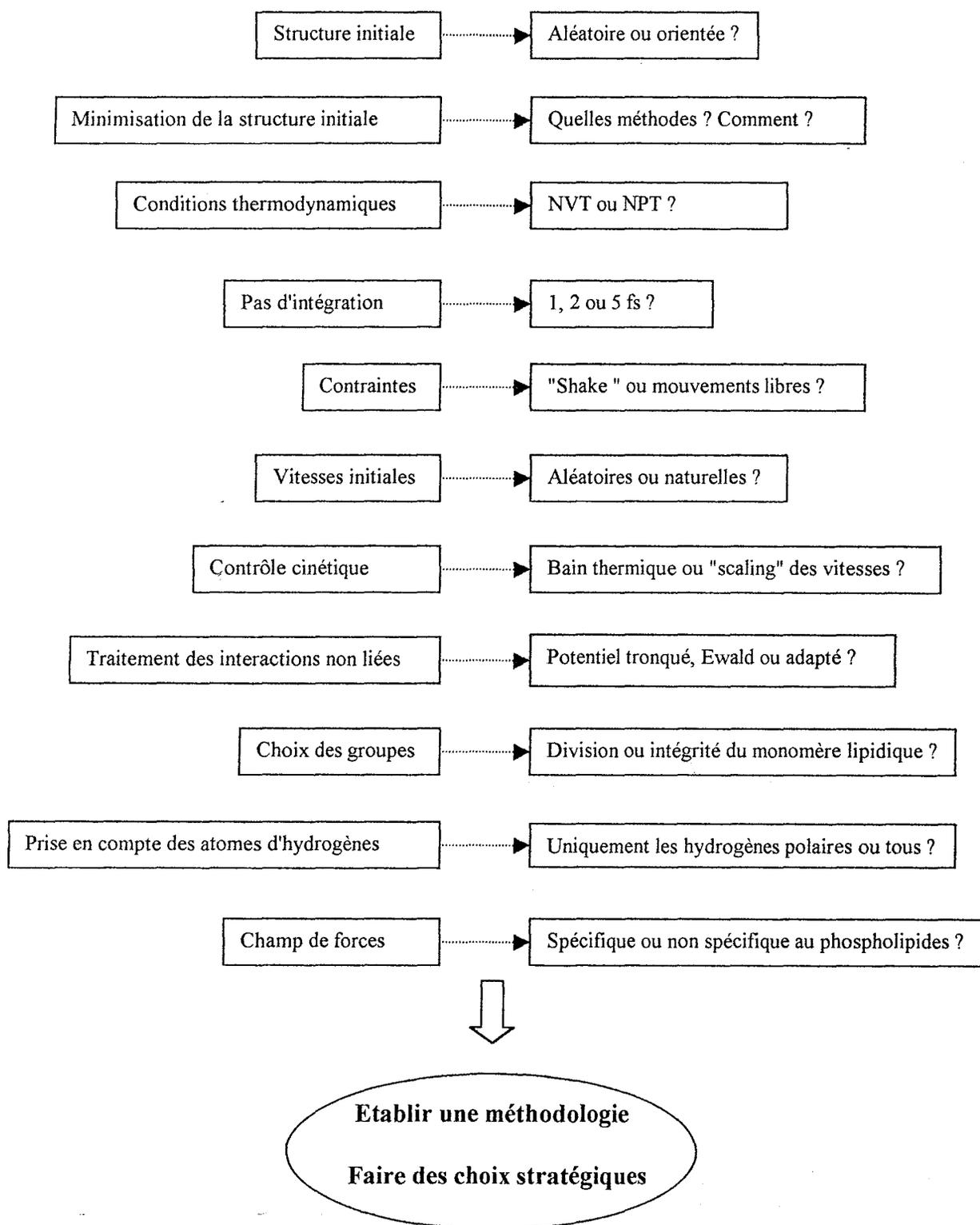


Figure n°2: Critères de simulation par dynamique moléculaire d'une bicouche lipidique. Points de réflexion essentiels à l'établissement d'une méthodologie de simulation.

I. Base conceptuelle de la simulation de dynamique moléculaire.

La simulation de dynamique moléculaire est une méthode de simulation permettant de décrire les mouvements atomiques d'une molécule au cours du temps. Depuis 1957 où la première simulation par dynamique moléculaire fût réalisée sur un système en phase condensée [1], cette méthode n'a cessé d'évoluer. Au cours de ce chapitre, nous évoquerons dans un premier temps la partie théorique de la simulation de dynamique moléculaire à savoir les problèmes liés à la résolution mathématique des équations de mouvements. Puis, nous détaillerons les différentes étapes nécessaires à la réalisation d'une telle simulation dans la cas d'un modèle de bicouche lipidique.

I.1. L'équation de Newton.

La dynamique moléculaire (DM) est une méthode de simulation qui permet d'accéder aux propriétés dépendantes du temps d'un système moléculaire. Pour cela, elle considère de manière classique l'atome comme une masse animée et donc possédant une vitesse résultant des forces appliquées sur cet atome. Si l'on applique les équations de Newton de mécanique classique à un système composé de N atomes, à chaque instant t et sur chacun des atomes i du système, agit une force F_i dont l'expression est la suivante:

$$F_i = m_i \cdot a_i(t) = m_i \cdot \frac{dv_i(t)}{dt} = m_i \cdot \frac{d^2r_i(t)}{dt^2} \quad (2.1)$$

avec: F_i la force appliquée à l'atome i ,

t le temps,

v_i la vitesse de l'atome i à l'instant t ,

m_i la masse atomique de i ,

r_i la position de l'atome i .

A chaque temps t , il correspond donc un couple de valeurs (position, vitesse) pour chacun des atomes i . L'ensemble des positions des N atomes du système nous permet de déterminer la configuration du système étudié au temps t . On parle d'un conformère. En intégrant cette équation en fonction du temps, on peut déterminer les variations des positions et des vitesses de chacun des atomes. On obtient donc une succession de conformères dont l'ensemble permet de tracer le déplacement des atomes dans l'espace tridimensionnel et donc d'obtenir ce que l'on appelle une trajectoire.

I.2. Méthode de résolution numérique.

La résolution de l'équation différentielle (2.1) décrivant le mouvement de chacune des N particules d'un système nécessite du fait de sa complexité de faire appel à des méthodes de résolution numériques. Les algorithmes les plus couramment employés en dynamique moléculaire sont l'algorithme de Beeman [2-4], la méthode de Gear [5-7], l'algorithme de Leapfrog et enfin l'algorithme de Verlet [8] présenté dans ce paragraphe.

I.2.1. L'algorithme de Verlet.

La majorité des algorithmes d'intégration considère que les positions ainsi que les propriétés dynamiques peuvent être développées en séries de Taylor. Ainsi, si l'on considère la position d'un atome i au temps t , sa position après un temps Δt très court sera donnée par la relation suivante:

$$r_i(t + \Delta t) = r_i(t) + \frac{\delta r_i(t)}{\delta t} \cdot \Delta t + \frac{\delta^2 r_i(t)}{\delta t^2} \cdot \Delta t^2 / 2 + \dots \quad (2.2)$$

De même, pour la vitesse, on obtient:

$$v_i(t + \Delta t) = v_i(t) + \frac{\delta v_i(t)}{\delta t} \cdot \Delta t + \frac{\delta^2 v_i(t)}{\delta t^2} \cdot \Delta t^2 / 2 + \dots \quad (2.3)$$

L'algorithme d'approximation dû à Verlet [8] est l'un des plus employés. Il utilise les positions et les accélérations au temps t ainsi que les positions r_i à un pas précédent ($t - \Delta t$) pour calculer les nouvelles positions r_i au temps ($t + \Delta t$) comme le montre les équations (2.4) et (2.5).

$$r_i(t + \Delta t) = r_i(t) + v_i(t) \cdot \Delta t + \frac{1}{2} a_i(t) \Delta t^2 + \dots \quad (2.4)$$

$$r_i(t - \Delta t) = r_i(t) - v_i(t) \cdot \Delta t + \frac{1}{2} a_i(t) \Delta t^2 + \dots \quad (2.5)$$

D'autre part, si l'on suppose que Δt est suffisamment petit pour que l'algorithme garantisse une constance de la vitesse et de l'accélération, on peut écrire à partir de l'équation (2.2) la relation suivante:

$$r_i(t + \Delta t) = r_i(t) + v_i \text{ moy} \cdot \Delta t \quad (2.6)$$

avec $v_i \text{ moy}$ la vitesse moyenne durant l'intervalle de temps Δt que l'on peut aussi exprimer sous la forme suivante:

$$v_i \text{ moy} = v_i \left(t + \frac{\Delta t}{2} \right) \quad (2.7)$$

On obtient alors en remplaçant $v_i \text{ moy}$ de l'équation (2.7):

$$r_i(t + \Delta t) = r_i(t) + v_i \left(t + \frac{\Delta t}{2} \right) \cdot \Delta t \quad (2.8)$$

De même, pour la vitesse, on peut à partir du même raisonnement établir la relation suivante:

$$v_i(t + \Delta t) = v_i(t) + a_i \text{ moy} \cdot \Delta t \quad (2.9)$$

avec $a_i \text{ moy}$ l'accélération moyenne de l'atome i durant l'intervalle de temps Δt .

Si l'accélération varie de façon linéaire durant l'intervalle de temps Δt , sa valeur moyenne est alors égale à sa valeur instantanée:

$$a_i \text{ moy} = a_i(t) \quad (2.10)$$

Ainsi, on obtient:

$$v_i(t + \Delta t) = v_i(t - \Delta t) + a_i(t) \cdot \Delta t \quad (2.11)$$

Si maintenant, nous considérons un intervalle de temps $(-\Delta t/2, +\Delta t/2)$, on a:

$$v_i\left(t + \frac{\Delta t}{2}\right) = v_i\left(t - \frac{\Delta t}{2}\right) + a_i(t) \cdot \Delta t \quad (2.12)$$

En reprenant l'expression de la vitesse selon la série de Taylor, on a:

$$v_i(t + \Delta t) = v_i(t) + a_i(t) \cdot \Delta t \quad (2.13)$$

ainsi que

$$v_i\left(t - \frac{\Delta t}{2}\right) = v_i(t) - a_i(t) \cdot \frac{\Delta t}{2} \quad (2.14)$$

En remplaçant $v_i(t - \Delta t/2)$ par son expression dans l'équation (2.12), on obtient alors:

$$v_i\left(t + \frac{\Delta t}{2}\right) = v_i(t) + \frac{\Delta t}{2m_i} \cdot f_i(t) \quad (2.15)$$

Le calcul de la trajectoire revient donc à résoudre pour chaque atome i et cela à chaque pas Δt , les trois équations suivantes:

$$\left\{ \begin{array}{l} f_i(t) = m_i \cdot a_i(t) \end{array} \right. \quad (2.16)$$

$$\left\{ \begin{array}{l} r_i\left(t + \frac{\Delta t}{2}\right) = r_i(t) + v_i \Delta t \left(t + \frac{\Delta t}{2}\right) \end{array} \right. \quad (2.17)$$

$$\left\{ \begin{array}{l} v_i\left(t + \frac{\Delta t}{2}\right) = v_i(t) + \frac{\Delta t}{2m_i} f_i(t) \end{array} \right. \quad (2.18)$$

De manière pratique, il nous faut dans un premier temps calculer la force appliquée à chaque atome i au temps t , puis la vitesse au temps $(t+\Delta t/2)$ à partir de $v_i(t)$ et enfin, la

position de chacun des atomes au temps $(t+\Delta t/2)$ là aussi en fonction de la position précédente au temps t et ceci de manière itérative.

Du fait de sa facilité d'implémentation et de son faible besoin de stockage en mémoire, l'algorithme de Verlet a bénéficié d'une forte popularité et est le plus souvent utilisé en dynamique moléculaire.

I.2.2. Le choix du pas d'intégration.

Les équations (2.16), (2.17) et (2.18) à partir desquelles la trajectoire de dynamique moléculaire est calculée sont obtenues suite à une succession d'approximations fondées sur la supposition que le pas d'intégration Δt soit suffisamment petit pour:

-que l'on puisse considérer la vitesse et l'accélération instantanées comme égales à leurs valeurs moyennes durant la période de temps Δt .

$$\left\{ \begin{array}{l} v_i(t) \approx v_i \text{ moy} \\ a_i(t) \approx a_i \text{ moy} \end{array} \right. \quad (2.19)$$

$$\left\{ \begin{array}{l} v_i(t) \approx v_i \text{ moy} \\ a_i(t) \approx a_i \text{ moy} \end{array} \right. \quad (2.20)$$

-que les termes supérieurs au second degré des approximations des séries de Taylor (équations (2.2) et (2.3)) soient négligeables.

De cette manière, on peut estimer que les forces en jeu durant cet espace de temps ne varient que très peu et que la trajectoire de dynamique moléculaire peut être considérée comme correcte. La valeur du pas d'intégration Δt va donc avoir un impact important sur la validation de la trajectoire de dynamique. Cependant, il n'existe pas de règles précises et strictes pour le choix de cette valeur. Il s'agit de trouver la valeur appropriée reproduisant au mieux la vitesse réelle des mouvements atomiques. La figure n°3 illustre bien cette difficulté. A gauche, le pas est trop faible ce qui a pour conséquence de limiter la trajectoire de la dynamique moléculaire à un espace restreint. Cette lenteur entraîne une augmentation conséquente de la durée de la simulation nécessaire à l'observation des différents mouvements

atomiques et moléculaires. Les mouvements moléculaires lents n'auront que peu de chance d'être observés. Au centre de cette figure, c'est la situation opposée où le système est déstabilisé par des écarts énergétiques trop importants provoqués par un pas d'intégration trop grand. Entre chaque pas, les accélérations étant très grandes, les forces calculées sont alors surestimées. La situation idéale où l'espace conformationnel serait correctement simulé est illustrée par le schéma de droite.

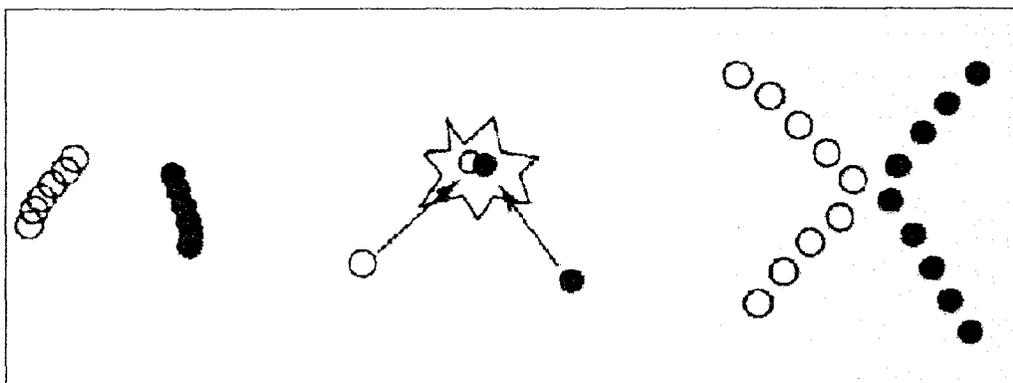


Figure n°3: Influence de la taille du pas d'intégration sur la trajectoire des atomes durant la dynamique moléculaire. La situation idéale est illustrée par le schéma de droite, en opposition à la situation où le pas est trop faible (à gauche) ou trop important (au centre).

Malgré cette absence de règle précise, il existe une convention selon laquelle on choisit le pas d'intégration en fonction des mouvements moléculaires à reproduire. En général, il est de l'ordre de 10% de la valeur de la période de plus haute fréquence de vibration à simuler. Dans le cas de molécules flexibles telles que les phospholipides, celle-ci est celle d'un mode de vibration de liaison impliquant un atome d'hydrogène soit de l'ordre de 0.01ps, soit en nombre d'onde 3300 cm^{-1} . L'incrément de temps prend donc des valeurs de l'ordre de la femtoseconde (10^{-15}s).

Cependant, plus la valeur de l'incrément est faible, plus on augmente le nombre de calculs et donc aussi le temps de ces calculs. Un compromis peut être établi par l'utilisation d'algorithmes de contraintes tel que l'algorithme "shake" [9]. On parle alors de "dynamique

contrainte". Il s'agit de "geler" les vibrations liées aux mouvements de hautes fréquences qui sont de moindre intérêt et qui n'apportent généralement qu'une faible participation au comportement global de la molécule. Pour cela, on contraint les liaisons à leur valeur d'équilibre tout en laissant le reste du système se mouvoir à sa guise. Cette technique permet d'utiliser des pas d'intégration plus longs sans risquer de fausser la trajectoire de la dynamique.

Dans le cas des simulations par dynamique moléculaire de bicouches lipidiques, nombreux sont les travaux ayant employé cet artéfact de simulation [10-24]. En règle générale, le pas d'intégration est fixé à 2fs [16-21] voir 5fs [23-24]. L'utilisation de "shake" peut malgré tout être contestée. En effet, peut-on être sûr que les mouvements d'élongation des liaisons X-H des chaînes aliphatiques n'ont aucun rôle dans l'attraction ou l'éloignement de ces chaînes? Comment être certain que l'on balaye convenablement l'espace conformationnel si l'on impose de telles contraintes? D'autre part, quel est l'intérêt d'utiliser un champ de forces qui traite de manière explicite l'ensemble des atomes y compris les atome d'hydrogènes, si l'on applique au cours de la dynamique la procédure "shake" sur les liaisons?

1.2.3. Les systèmes thermodynamiques.

L'intégration des équations de mouvements de Newton nous permet d'explorer la surface d'énergie potentielle du système. Il est parfois nécessaire d'envisager un contrôle des variables d'état de ce système tels que le volume, la température et/ou la pression. Comme nous l'avons évoqué au cours du chapitre n°1, les systèmes lipidiques présentent la spécificité d'être thermotropes. La température est donc un facteur essentiel spécifiant l'état de phase du système lipidique. Un contrôle précis de cette variable permet de s'assurer de la reproduction de l'une ou l'autre de ces phases.

La dynamique moléculaire peut être menée sous divers ensembles thermodynamiques notamment à énergie et volume constants (*NEV*). On parle alors d'ensemble microcanonique:

$$E_{Totale} = E_{Potentielle} + E_{Cinétique} \quad (2.21)$$

Ce type de simulation est intéressant dans le cas d'une exploration de la surface d'énergie constante de l'espace conformationnel.

Une autre méthode consiste à se placer sous des conditions de température et de volume constants (*NVT*), voir de pression et de température constantes (*NPT*). Ces ensembles sont aussi appelés systèmes canoniques. Dans le cas des bicouches phospholipidiques, ces systèmes d'étude notés (*NVT*) et (*NPT*) sont les plus couramment utilisés pour la modélisation de leur comportement par dynamique moléculaire. En effet, ils permettent la conservation des conditions expérimentales caractéristiques de la phase simulée, à savoir, essentiellement le volume et la température du système.

Plusieurs travaux de simulation par dynamique moléculaire de bicouches lipidiques ont été réalisés à pression constante (*NPT*) [11-17, 16-17, 20-21, 25-27]. L'argument principal pour le choix de ce système d'étude réside dans le fait que la simulation à volume constant nécessite la connaissance de ce qu'on appelle la surface par tête polaire du phospholipide (Chapitre 1). Or, les données expérimentales dont nous disposons présentent une faible précision pouvant entraîner une différence de plusieurs Å² sur la même valeur de surface par tête polaire mesurée par différents auteurs. A pression constante, le volume du modèle de bicouche lipidique peut varier au cours de la dynamique moléculaire. Le système évolue donc naturellement vers sa valeur d'équilibre de surface par tête polaire. Cependant, il faut veiller à ce que cette valeur reste réaliste et donc ne s'éloigne pas trop de la valeur moyenne expérimentale. Ceci implique donc un choix stratégique sur la manière d'appliquer la pression sur le système simulé. De quelle manière doit-on donc appliquer la pression sur le modèle? Doit-on l'appliquer selon les trois directions de l'espace ou sur seulement les deux faces

hydrophiles de la bicouche? Quelle valeur doit-on donner à cette pression? Face à ces questions, il n'existe malheureusement pas de réponse précise étant donné que les données expérimentales sur la pression exercée sur les membranes phospholipidiques sont aussi imprécises que celles de la surface par tête polaire [28]! D'autre part, appliquer une pression sur un modèle de bicouche lipidique n'est-il pas un moyen indirect et artificiel de contraindre le modèle à conserver la conformation initiale qui lui a été définie?

I.3. Les diverses étapes de la dynamique moléculaire.

La réalisation d'une simulation de dynamique moléculaire s'effectue en plusieurs étapes incontournables. Celles-ci peuvent varier à la fois dans leur déroulement successif ainsi que dans leur méthodologie. Dans ce paragraphe, nous nous limiterons à la description de ces diverses étapes et aux méthodologies les plus souvent rencontrées lors de la simulation de bicouches lipidiques.

I.3.1. Choix de la structure initiale.

La première étape de toute simulation est de construire le modèle dont on cherche à reproduire ou comprendre les propriétés. Il s'agit de positionner les atomes du système de simulation dans l'espace tridimensionnel tout en tenant compte des mesures expérimentales disponibles. Ces dernières peuvent par exemple nous renseigner sur les valeurs des longueurs de liaisons, des angles dièdres ou bien sur la conformation générale de la molécule. Le modèle construit devra donc être le plus proche possible de ces renseignements expérimentaux. Concernant les bicouches lipidiques, la construction de la structure initiale est une étape délicate étant donné que les méthodes expérimentales ne nous fournissent que des données moléculaires et non atomiques de l'arrangement lipidique. La structure initiale n'est donc qu'un modèle et non la réalité expérimentale.

I.3.2. Minimisation de la structure initiale.

Dans le cas général, la minimisation a pour but de rechercher une conformation pour laquelle la molécule est la plus stable possible en terme énergétique et donc pouvant présenter une forte probabilité d'existence. A partir des coordonnées internes ou cartésiennes de la molécule et de l'expression de la fonction énergie potentielle, les énergies relatives d'un ensemble de conformères sont calculées. La conformation présentant l'énergie la plus faible est retenue comme la conformation la plus stable de la molécule.

La recherche d'une conformation énergétiquement stable est primordiale dans le cas d'une simulation par dynamique moléculaire. En effet, par l'introduction d'énergie cinétique, la stabilité du système va être rompue. Dans le cas d'une structure initiale très peu stable, on risque de voir apparaître une agitation thermique importante pouvant se traduire par une déformation irréaliste de la conformation de la molécule.

De plus, la molécule simulée étant généralement un modèle de construction s'appuyant sur des données expérimentales, la minimisation a aussi pour but de relaxer cette structure. Elle permet donc d'éliminer entre atomes les mauvais contacts liés à la construction du modèle.

Cette recherche d'un minimum structural fait appel à l'utilisation de méthodes numériques ou algorithmes de minimisation. Ceux-ci permettent de faire converger la structure vers une structure d'énergie plus faible. Nombreuses sont ces méthodes, c'est pourquoi nous nous limiterons à la description des deux algorithmes les plus couramment utilisés à savoir la méthode de la plus grande pente [29,30] et la méthode du gradient conjugué [29,31].

I.3.2.1. La méthode de la plus grande pente.

L'algorithme de la plus grande pente ou "steepest descents" [29,30] procède de la manière suivante: à partir de la conformation initiale de la molécule, le gradient de la fonction d'énergie potentielle est calculé. Il permet de déterminer, via le coefficient directeur de la droite, la direction vers laquelle l'énergie diminue le plus rapidement. Puis, une recherche du minimum énergétique situé le long de cette droite est réalisé et ceci en encadrant par itérations successives ce minimum par des points d'énergie supérieure. Ce nouveau minimum correspond alors au nouveau conformère d'énergie inférieure.

La particularité de cette méthode est qu'elle engendre un ensemble de directions successivement perpendiculaires les unes par rapport aux autres permettant de converger de manière lente mais efficace vers le minimum le plus proche. Toutefois, cette procédure s'avère plutôt inefficace dans le cas d'une surface énergétique trop plane où les coefficients directeurs ont tendance à osciller de part et d'autre du minimum. De plus, elle tend à perdre de son efficacité lorsque la minimisation progresse du fait de sa dépendance directe avec la valeur du gradient: plus on avance vers un minimum local, plus la différence énergétique entre conformères successifs est faible, plus le gradient est faible et ne permet donc plus de trouver de nouvelle direction..

Cette méthode est donc particulièrement utilisée comme première étape de la minimisation et permet d'éliminer rapidement les mauvais contacts liés à la construction du modèle de simulation.

I.3.2.2. La méthode du gradient conjugué.

Le principe de cet algorithme est identique à celui de la méthode de la plus grande pente: le gradient de l'énergie potentielle constitue le critère de convergence [29,31]. La différence essentielle entre ces deux méthodes réside dans le fait que la méthode du gradient

conjugué tient compte à chaque pas non seulement du gradient calculé mais aussi des gradients précédents. Cette prise en compte conjuguée permet d'accélérer la convergence vers le minimum le plus proche. L'efficacité de cette méthode est particulièrement développée dans la proximité d'un minimum local. C'est pourquoi elle est généralement employée pour affiner la minimisation, ceci après quelques pas de la méthode de la plus grande pente.

I.3.3. Introduction de l'énergie cinétique.

L'obtention d'une trajectoire par dynamique moléculaire est un processus itératif. Les positions et les vitesses des N atomes de la molécule doivent être connus à chacun des pas de la dynamique moléculaire. Afin d'initialiser ce processus itératif, il est donc nécessaire d'attribuer à chaque atome de cette configuration une vitesse au temps initial t_0 . Pour cela, plusieurs méthodes sont possibles. La manière la plus classique est d'affecter à chaque atome une vitesse aléatoire tout en veillant à ce que la distribution globale des vitesses suivent une distribution de type Maxwell- Boltzman (figure n°4).

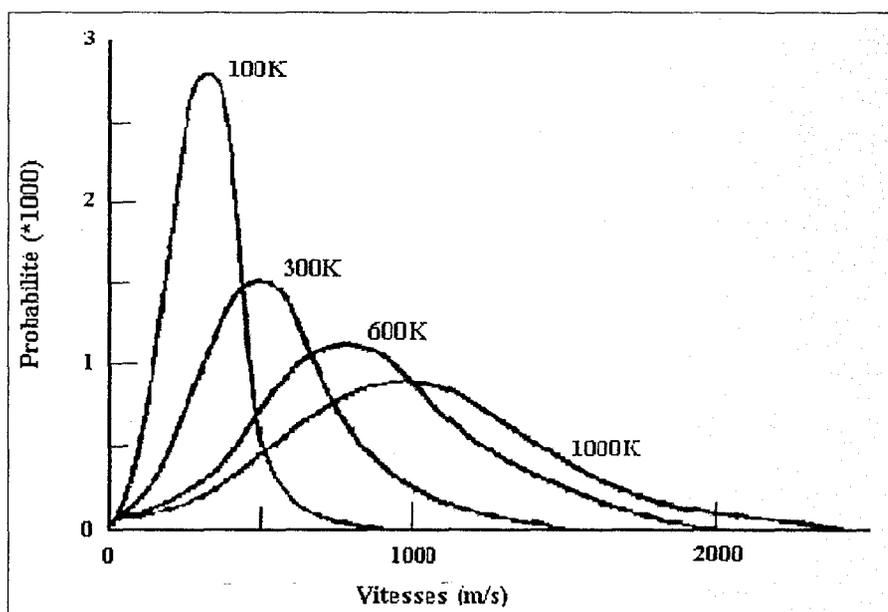


Figure n°4: Représentation graphique de la distribution des vitesses initiales selon la loi de Maxwell-Boltzman en fonction de la température.

L'équation (2.22) rend compte de la probabilité p qu'un atome i de masse m_i ait une vitesse v_i selon la direction x à la température T (k_B étant la constante de Boltzman).

$$p(v_{ix}) = \left(\frac{m_i}{2\pi k_B T} \right)^{1/2} \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \left(\frac{m_i v_{ix}^2}{k_B T} \right) \right) \quad (2.22)$$

Du choix de la température T va dépendre la distribution des vitesses initiales. Ce choix est libre. Cependant, le système initial ayant subi une minimisation préalable, la structure se trouve dans un minima énergétique plus ou moins important. La température T devra donc être suffisante pour fournir au système suffisamment d'énergie cinétique pour quitter cette conformation. A l'inverse, une valeur trop élevée de température risque de provoquer une agitation thermique trop importante.

Une autre possibilité consiste à laisser le système suivre ses mouvements naturels. En d'autres termes, le système s'orientera vers les directions naturelles correspondant aux contraintes initiales imposées par sa structure. Les vitesses seront calculées à partir des forces subies dans les positions initiales de chaque atome i dont l'équation est la suivante:

$$v_i = f_i \cdot \frac{x_i}{dt} \quad (2.23)$$

avec f_i représentant les forces appliquées à l'atome i ,

x_i étant la position de l'atome i ,

dt , le pas d'intégration.

Cette technique n'est pas recommandée dans le cas d'une structure parfaitement minimisée car les forces en présence sont alors quasi nulles et insuffisantes pour permettre au système de quitter son minimum énergétique.

I.3.4. La période d'équilibrage.

La période d'équilibrage est une phase durant laquelle on cherche à stabiliser le système en termes énergétiques. Suite à l'introduction des vitesses initiales, il est nécessaire

d'établir un contrôle cinétique du système. C'est au travers de la température que ce contrôle est réalisé. La température est un paramètre essentiel de la dynamique moléculaire. Elle est proportionnelle à l'énergie cinétique du système, elle-même dépendante de la vitesse de chacun des atomes comme le montre l'équation suivante:

$$E_k = \left\langle \frac{1}{2} m \cdot v_i^2 \right\rangle = \frac{3}{2} kT \quad (2.24)$$

Du fait de l'isothermie du système, à l'équilibre, l'énergie potentielle et l'énergie cinétique se compensent. Au cours de la dynamique moléculaire, l'énergie cinétique va se transformer en énergie potentielle. Afin d'éviter des écarts brutaux de température par rapport à la température ciblée, pour cette phase de la dynamique, la méthode des contraintes ou d'échelonnement des vitesses aussi appelée "scaling" est une méthode de choix. Elle permet d'atteindre de manière drastique et vigoureuse la température choisie en ajoutant ou en retranchant des valeurs d'énergie: à chaque pas, la température T instantanée va être exactement égale à la température ciblée T_0 . Pour cela, les vitesses vont être recalculées en les multipliant par le facteur suivant:

$$\lambda = \left(\frac{T_0}{T(t)} \right)^{1/2} \quad (2.25)$$

I.3.5. L'établissement de la trajectoire.

Une fois l'équilibre atteint, la trajectoire calculée peut être considérée comme exploitable. La collection des données à des intervalles réguliers peut être réalisée.

Durant cette période, le contrôle cinétique se fait grâce aux méthodes dites de couplage, plus connues sous le terme de "bain thermique". Ces méthodes sont beaucoup moins brutales que la méthode d'échelonnement des vitesses du fait qu'elles régulent la température de manière exponentielle et les rendent donc les plus adéquates pour la période

de collection des données. La méthode proposée par Berendsen et al [32] est la plus communément employée. Les vitesses de chaque atome i du système sont multipliées à chaque pas de la dynamique moléculaire par le facteur λ dont l'expression est la suivante:

$$\lambda_T = \left(1 + \frac{\Delta t}{\tau_T} \cdot \left(\frac{T_0}{T} - 1 \right) \right)^{1/2} \quad (2.26)$$

où Δt est la taille du pas d'intégration,

τ_T est le temps de relaxation de la température,

T_0 est la température ciblée,

T est la température instantanée.

τ_T est un paramètre réglable qui le plus souvent prend des valeurs de l'ordre de 0,1 à 0,4 picosecondes selon le système étudié.

I.4. Introduction du solvant.

Afin de pouvoir reproduire au plus près et de manière plus réaliste les conditions expérimentales, il est très souvent nécessaire d'envisager la prise en compte du milieu environnant. Dans le cas de la simulation de biomolécules telles que les bicouches lipidiques, l'eau est le solvant de choix étant donné qu'elle forme le constituant majoritaire du milieu biologique. La prise en compte de ce milieu aqueux entraîne nécessairement sa modélisation dont les diverses méthodes sont exposées dans ce paragraphe.

I.4.1. Modélisation de la solvation.

Il existe deux voies principales pour envisager la modélisation de la solvation se distinguant selon que l'influence du solvant est traitée de manière implicite ou explicite. Dans le premier cas, il s'agit de reproduire l'effet d'écran du solvant aqueux en jouant sur les termes des interactions non liantes de la fonction énergie potentielle et plus particulièrement sur la

valeur de la constante diélectrique (ϵ). On ajuste l'ensemble de ces paramètres afin de tenir compte de l'architecture que peut prendre le soluté en milieu aqueux [29].

Dans le second cas, les molécules de solvant sont, au même titre que le soluté, traitées de manière explicite. Cela implique donc qu'elles possèdent une énergie décrite par une fonction énergie potentielle appropriée. Plusieurs champs de forces ont été développés pour l'eau. Parmi les plus connus, on trouve les modèles TIP3P [33], TIP4P [33], SPC [34] et SPC/E [35]. Dans ces modèles, la constante diélectrique (ϵ) se voit attribuée une valeur relativement faible (de l'ordre de 1 à 3) du fait que les effets diélectriques du système aqueux sont intrinsèquement compris dans ces modèles.

Les méthodes explicites sont évidemment plus coûteuses en temps de calcul que les méthodes implicites mais elles présentent l'avantage incontestable d'autoriser une analyse détaillée de la structure et de la dynamique du solvant en proximité du soluté.

I.4.2. Les conditions périodiques aux frontières (PBC).

Dans le cas de l'étude de l'hydratation d'un soluté en solution diluée, la solvation explicite est la méthode la plus adaptée. Concrètement, elle se traduit par l'immersion du soluté au centre d'une boîte de solvant pur préalablement équilibrée. Les molécules de solvant les plus proches du soluté sont alors éliminées. Le choix des dimensions de cette boîte de solvant est fonction du nombre de couche d'hydratation que l'on souhaite simuler. Ses dimensions pourront être ensuite modifiées afin de reproduire la densité désirée en solvant par rapport au soluté.

Le problème crucial qui apparaît par l'emploi de cette méthode réside dans le traitement des interactions aux frontières entre le solvant et le vide. La technique des conditions périodiques aux frontières (PBC) [36] permet de dépasser ces problèmes d'effets de surface en simulant la continuité du solvant à l'infini. En pratique, l'unité centrale composée

du soluté et des molécules de solvant explicites est reproduite selon les trois directions de l'espace. La boîte centrale est alors entourée de 26 boîtes voisines similaires. On se retrouve avec un système périodique parfaitement symétrique (figure n°5).

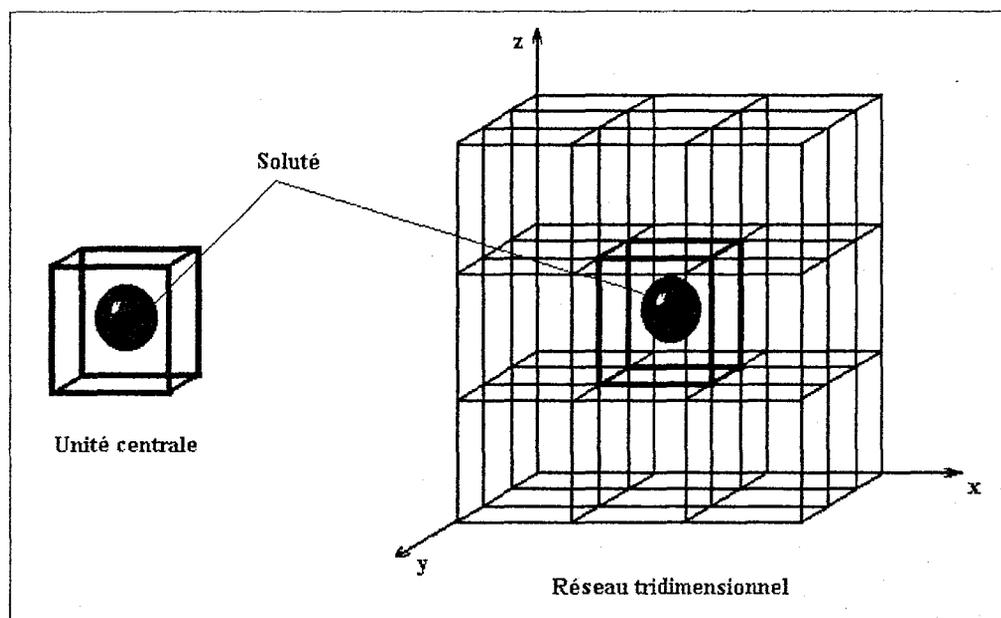


Figure n°5: Représentation schématique du principe des conditions périodiques aux frontières. A gauche, le soluté central est immergé dans une boîte de solvant. L'ensemble formant l'unité centrale est alors répliqué dans les trois directions de l'espace.

Chaque mouvement d'un atome situé à l'intérieur de l'unité centrale est reproduit dans chacune des boîtes voisines. De cette manière, si au cours de la dynamique un atome sort de l'unité centrale, son homologue y entre du côté opposé. Le nombre de particules à l'intérieur du système reste donc constant au cours du temps évitant ce que l'on appelle une "évaporation du solvant". D'autre part, la réplification des comportements permet de limiter l'étude aux atomes "réels" réduisant ainsi le temps de calcul. A l'origine, ce traitement a été conçu afin de simuler l'environnement cristallin. Il a ensuite été adapté à l'étude de l'hydratation. Cette méthode est appropriée dans le cas des bicouches lipidiques dans le sens qu'elle permet d'en simuler la continuité dans l'espace.

II. La fonction d'énergie potentielle SPASIBA.

La qualité des résultats de la simulation de dynamique moléculaire dépend non seulement de la manière dont elle a été réalisée mais aussi fortement du choix du champ de forces employé au travers à la fois de son expression analytique et de ses paramètres.

Contrairement aux protéines et aux acides nucléiques pour lesquels un accent particulier a été réalisé pour le développement de champs de forces empiriques (AMBER [37-39], CHARMM [40], OPLS [41], GROMOS [42]), les phospholipides n'ont pas bénéficié d'un tel engouement. De façon générale, les travaux concernant les molécules lipidiques ont été réalisés à partir des champs de forces précédents. Ce choix entraîne que l'on suppose une parfaite transférabilité des paramètres établis pour les acides aminés et les protéines vers les molécules phospholipidiques. Or, la grande fluidité des assemblages phospholipidiques est directement liée à la présence d'importantes forces non covalentes. Ces forces sont particulièrement délicates à traiter. Plusieurs études ont montré que des tests insuffisants vis-à-vis de la forme analytique ainsi que des paramètres du champ de forces pouvaient être la cause d'erreurs d'interprétation voire de résultats erronés [45]. Suite à ce constat, Stouch et al [46,47] ont porté leur effort sur le développement d'un champ de forces spécifique aux molécules lipidiques. Dans le même esprit, la paramétrisation du champ de forces SPASIBA [48-58] développé au laboratoire a été étendue aux molécules phospholipiques.

Dans cette seconde partie de chapitre, la description du champ de forces SPASIBA à savoir sa forme analytique va être présentée. Puis, nous aborderons en détail la paramétrisation de ce dernier pour les phospholipides.

II.1. La forme analytique de la fonction énergie potentielle SPASIBA.

SPASIBA (Spectroscopic Potential Algorithm for Simulating Biomolecular Adaptability) [48-58] est un champ de forces hybride des potentiels AMBER [37,38] et UREY-BRADLEY-SHIMANOUCI [59] ce qui lui confère à la fois les avantages d'un champ de forces de mécanique moléculaire classique et d'un champ de forces dit "spectroscopique", ces deux champs de forces présentant chacun dans leur domaine des qualités non discutées.

La combinaison de leur forme analytique est la suivante:

$$V_{SP} = V_{AM} + V_{UBS} \quad (2.27)$$

où V_{AM} représente la partie liée au champ de forces AMBER [37,38]. Ce terme ne comprend que les termes liés au potentiel de torsion, aux interactions non liantes de type Van der Waals, électrostatiques et enfin le potentiel 10-12 des liaisons hydrogène:

$$V_{AM} = V_{TOR} + V_{NB} + V_{HBond} \quad (2.28)$$

avec:

$$V_{TOR} = \sum_{dièdres} \left(\frac{V_n}{2} (1 + \cos(n\phi - \gamma)) \right) \quad (2.29)$$

$$V_{NB} = \sum_{nonliés} \left(\left(\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right) + \left(\frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}} \right) \right) \quad (2.30)$$

$$V_{HBond} = \sum_{Hbond} \left(\frac{C_{ij}}{r_{ij}^{12}} + \frac{D_{ij}}{r_{ij}^{10}} \right) \quad (2.31)$$

L'équation (2.29) représentative du potentiel de torsion se présente sous la forme d'un potentiel sinusoïdal d'ordre 2 ou 3 selon la symétrie de rotation. Dans cette expression, on retrouve les paramètres V_n , n , ϕ et γ correspondant respectivement à la hauteur de la barrière de potentiel, à la multiplicité du puit de potentiel et à l'angle dièdre relatif à la rotation et sa phase.

Les termes A_{ij} et B_{ij} de l'équation (2.30) sont les paramètres de Lennard-Jones pour chaque type de paire atomique ij , r_{ij} étant la distance séparant les atomes de la paire. Cette expression permet de rendre compte des forces attractives (via le terme r_{ij}^{-6}) et répulsives (via le terme r_{ij}^{-12}) entre deux atomes. Le second membre de cette équation correspond lui aux interactions électrostatiques entre ces deux atomes i et j , les termes q_i et q_j représentent les charges ponctuelles portées par chacun d'eux et ϵ étant la constante diélectrique du milieu.

Le potentiel de Lennard-Jones peut aussi être remplacé par le potentiel de Buckingham. Ce dernier décrit la partie répulsive des interactions de van der Waals par une fonction exponentielle de r_{ij} :

$$VBuc = \sum_{nonliés} \left(Ae^{(-Br_{ij})} - \frac{C}{r_{ij}^6} \right) \quad (2.32)$$

A , B et C étant les paramètres de Buckingham pour chaque paire d'atome ij .

Le potentiel V_{HBond} exprime quant à lui, l'énergie potentielle liée aux liaisons hydrogène. Son expression est celle d'une fonction potentielle de type 12-10 où C_{ij} et D_{ij} sont des paramètres spécifiques à chacune des liaisons hydrogènes ij . Ainsi, en présence d'une liaison hydrogène, les termes de l'équation (2.30) sont remplacés par cette dernière expression.

En ce qui concerne le potentiel V_{UBS} , il consiste en la somme de quatre termes dont les formes sont:

$$V_1 = \sum_{liaisons} \left(K (r_{ij} - r_{ij0})^2 + K' r_{ij0} (r_{ij} - r_{ij0}) \right) \quad (2.33)$$

$$V_2 = \sum_{angles} \left(H r_{ij0} r_{jk0} (\theta_{ik} - \theta_{ik0})^2 + H' r_{ij0} r_{jk0} (\theta_{ik} - \theta_{ik0}) \right) \quad (2.34)$$

$$V_3 = \sum_{dis\ tan\ ces\ 1,3} \left(\frac{F}{2} (q_{ij} - q_{ij0})^2 + F' q_{ij0} (q_{ij} - q_{ij0}) \right) \quad (2.35)$$

$$V_4 = V_{1-4tg} + V_L + KapF_{red} \quad (2.36)$$

Ces quatre termes (plus le potentiel de torsion) forment la partie liée aux énergies intramoléculaires du potentiel SPASIBA, on y retrouve l'expression du champ de forces UREY-BRADLEY formé par la combinaison des potentiels V_1 , V_2 et V_3 .

L'expression V_1 rend compte de l'énergie associée aux mouvements d'élongation, les déformations angulaires étant elles exprimées au travers du potentiel V_2 . Le troisième terme contient le potentiel de répulsion entre deux atomes liés à un même atome central (répulsion 1-3). Il met en relief la relation existante entre angle de valence et liaisons.

Dans ces trois équations, les termes r_{ij0} , θ_{ij0} , q_{ij0} sont les valeurs d'équilibre de la liaison ij , de l'angle ikj et de la distance 1-3 entre les atomes i et j de cet angle. K , H et F sont les constantes de force quadratiques et K' , H' et F' sont les termes linéaires correspondants. Ces derniers sont reliés par les relations suivantes:

$$r_{ij0} K' + \sum_{i \neq j} S_{ij} q_{ij0} F'_{ij} = 0 \quad (2.37)$$

$$\text{avec } S_{ij} = \frac{r_{ik0} - r_{jk0} \cos \theta_{ij0}}{q_{ij}} \quad (2.38)$$

$$\text{et } r_{iko} r_{jk0} H'_{ij} + r_{iko} r_{jk0} \sin \theta_{ij0} F'_{ij} + Kap a_{ij} = 0 \quad (2.39)$$

où a_{ij} est le paramètre linéaire du potentiel de redondance F_{red} inclus dans le potentiel V_4

$$\text{et } F'_{ij} = -0.1 F_{ij} \quad (2.40)$$

(si l'énergie de répulsion est de type r^{-9})

Le potentiel V_4 est constitué de deux termes d'énergie d'interaction: $V_{1-4 \text{ tg}}$ et V_L . Ces deux termes sont caractéristiques des groupements méthylènes et méthyles. Ce sont deux termes croisés entre les liaisons. Le terme $V_{1-4 \text{ tg}}$ était originellement calculé par les spectroscopistes pour les angles dièdres ϕ_{ijkl} compris dans un espace angulaire allant de 170° à 190° pour la conformation trans et les espaces (50° - 70°) ou (290° - 310°) pour le conformère gauche. Cette limite dans l'espace conformationnel peut créer une discontinuité de la surface d'énergie potentielle qui peut être éliminée en exprimant les termes croisés angle-angle non pas sous forme d'un cosinus mais sous l'expression analytique suivante [48]:

$$V_{1-4tg} = f(\theta_{ik} - \theta_{ik0})(\theta_{il} - \theta_{jl0}) \quad (2.41)$$

où f est une constante de force prenant les valeurs t , g ou 0 selon l'espace angulaire considéré. Les termes indicés en 0 sont les valeurs d'équilibre des angles considérés. De plus, les constantes de force t et g sont exprimées en $\text{kcal.mol}^{-1}.\text{rad}^{-2}$.

L'expression du potentiel V_L est la suivante :

$$V_L = \sum_{i=1,2} l(\theta_{x_1CH_i} - \theta_0)(\theta_{x_2CH_i} - \theta_0) - \sum_{j=1,2} l(\theta_{x_jCH_{1i}} - \theta_0)(\theta_{x_jCH_{2i}} - \theta_0) \quad (2.42)$$

et ceci pour un groupe méthylène de type $[X_1-C(H_1,H_2)-X_2]$ où l est la constante de force angulaire exprimée en $\text{kcal.mol}^{-1}.\text{rad}^{-1}$.

Le potentiel de redondance F_{red} s'exprime quant à lui selon Shimanouchi [59] par la relation suivante :

$$F_{Red} = \sum_{i<j} a_{ij} d\theta_{ij} + \frac{1}{2} \sum_{i<j} b_{ij} d\theta_{ij}^2 + \frac{1}{2} \sum_{\substack{i,j \\ j<k}} c_{ij}^k d\theta_{ij} d\theta_{ik} + \frac{1}{2} \sum_{i \neq j \neq k \neq i} d_{ij}^{kl} d\theta_{ij} d\theta_{kl} \quad (2.43)$$

où a_{ij} , b_{ij} , c_{ij} et d_{ij} sont des coefficients calculés à chaque étape d'évaluation de l'énergie.

Ce terme traite de la redondance liaison-angle présente pour un atome tétraédrique. Les six angles formés par les liaisons d'un atome central avec ses quatre voisins ne peuvent en effet pas croître simultanément. F_{red} traduit donc cette contrainte.

II.2. Paramétrisation de la fonction énergie potentielle SPASIBA:

les phospholipides.

La paramétrisation du champ de forces SPASIBA a été depuis 1993 réalisée sur un grand nombre de série de molécules. Parmi elles, on note les acides aminés [48], les alcanes [49], mais aussi les saccharides [50], les alcools [51], les esters [52], les aldéhydes [53,54] les éthers et les acétals [55]. De même, les familles des acides carboxyliques [56], des alcènes linéaires [57] et des groupements lipidiques [58] sont désormais disponibles. Cette banque de

paramètres suffisamment étendue nous a permis d'envisager l'application du champ de forces SPASIBA à la simulation par dynamique moléculaire de bicouches lipidiques.

La partie fondamentale de cette paramétrisation repose sur la reproduction des fréquences vibrationnelles expérimentales et de la distribution d'énergie potentielle des modes normaux. D'autres caractéristiques moléculaires telles que la structure moléculaire, le moment dipolaire, les barrières de rotation et le moment d'inertie ont été à la fois comparées aux résultats issus de l'expérience ainsi que ceux issus de champs de forces de mécanique moléculaire classiques. Concernant les molécules relatives aux phospholipides, SPASIBA a montré une grande précision de reproduction des valeurs expérimentales. La déviation moyenne entre les fréquences vibrationnelles observées et calculées n'est de l'ordre de 11 cm^{-1} [58]. En d'autres termes, ceci nous permet d'être confiant dans ce champ de forces quant à ses performances lors d'une simulation par dynamique moléculaire.

Une étude comparative des champs de forces AMBER et SPASIBA à partir d'une dynamique moléculaire d'un *n*-octane a été précédemment réalisée [60]. Cette étude a montré que l'addition des termes Urey-Bradley-Shimanouchi dans la fonction énergie potentielle permettait une augmentation de l'échantillonnage conformationnel de l'espace. Ceci se traduit notamment par une interconversion entre les formes conformationnelles *trans* et *gauche* tandis que le potentiel AMBER prédisait un comportement harmonique. Par ailleurs, une seconde étude comparative portant cette fois sur les simulations par dynamique moléculaire du déca-alanine et d'une protéine de 56 résidus amino-acides a démontré que le potentiel SPASIBA permettait d'induire des changements conformationnels locaux importants en comparaison avec ceux prédits par le champ de forces AMBER [61].

Conclusion

Au cours de ce chapitre, le formalisme de la dynamique moléculaire a été exposé. La multiplicité des critères de simulation a été mise en évidence. Choisir de modéliser un système moléculaire par cette méthode de simulation empirique implique donc de faire de nombreux choix dont la liste complète risquerait d'être longue. Concernant le cas particulier des bicouches lipidiques, ces choix ont été mis en critique justifiant les stratégies employées lors des études exposées dans le chapitre n°6.

La seconde partie de ce chapitre a porté sur la présentation du champ de forces SPASIBA. Son développement a été effectué pour de nombreuses classes de molécules et plus particulièrement sur les molécules lipidiques.

La validité d'une simulation par dynamique moléculaire réside donc à la fois dans la stratégie employée en terme de dynamique moléculaire mais aussi dans la nature du champ de forces employé. Dans le cas de molécules présentant de nombreuses forces intermoléculaires non covalentes, un critère décisif s'ajoute à ces deux derniers: le mode de traitement des interactions non liantes. Simuler une bicouche lipidique par dynamique moléculaire implique donc une maîtrise dans ce traitement.

Bibliographie

1. B.J. Alder and T.E. Wainwright, *J. Chem. Phys.*, 27, 1208 (1957).
2. D. Beeman, *J. Comp. Phys.*, 20, 130 (1976).
3. D. Beeman, *J. Comp. Phys.*, 52, 24 (1983).
4. M. Levitt and H. Meirovitch, *J. Mol. Biol.*, 168, 617 (1983).
5. C.W. Gear, "Numerical initial value problems in ordinary differential equations", New-York, Prentice-Hall (1971).
6. J.A. Mc Cammon and M. Karplus, *Nature*, 268, 765 (1977).
7. J.A. Mc Cammon and M. Karplus, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 76, 3585 (1979).
8. L. Verlet, *Phys. Rev.*, 159, 98 (1967).
9. J.P. Ryckaert, G. Cicotti and H.J.C. Berendsen, *J. Comp. Phys.*, 23, 327 (1977).
10. H. Heller, M. Schaefer and K. Schulten, *J. Phys. Chem.*, 97, 8343 (1993).
11. P. Huang, J.J. Perez and G.H. Loew, *J. Biomol. Struct. & Dyn.*, 11, 5, 927 (1994).
12. K. Tu, D.J. Tobias and M.L. Klein, *Biophys. J.*, 69, 2558 (1995).
13. K. Tu, D.J. Tobias and M.L. Klein, *J. Phys. Chem.*, 99, 10035 (1995).
14. K. Tu, D.J. Tobias, J.K. Blasie and M.L. Klein, *Biophys. J.*, 70, 595 (1996).
15. K.V. Damodoran, K.M. Merz Jr, *Biophys. J.*, 66, 1076 (1994).
16. E. Egberts and H.J.C. Berendsen, *J. Chem. Phys.*, 89, 3718 (1988).
17. E. Egberts, S.J. Marrink and H.J.C. Berendsen, *Eur. Biophys. J.*, 22, 423 (1994).
18. U. Essman, L. Perera and M.L. Berkowitz, *Langmuir*, 11, 4519 (1995).
19. L. Perera, U. Essman and M.L. Berkowitz, *Langmuir*, 12, 2625 (1996).
20. D.P. Tieleman and H.J.C. Berendsen, *J. Chem. Phys.*, 105, 4871 (1996).
21. S.E. Feller, R.M. Venable and R.W. Pastor, *Langmuir*, 13, 6555 (1997).
22. R. Raghavan, M.R. Reddy, M.L. Berkowitz, *Langmuir*, 8, 233 (1992).
23. M.A. Wilson and A. Pohorille, *J. Am. Chem. Soc.*, 116, 1490 (1994).
24. A.J. Robinson, W.G. Richards, P.J. Thomas and M.M. Hann, *Biophys. J.*, 67, 2345 (1994).
25. W. Shinoda, T. Fukada, S. Okazaki and I. Okada, *Chem. Phys. Letters*, 232, 308 (1995).
26. S.W. Chiu, M. Clark, S. Subramaniam, H.L. Scott and E. Jakobson, *Biophys. J.*, 69, 1230 (1995).
27. J.J.L. Cascales, J.G. de la Torre, S.J. Marrink and H.J.C. Berendsen, *J. Chem. Phys.*, 104, 7, 2713 (1996).
28. D.J. Tobias, K. Tu and M.L. Klein, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 2, 15 (1997).

29. J.A. Mc Cammon and S.C. Harvey, "Dynamics of proteins and nucleic acids", Cambridge University Press, Cambridge (1987).
30. S.L.S. Jacoby, J.S. Kowalik and J.T. Pizzo, "Iteratives methods for nonlinear optimization problems", Englewood Cliffs, New Jersey: Prentice Hall (1972).
31. R. Fletcher and C.M. Reeves, *Comput. J.*, 7, 149 (1964).
32. H.J.C Berendsen, J.P.M. Postma, W.F. van Gunsteren, A. Di Nola and J.R. Haak, *J. Chem. Phys.*, 81, 3684 (1984).
33. W.L. Jorgensen, J. Chandrasekhar and J.D. Madura, *J.Chem.Phys.*, 79, 926 (1983).
34. H.J.C. Berendsen, J.P.M. Postma, W.F. van Gunsteren and J. Hermans, in "Intermolecular Forces", B. Pullman, Reidel, Dordrecht, Holland (1981).
35. H.J.C. Berendsen, J.R. Grigera and T.P. Straatsma, *J. Phys. Chem.*, 96, 6269 (1987).
36. M. Born and Th. von Karman, *Physik. Z.*, 13, 297 (1912).
37. S.J. Weiner, P.A. Kollman, D.A. Case, U.C. Singh, C. Ghio, G. Alagona, S. Profeta and P. Weiner, *J. Am. Chem. Soc.*, 106, 765 (1984).
38. S.J. Weiner, P.A. Kollman, D.T. Nguyen and D.A. Case, *J. Comput. Chem.*, 7, 230 (1986).
39. B.R. Brooks, R.E. Bruccoleri, B.D. Olafson, D.J. States, S. Swaminathan and M. Karplus, *J. Comput. Chem.*, 4, 187 (1983).
40. W.L. Jorgensen and J. Tirado-Rives, *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 1657 (1988).
41. W.F. van Gunsteren and H.J.C. Berendsen, Gröninger Molecular Simulation (GROMOS), Library Manual, Biomos, Gröninger (1987).
42. M. Billeter, A.E. Howard, I.D. Kuntz and P.A. Kollman, *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 8385 (1988).
43. A.T. Hagler, P.S. Stern, S. Lifson and S. Ariel, *J. Am. Chem. Soc.*, 101, 813 (1979).
44. A.T. Hagler, S. Lifson and P. Dauber, *J. Am. Chem. Soc.*, 101, 5122 (1979).
45. P. Dauber-Osguthorpe, V.A. Roberts, D.J. Osguthorpe, J. Wolff, M. Genest and A.T. Hagler, *Proteins: Struct., Funct., Genet.*, 4, 321 (1988).
46. T.R. Stouch, K.B. Ward, A. Altieri and A.T. Hagler, *J. Comput. Chem.*, 12, 1033 (1991).
47. D.E. Williams and T.R. Stouch, *J. Comput. Chem.*, 14, 1066 (1993).
48. P. Derreumaux and G. Vergoten, *J. Chem. Phys.*, 102, 8586 (1995).
49. P. Derreumaux, M. Dauchez and G. Vergoten, *J. Mol. Struct.*, 295, 203 (1993).
50. V. Durier, F. Tristram and G. Vergoten, *J. Mol. Struct (Theochem)*, 81, 395 (1997).
51. F. Tristram, V. Durier and G. Vergoten, *J. Mol. Struct.*, 378, 249 (1996).
52. M. Chhiba, F. Tristram and G. Vergoten, *J. Mol. Struct.*, 405, 113 (1997).

53. A. Zanoun, V. Durier, A. Belaidi and G. Vergoten, *J. Mol. Struct.*, 476, 261 (1999).
54. V. Durier, A. Zanoun, A. Belaidi and G. Vergoten, *J. Mol. Struct.*, 476, 271 (1999).
55. F. Tristram, V. Durier and G. Vergoten, *J. Mol. Struct.*, 377, 47 (1996).
56. M. Chhiba, P. Derreumaux and G. Vergoten, *J. Mol. Struct.*, 317, 171 (1994).
57. M. Chhiba and G. Vergoten, *J. Mol. Struct.*, 326, 35 (1994).
58. M. Chhiba and G. Vergoten, *J. Mol. Struct.*, 384, 55 (1996).
59. T. Shimanouchi, *Pure & Appl. Chem.*, 7, 131, (1963).
60. P. Derreumaux and G. Vergoten, *J. Mol. Struct. (Theochem)*, 286, 55 (1993).
61. P. Derreumaux and G. Vergoten, *J. Mol. Struct.*, 295, 233, (1993).

CHAPITRE 3

**Le traitement des interactions moléculaires non
liantes.**

Introduction

Le calcul de l'énergie totale d'une molécule ou d'un ensemble de molécules consiste en l'addition des termes d'énergie potentielle d'origine intramoléculaire et intermoléculaire au terme d'énergie cinétique. Au cours d'une dynamique moléculaire, c'est à chaque pas que ce calcul doit être réalisé. En terme de temps de calcul ainsi qu'en terme d'espace de stockage mémoire, les interactions moléculaires de type non liées sont très coûteuses. Elles le sont d'autant plus que le nombre d'atome mis en jeu est important.

Parmi les interactions de type non liées, on distingue les interactions de type van der Waals et les interactions de type Coulombiennes (cf Chapitre 2). La contribution énergétique de ces interactions est directement liée à la distance séparant les atomes en jeu. Elles agissent à plus ou moins longue distance. Ainsi, les interactions de type van der Waals évoluent en $1/r^6$ contre une variation en $1/r$ pour les interactions Coulombiennes. On peut donc penser que même à longue distance ces dernières interactions resteront non négligeables pour des systèmes chargés ou présentant un moment dipolaire important tels les phospholipides.

Un compromis est donc nécessaire entre calculer l'ensemble des interactions non liées et la durée de la simulation. Dans ce chapitre, nous nous limiterons à la description des méthodes les plus couramment appliquées aux bicouches lipidiques.

La méthode de troncation de potentiel aussi appelée méthode du "cutoff" constituera la première partie de cette présentation. Cette méthode consiste à négliger toute interaction non liée entre deux atomes distants l'un de l'autre de plus d'une valeur de coupure fixée. Nous verrons quelles sont les diverses précautions d'emploi de cette méthode dans le contexte des simulations de réseaux périodiques et plus particulièrement celui des simulations de bicouches lipidiques. Nous serons donc amenés à décrire le principe des "conditions périodiques aux frontières" ainsi que celui de la "convention de l'image minimale".

La seconde partie de ce chapitre portera sur la méthode dite d'Ewald [1]. De par la reproduction de manière périodique et à l'infini des charges atomiques du système étudié, cette méthode est appropriée au calcul des interactions coulombiennes à longue distance. Nous verrons donc en détail le principe de cette méthode puis ses avantages et inconvénients dans le contexte de la simulation des bicouches lipidiques.

Cette étude comparative est schématisée dans la figure n°1.

Traitement des interactions moléculaires non liantes Cas d'un réseau périodique aux frontières (PBC)

Méthodes les plus couramment utilisées

Potential tronqué sphérique

La sommation d'Ewald

Principe

Limite le calcul des interactions non liées entre paire d'atomes par une *distance de coupure (Rc)*:
toutes les interactions entre atomes distants de moins de Rc seront calculées

Reproduit les charges atomiques du système sur *l'ensemble du réseau périodique et à l'infini*.
Charges atomiques = *distributions gaussiennes*
Sommmation sur l'espace *réel* et l'espace *réciroque*

Avantages

Facilité d'implémentation
Rapidité de calcul

Toutes les interactions coulombiennes
sont calculées.

Inconvénients

Sous-estimation des interactions non liantes pour des systèmes *non cubiques*
Sous-estimation des interactions longues distances (*Coulombiennes*).
Discontinuité du potentiel

Difficulté d'implémentation
Coûteuse en temps de calcul
Performances mitigées pour des systèmes *en solution*
Introduction d'une *périodicité artificielle*

**Cas de bicouches lipidiques:
*Méthode classique ou adaptée ?***

Figure n°1: Traitement des interactions non liées: avantages et inconvénients des méthodes du potentiel tronqué et d'Ewald.

I. La convention de l'image minimum associée à un potentiel tronqué.

L'utilisation d'un potentiel tronqué dit "cutoff" est la méthode la plus populaire et la plus répandue permettant de limiter le calcul des interactions non liées. Dans le cas de systèmes périodiques, cet artefact de simulation est généralement couplé à la convention de l'image minimum. Après reproduction dans l'espace tridimensionnel de l'unité centrale de simulation, cette convention exige que chaque atome de l'unité centrale ne doit "voir" au plus qu'une seule image de chacun des atomes du système périodique reproduit. Les énergies et les forces ne sont donc calculées qu'avec les images ou les atomes les plus proches.

Ce type d'artefact a largement été employé pour les simulations d'acides aminés, de protéines et de peptides [2]. Il a été par la suite étendu pour la simulation des bicouches lipidiques [3-17].

I.1. Principe.

De par la reproduction de l'unité centrale dans les trois dimensions de l'espace, un atome possède donc vingt-six images de lui-même. Cette situation est illustrée par la figure n°2 où seules deux dimensions du système sont représentées. L'atome A_1 de l'unité centrale possède donc huit images de lui-même numérotées de deux à neuf. Un atome ne doit jamais interagir avec sa propre image, cette situation ne pouvant refléter en aucune sorte une quelconque réalité. En d'autres termes, les interactions entre A_i et A_j ne doivent pas être calculées. Afin de respecter cette condition, le calcul des interactions non liées est donc délimité par l'utilisation d'une valeur de coupure illustrée par la figure n°2. Seules les interactions non liées entre l'atome A_1 et B_5 seront prises en compte. Le choix de la forme et de la valeur de ce "cutoff" est dicté à la fois par la taille de l'unité centrale et par la forme de la molécule étudiée.

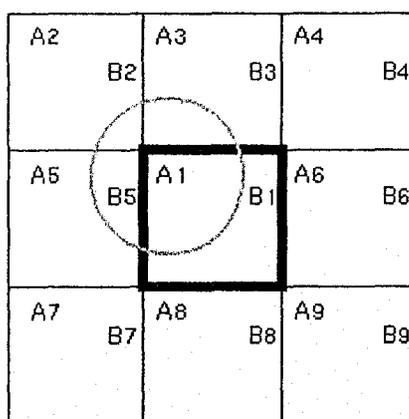


Figure n°2: Représentation schématique bidimensionnelle de la convention de l'image minimum appliquée à un système cubique.

I.2. Critère de choix du "cutoff".

Parmi les divers types de "cutoff" ayant été proposés, le "cutoff" de type sphérique est le plus courant. Comme l'illustre le cercle de la figure n°2, il s'agit de calculer les interactions entre atomes compris dans une sphère de rayon R_c autour d'un atome ou groupe d'atomes cibles. En présence d'une boîte centrale de type cubique, la valeur de R_c ne doit pas dépasser la moitié de la dimension de cette boîte. Cette condition permet donc d'éviter le calcul d'interactions entre un atome et sa propre image. Dans le cas de conditions périodiques de forme parallélépipédique, c'est la moitié de la plus petite dimension du système qui est choisie comme critère de dimension du "cutoff". Ainsi, comme pour les systèmes de forme cubique, toute interaction non liante distante de plus de cette distance de coupure sera négligée.

Considérons un atome situé au centre d'une boîte cubique d'arête 20\AA , la distance de coupure ne pourra donc pas dépasser 10\AA . En raisonnant sur les volumes, les interactions non liées entre cet atome central et ses atomes voisins seront calculées sur un volume de 10^3\AA^3 soit $1/8$ du volume du système étudié. Si maintenant on considère ce même atome placé au centre d'une boîte rectangulaire de dimensions $30/20/20\text{\AA}$, le "cutoff" maximal sera toujours de 10\AA maximum. Or, le rapport entre le volume couvert pour le calcul des interactions non liées par

rapport au volume du système étudié sera désormais de $1/12!$ Comment peut-on affirmer que cet atome central ne subit pas l'influence d'un atome situé à une distance de 11\AA considérant les faibles dimensions de ce système? Cette perte d'information risque d'être d'autant plus importante que le système s'éloigne de la forme cubique. Est-il donc raisonnable de réduire le calcul des interactions non liées à une simple sphère de petite dimension lorsque le système d'étude est très éloigné de la forme cubique? Cette question est d'autant plus justifiée que dans le cas de la simulation de bicouches lipidiques, le modèle d'étude est le plus souvent de forme rectangulaire. En effet, considérant la forme allongée des phospholipides ainsi que l'épaisseur de la bicouche et de sa couche de solvant, modéliser un système cubique implique la mise en jeu de plusieurs milliers d'atomes et donc de ressources informatiques importantes.

I.3. Etablissement des listes des paires d'atomes non liés.

Par l'utilisation de ces distances de coupure, les interactions non liées entre paire d'atomes trop éloignés ne sont donc pas calculées. Cette méthode nécessite donc de définir la liste des paires voisines. Puis, afin de savoir si les conditions nécessaires pour que leur énergie d'interaction soit prise en compte, la distance entre chacune des paires d'atome est calculée. Pour un système composé de N atomes, il s'agit donc de calculer $N(N-1)$ distances ce qui en temps de calcul reviendrait à calculer les énergies d'interaction non liées pour les N atomes! C'est pourquoi une liste des paires atomiques répondant aux critères de prise en compte est établie au premier pas de la dynamique puis redéfinie à intervalles réguliers au cours de celle-ci. La fréquence de mise à jour de cette liste est choisie de sorte que l'on puisse supposer que les distances entre atomes ne varient pas trop durant cette période. Le choix de cette fréquence dépend donc du système étudié en terme de flexibilité. Concernant la simulation des bicouches lipidiques, la fréquence de mise à jour oscille entre 20 fs [7,14-16], 30 fs [4,5,8] et 50 fs [3,9-13] de dynamique moléculaire selon les auteurs. Au cours d'une

étude comparative de simulations de bicouches lipidiques, Alper et al [15] ont montré qu'aucune différence n'était observée entre une fréquence de mise à jour tous les 5 ou 20 fs de dynamique moléculaire. Choisie dans cette gamme de temps, on peut donc considérer comme convenable toute fréquence de mise à jour des interactions non liées.

I.4. Utilisation d'un double "cutoff".

Dans le même esprit de réduction du temps de calcul, certains auteurs ont choisi d'utiliser comme critère d'atténuation des interactions non liées un double "cutoff" sphérique [13-17]. Il s'agit en fait de moduler la fréquence de mise à jour des listes des paires en fonction de la distance séparant ces paires (figure n°3). Ainsi, pour les paires atomiques situées à une distance inférieure à un premier "cutoff" R_1 , toutes les interactions sont calculées et ceci à chaque pas de la dynamique moléculaire. Pour les distances entre atomes comprises entre les deux valeurs R_1 et R_2 , les interactions non liées sont uniquement calculées lors de la mise à jour des paires non-liées. Les forces et les énergies calculées sont alors gardées constantes entre chaque mise à jour. Enfin, au delà du deuxième "cutoff" R_2 , aucune interaction n'est calculée. En choisissant une valeur pour R_1 inférieure à celle normalement utilisée avec un simple "cutoff" normal, le gain de temps de calcul peut être sensible. Cependant, cette technique comporte un risque non négligeable puisqu'elle entraîne une discontinuité de la surface d'énergie potentielle. L'amplitude de cette discontinuité varie en fonction de la taille des "cutoffs" ainsi que de celle du système simulé. Or, il n'existe pas de règle précise permettant de choisir efficacement la taille de ces distances de coupure. A moins de multiplier les tests, il apparaît délicat d'employer ce genre de méthode pour la simulation des bicouches lipidiques.

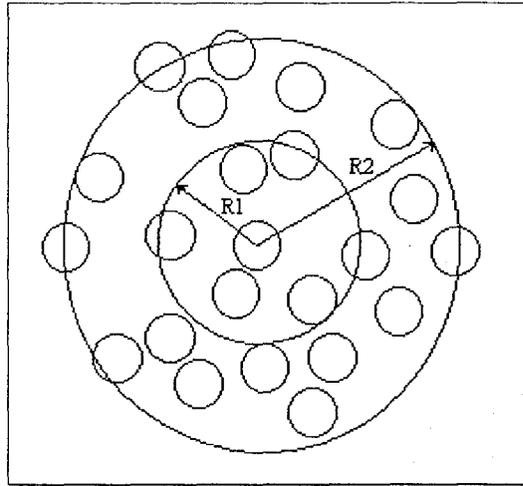


Figure n°3: Schématisation du principe du double "cutoff" sphérique. R_1 et R_2 représentent les deux valeurs de coupure distinguant les zones de calcul des interactions non liées.

I.5. Les fonctions d'atténuation ou de lissage.

La coupure brutale des interactions non liées à une distance précise peut provoquer une discontinuité du potentiel d'énergie et des forces à cette distance. L'une des façons d'atténuer ce problème est d'introduire une fonction mathématique permettant de diminuer progressivement les interactions non liées en fonction de la distance. On parle de fonctions d'atténuation ou de lissage ("switching" ou "shifting function") [18,19]. La figure n°4 illustre le principe de l'une d'entre elles en représentant la fonction d'énergie potentielle non modifiée $E(r)$, la fonction d'atténuation $S(r)$ et enfin, la fonction résultante de l'application de cette dernière, soit le produit de $E(r)$ par $S(r)$. Cette fonction d'atténuation est définie par deux variables: la distance où la fonction $S(r)$ atteint la valeur nulle décrite par CUTDIS de la figure n°3 et l'étendue durant laquelle la fonction passe de la valeur unitaire à la valeur nulle représentée par SWTDIS sur cette même figure. Cette fonction d'atténuation est de type polynomiale. En effet, les dérivées premières et secondes doivent être nulles à l'extérieur de la région d'atténuation (c'est-à-dire en dehors de la zone représentée par SWTDIS) de manière à ce que l'énergie d'interaction non liée résultante ainsi que ces premières et secondes dérivées

soient continues. Mathématiquement, l'application de cette fonction peut se traduire par la relation suivante:

$$E(r) = E(r) \cdot S(r) \quad (3.1)$$

avec $S(r) = 1$ quand $r = 0$ et $S(r) = 0$ quand $r = r_c$

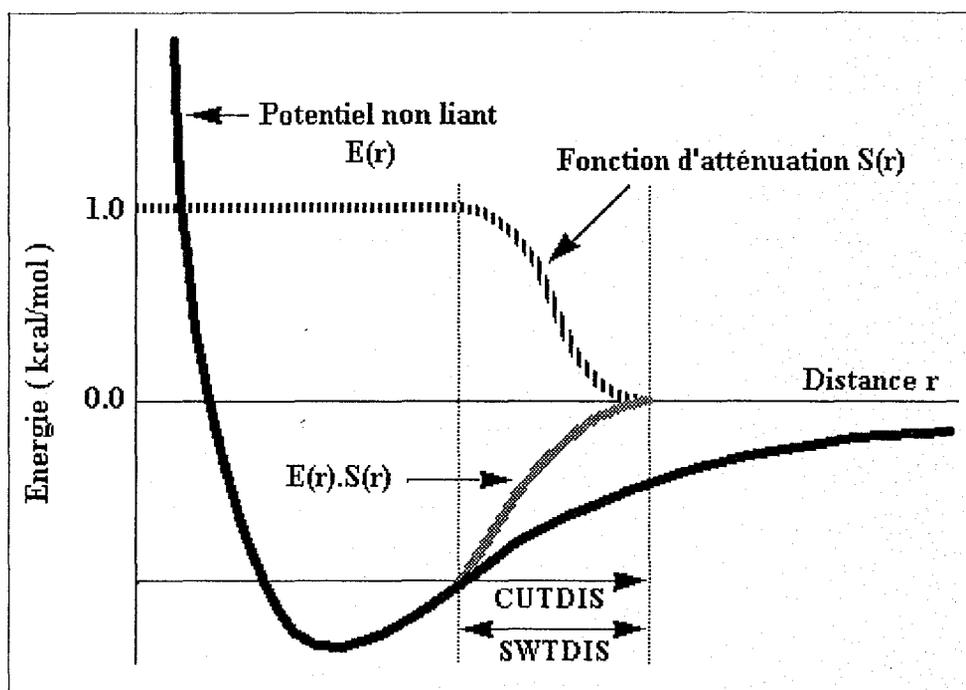


Figure n°4: Représentation schématique de l'application d'une fonction d'atténuation $S(r)$ sur l'énergie potentielle non liée $E(r)$. Les limites d'application de cette fonction sont représentées par la zone SWTDIS. Le produit résultant $E(r).S(r)$ s'annule en CUTDIS.

Il est possible d'utiliser d'autres types de fonctions n'utilisant pas le principe de la multiplication comme pour les fonctions précédentes. Alors, l'atténuation de la discontinuité du potentiel est réalisée en lui soustrayant un terme constant pour les distances inférieures ou égales à la valeur de coupure [18,20]. L'équation mathématique (3.2) définit ce principe où r_c est la valeur de coupure et E_c la valeur du potentiel quand la distance r est égale à r_c .

$$E'(r) = E(r) - E_c \text{ pour } r \leq r_c \quad (3.2)$$

$$E'(r) = 0 \text{ pour } r > r_c$$

Ces fonctions d'atténuation ou de lissage ont donc été introduites afin d'éviter une discontinuité du potentiel à la distance de coupure R_c . Toutefois, ces fonctions s'avèrent être parfois la cause d'autres artefacts tout aussi indésirables, entraînant de fortes perturbations au niveau des forces dans la zone d'atténuation [21]. De même, dans le cas de l'étude de la solvation ionique, une diminution rapide de la vitesse d'autocorrélation de l'ion ainsi qu'un affaiblissement de son coefficient de diffusion peuvent être observés [21]. Ces dernières perturbations sont d'autant plus marquées pour des distances supérieures ou égales à la distance de coupure R_c .

Certains auteurs ont employé ce type de méthode lors de la simulation par dynamique moléculaire de bicouches lipidiques [15]. Cependant, compte tenu des observations précédentes, ne peut-on pas craindre des perturbations de la structure et de l'orientation des molécules d'eau dans la proximité de la tête polaire zwitterionique?

I.6. La notion de groupes.

Parmi les interactions non liées, les interactions de type coulombienne sont celles qui sont les plus délicates à traiter du fait qu'elles évoluent en $1/r$ et restent donc non négligeables à longue distance. La plupart des molécules sont composées par des fragments neutres présentant des dipôles et des quadripôles. Les interactions électrostatiques entre molécules ou entre parties de molécules correspondent donc en réalité à des interactions de type dipôle-dipôle évoluant en $1/r^3$. La contribution énergétique de ce type d'interaction est jusqu'à cent-fois inférieure aux interactions de type monopole-monopole. Le risque majeur d'utiliser une distance de coupure basée sur la distance entre deux atomes est de séparer les dipôles naturels

en créant des interactions monopôle- monopôle artificielles. On comprend aisément les implications en termes de contributions énergétiques d'une telle aberration. Afin, d'éliminer ce type d'artefact, il suffit d'appliquer la distance de coupure non pas entre atomes voisins mais entre groupes d'atomes. Cette répartition en plusieurs groupes d'une même molécule permet de prévenir toute coupure des dipôles. Le choix des groupes se fait tout d'abord en fonction de la nature du soluté. Généralement, la séparation se fait en fonction de la nature chimique des groupements. Ainsi, il est usuel de séparer une chaîne polypeptidique en résidus d'acides aminés. D'autre part, il faut respecter la condition selon laquelle la taille du résidu traité est inférieure à celle de la distance de coupure [18].

Enfin, la méthode des groupes nécessite une attention particulière vis-à-vis des charges atomiques. En effet, afin d'éviter de créer des dipôles artificiels, il est nécessaire de respecter la neutralité des groupes ce qui amène parfois à modifier les charges atomiques calculées. Cette technique réclame donc une prudence particulière dans son utilisation.

S'agissant de la simulation des bicouches lipidiques, plusieurs auteurs ont proposé de séparer de cette manière chaque monomère phospholipidique en plusieurs groupes neutres. Robinson et al [3] ont considéré la tête polaire et les deux chaînes aliphatiques comme constituant trois groupes. D'autres auteurs ont choisi de séparer le monomère en cinq groupes en divisant les chaînes aliphatiques en deux parties [7,13] ou bien encore, en divisant chaque partie du monomère phospholipidique en fonction de sa fonction chimique tels que les groupements méthyle, éthyle, ester et amine [15]. Cependant, considérant la forme naturelle des molécules lipidiques, est-il justifié d'employer la même méthode? Comment peut-on justifier cette séparation artificielle du lipide? La partie hydrophobe du lipide est-elle indépendante de la partie hydrophile vis-à-vis des interactions non-liées? Le lipide n'est-il pas un tout?

II. La méthode d'Ewald.

La méthode d'Ewald est une technique permettant de calculer les interactions non liées de systèmes périodiques utilisant les conditions périodiques aux frontières (PBC). Cette méthode est particulièrement appropriée aux systèmes cristallins mais peut aussi dans certaines limites être appliquée aux solutions. Cette méthode diffère de la méthode des potentiels tronqués essentiellement dans le fait qu'elle calcule la totalité des interactions Coulombiennes du réseau tridimensionnel.

II.1. Principe.

Cette méthode a été élaborée par Ewald [1] en 1921 afin d'étudier les énergies de cristaux ioniques. Son principe est le suivant: si l'on considère une molécule placée dans une boîte centrale, non seulement les interactions avec les molécules voisines seront calculées mais aussi celles appartenant à toutes ses images situées dans les cellules reproduites périodiquement dans les trois dimensions de l'espace. Cette reproduction dans l'espace est illustrée par la figure n°5. La position d'une boîte image peut être calculée par une simple translation d'un vecteur dont les composantes représentent un multiple entier des dimensions de la boîte centrale. Ainsi, pour une boîte centrale cubique d'arête L contenant N charges, les cellules voisines seront positionnées en $(\pm n_x L, \pm n_y L, \pm n_z L)$ avec n_x , n_y et n_z trois entiers pouvant prendre des valeurs allant de 0 à l'infini. La cellule origine est donc localisée en $(0,0,0)$. L'ensemble formé par la cellule centrale et les cellules voisines est ici considéré comme étant de forme sphérique. Cette approximation permet en effet d'accélérer le calcul.

Le milieu environnant de cette sphère de cellules peut présenter une permittivité variable selon que l'on souhaite en reproduire les propriétés (zone grise de la figure n°5).

L'énergie Coulombienne des charges de la cellule centrale est donnée par la relation suivante:

$$U = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \quad (3.3)$$

où q_i est la charge de la particule i et r_{ij} est la distance minimale entre les particules i et j .

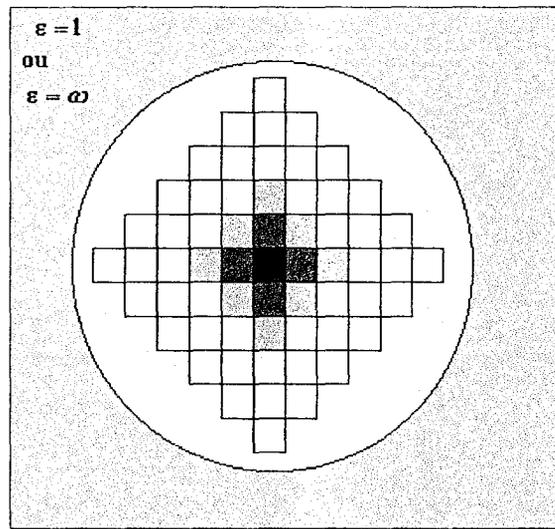


Figure n°5: Représentation schématique de la construction du réseau de cellules périodiques selon la méthode d'Ewald.

La contribution énergétique des interactions entre les charges de la cellule centrale et toutes leurs répliques dans l'espace est traduite par l'expression suivante:

$$U = \frac{1}{2} \sum_n' \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 |r_{ij} + n|} \quad (3.4)$$

La notation en prime de la première somme indique que les séries n'incluent pas les interactions pour $i=j$ quand $n=0$.

II.1.1. Le premier terme.

L'équation (3.4) exprimant l'énergie coulombienne d'un réseau tridimensionnel est représentée par une série de convergence lente et conditionnelle. Ewald proposa donc de

remplacer cette équation par une fonction mathématique de convergence beaucoup plus rapide et décroissante avec r . La contribution énergétique des interactions entre charges est alors donnée par la relation suivante:

$$U^r = \frac{1}{2} \sum_n \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0} \frac{\operatorname{erfc}(\alpha|r_{ij} + n|)}{|r_{ij} + n|} \quad (3.5)$$

où α est le paramètre de convergence d'Ewald, n est le facteur de reproduction de la cellule centrale, N est le nombre d'atomes et erfc est la fonction erreur complémentaire exprimée généralement selon l'équation (3.6)

$$\operatorname{erfc}(x) = \frac{2}{\sqrt{x}} \int_x^\infty \exp(-t^2) dt \quad (3.6)$$

Une interprétation physique de cette approximation est la suivante. Chaque charge ponctuelle q_i du système est considérée comme étant entourée par une distribution de charges de type Gaussienne prenant la forme suivante:

$$\rho_i(r) = \frac{q_i \alpha^3}{\pi^{3/2}} \exp(-\alpha^2 r^2) \quad (3.7)$$

II.1.2. Le second terme.

Cependant, pour préserver l'égalité entre cette nouvelle expression énergétique U^r (3.6) et l'expression générale U (3.4), un terme équivalent au produit de $(1 - \operatorname{erfc})$ doit être ajouté à la somme du réseau. Ce terme va donc représenter la somme des charges de l'espace réciproque en opposition au premier terme (3.6) représentant l'ensemble des charges de l'espace réel. On parle du second terme de la sommation d'Ewald (3.8).

$$U^m = \frac{1}{2} \sum_m \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0} \frac{1 - \operatorname{erfc}(\alpha|r_{ij} + m|)}{|r_{ij} + m|} \quad (3.8)$$

Cependant, cette fonction (1-erfc) converge moins rapidement que la précédente. Ewald a donc proposé de la remplacer par sa transformée de Fourier. Cette contribution énergétique de l'espace réciproque est donc exprimée par l'équation (3.9).

$$U^m = \frac{1}{2} \sum_{m \neq 0} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{1}{\pi L^3} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0} \frac{4\pi^2}{k^2} \exp\left(-\frac{m^2}{4\alpha^2}\right) \cos(m \cdot r_{ij}) \quad (3.9)$$

où m représente les vecteurs réciproques calculés à partir de la relation suivante:

$$m = 2\pi \frac{n}{L^2} \quad (3.10)$$

II.1.3. Les troisième et quatrième termes.

La somme des fonctions gaussiennes sur l'espace réel (équation (3.6)) inclut l'interaction de chaque gaussienne avec elle-même. Ewald a donc introduit un troisième terme permettant de corriger cette erreur. L'expression de ce terme est la suivante:

$$U^0 = -\frac{\alpha}{\sqrt{\pi}} \sum_{k=1}^N \frac{q_k^2}{4\pi\epsilon_0} \quad (3.10)$$

En fonction de la nature du milieu environnant la sphère des boîtes de simulation, un quatrième terme peut être ajouté. Si le milieu environnant est le vide, le terme énergétique suivant tenant compte de la permittivité du milieu doit être ajouté à la sommation d'Ewald:

$$U_{\text{correction}} = \frac{2\pi}{3L^3} \left| \sum_{i=1}^N \frac{q_i}{4\pi\epsilon_0} r_i \right|^2 \quad (3.11)$$

II.1.4. Conclusion.

En résumé, la contribution énergétique des interactions entre charges selon Ewald correspond à la somme de ces quatre termes:

$$E_{\text{tot}} = U^r + U^m + U^0 + U_{\text{correction}} \quad (3.12)$$

Physiquement, cette somme se traduit par:

-la réplication des charges atomiques du système étudié dans les trois dimensions de l'espace réel.

-la considération de chaque charge ponctuelle de l'espace réel comme une distribution gaussienne de charges de signe opposé à la charge ponctuelle (figure n°6, "Somme dans l'espace réel").

-la reproduction de la distribution gaussienne de charges de l'espace réel dans l'espace réciproque. Cette dernière distribution de signe opposé à la première a donc pour fonction la neutralisation des gaussiennes (figure n°6, "Somme dans l'espace réciproque").

La somme des charges est donc convertie en une somme d'interactions entre charges et distributions gaussiennes neutralisantes comme l'illustre la figure n°6.

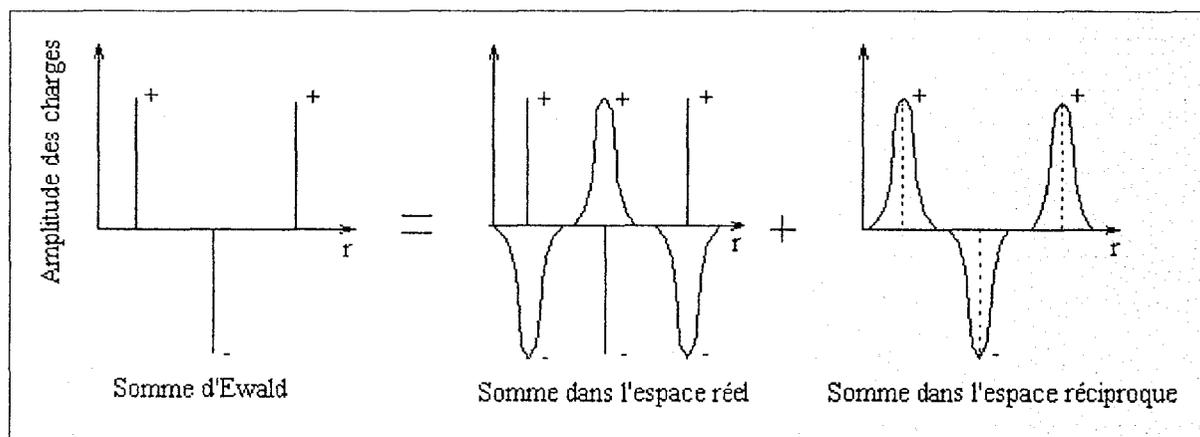


Figure n°6: Composantes de la sommation d'Ewald d'un système unidimensionnel. Les Gaussiennes sont normalisées à l'unité.

II.2. Avantages et inconvénients.

La méthode de la sommation d'Ewald apparaît comme la méthode la plus efficace pour traiter les interactions non liantes de type électrostatique. Cette efficacité a été démontrée au travers de nombreux travaux portant sur la simulation de systèmes tels que les cristaux ioniques [1,22]. Face à ces résultats concluant, l'application de cette méthode a été étendue à

d'autres systèmes de simulation hautement chargés tels que les protéines [22], l'ADN [24-26] et enfin les bicouches lipidiques [27-32].

Cet engouement pour la sommation d'Ewald ne doit en aucun cas laisser supposer que cette méthode ne puisse être la source d'artefact. En effet, de par le fait qu'elle nécessite la reproduction "à l'infini" du système étudié, elle impose une périodicité de ce système qui peut parfois être purement artificielle et engendrer des perturbations importantes. Lors d'une étude de l'impact de la méthode d'Ewald sur la simulation de la solvation ionique, Hünenberger et al [33] ont observé une sous-estimation de l'énergie libre de solvation des ions sphériques. Cette sous-solvation est en effet provoquée par une perturbation du solvant de l'unité centrale de simulation par la proximité des copies périodiques de l'ion. Le rapport de taille entre le rayon du soluté (R) et la largeur de la boîte de simulation (L) a donc une influence non négligeable sur ce paramètre énergétique. Dans le cas de molécules chargées de grande dimension telle que les biomolécules où le rapport R/L est généralement de l'ordre de 0,2 à 0,3, la perturbation de l'énergie de solvation est fortement dépendante de ce rapport. De même, ces auteurs ont évoqué l'influence possible de la forme du soluté s'il est non sphérique sur ces paramètres de solvation [34]. Ces observations sont donc à prendre avec beaucoup de considération dans le cas de simulation de modèles de bicouches lipidiques.

La réticence à l'emploi de la méthode d'Ewald pour le calcul des interactions non liées de modèles biomoléculaires a longtemps été étroitement liée à sa complexité qui la rend coûteuse en temps de calcul. Des méthodes dérivées telle que la méthode "Particle-Mesh-Ewald" (PME) fondées sur le principe de Fourier ont donc été développées à partir de la méthode d'Ewald dans l'objectif de réduire ce temps de calcul [35] L'autre handicap dans l'utilisation de la méthode d'Ewald ou de ses méthodes dérivées consiste en la nécessité de revoir les paramètres du champ de forces utilisé en terme d'interaction non liés.

Conclusion

Le mode de calcul des interactions non liées est un facteur essentiel de la bonne reproduction du comportement des modèles de simulation employant les conditions périodiques aux frontières (PBC) tels que les modèles de simulation de bicouches lipidiques. Le choix de la méthode de calcul de ces interactions va donc avoir un impact important sur les caractéristiques énergétiques et structurales déduites de la simulation.

La méthode de sommation d'Ewald est sans contexte la plus correcte s'agissant de la modélisation de systèmes périodiques tels que les cristaux ioniques. Cependant, cette méthode, ainsi que ses méthodes dérivées, deviennent approximatives dans le cas de simulations de soluté en solution ne présentant pas de périodicité inhérente. Son utilisation pour la modélisation des bicouches lipidiques demande donc beaucoup de précautions. La méthode d'Ewald implique en effet que le modèle de bicouche simulé présente une importante couche de solvant. Cette précaution permet notamment d'éviter des interactions fortuites trop importantes entre le soluté réel et ses répliques. Ceci se traduit évidemment par un système de simulation de plusieurs milliers d'atomes et donc engendre un temps de calcul important. L'implémentation de la méthode d'Ewald dans le logiciel de modélisation moléculaire empirique SPASIBA (chapitre n°2) que nous avons employé pour cette étude n'ayant pas encore été réalisée, il ne nous a pas été possible d'envisager le choix de cette méthode. Ceci fait cependant partie des objectifs futurs du laboratoire.

Comme nous l'avons évoqué au cours de ce chapitre, la méthode des potentiels tronqués est une méthode facile à mettre en œuvre mais qui peut présenter des artefacts importants. L'étude comparative de plusieurs méthodes de calcul des interactions non liées sur la simulation de solvation ionique menée par Perera et al [21] nous a conforté sur deux points essentiels:

-les fonctions d'atténuations couplées à l'utilisation d'une distance de coupure sphérique engendrent des perturbations très importantes des forces et des énergies libres de solvation à la limite et au delà de cette distance de coupure. Considérant le caractère zwitterion de la tête polaire des bicouches lipidiques, l'utilisation de telles méthodes risque de perturber l'environnement aqueux. C'est pourquoi nous avons réfuté leur emploi.

-l'utilisation d'un simple "cutoff" sphérique montre une égale efficacité à la méthode de sommation d'Ewald. Les différences obtenues en termes énergétiques et structuraux sont infimes. Ceci légitime la méthode des potentiels tronqués.

Cependant, en considérant un soluté et/ou un système de simulation de forme sphérique, ne risquons nous pas de négliger certaines interactions agissant à longue distance par l'utilisation d'une distance de coupure sphérique? Ne serait-il pas plus juste d'employer une distance de coupure tenant compte de la forme du soluté? A notre connaissance, aucune étude reflétant l'incidence de la forme du "cutoff" sur le réalisme de la simulation n'a jusqu'alors été réalisée.

A la suite de ces réflexions, nous nous sommes proposés d'envisager, pour les simulations de bicouches lipidiques, une nouvelle approche basée sur le principe des distances de coupure dans les calculs des interactions non liées. La présentation de cette méthode et sa validation font l'objet du chapitre suivant.

Bibliographie

1. P. Ewald, *Ann. Phys.*, 64, 253 (1921).
2. J.A. McCammon and S.C. Harvey, "Dynamics of proteins and nucleic acids", Cambridge University Press, Cambridge (1987).
3. A.J. Robinson, W.G. Richards, P.J. Thomas and M.M. Hann, *Biophys. J.*, 67, 2345 (1994).
4. K.V. Damodoran and K.M. Merz, *Langmuir*, 9, 1179, (1993).
5. K.V. Damodoran and K.M. Merz Jr, *Biophys. J.*, 66, 1076 (1994).
6. M.A. Wilson and A. Pohorille, *J. Am. Chem. Soc.*, 116, 1490 (1994).
7. P. Huang, J.J. Perez and G.H. Loew, *J. Biomol. Struct. & Dyn.*, 11, 927 (1994).
8. K.V. Damodoran, K.M. Merz Jr. and B.P. Gaber, *Biochemistry*, 31, 7656 (1992).
9. R. Raghavan, M.R. Reddy and M.L. Berkowitz, *Langmuir*, 8, 233 (1992).
10. M.L. Berkowitz and R. Raghavan, *Langmuir*, 7, 1042 (1991).
11. E. Egberts and H.J.C. Berendsen, *J. Chem. Phys.*, 89, 3718 (1988).
12. E. Egberts, S.J. Marrink and H.J.C. Berendsen, *Eur. Biophys. J.*, 22, 423 (1994).
13. S.W. Chiu, M. Clark, S. Subramaniam, H.L. Scott and E. Jakobson, *Biophys. J.*, 69, 1230 (1995).
14. D.P. Tieleman and H.J.C. Berendsen, *J. Chem. Phys.*, 105, 4871 (1996).
15. H.E. Alper, D. Bassolino and T.R. Stouch, *J. Chem. Phys.*, 98, 9798 (1993).
16. H.E. Alper, D. Bassolino-Klimas and T.R. Stouch, *J. Chem. Phys.*, 99, 5547 (1993).
17. J.J.L. Cascales, J.G. de la Torre, S.J. Marrink and H.J.C. Berendsen, *J. Chem. Phys.*, 104, 2713 (1996).
18. A.R. Leach, in "Molecular Modelling. Principles and Applications", Ed Longman (1996).
19. W.F. van Gunsteren and H.J.C. Berendsen, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 29, 992 (1990).
20. M.P. Allen and D.J. Tildesley, "Computer simulation of liquids", Clarendon press, Oxford (1987).
21. L. Perera, U. Essman and M.L. Berkowitz, *J. Chem. Phys.*, 102, 450 (1995).
22. E. Madelung, *Phys. Z.*, 19, 524 (1918).
23. T. Fox and P.A. Kollman, *Proteins: Struct., Funct., Genet.*, 25, 315 (1996).
24. V. Mohan, P.E. Smith and B.M. Pettitt, *J. Phys. Chem.*, 97, 12984 (1993).
25. T.E. Cheatham III and P.A. Kollman, *J. Mol. Biol.*, 259, 434 (1996).
26. T.E. Cheatham III and P.A. Kollman, *Structure*, 5, 1297 (1997).
27. L. Perera, U. Essman and M.L. Berkowitz, *Langmuir*, 12, 2625 (1996).

28. K. Tu, D.J. Tobias and M.L. Klein, *Biophys. J.*, 69, 2558 (1995).
29. K. Tu, D.J. Tobias and M.L. Klein, *J. Phys. Chem.*, 99, 10035 (1995).
30. K. Tu, D.J. Tobias, J.K. Blasie and M.L. Klein, *Biophys. J.*, 70, 595 (1996).
31. S.E. Feller, R.M. Venable and R.W. Pastor, *Langmuir*, 13, 6555 (1997).
32. U. Essman, L. Perera and M.L. Berkowitz, *Langmuir*, 11, 4519 (1995).
33. P.H. Hünenberger and J.A. Mc Cammon, *J. Chem. Phys.*, 110, 1856 (1999).
34. T. Darden, D. York and L. Pederson, *J. Chem. Phys.*, 98, 10089 (1993).

CHAPITRE 4

**Nouvelle méthodologie de calcul des interactions
moléculaires non liantes.**

Introduction

La présence de charges (tête polaire chargée ou contre ion), de moments dipolaires (molécules d'eau ou têtes polaires "zwitterioniques") et de nombreuses liaisons hydrogènes font en sorte que les interactions non liantes vont jouer un rôle prédominant dans la structure et la dynamique des bicouches lipidiques. Lors de la modélisation de ces bicouches, le mode de traitement mathématique employé pour la reproduction de ces interactions sera sans aucun doute d'un impact non négligeable.

Au cours du chapitre précédent, nous avons évoqué les deux techniques les plus couramment employées pour le traitement des interactions non liantes: la méthode d'Ewald et la méthode des potentiels tronqués ou "cutoff". Compte tenu de leurs avantages et inconvénients, cette dernière méthode nous a semblé adéquate pour la simulation des bicouches lipidiques par dynamique moléculaire.

Cependant, les interactions non liantes et particulièrement celles du type coulombienne agissent à longue distance. On peut donc aisément imaginer que l'utilisation d'un simple "cutoff" sphérique classique risque d'entraîner une sous-estimation de ces forces. La taille de cette valeur de coupure est en effet limitée par les dimensions du système de simulation. Le plus souvent, la distance de coupure est de l'ordre de 8 à 10Å ce qui est très court pour un système de plusieurs milliers d'atomes tels que les modèles de bicouches.

D'autre part, la séparation en plusieurs groupes neutres de chaque monomère phospholipidique va à l'encontre de la nature amphiphile des phospholipides. Chaque monomère phospholipidique est donc considéré comme un résidu de forme non sphérique.

Enfin, comme il l'a été évoqué précédemment, les modèles de bicouches lipidiques sont le plus souvent de dimensions non cubiques. Or, l'emploi d'un "cutoff" de type sphérique dans ce contexte entraîne indéniablement la négligence d'un certain nombre d'interactions non liantes.

Compte tenu de ces observations, nous avons envisagé une approche modifiée du calcul des interactions non liées. Basée sur le principe des potentiels tronqués, cette nouvelle approche permet de prendre en considération la forme des résidus ainsi que les dimensions du système de simulation.

Afin de valider cette nouvelle stratégie de calcul des interactions non liées, nous avons choisi dans un premier temps de modéliser par dynamique moléculaire le modèle le plus simple qui soit, en l'occurrence un ion dans un bain d'eau. Ce choix nous permettra en effet de juger de l'impact de cette méthode sur l'organisation moléculaire en proximité de charges. Plus précisément, nous étudierons l'organisation spatiale des molécules d'eau dans les première et seconde couches de solvation de l'ion. D'autre part, nous évaluerons les conséquences de l'utilisation d'un "cutoff" de forme sphérique dans le cas d'un système de dimensions non cubiques.

La première partie de ce chapitre consiste en la description de cette nouvelle stratégie de calcul des interactions non liées. L'impact de cette méthode sur l'organisation moléculaire est ensuite présentée au travers d'une étude par dynamique moléculaire d'un ion sodium en solution diluée.

La figure n°1 résume les différentes étapes de cette étude.

Solvatation d'un cation Sodium

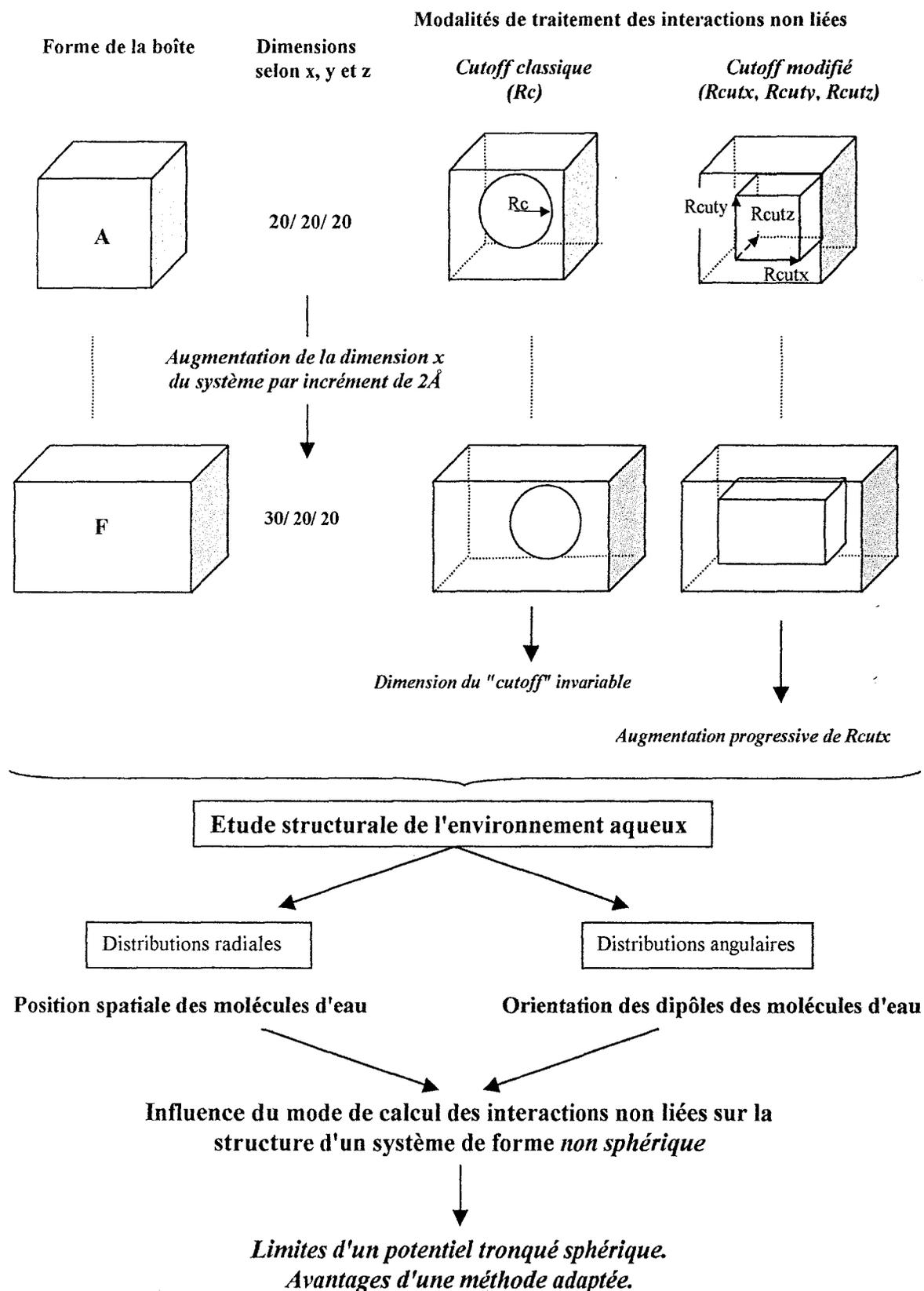


Figure n° 1: Etude comparative structurale de l'effet du mode de calcul des interactions non liées sur la solvataion d'un cation. Validation de notre nouvelle stratégie adaptée aux systèmes non cubiques.

I. Calcul des interactions non liées: notre stratégie.

Selon la méthode classique des potentiels tronqués, la prise en compte des interactions non liées entre un atome et ses voisins est délimitée par une distance fixe. Dans le cas d'un "cutoff" sphérique, sont considérés comme voisins les atomes situés dans une sphère de rayon R_c autour de l'atome cible.

Dans le cas d'une simulation employant les conditions périodiques aux frontières (PBC), le choix de cette valeur R_c est dictée par le principe de la convention de l'image minimale (Chapitre n°3). Autrement dit, un atome ne doit jamais interagir avec sa propre image issue de la reproduction périodique tridimensionnelle de l'unité centrale. La valeur du "cutoff" R_c doit donc rester inférieure à la moitié de la plus petite dimension de l'unité centrale. Mathématiquement, les interactions entre deux atomes i et j ne sont prises en compte que si les conditions suivantes sont respectées:

$$d(i, j) \leq R_c$$

$$R_c \leq (\text{la plus petite dimension})/2$$

avec $d(i,j)$ représentant la distance entre les atomes i et j .

Dans la suite de ce document, cette méthode sera appelée "méthode classique" afin de la distinguer de celle présentée ci-après.

Cette méthode est la plus couramment employée pour le calcul des interactions non liées. Le plus souvent, les systèmes de simulation sont de forme cubique. Considérant le critère de choix du "cutoff" R_c , on peut aisément imaginer qu'un certain nombre d'interactions non liées risque d'être négligé si le système de simulation présente une forme parallélépipédique. Plus le système va s'éloigner de la symétrie cubique, plus le risque d'artefacts ou d'erreurs augmente. Or, dans le cas de la simulation de bicouches lipidiques, les modèles sont le plus souvent rectangulaires. Construire un modèle de forme cubique nécessite en effet la mise en jeu d'un grand nombre d'atomes et donc de moyens de calcul importants.

A la suite de cette réflexion, nous avons cherché à modifier notre programme de calcul des interactions non liées en implémentant deux types de "cutoff". Ainsi, les formes du système de simulation et du soluté seront prises en compte. Les interactions non liées impliquant les molécules de soluté ou celles de solvant sont désormais traitées séparément. Concernant les interactions soluté/soluté et soluté/solvant, nous avons introduit trois "cutoffs" annotés R_{CUTx} , R_{CUTy} et R_{CUTz} . Ces trois critères correspondent respectivement aux "cutoffs" appliqués selon les axes x-, y- et z- de l'espace. La prise en compte des interactions non liées entre deux atomes i et j ne dépend donc plus d'un unique critère mais de trois. Cette condition s'exprime mathématiquement par la relation suivante:

$$d_x(i, j) \leq R_{CUTx} \quad \text{avec } R_{CUTx} \leq (\text{la dimension selon } x \text{ du système})/2$$

$$d_y(i, j) \leq R_{CUTy} \quad \text{avec } R_{CUTy} \leq (\text{la dimension selon } y \text{ du système})/2$$

$$d_z(i, j) \leq R_{CUTz} \quad \text{avec } R_{CUTz} \leq (\text{la dimension selon } z \text{ du système})/2$$

avec $d_n(i, j)$ la projection de la distance $d(i, j)$ sur l'axe n de l'espace. Donc, si les trois conditions sont respectées, les interactions non liées entre les atomes i et j seront calculées. Pour ce qui est des interactions non liantes entre atomes de solvant, un "cutoff" sphérique classique a été utilisé.

En opposition à la précédente méthode, nous avons nommé cette stratégie "méthode modifiée".

Aucune fonction d'atténuation n'a été employée compte tenu des risques d'artefact introduit dans la zone d'atténuation notamment pour des systèmes fortement ioniques (chapitre 3).

II. Dynamique moléculaire de l'ion sodium dans un bain d'eau.

Afin d'illustrer l'impact de notre stratégie de calcul des interactions non-liées, nous avons choisi de simuler le système le plus simple qui soit c'est-à-dire un ion dans un bain de solvant aqueux. Le nombre de travaux déjà réalisés sur l'étude de la solvation d'ion nous ont permis d'établir une étude comparative mais aussi de valider notre modèle de calcul [1-12]. Le choix spécifique de l'ion sodium se justifie par l'existence de ces travaux portant sur cet ion [7-12] mais aussi par le fait de la préexistence de paramètres dans le champ de forces SPASIBA.

II.1. Conditions de simulation par dynamique moléculaire.

L'étude qui va suivre consiste donc en la simulation par dynamique moléculaire d'une série de systèmes composés par un ion sodium central placé dans une boîte d'eau de plus ou moins grande taille. A partir d'une boîte cubique de 20Å d'arête (figure n°2), la taille des boîtes ont successivement été augmentées selon un incrément de 2Å, ceci uniquement selon l'axe x. Nous avons ainsi obtenu six systèmes de tailles différentes dont la description est présentée dans le tableau n°1.

Nom des systèmes étudiés	Dimensions de la boîte ^a	Nombre de molécules d'eau
A	20 / 20 / 20	229
B	22 / 20 / 20	254
C	24 / 20 / 20	276
D	26 / 20 / 20	304
E	28 / 20 / 20	326
F	30 / 20 / 20	353

Tableau n°1. Taille de la boîte de simulation et nombre de molécules d'eau pour les simulations par dynamique moléculaire du sodium dans l'eau. ^a Chaque valeur correspond respectivement aux dimensions de la boîte selon les axes -x, -y et -z (en Å)

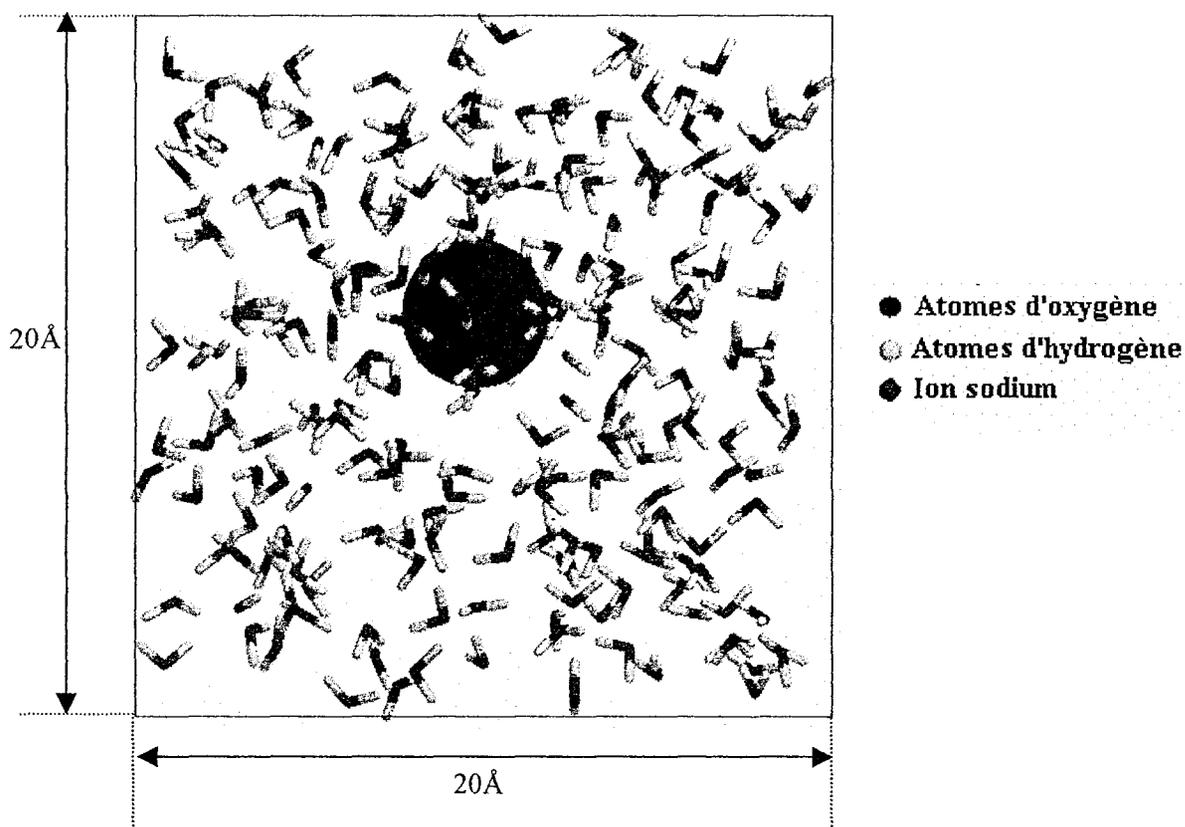


Figure n°2: Représentation réelle du modèle A de simulation composée d'un ion sodium entouré de molécules d'eau. L'encadrement représente les limites des conditions périodiques aux frontières.

Ces dynamiques moléculaires ont été réalisées dans des conditions thermodynamiques de volume et de température constants (NVT). Les conditions périodiques aux frontières (PBC) ont donc été appliquées. La température de simulation a été fixée à 300 K. Durant ces simulations de dynamique moléculaire, l'ion a été fixé au centre de la boîte.

En terme de champ de forces, les molécules d'eau ont été considérées selon le modèle TIP3P [13]. Les interactions non liantes entre l'ion et les molécules d'eau ont quant à elles été calculées à partir de l'équation (2.29) décrite précédemment lors de la description du champ de forces SPASIBA. Les paramètres correspondants sont présentés dans le tableau n°2. Les interactions non liantes de type Lennard-Jones ont été divisées par deux tandis que la contribution issue des interactions de type électrostatique a totalement été prise en compte.

Type atomique	R*	ϵ
Na	1.868	0.003
OW	1.590	0.150
HW	0.980	0.020

Tableau n°2. Paramètres non liés du champ de forces SPASIBA. R* correspond au rayon de van der Waals exprimé en Å tandis que ϵ représente le puit de potentiel exprimé en kcal/mol.

Une première étape de simulation a consisté en une minimisation classique de chacun des systèmes de simulation à savoir une succession de cycles par la méthode de la plus grande pente suivie de quelques cycles par la méthode du gradient conjugué. Cette étape nous a permis d'éliminer les mauvais contacts liés à la construction du réseau de molécules d'eau autour de l'ion. A la suite de cette minimisation, les simulations de dynamique ont débuté. Chaque dynamique moléculaire a été réalisée selon le même schéma. Les vitesses initiales ont été attribuées selon une distribution de Maxwell-Boltzman à 10K. L'algorithme de Verlet [14] a été utilisé pour l'intégration des équation de mouvements au cours du temps. La température a été maintenue à 300K grâce à la méthode des contraintes des vitesses. Les positions et les vitesses de chaque atome ont été collectées tous les 100 pas de la dynamique moléculaire soit l'équivalent de 0,1 ps. Concernant les interactions non liées, chaque système d'étude a été simulé selon les deux traitements possibles des interactions non liées à savoir la méthode dite classique du "cutoff" sphérique et notre méthode alliant plusieurs "cutoff" simultanément. Le tableau n°3 présente les différentes valeurs de "cutoff" utilisées pour chacun des systèmes de simulation. Les paires non liées ont été établies tous les 25 pas de dynamique moléculaire.

Noms des systèmes étudiés	R_c^a	$R_{CUTx}/R_{CUTy}/R_{CUTz}^a$
A	8.5	8.5 / 8.5 / 8.5
B	8.5	9.5 / 8.5 / 8.5
C	8.5	10.5 / 8.5 / 8.5
D	8.5	11.5 / 8.5 / 8.5
E	8.5	12.5 / 8.5 / 8.5
F	8.5	13.5 / 8.5 / 8.5

Tableau n°3: Valeurs des "cutoffs" utilisés au cours des dynamiques moléculaires NVT.^a Toutes les valeurs sont exprimées en Å.

La figure n°3 présente le résumé schématique de la stratégie employée au cours de cette étude.

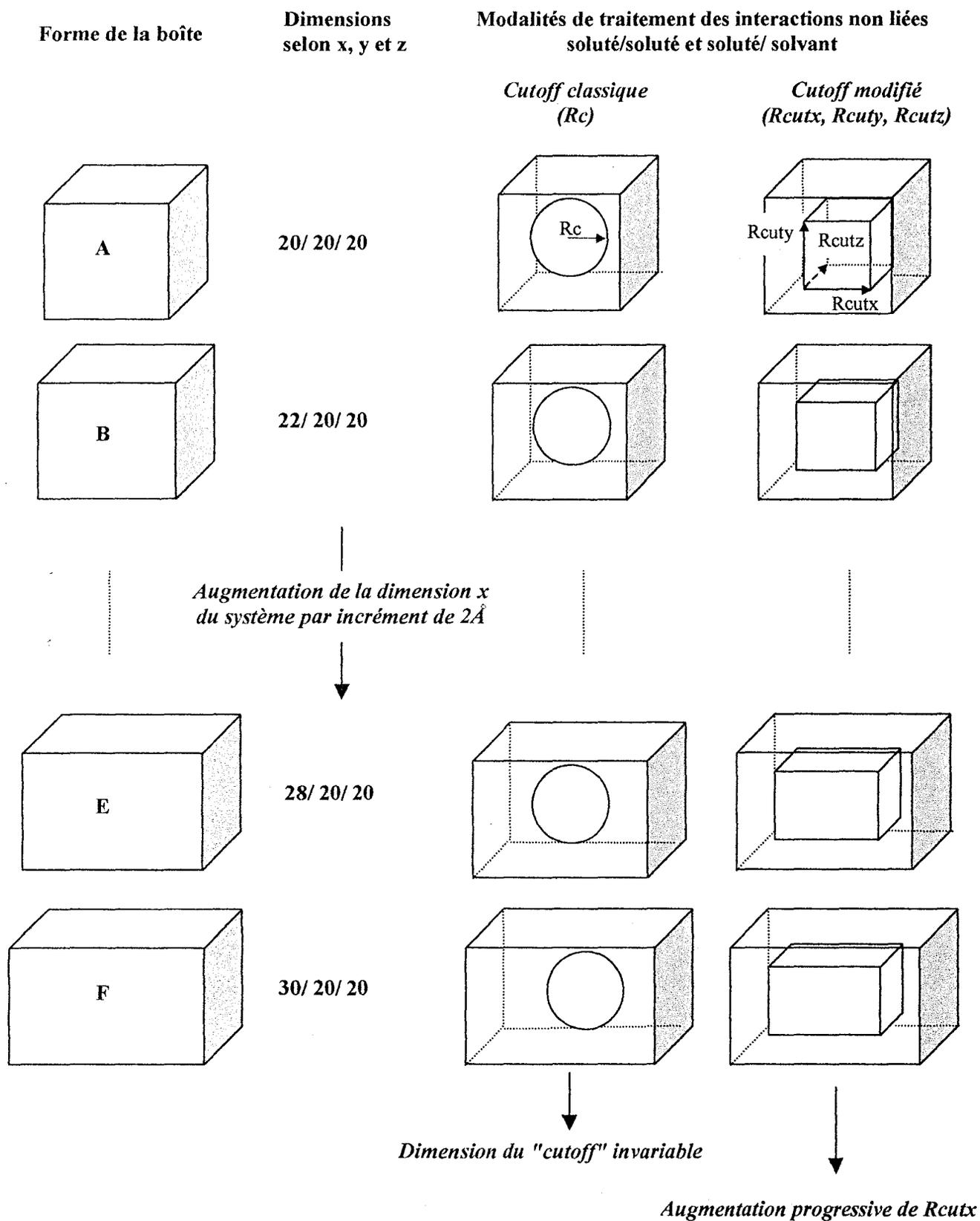


Figure n° 3: Stratégie d'étude de l'effet du mode de calcul des interactions non liées en fonction de la taille du système de simulation.

II.2. Analyse de la dynamique moléculaire.

L'objectif de cette étude est donc de juger de l'influence de la méthode de calcul des interactions non liées sur la structure du solvant autour d'un groupe chargé et dans ce cas précis d'un ion. Dans un premier afin d'obtenir des informations sur la disposition spatiale des molécules d'eau autour de l'ion sodium, les fonctions de distribution radiale de l'eau ont été étudiées à partir des résultats de dynamique moléculaire. Ces fonctions ont été calculées à partir de l'équation suivante:

$$g(r) = \frac{N(r)}{4\pi r^2 \rho \delta r} \quad (3.1)$$

où, $N(r)$ est le nombre d'atomes d'oxygène de l'eau situés dans une "coquille" sphérique distante de r de l'atome de référence, à savoir, l'ion central et d'épaisseur δr ; ρ est la densité, soit le rapport entre le nombre d'atome compris dans cette sphère et le volume de la boîte de simulation. Le tracé de ces courbes nous ont alors permis de définir les diverses caractéristiques de la première couche de solvation. De même, le nombre de coordinats a pu être déterminé par intégration, ceci pour chacune des simulations de dynamique moléculaire.

La seconde partie de l'exploitation des résultats de dynamique moléculaire a consisté en l'étude de l'orientation des molécules d'eau dans la proximité de l'ion. Pour cela, nous avons choisi d'étudier la distribution angulaire des dipôles de l'eau de la première couche de solvation. Nous avons ainsi défini l'angle θ tel que:

$$\theta(r) = \langle \arccos(\cos \theta(r)) \rangle = \left\langle \arccos \left(\frac{\vec{r} \cdot \vec{\mu}}{|\vec{r}| \cdot |\vec{\mu}|} \right) \right\rangle \quad (3.2)$$

où \vec{r} est le vecteur reliant l'ion sodium à l'oxygène de la molécule d'eau et $\vec{\mu}$ le vecteur dipôle électrique de cette même molécule d'eau. La figure n°4 décrit de manière schématique l'angle θ formé par les deux vecteurs \vec{r} et $\vec{\mu}$. Un angle de 0° traduit donc le fait que le dipôle s'oriente dans la même direction que le vecteur \vec{r} , c'est-à-dire à l'opposé de

l'ion, tandis qu'un angle de 180° traduit que le dipôle s'oriente cette fois en direction de l'ion Na^+ .

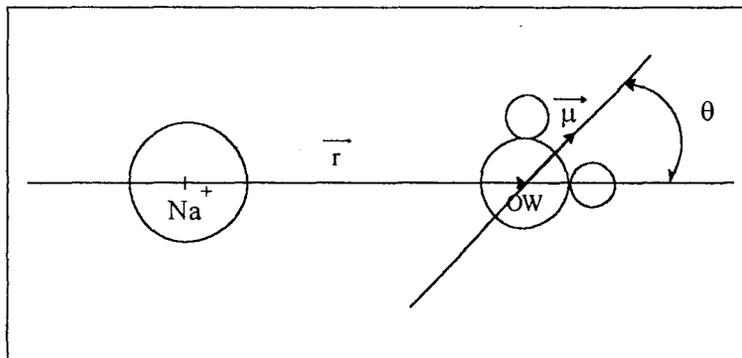


Figure n°4. Description schématique des vecteurs \vec{r} et $\vec{\mu}$ et de l'angle θ définissant l'orientation des molécules d'eau des couches de solvation.

III. Etude structurale de l'environnement aqueux.

L'analyse de l'impact du mode de calcul des interactions non liées sur la structure de l'environnement aqueux se décompose en deux parties: tout d'abord, la position spatiale des molécules d'eau dans l'environnement de l'ion, puis leur orientation.

III.1. Distribution spatiale des molécules d'eau.

La figure n°5 présente et compare les différentes fonctions de distributions radiales obtenues à partir des résultats des différentes dynamiques moléculaires. Dans un premier temps, on constate que les courbes conservent le même profil quelle que soit la stratégie de calcul des interactions non liées et la taille de la boîte de simulation (les modèles A,B,C,D,E et F du tableau n°1).

Chacune des courbes de distribution radiale présente un premier pic fin et de forte intensité traduisant un haut ordonnancement de la première couche de solvation. Pour chacun des systèmes étudiés, ce maximum apparaît vers 2,35 Å. Cette valeur est en très bon accord avec les valeurs expérimentales issues des travaux par rayons X de Neilson et al [15] ainsi que de Ryss et al [16]. Ces auteurs ont obtenu respectivement des distances Na⁺-OW de 2,38 Å et 2,4 Å pour la première couche de solvation.

Les nombres de coordinats calculés dans la première couche de solvation sont donnés dans le tableau n°4. Ces valeurs oscillent entre 6,2 et 7,3 ce qui est en parfait accord avec la valeur expérimentale de 6,8 définie par Giese et al [17] lors d'une étude de l'ion Na⁺ en solution aqueuse. Plusieurs études par dynamique moléculaire ainsi que des études par la méthode de Monte-Carlo ont obtenu une valeur inférieure, soit l'équivalent de six molécules d'eau formant la première couche de solvation de l'ion [8-12]. Cette première couche de solvation a été décrite comme un arrangement octaédrique dans lequel les dipôles de l'eau sont alignés le long de la direction de l'axe Na⁺-OW (figure n°6).

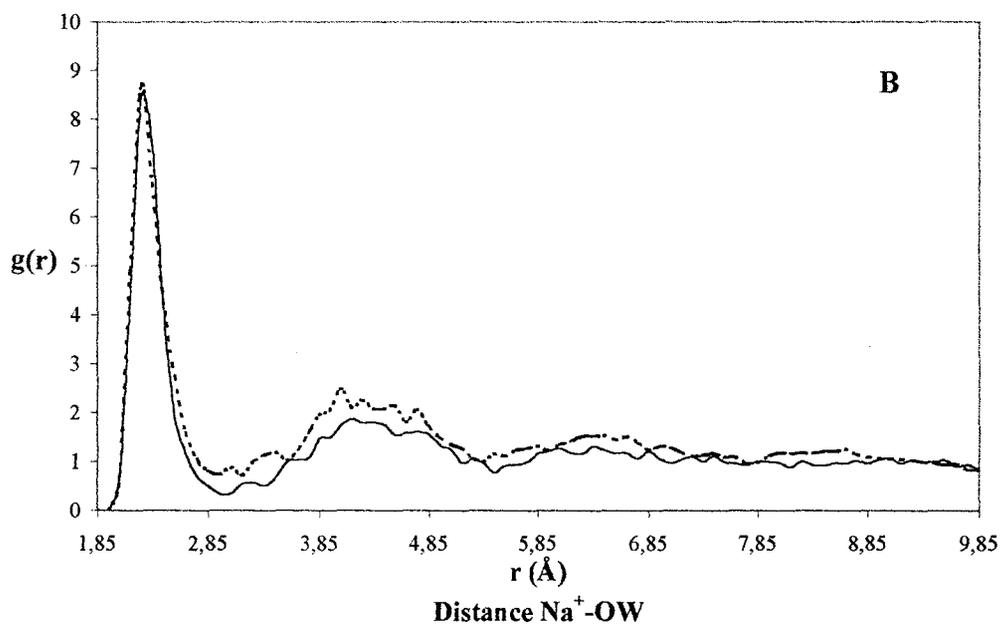
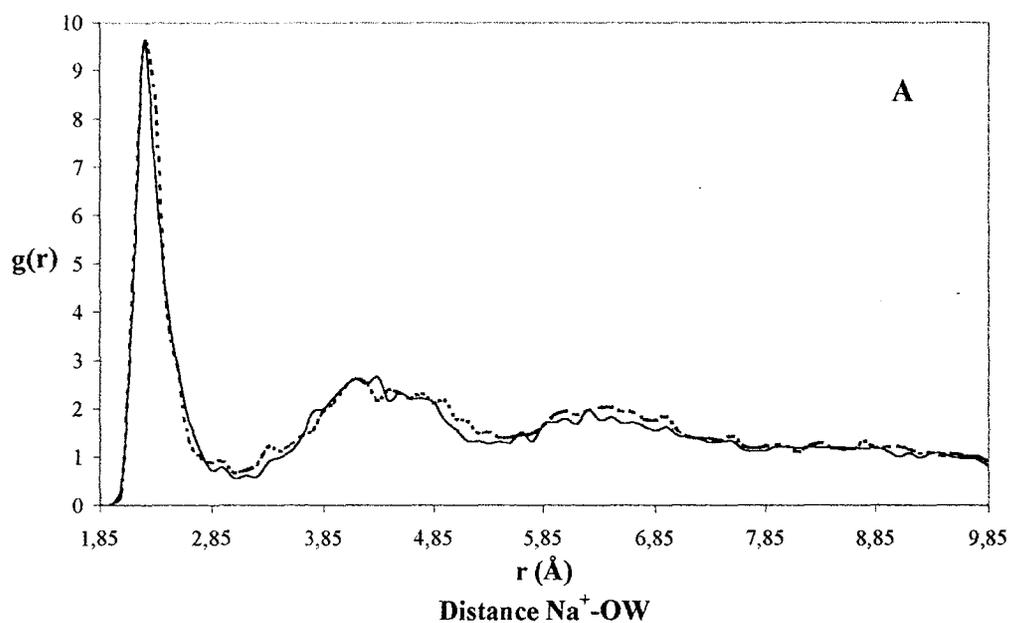


Figure n°5: Fonctions de distribution radiale de l'eau autour de l'ion Na^+ calculées à partir des simulations de dynamique moléculaire A et B faisant référence aux simulations citées dans le tableau n°3. Les courbes pleines et pointillées correspondent respectivement aux résultats obtenus par la méthode classique (R_c) et la méthode modifiée (R_{CUT_x} , R_{CUT_y} , R_{CUT_z})

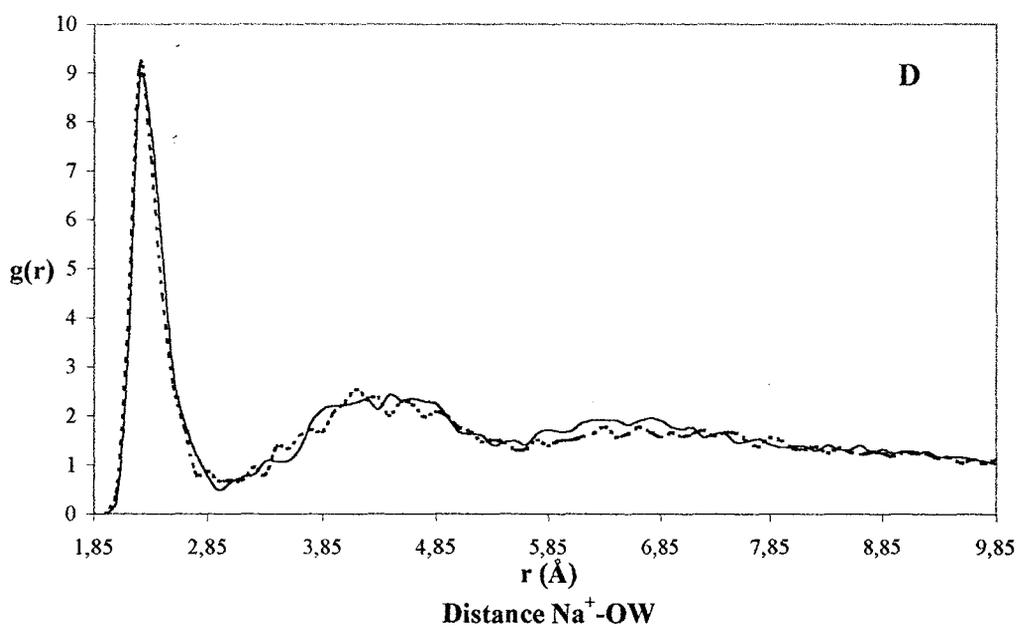
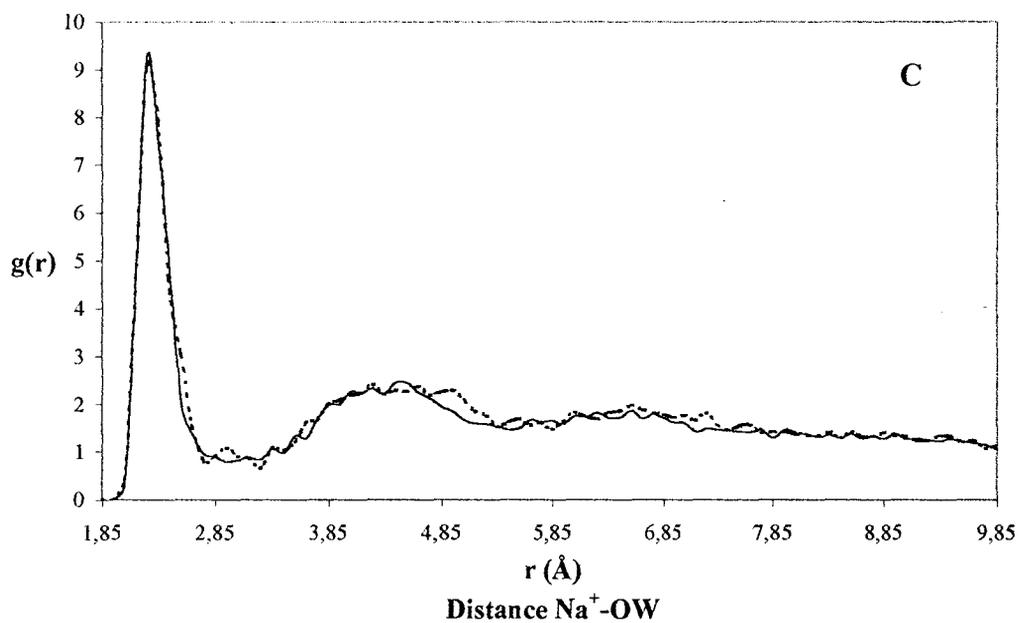


Figure n°5 (suite): Fonctions de distribution radiale de l'eau autour de l'ion Na^+ calculées à partir des simulations de dynamique moléculaire C et D faisant référence aux simulations citées dans le tableau n°3. Les courbes pleines et pointillées correspondent respectivement aux résultats obtenus par la méthode classique (R_c) et la méthode modifiée (R_{CUT_x} , R_{CUT_y} , R_{CUT_z})

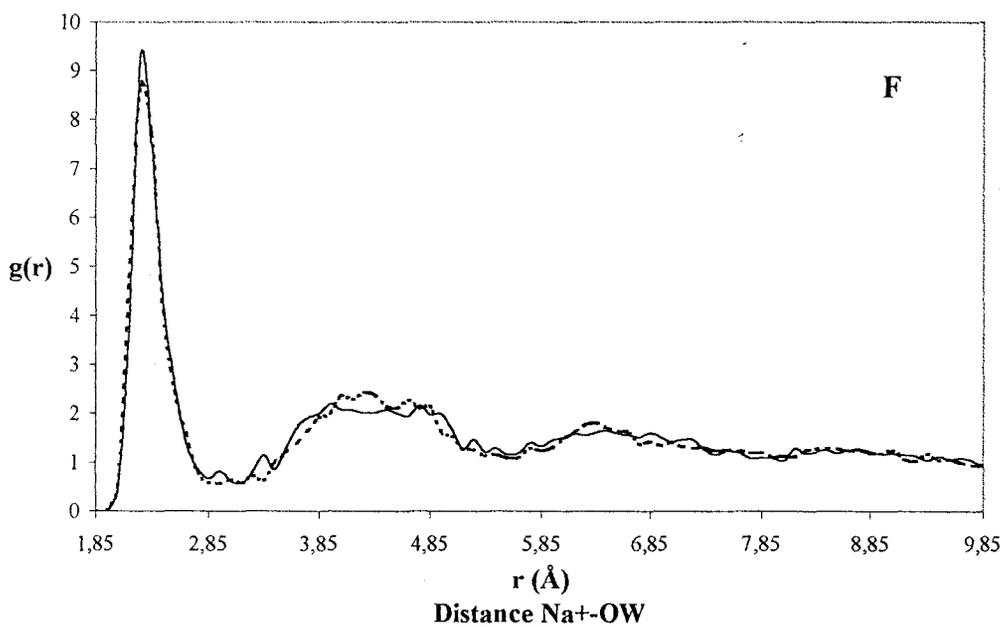
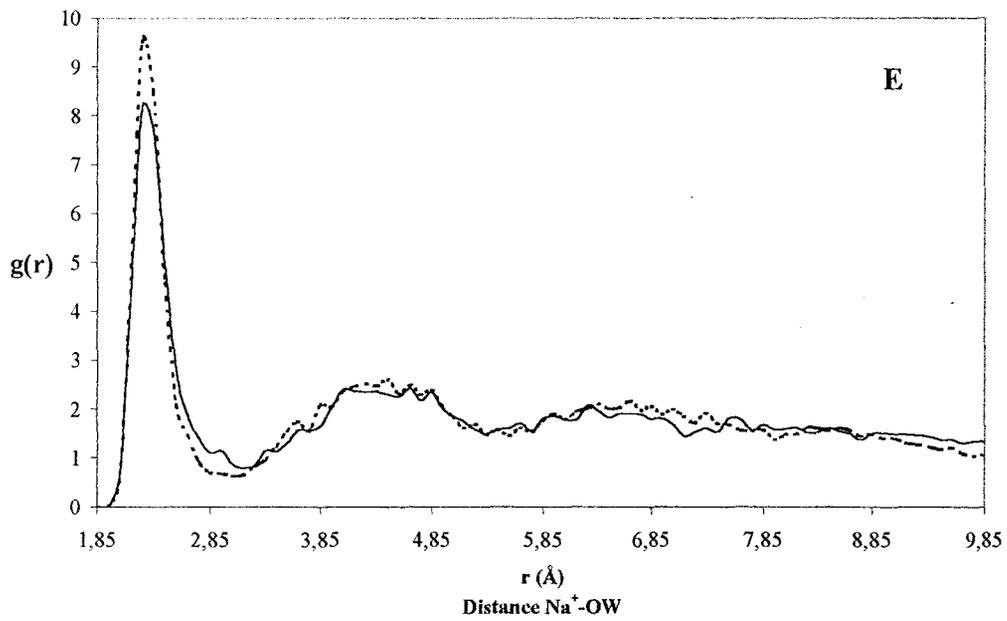


Figure n°5 (suite): Fonctions de distribution radiale de l'eau autour de l'ion Na^+ calculées à partir des simulations de dynamique moléculaire E et F faisant référence aux simulations citées dans le tableau n°3. Les courbes pleines et pointillées correspondent respectivement aux résultats obtenus par la méthode classique (R_c) et la méthode modifiée (R_{CUTx} , R_{CUTy} , R_{CUTz}).

Système simulé	Méthode classique		Méthode modifiée	
	1 ^{ère} couche	2 ^{sd} couche	1 ^{ère} couche	2 ^{sd} couche
A	6.8	28.2	7.0	31.9
B	6.2	21.8	6.6	25.8
C	7.0	31.0	6.7	40.9
D	7.2	30.0	6.4	33.2
E	6.5	30.8	7.3	30.3
F	6.6	31.0	6.7	30.3

Tableau n°4: Nombres de coordinats calculés pour les premières et secondes couches de solvation.

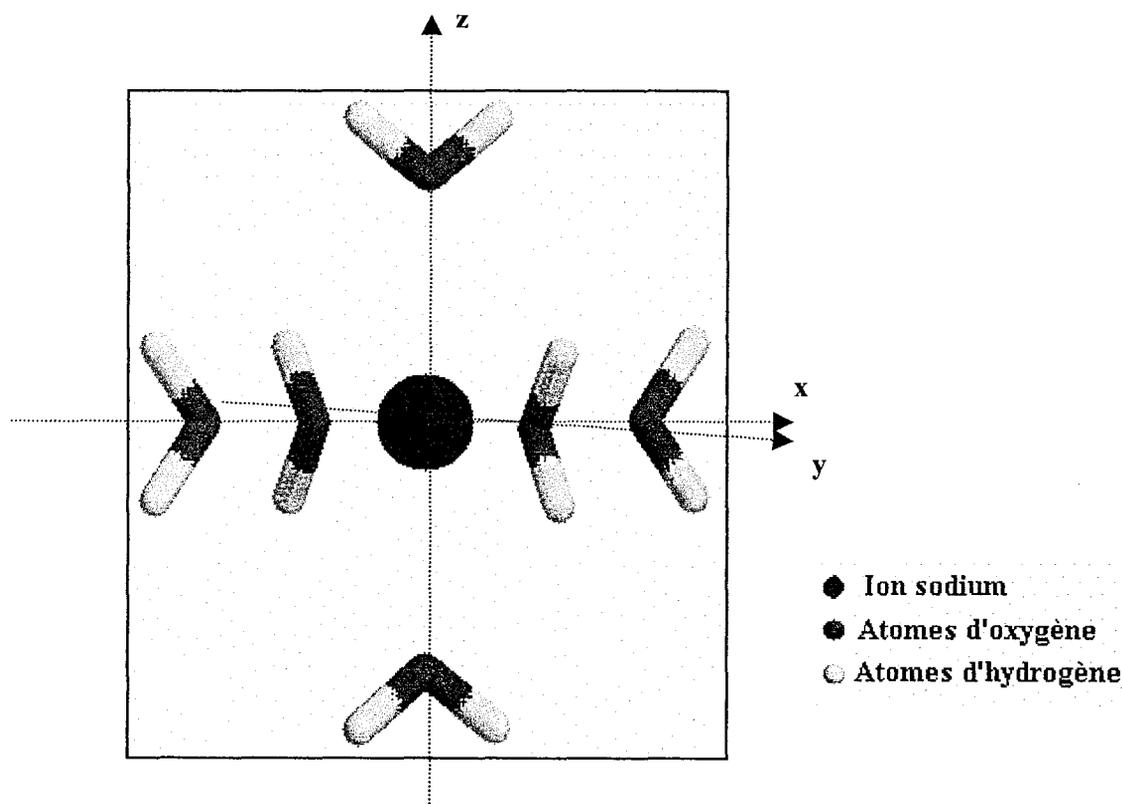


Figure n°6: Représentation d'un arrangement octaédrique parfait de six molécules d'eau autour de l'ion Na^+ central.

La figure n°7 présente deux configurations aléatoires obtenues par les deux méthodes de calcul. Afin de permettre un comparaison directe de nos résultats avec d'autres résultats de simulation, le modèle cubique A de dimensions 20/20/20Å a été choisi. Pour plus de clarté, seule la première couche de solvation a été représentée sur ces figures. On voit donc les sept molécules d'eau entourant l'ion Na⁺. L'observation de ces figures indique que six d'entre elles se placent à proximité de l'ion et lui sont distantes de 2,0 à 2,5Å. La septième molécule est un plus éloignée et se positionne à la limite de la première et la seconde couche de solvation. L'arrangement octaédrique décrit par les auteurs semble disparaître afin de permettre à la septième molécule d'eau de prendre place dans la première couche de solvation. Nous sommes donc en présence d'un processus dynamique consistant en l'échange d'une molécule d'eau entre les deux couches de solvation. La présence d'un minimum non nul entre la première et la seconde couche de solvation sur l'ensemble des courbes de distribution radiale confirme cet échange (figure n°5). De plus, il est important de garder à l'esprit que la structure d'une couche de solvation ne résulte pas d'un arrangement statique de molécules d'eau mais bien d'un processus dynamique. Les molécules d'eau sont en perpétuel mouvement résultant d'une compétition entre l'action du champ de l'ion et les forces du solvant.



Le second maximum des courbes de distribution radiale apparaissent entre 4,35Å et 4,5Å selon les six modèles de boîte de solvation. Ces pics présentent une distribution relativement large et beaucoup moins haute que celle de la première couche de solvation. Par l'intégration des courbes, nous avons déterminé les différentes valeurs des nombres de coordinats. Ces valeurs s'étendent de 22 à 41 avec une moyenne autour de 30 (tableau n°4).

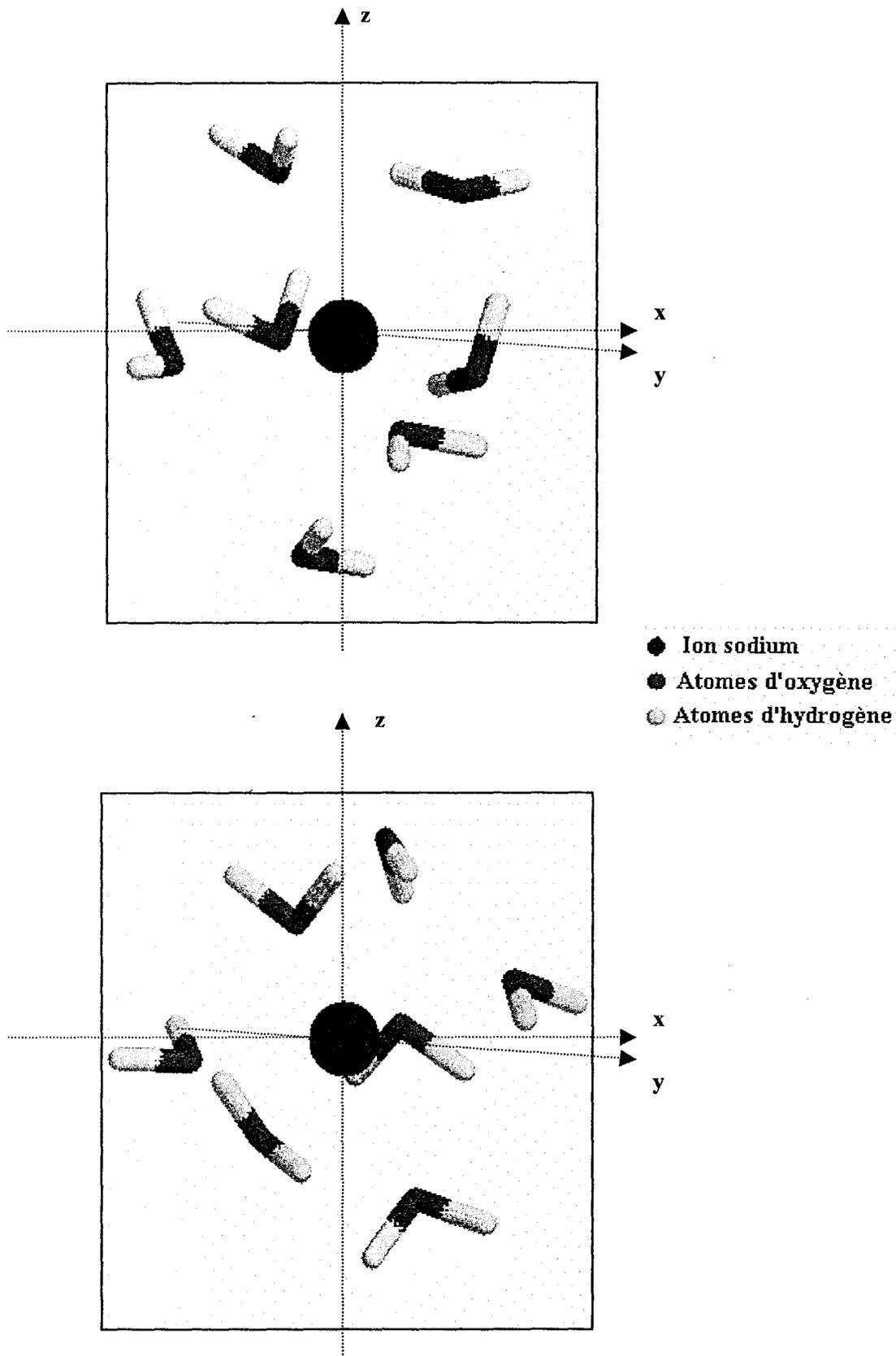


Figure n°7: Organisation de la première couche de solvation autour de l'ion Na^+ . Configurations résultantes des simulations de dynamique moléculaire pour une boîte de dimensions 20/20/20 utilisant un "cutoff" classique R_c (haut) et notre méthode (bas).

A notre connaissance, il n'existe pas de résultats expérimentaux nous permettant d'établir une étude comparative avec nos résultats. De même, les travaux portant sur la simulation par dynamique moléculaire de la solvation d'ions se limitent à l'étude de la première couche de solvation. Les seuls résultats théoriques que nous ayons trouvés sont ceux issus des travaux de Chandrasekhar et al [11] utilisant la méthode de Monte-Carlo. Ils donnent un nombre de coordinats compris entre 21 et 25. La différence observée avec nos résultats est probablement due au fait que ces auteurs ont utilisés une boîte de simulation de plus petite taille composée de seulement 125 molécules d'eau contre au minimum 229 molécules dans notre cas.

En résumé, aucune différence significative n'apparaît dans le profil des fonctions de distribution radiale issues des deux stratégies. Pour chacun des modèles de solvation, et particulièrement dans le cas de la première couche de solvation, la structure des molécules d'eau est fortement influencée par le champ de l'ion. Ce phénomène est beaucoup moins prononcé dans le cas de la seconde couche de solvation. Notre nouvelle stratégie de calcul des interactions non liées combinant plusieurs types de "cutoff" a révélé son efficacité à reproduire correctement l'arrangement spatial des molécules d'eau dans la proximité de l'ion sans introduire d'artéfact.

III.2. Orientation des dipôles des molécules d'eau.

La seconde partie de l'étude des effets du mode de calcul des interactions non liées sur l'environnement aqueux porte sur non plus la position spatiale des molécules d'eau mais, cette fois, sur leur orientation.

III.2.1. Profils de distribution angulaire.

Dans le but d'obtenir de plus amples informations sur l'influence de notre stratégie sur le réarrangement structural de la première couche de solvation, les orientations des dipôles de l'eau ont été calculées à partir de la formule (3.2).

Par ailleurs, afin d'évaluer quantitativement l'orientation de ces dipôles durant les simulations de dynamique moléculaire, les probabilités de distribution angulaire déduites de ces calculs d'orientation ont été déterminées.

Ces calculs sont relatifs aux molécules de la première couche de solvation. Afin de les distinguer entre elles, une classification particulière a été adoptée. Nous avons supposé l'existence de deux types de molécules d'eau selon leur plus ou moins grande proximité de l'ion central. Nous avons donc décidé de traiter séparément les molécules d'eau localisées avant et après le premier maximum de la distribution radiale. Cette séparation est illustrée par le schéma de la figure n°8 où l'on distingue les deux aires correspondant respectivement à ce que l'on appellera par la suite la "première partie" et la "seconde partie".

Les probabilités des distributions résultant de ces calculs sont présentées sur les figures n°9. On remarque tout d'abord leur relative étendue. Par comparaison de ces courbes entre elles, il apparaît que le mode de traitement des interactions n'influe pas sur l'étendue de ces distributions des angles comprises entre 0-110° pour la première partie et 0-145° pour la seconde. Il en est de même pour les dimensions de la boîte de simulation. Comme on pouvait s'y attendre, en termes de valeur moyenne, les molécules d'eau de la première partie

présentent une probabilité de distribution plus restreinte que les molécules de la seconde partie. Nous pouvons donc conclure qu'en fonction de la distance $\text{Na}^+ \text{-OW}$, chaque molécule d'eau n'est pas équivalente face aux interactions non liées.

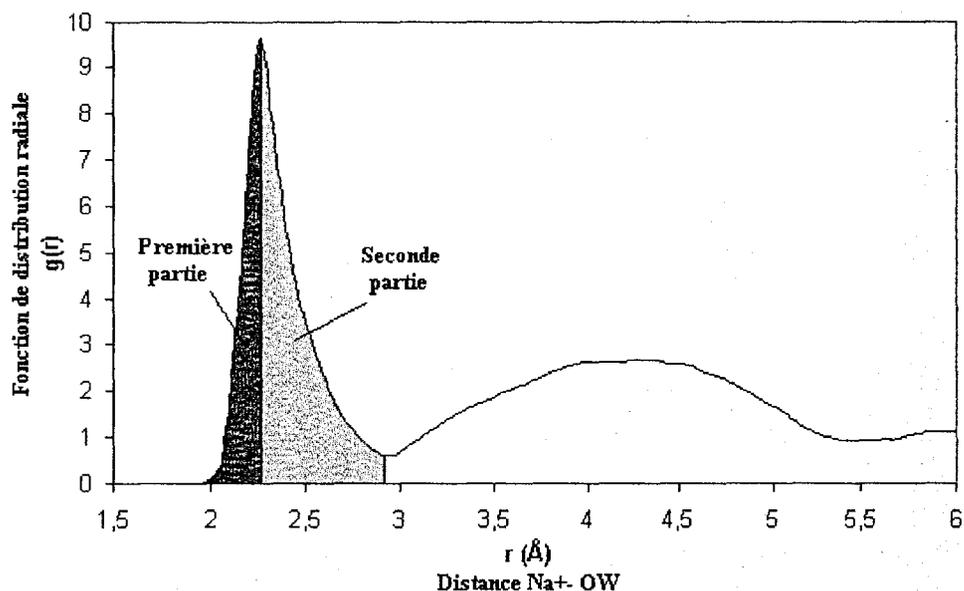


Figure n°8: Schéma illustrant la classification choisie pour l'étude des molécules d'eau de la première couche de solvation. Les aires comprises entre 0 et 2,3 et 2,3 et le premier minimum correspondent aux deux sortes de molécules d'eau respectivement appelées "première partie" et "deuxième partie".

D'autre part, si l'on compare ces résultats avec ceux obtenus par Degrève et al [12] qui, eux, ont simulé la première couche de solvation de l'ion Na^+ par les méthodes de Monte-Carlo, on note une similarité dans les profils. Cependant, une différence apparaît dans la prédiction de la valeur de l'angle le plus probable. En effet, leurs travaux indiquent que l'arrangement structural correspondant à un angle de 0° entre l'axe $\text{Na}^+ \text{-OW}$ et le dipôle des molécules d'eau est statistiquement majoritaire. Cette orientation fait aussi partie des arrangements possibles que nous avons calculé mais n'est pas la plus probable.

Enfin, l'arrangement des sept molécules d'eau de la première couche de solvation dont il a été précédemment discuté peut désormais être argumenté. Par la proximité de la septième molécule, l'orientation des dipôles des six molécules d'eau est perturbée et dévie de

la valeur zéro. Leur non alignement avec les axes Na^+ -OW permet alors l'échange d'une molécule d'eau entre les deux couches de solvation. C'est une conséquence du processus dynamique opérant durant la simulation de dynamique moléculaire.

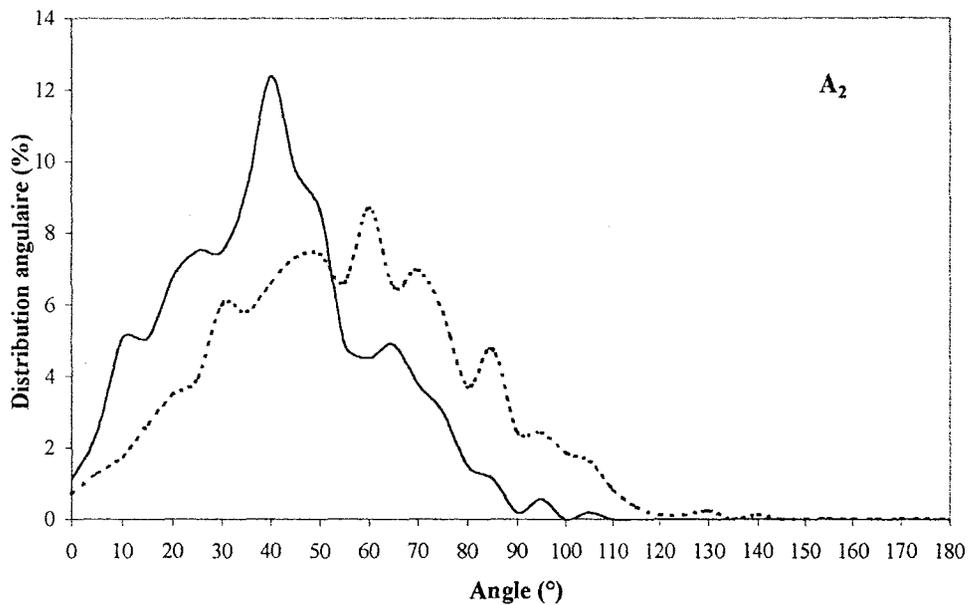
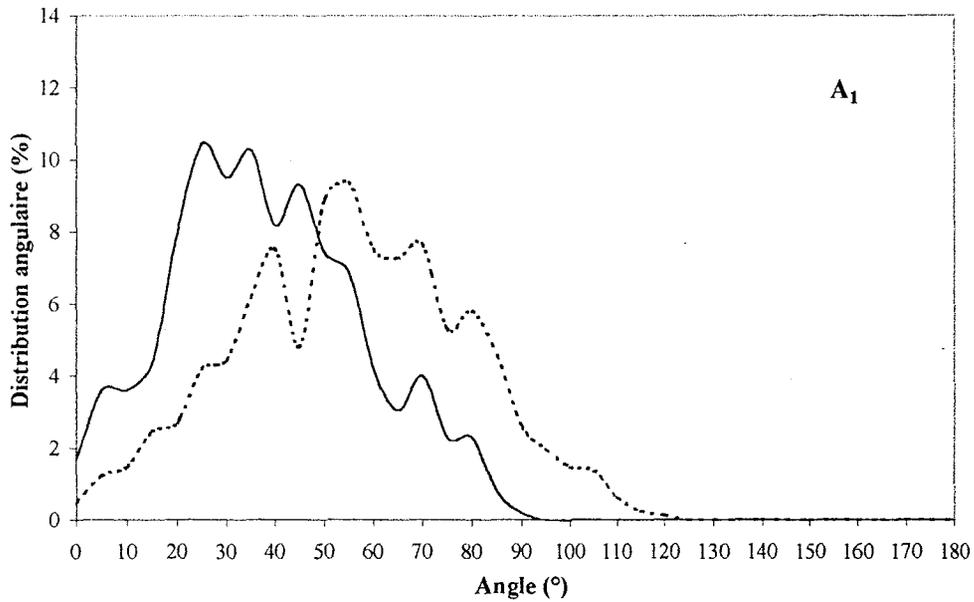


Figure n°9: Orientation des molécules d'eau de la première couche de solvatation: **modèle cubique A** de dimensions 20/20/20. Les indices 1 et 2 correspondent respectivement aux résultats obtenus par les méthodes de calcul classique (R_c) (A_1 , haut) et modifié (R_{CUTx} , R_{CUTy} ; R_{CUTz}) (A_2 , bas). Les courbes pleines et pointillées représentent l'orientation des molécules d'eau de la première et de la seconde partie.

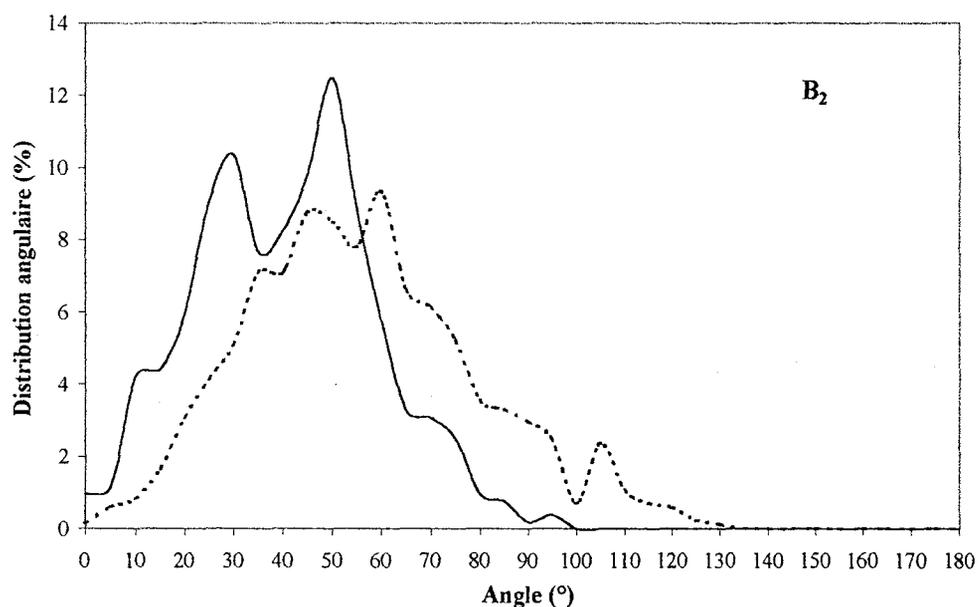
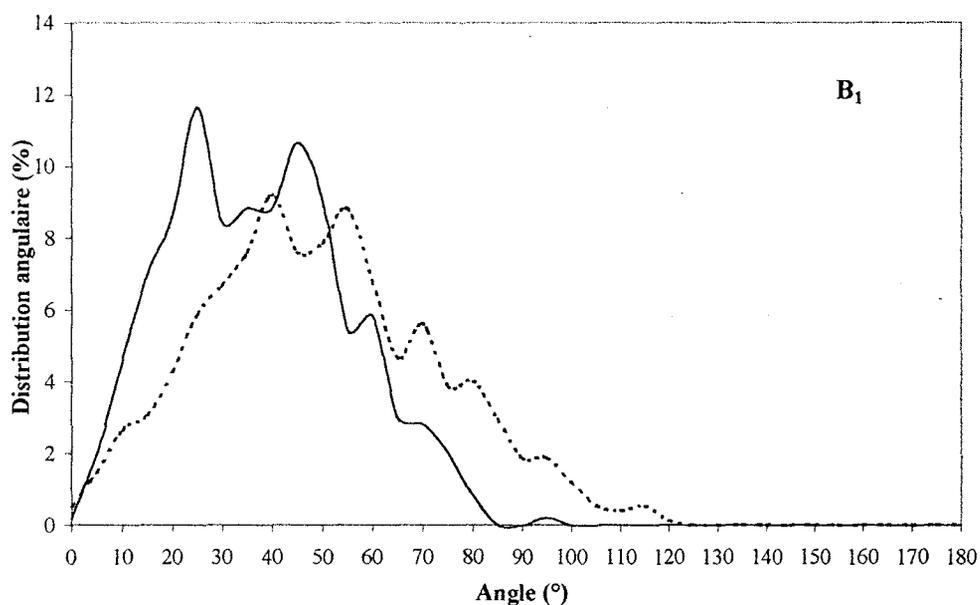


Figure n°9 (suite): Orientation des molécules d'eau de la première couche de solvation: **modèle rectangulaire B** de dimensions 22/20/20. Les indices 1 et 2 correspondent respectivement aux résultats obtenus par les méthodes de calcul classique (R_c) (B_1 , haut) et modifié ($R_{cut,x}$, $R_{cut,y}$; $R_{cut,z}$) (B_2 , bas). Les courbes pleines et pointillées représentent l'orientation des molécules d'eau de la première et de la seconde partie.

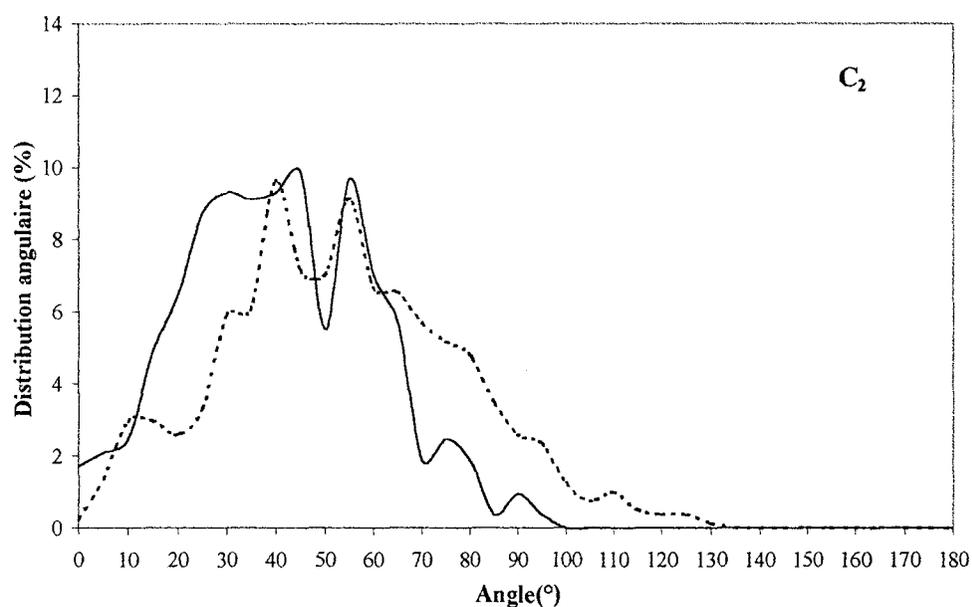
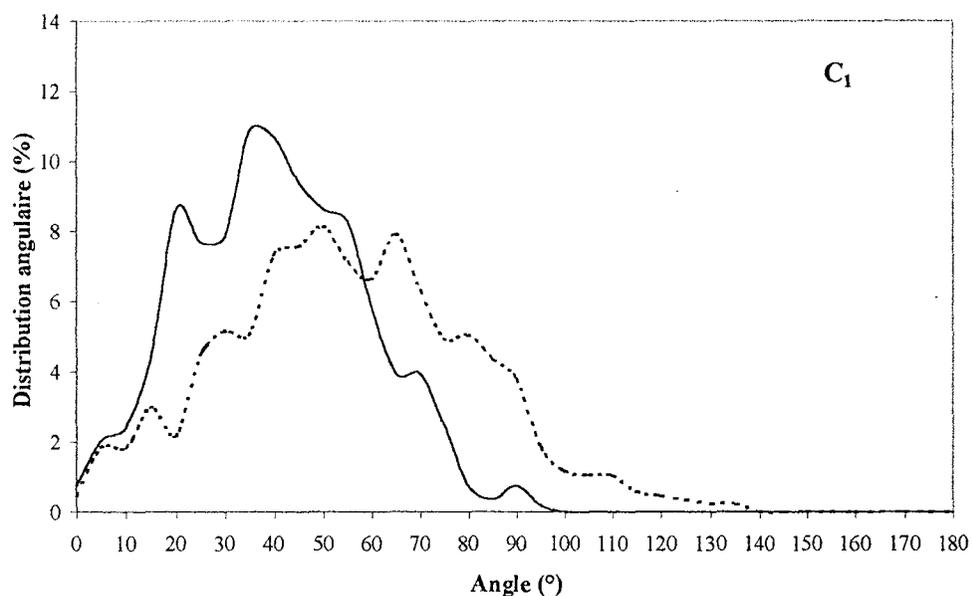


Figure n°9 (suite): Orientation des molécules d'eau de la première couche de solvation: **modèle rectangulaire C** de dimensions 24/20/20. Les indices 1 et 2 correspondent respectivement aux résultats obtenus par les méthodes de calcul classique (R_c) (C_1 , haut) et modifié (R_{CUTx} , R_{CUTy} , R_{CUTz}) (C_2 , bas). Les courbes pleines et pointillées représentent l'orientation des molécules d'eau de la première et de la seconde partie.

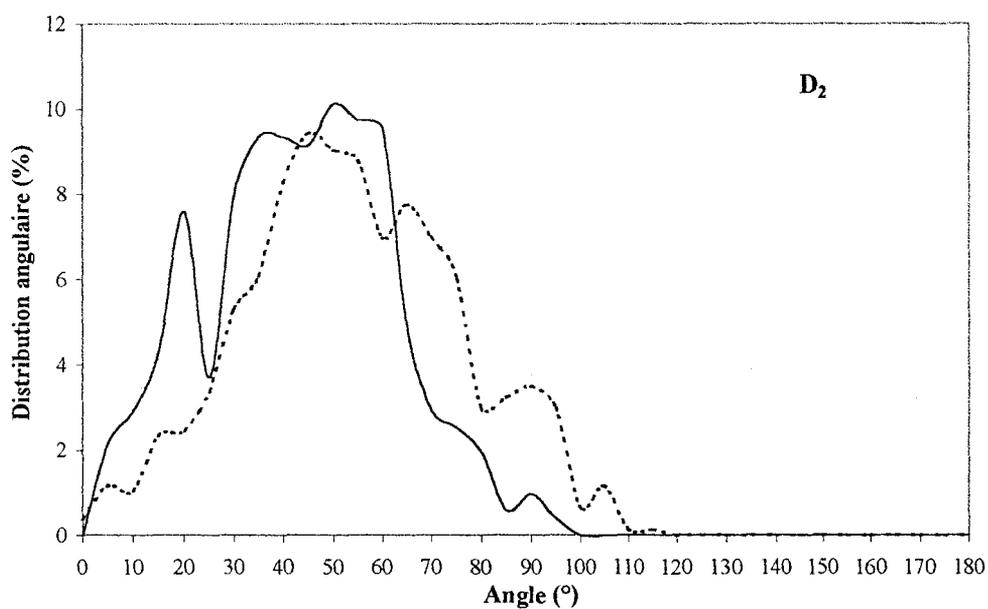
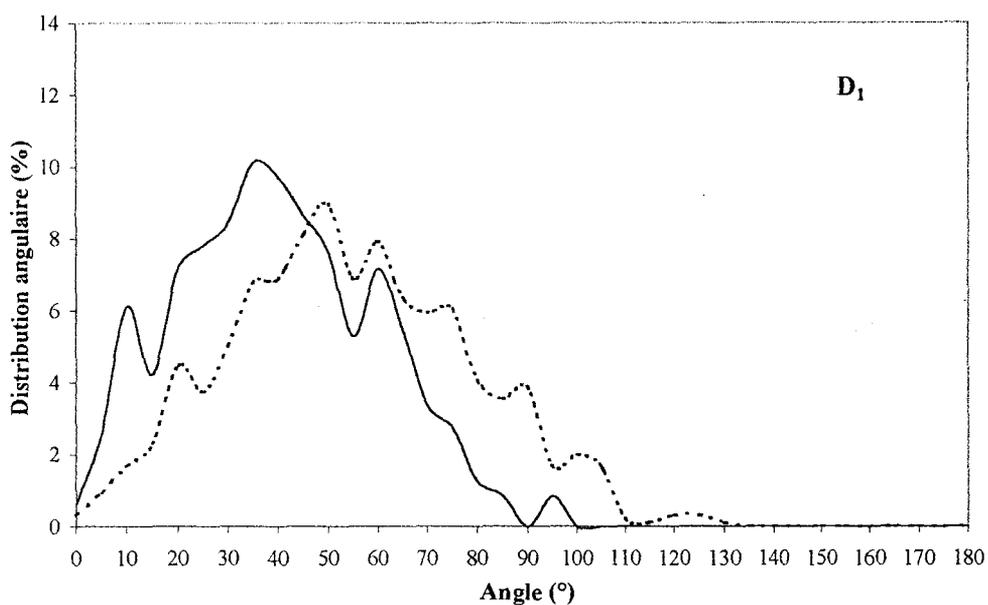


Figure n°9 (suite): Orientation des molécules d'eau de la première couche de solvation: **modèle rectangulaire D** de dimensions 26/20/20. Les indices 1 et 2 correspondent respectivement aux résultats obtenus par les méthodes de calcul classique (R_c) (D_1 , haut) et modifié (R_{CUTx} ; R_{CUTy} ; R_{CUTz}) (D_2 , bas). Les courbes pleines et pointillées représentent l'orientation des molécules d'eau de la première et de la seconde partie.

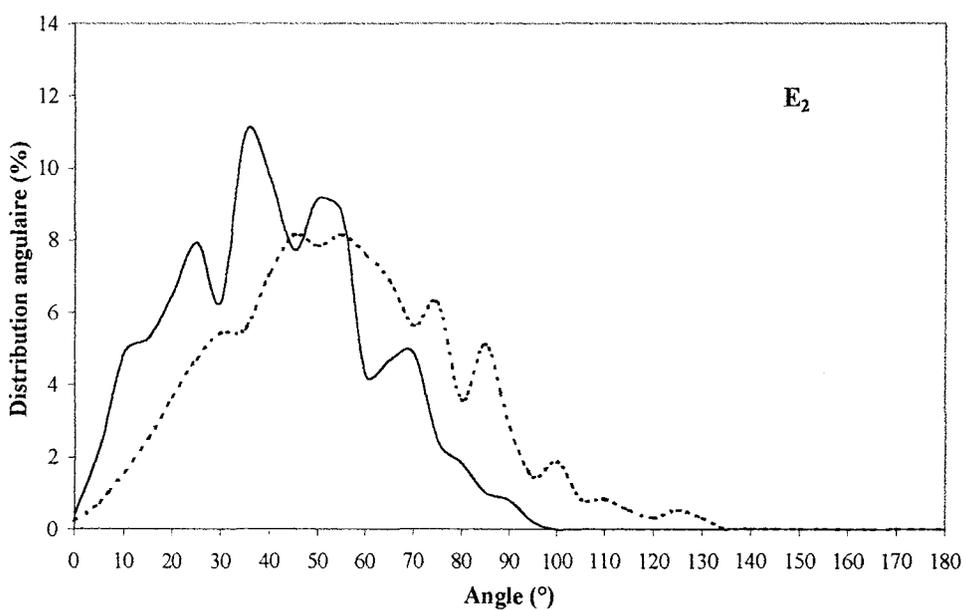
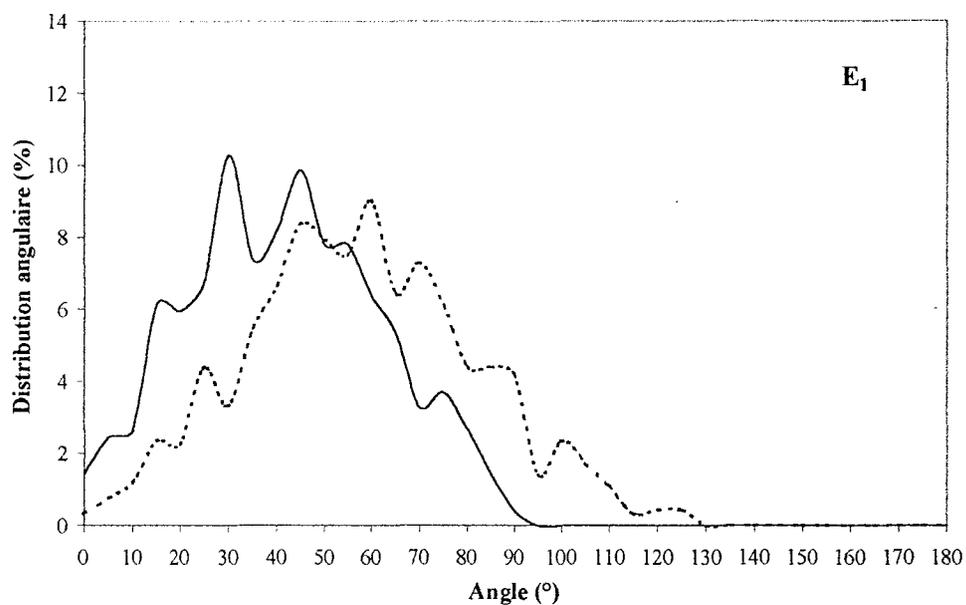


Figure n°9 (suite): Orientation des molécules d'eau de la première couche de solvation: **modèle rectangulaire E** de dimensions 28/20/20. Les indices 1 et 2 correspondent respectivement aux résultats obtenus par les méthodes de calcul classique (R_c) (E_1 , haut) et modifié (R_{CUTx} , R_{CUTy} , R_{CUTz}) (E_2 , bas). Les courbes pleines et pointillées représentent l'orientation des molécules d'eau de la première et de la seconde partie.

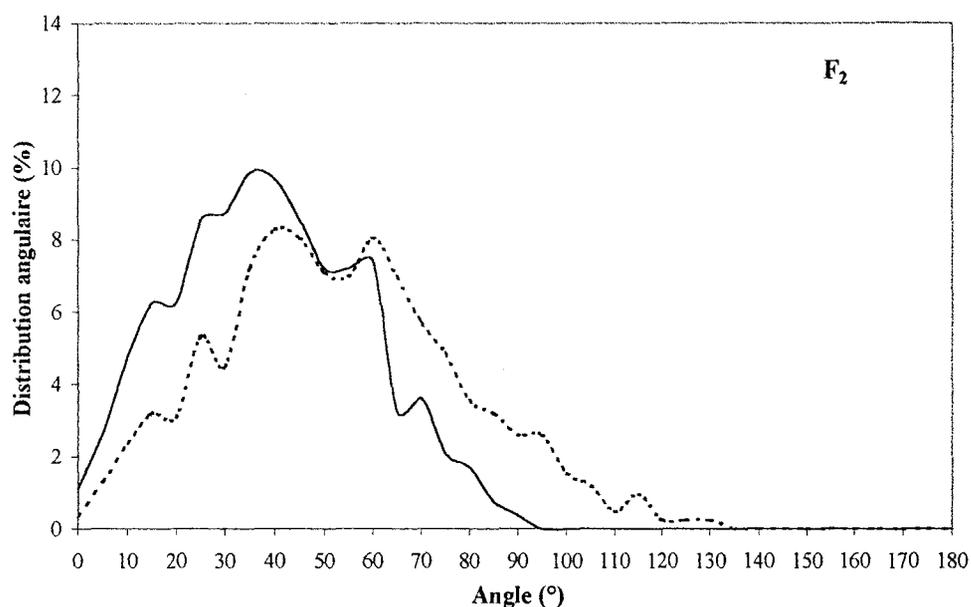
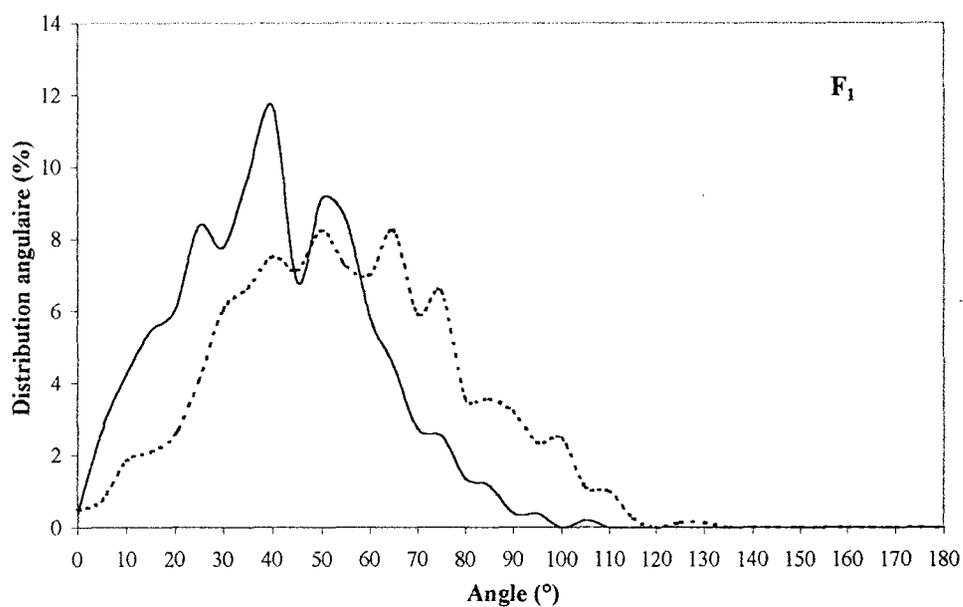


Figure n°9 (suite): Orientation des molécules d'eau de la première couche de solvation: **modèle rectangulaire F** de dimensions 30/20/20. Les indices 1 et 2 correspondent respectivement aux résultats obtenus par les méthodes de calcul classique (R_c) (F₁, haut) et modifié (R_{CUTx}, R_{CUTy}, R_{CUTz}) (F₂, bas). Les courbes pleines et pointillées représentent l'orientation des molécules d'eau de la première et de la seconde partie.

III.2.2. Influence du mode de calcul des interactions non liées.

L'objectif de cette partie est de montrer que les modifications apportées aux méthodes de calcul fondées sur le principe des potentiels tronqués sont nécessaires afin d'assurer la validité de la dynamique moléculaire appliquée à une boîte de simulation non cubique.

Le modèle pris comme référence est celui correspondant à la simulation d'un système cubique utilisant la méthode du "cutoff" sphérique classique, soit, dans notre cas, le modèle A de dimensions 20/20/20. C'est en effet le cas où le "cutoff" classique est le plus efficace.

En d'autres termes, nous voulons montrer que si notre stratégie de calcul est correcte, elle doit permettre de conserver un réarrangement structural des molécules d'eau similaire à la référence ceci malgré l'augmentation progressive de la taille de la boîte de simulation selon l'axe x. Dans notre cas, l'étude structurale porte plus précisément sur l'orientation des dipôles de l'eau par rapport à l'ion Na^+ . Cette caractéristique peut en effet présenter de sévères perturbations lorsque les interactions non liées eau/eau deviennent prédominantes. En résumé, si l'orientation la plus probable des dipôles de l'eau en utilisant notre méthode est proche de celle que l'on obtient en utilisant un simple "cutoff" sphérique pour le modèle A cubique, nous pouvons alors considérer que notre stratégie est satisfaisante et répond à ces exigences.

La situation contrastée entre les deux méthodes de calcul est mise en relief par les résultats présentés en figure n°10. Il apparaît nettement que lorsqu'un "cutoff" simple sphérique est utilisé, la répercussion de l'augmentation de la dimension x de la boîte sur le potentiel d'interactions non liées se traduit par une modification de l'arrangement structural de la première couche de solvation. Ce changement structural ne traduit pas un phénomène réel mais bien un artéfact de simulation. En d'autres termes, l'augmentation du nombre de molécules d'eau a affecté la prédiction de l'angle le plus probable en augmentant sa valeur. L'explication la plus vraisemblable de ce phénomène peut être donnée par le fait que, par suite

de l'augmentation en nombre des molécules d'eau, les interactions eau/eau deviennent plus importantes et prédominantes. Elles affectent alors le potentiel et les forces d'interactions non liées calculés lors de la dynamique moléculaire. Le rapport des interactions ion/eau, eau/eau influe donc sur l'énergie totale du système se traduisant par une perturbation structurale de la première couche de solvation.

Comme le montre la figure n°10, cet artefact de calcul disparaît dans le cas où notre stratégie est employée. Il semble que notre stratégie consistant en l'emploi de deux types de "cutoff" de manière simultanée permet d'éliminer l'artéfact de calcul des forces et des énergies associées à la coupure de potentiel. Ce phénomène est d'autant plus prononcé pour les molécules d'eau de la seconde partie. En effet, celles-ci sont plus exposées à la compétition entre interactions ion/eau et eau/eau que celles de la première partie. Notre stratégie de traitement des interactions non liées est donc capable de compenser ces compétitions même dans le cas d'un système de simulation non cubique. L'influence du champ de l'ion sur la première couche de solvation est conservée ce qui n'est pas le cas pour la méthode classique de "cutoff" sphérique.

L'utilisation d'un "cutoff" non adéquat engendre donc une déviation du potentiel par rapport au potentiel "réel" impliquant une perturbation des propriétés de solvation telle que l'orientation des dipôles des molécules d'eau de la première couche de solvation.

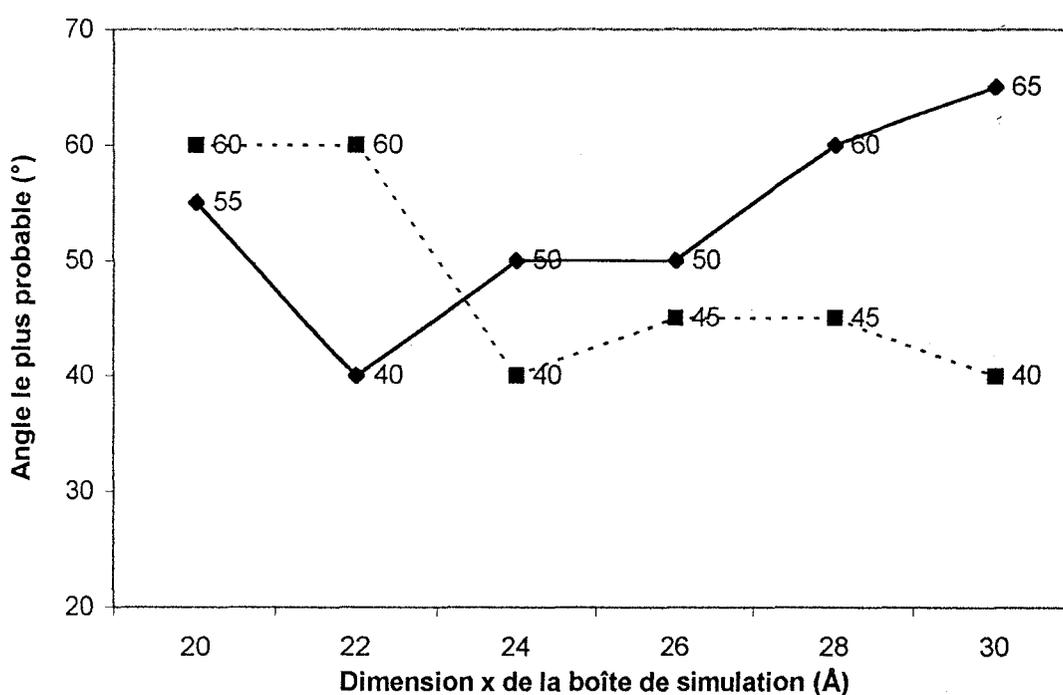
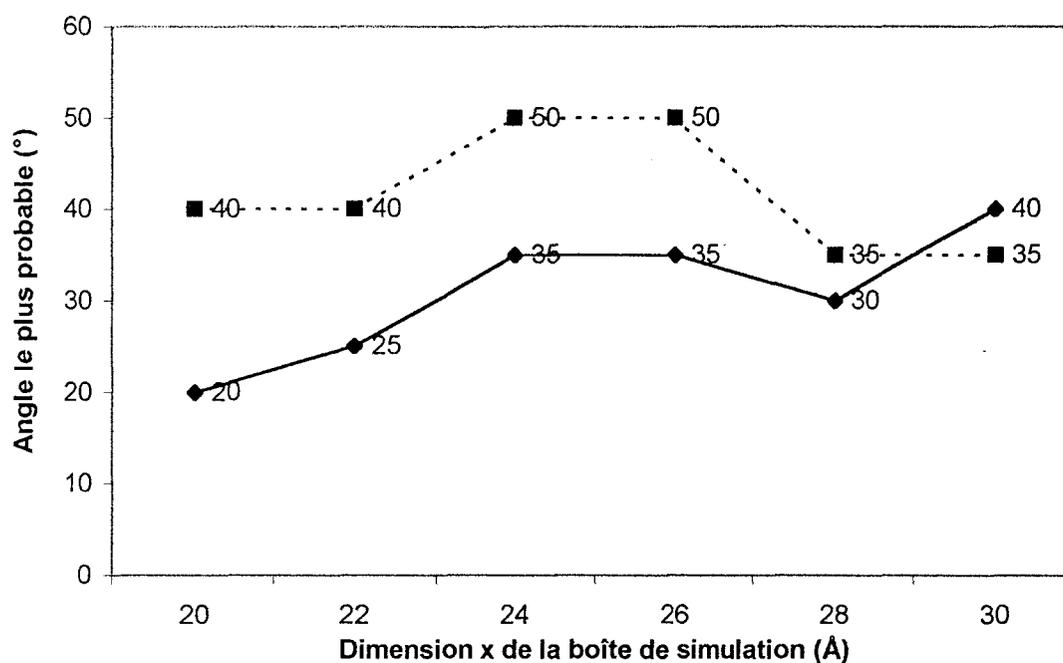


Figure n°10: Orientation la plus probable des molécules d'eau de la première couche de solvation en fonction de la longueur de la dimension x de la boîte de simulation. Les molécules de la première partie (haut) et de la deuxième partie (bas) ont été étudiées séparément. Les courbes pleines et pointillées correspondent respectivement aux résultats obtenus par la méthode classique (R_c) et modifié (R_{CUTx} , R_{CUTy} , R_{CUTz}) de calcul des interactions non liées.

Conclusion

En regard de nos résultats, il apparaît que le traitement classique des interactions non liées via un "cutoff" simple de type sphérique peut engendrer d'importants artéfacts lors de la simulation d'un système de forme non cubique. L'orientation des dipôles de l'eau de la première couche de solvation est notamment sujette à de sévères perturbations. Notre nouvelle stratégie a prouvé son efficacité et semble est mieux adaptée à la simulation par dynamique moléculaire de systèmes de solvation de forme rectangulaire.

L'organisation de la première couche de solvation possède une existence physique réelle. Les méthodes expérimentales telles que les méthodes de diffraction des rayons X sont capables de déterminer les critères de cette première couche de solvation à savoir la localisation du premier pic de solvation et de son maxima ainsi que du nombre de molécules d'eau de coordination. Pour l'ion Na^+ , ces valeurs sont de 2,38 et 2,4Å pour la position du premier maxima correspondant à 6,8 molécules d'eau. Afin de prouver sa crédibilité, une étude théorique par simulation doit donc reproduire au plus près ces diverses caractéristiques. L'ensemble des résultats que nous avons obtenus au travers de l'étude de la distribution radiale sont significatifs d'une répartition correcte des molécules d'eau autour de l'ion et valide donc notre modèle de calcul. Certains auteurs ont rapporté l'apparition d'un second pic nettement marqué [3]. Ce pic artificiel a été interprété comme un artéfact dû à l'emploi des méthodes basées sur le principe des potentiels tronqués. Pour notre part, nous n'avons observé aucune perturbation spécifique et ceci même pour des distances proches de celle de la valeur de coupure. Aucun pic artificiel n'a été produit. Le seul artefact à signaler est donné par l'évolution de la fonction $g(r)$ vers des valeurs légèrement inférieures à l'unité pour des distances supérieures à 10Å. Cet artéfact est commun et généralement attribué à l'utilisation des PBC et non au mode de traitement des interactions non liées [18].

Notre méthode ayant prouvé sa validité, il nous reste donc désormais à montrer son efficacité. Nous avons pu mettre en évidence au travers de cette étude que la structure des

molécules d'eau situées dans l'environnement proche de l'ion était sensible aux dimensions de la boîte de simulation. L'impact de la forme de la boîte s'est particulièrement révélée au niveau de l'orientation de ces molécules d'eau. En contraste avec la méthode classique du "cutoff" sphérique, notre nouvelle stratégie s'est montrée capable de compenser l'augmentation du nombre des interactions eau/eau impliquée par la transition entre une boîte de forme cubique vers une boîte de forme rectangulaire. L'influence du champ de l'ion dans son proche environnement a donc été conservé. La structure et l'orientation des molécules d'eau de la première couche de solvation ont conservé leurs caractéristiques. Les interactions ion/eau sont suffisantes en terme de nombre et d'intensité pour ne pas ou peu perturber l'orientation des dipôles des molécules d'eau.

Enfin, par sa capacité à prendre en compte la forme rectangulaire de la boîte de simulation sans pour autant introduire d'effets de distorsion, notre stratégie devrait désormais nous permettre de simuler des solutés de forme rectangulaire ou pseudo rectangulaire tout en les considérant comme un seul groupe ou "sous structure". Dans le contexte de la simulation de bicouche lipidique, ce point se révèle d'un intérêt tout particulier et forme l'étude présentée dans les deux chapitres qui vont suivre.

Bibliographie

1. J.E. Enderby and G.W. Neilson, *Rep. Prog. Phys.*, 44, 593 (1981).
2. R.W. Impey, P.A. Madden and I.R. McDonald, *J. Phys. Chem.*, 87, 5071 (1983).
3. C.L. Brooks III, *J. Chem. Phys.*, 86, 5156 (1987).
4. J.E. Roberts and J. Schnitker, *J. Phys. Chem.*, 99, 1322 (1995).
5. L. Perera, U. Essman and M.L. Berkovitz, *J. Chem. Phys.*, 102, 450 (1995).
6. P.H. Hünenberger and J.A. McCammon, *J. Chem. Phys.*, 110, 1856 (1999).
7. M. Mezei and D.L. Beveridge, *J. Chem. Phys.*, 74, 6902 (1981).
8. H.L. Nguyen and S.A. Adelman, *J. Chem. Phys.*, 81, 4564 (1984).
9. A. Warshell and G. King, *Chem. Phys. Lett.*, 121, 124 (1985).
10. D. Feakins, F.M. Canning, J.J. Mullally and W.E. Waghorne, *Pure & Appl. Chem.*, 61, 133 (1989).
11. J. Chandrasekhar and W.L. Jorgensen, *J. Chem. Phys.*, 77, 5080 (1989).
12. L. Degève and C. Quintale Jr, *Electrochimica Acta*, 38, 1405 (1993).
13. W.L. Jorgensen, J. Chandrasekhar and J.D. Madura, *J. Chem. Phys.*, 79, 926 (1983).
14. L. Verlet, *Phys. Rev.*, 159, 98 (1967).
15. G.W. Neilson and J.E. Enderby, *Annu. Rep. Prog. Chem. Sec. C*, 76, 185 (1979).
16. A.I. Ryss and I.V. Radchenko, *J. Struct. Chem.*, 5, 489 (1964).
17. K. Giese, U. Kaatze and R. Pottel, *J. Phys. Chem.*, 74, 3718 (1970).
18. A.R. Leach, in "Molecular Modelling. Principles and Applications", Ed Longman (1996).

CHAPITRE 5

Modélisation moléculaire du modèle de bicouche lipidique.

Introduction

Bien qu'il existe un nombre important de données expérimentales d'ordre moléculaire sur les assemblages phospholipidiques, il en existe peu au niveau atomique. Ceci est d'autant plus vrai pour la phase cristal liquide pour laquelle la cristallisation est délicate voire difficile. Cette limite entraîne indéniablement une imprécision lors de la construction d'un modèle de bicouche lipidique.

Afin de combler ce manque d'informations sur la phase cristal liquide, une forme de compromis est de règle. Il s'agit de prendre en considération les données expérimentales relatives aux phases cristalline et gel. Cet ensemble d'informations combiné aux données expérimentales moléculaires disponibles permet la construction d'un modèle de bicouche. L'aspect spéculatif de cette construction est évidemment tendancieux mais cependant incontournable.

Nous verrons au cours de ce chapitre quelles sont les données expérimentales disponibles relatives au 2,3-dimyristoyl-D-glycero-1-phosphorylcholine (DMPC). Nous énumérerons les différentes étapes de la construction de notre modèle de bicouche tout en justifiant nos divers choix stratégiques.

Une fois le modèle de bicouche construit, une stratégie de simulation est à envisager. La seconde partie de ce chapitre présente les conditions de simulation de ce modèle de bicouche. Nous verrons notamment quels sont les paramètres du champ de forces ayant été employés. Puis, les diverses étapes de simulation allant de la minimisation aux premiers pas de dynamique moléculaire seront décrites.

L'ensemble de cette étude est schématiquement décrite dans la figure n°1. Cet organigramme représente l'ensemble des données expérimentales nécessaires à la construction de la bicouche lipidique ainsi que la stratégie théorique de recherche de la stabilité de ce modèle.

I. Construction du modèle de bicouche lipidique.

Au cours de ce paragraphe, nous verrons quelles ont été les différentes étapes de construction de notre modèle de bicouche. Nous verrons également quels sont les données expérimentales et théoriques ayant orientés nos choix.

I.1. Limites des renseignements expérimentaux.

En tant que composé de bicouches monolipidiques, le 2,3-dimyristoyl-D-glycero-1-phosphorylcholine (DMPC) peut exister sous différentes phases. Sa structure (rayons X) en phase gel a été résolue en 1979 par Pearson et Pascher [1]. La maille de ce cristal comporte quatre molécules de DMPC. Ces quatre molécules présentent deux conformations différentes notées DMPC1 et DMPC2. On peut parler de molécules énantiomères du fait que leurs groupements phosphatidylcholines sont approximativement les images l'une de l'autre dans un miroir. Les molécules lipidiques sont disposées en bicouche avec l'une des deux conformations déplacée de telle manière à ce que les têtes polaires ne soient pas coplanaires. Les chaînes hydrocarbonées sont également rapprochées. L'ensemble de leurs torsions présente une conformation *trans* les rendant parallèles les unes aux autres. Ces chaînes présentent également une inclinaison par rapport à la normale à la bicouche, de l'ordre de 12° pour le DMPC [2]. Ce rapprochement étroit des chaînes aliphatiques dans le cristal implique que les groupes polaires adoptent une conformation spécifique et restent proches les uns des autres. Cette structure compacte engendre une surface latérale de faible amplitude soit $38,9\text{\AA}^2$ pour la phase cristalline [3].

Or, cette structure cristalline correspondant à des températures et des taux d'hydratation faibles est en général beaucoup plus dense que les structures présentes dans les biomembranes. L'arrangement compact et l'inclinaison des chaînes ne correspondent donc pas

nécessairement aux structures prédominantes à température ambiante dans les biomembranes. Les forces en présence dans ces différents arrangements risquent donc d'être très différentes.

Les renseignements structuraux sur les phases gel et cristal liquide sont loin d'être aussi précis. Les méthodes expérimentales telles que la diffraction des rayons X et la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire ne fournissent que des informations d'ordre macroscopique. Ainsi, l'épaisseur de la bicouche et la surface occupée par chaque lipide sont des données disponibles [5]. De même, le taux d'hydratation de chaque molécule lipidique est assez bien établi [6]. Enfin, les domaines d'existence des différentes phases ont été déterminées avec précision. Le diagramme de phases du DMPC a été établi par Janiak et al [7] en 1979.

La construction d'un modèle de bicouche implique donc nécessairement certaines spéculations sur la conformation moléculaire. Généralement dérivées des données issues des phases cristallines, ces spéculations présentent le risque d'être erronées et imprécises. Mais elles restent la seule solution face aux échecs des méthodes expérimentales.

I.2. Proposition d'un modèle de bicouche lipidique.

Pour construire un modèle de bicouche, deux considérations structurales sont à prendre en compte: la première porte sur la conformation des molécules lipidiques tandis que la seconde concerne leur arrangement dans l'espace.

Afin de construire notre modèle de bicouche, nous avons utilisé à la fois les renseignements expérimentaux issus de la phase cristal liquide (L_α) et ceux de la phase cristalline (L_c). Les informations structurales sur la phase L_α proviennent essentiellement des études de RMN du ^2H et du ^{31}P [8-13] et des études de diffraction des rayons X et des neutrons [1,2,5,14-17].

I.2.1. Conformation initiale des molécules lipidiques.

Les coordonnées initiales du monomère ont été obtenues à partir des positions atomiques issue de la structure du dilaurylphosphatidyléthanolamine (DLPE) (rayons X) [18]. A l'aide du logiciel graphique SYBYL [19], les modifications structurales suivantes ont été réalisées:

- les trois atomes d'hydrogène du groupement éthanolamine (N^+H_3) ont été remplacés par trois groupements méthyles afin d'obtenir la structure de la choline ($N^+(CH_3)_3$).

- deux groupements méthylènes ont été ajoutés à chacune des chaînes aliphatiques de manière ce que chacune d'elles comporte 14 carbones contre 12 pour le DLPE.

Afin de respecter les caractéristiques expérimentales de la phase cristal liquide du DMPC, les modifications conformationnelles suivantes ont due être apportées à cette première structure.

La conformation de la tête polaire d'une molécule de DMPC est décrite selon cinq angles dièdres notés α_i (figure n°2). Selon les études RMN 2H et ^{31}P de la phase cristal liquide [9-11], la tête polaire présente une conformation ne traduisant ni une flexibilité totale, ni une parfaite rigidité. Deux conformations énantiomères (t, g^+, g^+, t, g^-) et (t, g^-, g^-, t, g^+) pour les torsions ($\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3, \alpha_4, \alpha_5$) seraient en équilibre dynamique. Skarjune et Oldfield [11] ont pour leur part conclu que les têtes polaires adoptaient des conformations restreintes de plus ou moins 40° par rapport aux angles dièdres de la structure cristalline. Ces résultats expérimentaux sont en accord avec la gamme de conformations énergétiquement stables calculées par Frischleder et al [20] sur le glycérophosphatidyléthanolamine. Suite à ces observations, nous avons donc opté pour deux types de monomères DMPC dont les conformations initiales des têtes polaires correspondent à celles proposées par Seelig et al [9].

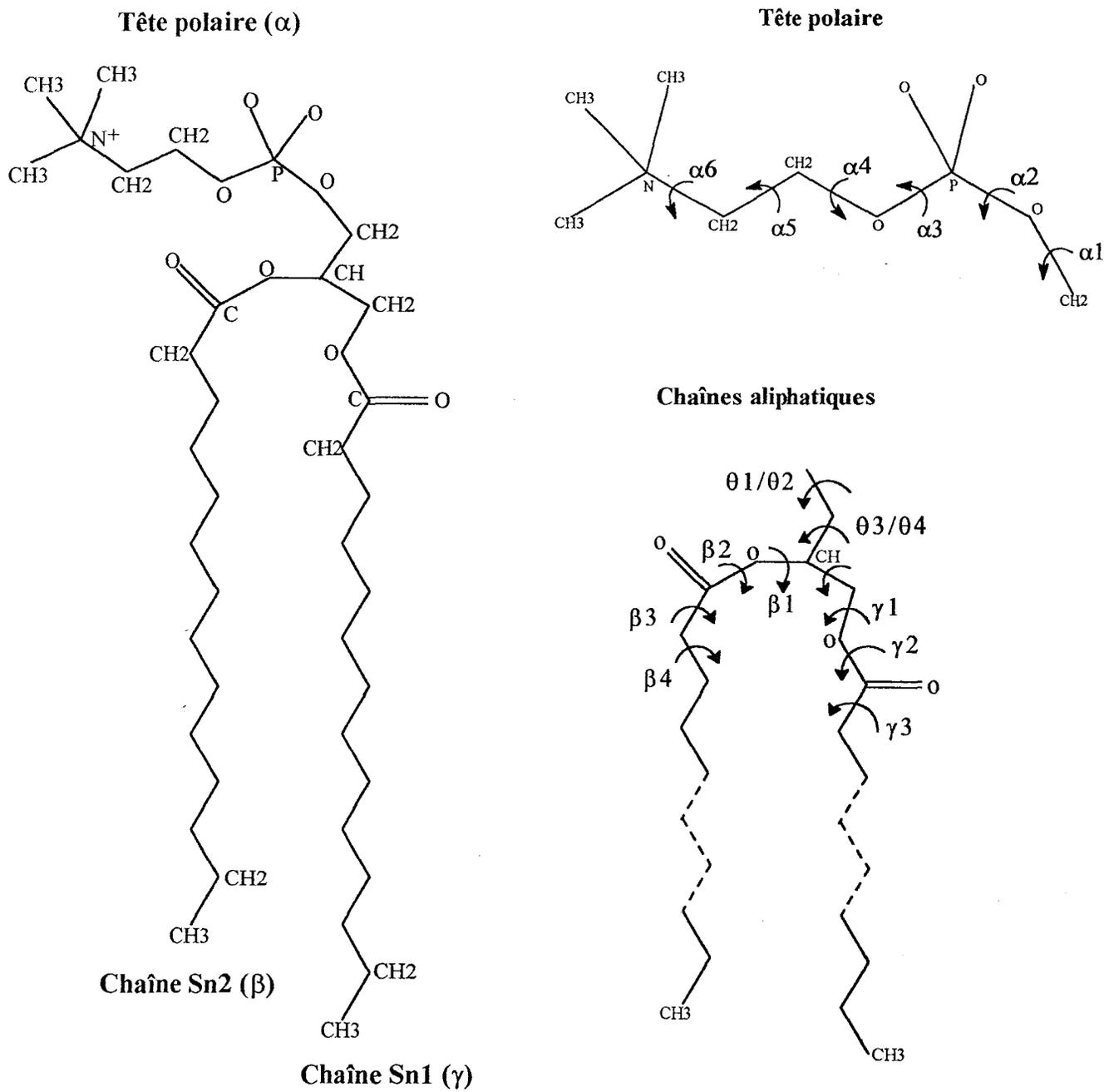


Figure n°2: Description des divers angles de torsion d'une molécule de DMPC. La notation adoptée est celle de Sundaralingam [4].

La partie glycérol est décrite selon quatre angle de torsion notés θ_i . Les couples de torsion θ_1/θ_2 et θ_3/θ_4 sont complémentaires (figure n°2). Concernant le premier couple θ_1/θ_2 , les valeurs des angles correspondent à ceux de la phase gel L_β . Cette phase présente un angle dièdre θ_3 en position *trans*. Or, les mesures de couplage de spin en RMN ^1H réalisées par Hauser et al [16] sur la phase L_α du DMPC indiquent la coexistence de trois rotamères avec θ_3 en position *trans*, *gauche*⁺ et *gauche*⁻. Les positions *trans* et *gauche*⁺ constituent la majorité de la population. D'autre part, une simulation par dynamique moléculaire a montré que partant d'une conformation *trans* pour la torsion θ_3 , seuls 15% des rotamères étaient en position *gauche*⁺ et aucun en position *gauche*⁻ [21]. La durée de cette dynamique étant supérieure à 400ps, on peut supposer que l'espace conformationnel a été correctement exploré. Afin de respecter au plus près la réalité, nous avons donc choisi d'inclure les deux rotamères *trans* et *gauche*⁺ dans la structure initiale des DMPC.

S'agissant des chaînes aliphatiques, les valeurs des angles de torsions correspondent à la phase L_β , soit une conformation totalement *trans*.

L'ensemble des angle de torsions choisis pour les deux conformères initiaux de DMPC est décrit dans le tableau n°1.

Monomère	α_1	α_2	α_3	α_4	α_5	θ_1	θ_2	θ_3	θ_4
DMPC 1	-170°	60°	64°	145°	-81°	58°	177°	54°	-60°
DMPC 2	170°	-60°	-64°	-145°	81°	168°	-82°	166°	51°

Monomère	β_1	β_2	β_3	β_4	γ_1	γ_2	γ_3	γ_4
DMPC 1	148°	173°	-57°	176°	129°	-167°	166°	175°
DMPC 2	120°	179°	-134°	67°	102°	176°	180°	180°

Tableau n°1: Conformation des deux monomères phospholipidiques constituant la structure initiale du modèle de bicouche.

I.2.2. Arrangement moléculaire spatial initial.

La première partie de la construction du modèle de bicouche a donc consisté en la recherche d'une conformation moléculaire la plus proche possible de la réalité. Nous avons ainsi obtenu deux monomères phospholipidiques.

Chacune des phases du DMPC comporte un arrangement spatial différent que nous devons respecter. La surface par tête polaire est l'un des paramètres structuraux spécifiant cet arrangement moléculaire. Le respect de ce critère lors de la construction du modèle est d'autant plus important que la simulation de dynamique moléculaire est réalisée à volume constant (Chapitre n°2). On constate en général une très grande amplitude entre les valeurs de surface par tête polaire de phospholipides selon les phases cristalline, gel et cristal liquide. Or, il existe une certaine imprécision sur la mesure expérimentale de ce paramètre en phase cristal liquide. Parmi les diverses valeurs publiées, nous avons retenu la valeur de 66\AA^2 [13]. Cette valeur a été également employée par Robinson et al [22] pour leur modèle de bicouche de DMPC. Les monomères phospholipidiques ont été disposés les uns par rapport aux autres et forment un arrangement hexagonal illustré par la figure n°3. Dans cet arrangement, les dipôles PN des têtes polaires présentent une orientation similaire à celle observée dans la structure cristalline du DMPC [17].

La monocouche obtenue correspond respectivement à la double et triple reproduction du dimère de DMPC selon les axes y et z de l'espace. Ces douze lipides ont été reproduits symétriquement selon l'axe x de manière à obtenir la bicouche finale (figure n°3). La position dans l'espace des deux monocouches a été choisie de manière à ce que la distance entre les phosphates de couches opposées soit de 35\AA . Cette valeur est conforme à la valeur expérimentale de $34\pm 1\text{\AA}$ mesurée par diffraction des rayons X [5] et par RMN ^1H [8]. Cette distance caractéristique de la phase cristal liquide implique que les chaînes aliphatiques s'entrecroisent au centre de la bicouche (figure n°4).

L'hydratation de cette bicouche a été réalisée à l'aide du logiciel SPASIBA adapté aux bicouches lipidiques. Une couche de molécules d'eau d'épaisseur 11Å a été placée le long de la surface à la bicouche (plan yz). Ce sont 629 molécules d'eau qui ont été ajoutées de part et d'autre de la surface de la bicouche (figure n°5). Ce nombre équivaut à 26,2 H₂O par molécule lipidique. Nous avons ainsi reproduit les conditions de phase cristal liquide du DMPC en excès d'eau [3]. Les dimensions finales de ce modèle de bicouche sont respectivement de 60,4Å, 33,6Å et 25,5Å selon les axes x, y et z.

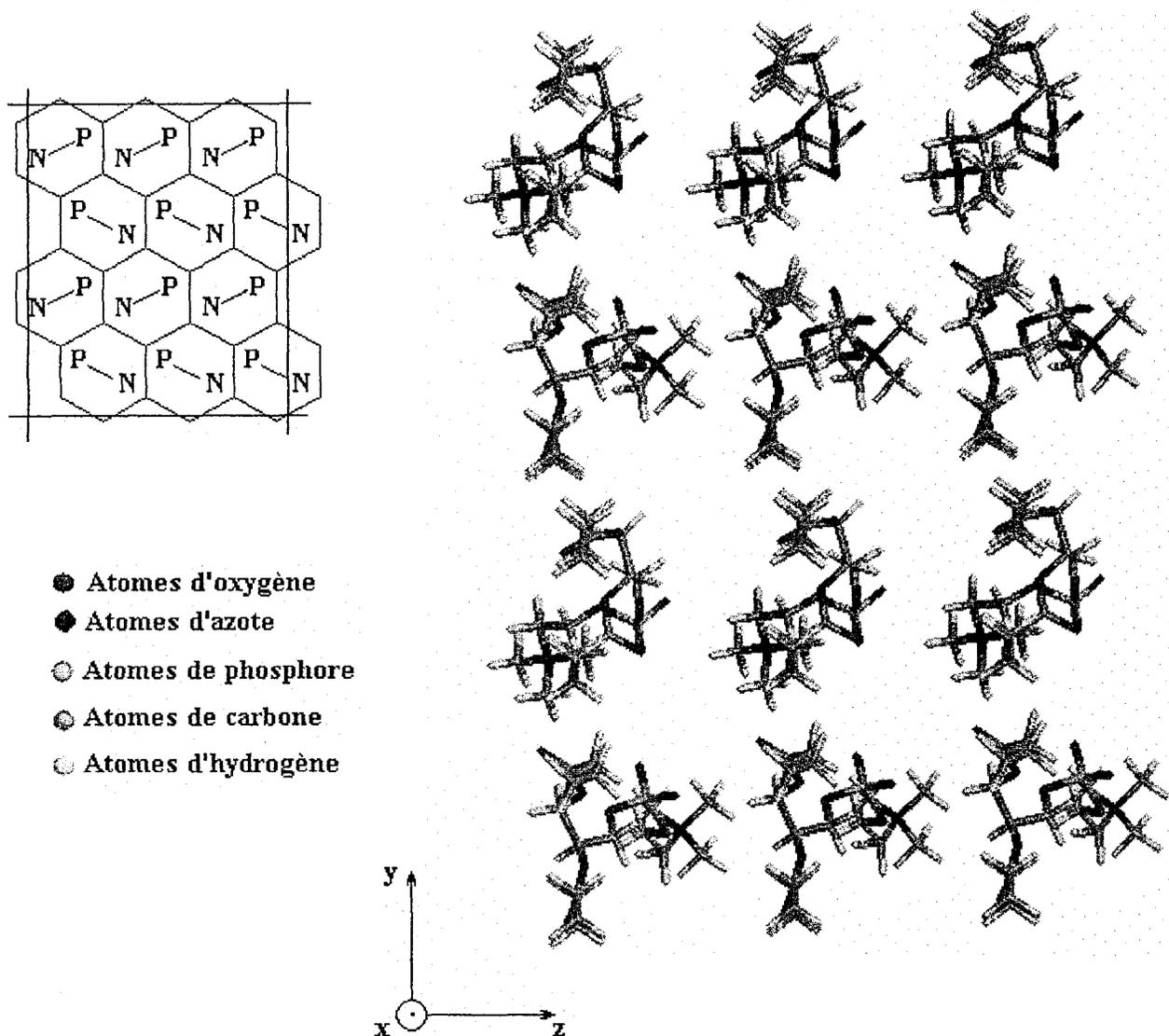


Figure n°3: Représentation schématique et réelle de la surface de la bicouche lipidique dans sa conformation initiale. Chaque monomère est disposé selon un arrangement hexagonal respectant l'orientation relative de chacun des dipôles des têtes polaires. Les lignes continues représentent les limites des conditions périodiques aux frontières (PBC).

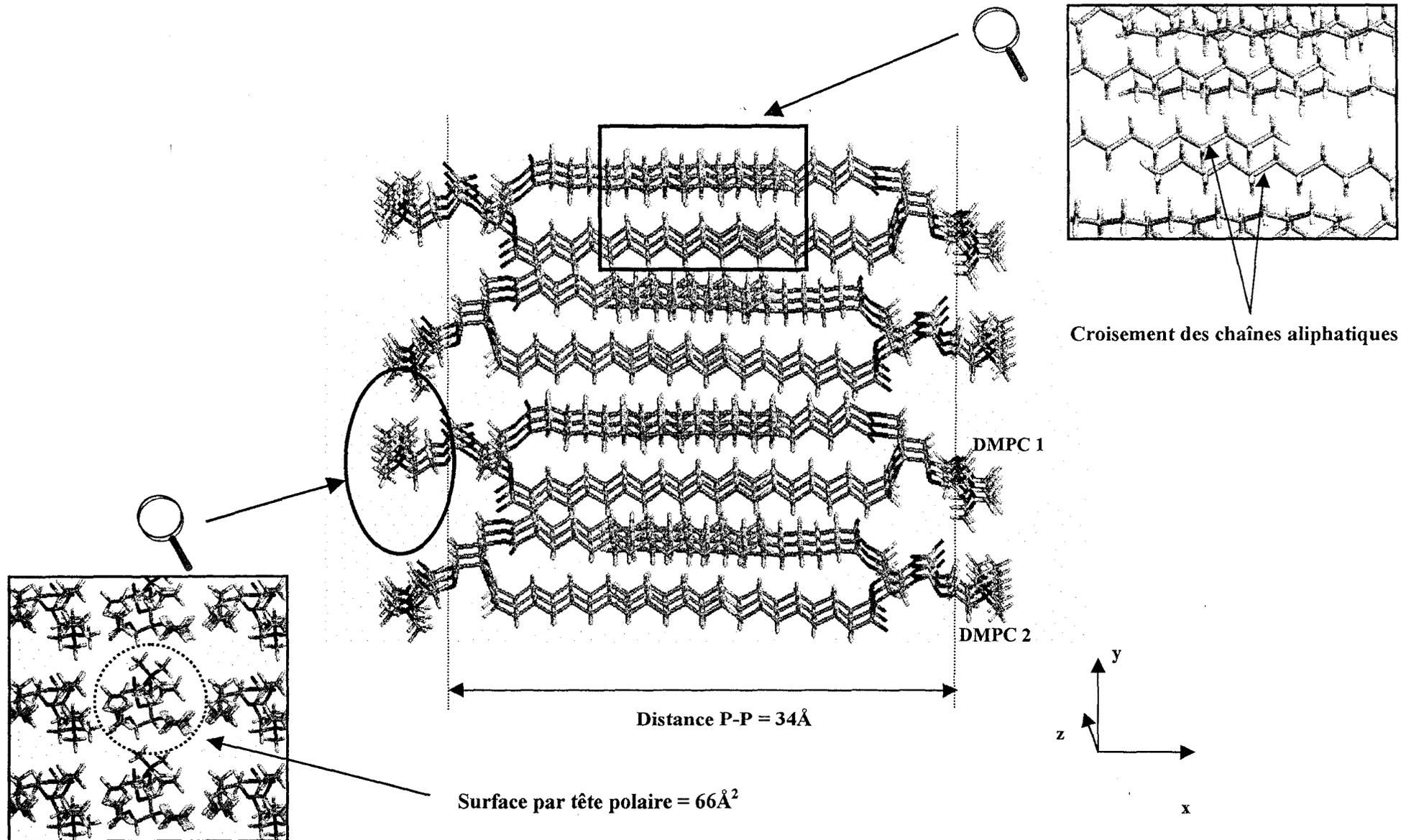


Figure n°4: Modèle de bicouche lipidique: représentation réelle de l'arrangement spatial initial des 24 molécules de DMPC.

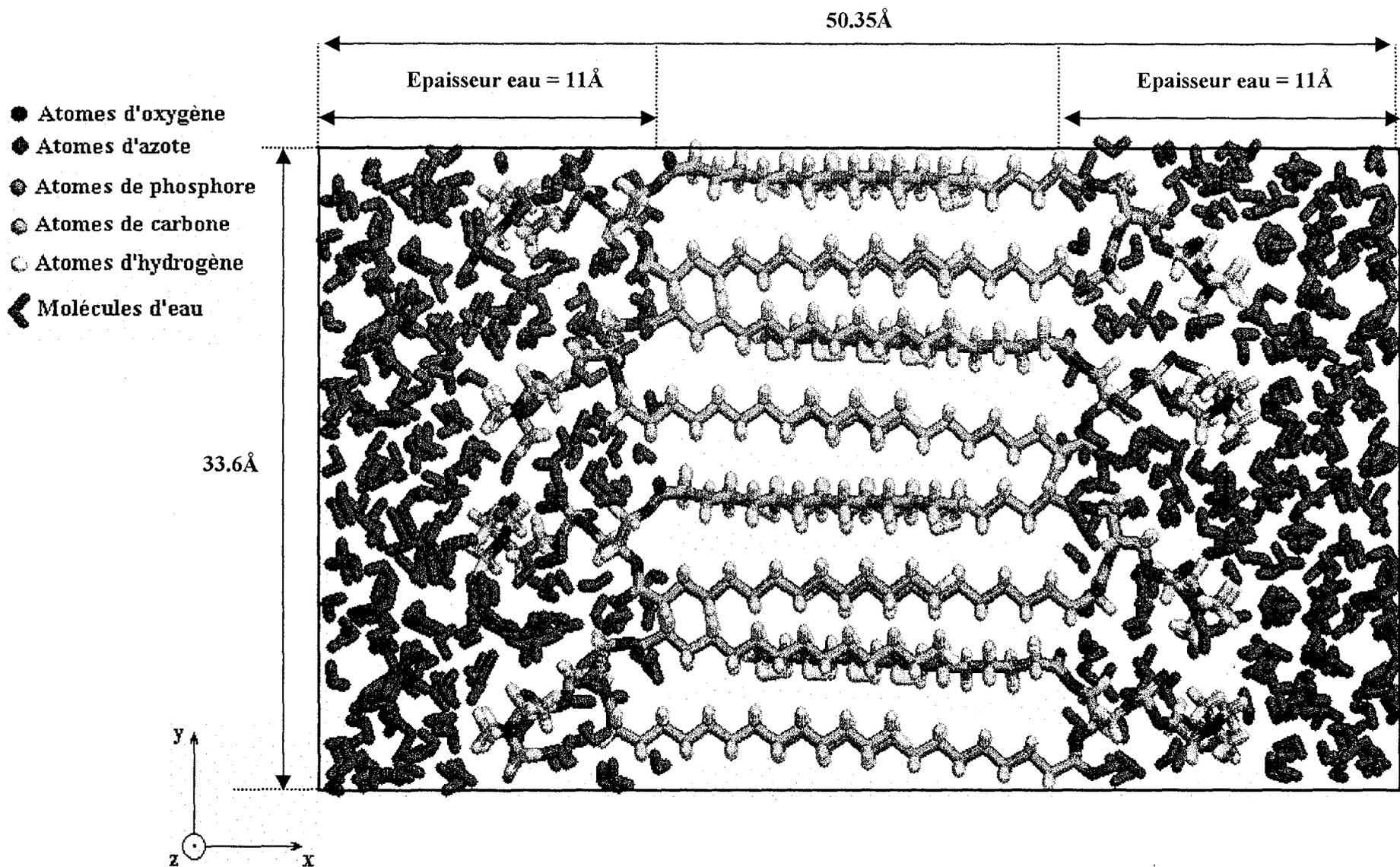


Figure n°5: Arrangement structural initial du modèle de bicouche lipidique composé de 24 molécules de DMPC et 629 molécules d'eau. L'encadrement correspond aux dimensions de la boîte de simulation selon les axes x et y de l'espace.

II. Paramètres du champ de forces SPASIBA. Charges et modèle de l'eau.

Le champ de forces employé pour l'ensemble de ce travail est le champ de forces SPASIBA [23]. Sa description a été réalisée au cours du second chapitre. Les constantes de forces ainsi que les paramètres géométriques employés sont décrits dans le tableau n°2. L'ensemble de ces paramètres est issu de travaux précédemment effectués au laboratoire [24].

Au cours de ce présent travail, la représentation atomique étendue a été adoptée contrairement à la plupart des travaux portant sur les bicouches. Chaque atome a donc été explicitement représenté. Cette stratégie nous est apparue essentielle compte tenu de la contribution importante des atomes d'hydrogène dans les forces électrostatiques des têtes polaires. De plus, des études théoriques ont montré l'importance d'une représentation explicite des atomes d'hydrogène lors de l'étude de chaînes aliphatiques [25-26].

La description des types atomiques ainsi que la liste des charges atomiques partielles sont rassemblées dans le tableau n°3. Ces charges résiduelles proviennent de travaux précédemment réalisés au laboratoire [27]. Ces travaux portaient sur la simulation par dynamique moléculaire d'une bicouche de DMPC en phase gel.

La paramétrisation du champ de forces a été effectuée avec une constante diélectrique égale à 1. Concernant les interactions de type non liantes, seules les interactions de type van der Waals ont été pondérées. Le coefficient de pondération est de 0,5. Les interactions de type électrostatiques ont donc été totalement prises en compte. Ce choix correspond aux conditions de paramétrisation du champ de forces SPASIBA. Il a été démontré que dans ces conditions les différences énergétiques entre conformères étaient mieux reproduites [23]. Ceci n'est pas le cas du champ de force AMBER [28] où les valeurs par défaut sont de 0,5 pour les deux types d'interactions non liantes. Notons que les travaux de modélisation de bicouches lipidiques réalisées avec ce dernier champ de forces conjointement au champ de forces OPLS [29] ont nécessité une réduction importante de ces interactions. Les interactions de type van der Waals ont du être divisées par 8 et les interactions électrostatiques par 2.

Les molécules d'eau ont quant à elles été modélisées selon le modèle TIP3P [29]. Chaque molécule d'eau est donc décrite selon trois angles. A chacun des atomes est attribuée une masse et une charge ponctuelle.

Tableau n°2: Paramètres du champ de forces SPASIBA^a.

Liaisons

	K	r₀		K	r₀
CT-HC	320	1.11	C9-O5	205	1.47
CT-HM	291	1.11	C9-C	165	1.52
C9-HM	291	1.11	N3-CT	154	1.50
CT-HT	291	1.11	N3-C9	187	1.50
CT-CT	165	1.53	C9-O2	209	1.45
C9-CT	165	1.53	C9-O1	209	1.45
C9-C9	165	1.53	P -O3	530	1.49
C -O	695	1.21	P -O4	530	1.49
C -O5	310	1.36	P -O1	245	1.60
CT-O5	245	1.47	P -O1	245	1.60

Angles

	H	F	θ₀		H	F	θ₀
HC-CT-HC	29.6	10.1	108.5	N3-C9-HM	13.0	78.0	109.0
HM-C9-HM	29.6	10.1	108.5	C9-C9-N3	20.0	72.0	110.0
HC-CT-CT	15.9	69.4	109.5	C9-C9-O1	35.0	26.0	111.5
HC-CT-C9	15.9	69.4	109.5	HM-C9-O1	10.0	95.0	107.5
HM-C9-CT	15.1	69.4	109.5	HM-C9-O2	10.0	95.0	107.5
HT-CT-CT	14.9	69.4	109.5	HM-C9-O5	14.0	114.0	107.5
HT-CT-C9	14.9	69.4	109.5	HT-CT-O2	10.0	95.0	107.5
C9-C9-CT	18.7	47.5	111.8	HT-CT-O5	10.0	95.0	107.5
C9-CT-C9	18.7	47.5	111.8	CT-C9-O2	35.0	26.0	111.5
CT-C9-O5	35.0	26.0	111.5	C9-CT-O5	35.0	26.0	111.5
C9-C9-C9	18.7	47.5	111.8	CT-O5-C	30.0	30.0	114.0
HM-C9-C9	15.1	69.4	109.5	C9-O5-C	30.0	30.0	114.0
C9-C -O	14.0	35.0	123.6	C9-O1-P	11.0	40.0	118.0
C9-C -O5	35.0	100.0	112.9	C9-O2-P	11.0	40.0	118.0
O -C -O5	65.0	100.0	125.0	O1-P -O2	14.0	25.0	109.0
C9-C9-C	18.7	77.5	111.8	O1-P -O3	40.0	50.0	105.0
HM-C9-C	11.0	107.0	108.5	O1-P -O4	70.0	50.0	111.0
N3-CT-HC	8.0	101.0	109.0	O2-P -O3	20.0	50.0	111.0
CT-N3-CT	14.0	23.0	110.0	O2-P -O4	40.0	50.0	105.0
CT-N3-C9	24.0	43.0	110.0	O3-P -O4	35.0	80.0	119.0

^a Les constantes de force sont exprimées dans les unités suivantes: K et F en kcal mol⁻¹Å², H, t,g,l et κ en kcal mol⁻¹ et V_n en kcal mol⁻¹. Les distances sont en angströms et les angles en degré.

Tableau n°2: Paramètres du champ de forces SPASIBA (suite).

Torsions

	$V_{n/2}$	γ	n
X-C9-C9-X	1.35	0	3
X-C9-CT-X	1.35	0	3
X-C9-C -O	0.13	0	3
X-C9-C -O5	0.27	0	3
X-C -O5-X	3.33	180	2
X-C9-O2-X	0.35	0	3
X-CT-O5-X	0.01	0	3
X-C9-O5-X	0.01	0	3
X-C9-O1-X	0.35	0	3
X-O1-P -X	0.35	0	3
X-O2-P -X	0.35	0	3
CT-O2-P -O1	0.35	0	-3
	0.75	0	2
C9-O2-P -O1	0.35	0	-3
	0.75	0	2
C9-O1-P -O2	0.35	0	-3
	0.75	0	2
X-CT-N3-X	1.50	0	3
X-C9-N3-X	1.50	0	3
N3-C9-C9-O1	0.15	0	-3
	1.00	0	2

Déformations hors plan

	$V_{n/2}$	γ	n
X-X-C=O	10.5	180	2

Constantes spécifiques à SPASIBA

Kap (CT) (κ)	-3.60
Kap (C9)	-5.75
Trans (t)	15.10
Gauche (g)	-4.00
L (CH ₂)	2.88

Tableau n°3: Types atomiques et charges ponctuelles des différents atomes des molécules phospholipidiques.

Type atomique	Charge ponctuelle	Fragment phospholipidique
HC CT N3 C9 HM	0.055 -0.011 0.379 -0.011 0.055	Choline
C9 HM O1/O2 P O3/O4	0.041 0.129 -0.740 1.566 -0.812	Phosphate
HT CT C9 HM O2 C O	0.135 0.175 0.040 0.135 -0.450 0.560 -0.420	Glycérol
C9 HM CT HC	-0.150 0.075 -0.210 0.070	Chaînes aliphatiques

III. Simulation moléculaire du modèle de bicouche lipidique.

Ce paragraphe tente de décrire l'ensemble des opérations de simulation que nous avons réalisées afin d'obtenir un modèle de bicouche lipidique stable (en terme énergétique) ceci dans l'objectif d'une étude par simulation de dynamique moléculaire.

III.1. Première étape: la minimisation.

La première étape composant toute simulation moléculaire empirique consiste en la minimisation de la structure initiale. Cette structure est généralement issue de données expérimentales mais reste malgré tout une construction artificielle, ceci est d'autant plus vrai dans le cas des bicouches lipidiques. La minimisation consiste à faire tendre les longueurs de liaisons, les angles et les torsions vers leurs valeurs d'équilibre.

Nous avons donc successivement procédé à la minimisation de la structure par l'emploi des méthodes de la plus grande pente et du gradient conjugué durant respectivement 3000 et 2000 pas.

III.2. Seconde étape: les premiers pas de dynamique moléculaire.

Le simulation de dynamique moléculaire a été réalisée sous les conditions thermodynamiques de volume et de température constants (NVT). La température ciblée est de 323K soit 23K de plus que la température de transition T_m entre la phase gel et la phase cristal liquide du DMPC [7]. Dans un premier temps, cette température a été maintenue à sa valeur d'équilibre par la "méthode de contrainte des vitesses" (chapitre 2). Cette méthode est en effet la plus adéquate durant la période d'équilibrage du système d'étude. Une fois le système relaxé, la méthode du bain thermique [30] a été employée avec un temps de relaxation de 0.1 ps.

La méthode numérique utilisée pour la résolution des équations de Newton est l'algorithme de Verlet [31]. Le pas d'intégration choisi est de 1fs. Les liaisons et les angles n'ont pas été contraints à leur valeur d'équilibre mais ont été laissés libres d'osciller.

Les vitesses initiales n'ont pas été attribuée aléatoirement mais selon les forces en présence dans la structure minimisée.

Concernant les interactions non liées, chaque monomère phospholipidique et chaque molécule d'eau ont été considérés comme un seul résidu. Le choix de la taille des différentes distances de coupure dépend des dimensions du système de simulation. Pour les interactions soluté/soluté et soluté/solvant, ses valeurs sont respectivement de 23.5Å, 15Å et 11Å selon les axes x, y et z de l'espace de simulation. Concernant les interactions entre molécules d'eau, la taille du "cutoff" sphérique a été fixée à 11Å.

A intervalles réguliers (soient toutes les 0,1 ps), les positions et les vitesses de chacun des atomes du système ont été enregistrées de manière à obtenir la trajectoire de dynamique moléculaire.

III.3. Troisième étape: recherche de la stabilité du système.

Une simulation par dynamique moléculaire nécessite un suivi structural et énergétique durant les premiers pas de simulation. En effet, l'introduction d'énergie cinétique perturbe l'état d'équilibre du système obtenu après minimisation. Le risque majeur est que la structure initiale corresponde à un minimum énergétique peu stable. Le saut énergétique provoqué par l'introduction des vitesses peut être trop brutal et donc entraîner des changements conformationnels et structuraux très importants. Il s'agit donc de vérifier que les critères structuraux, caractéristiques de la phase cristal liquide que l'on veut reproduire, sont conservés.

Nous avons donc simultanément procédé au suivi des critères énergétiques et structuraux suivants:

-la température du système (soluté+solvant)

-les énergies totale, potentielle et cinétique

-l'épaisseur de la bicouche via la distance entre atomes de phosphore de couches phospholipidiques opposées.

Nous avons ainsi établi une première trajectoire de dynamique moléculaire correspondant à un temps de calcul de 50ps. Cette durée correspond en fait à la période d'équilibrage du système. Les figures n°6 et n°7 regroupent les évolutions des termes énergétiques en fonction du temps durant cette période. Après 60ps, on peut considérer que les énergies potentielle (E_p) et totale (E_{tot}) sont stabilisées. Les variations de la température autour de la valeur d'équilibre (323K) sont faibles, l'énergie cinétique (E_c) est donc bien contrôlée. En terme énergétique, le système a donc atteint un équilibre relatif.

L'étude structurale a montré que la distance (P-P) moyenne a conservé sa valeur initiale de 35Å. L'introduction d'énergie cinétique n'a donc pas modifié l'arrangement structural des phospholipides. Par contre, nous avons constaté une répartition irrégulière des molécules d'eau se traduisant par un rapprochement des molécules d'eau vers la surface de la bicouche. Nous en avons conclu que la densité initiale en molécule d'eau n'était pas suffisante.

Suite à ces observations, nous avons donc modifié les dimensions du système de manière à résorber ces "vides". La boîte de simulation a été réduite de 10Å selon l'axe x de l'espace correspondant à la normale à la bicouche. Les nouvelles dimensions du systèmes sont respectivement de 50.4 Å, 33.6Å et 25.5Å selon les axes x, y et z.

Ce dernier modèle de bicouche constitue la structure de départ de l'étude développée dans le chapitre 6 à savoir l'influence du calcul des interactions non liées sur la structure de la bicouche.

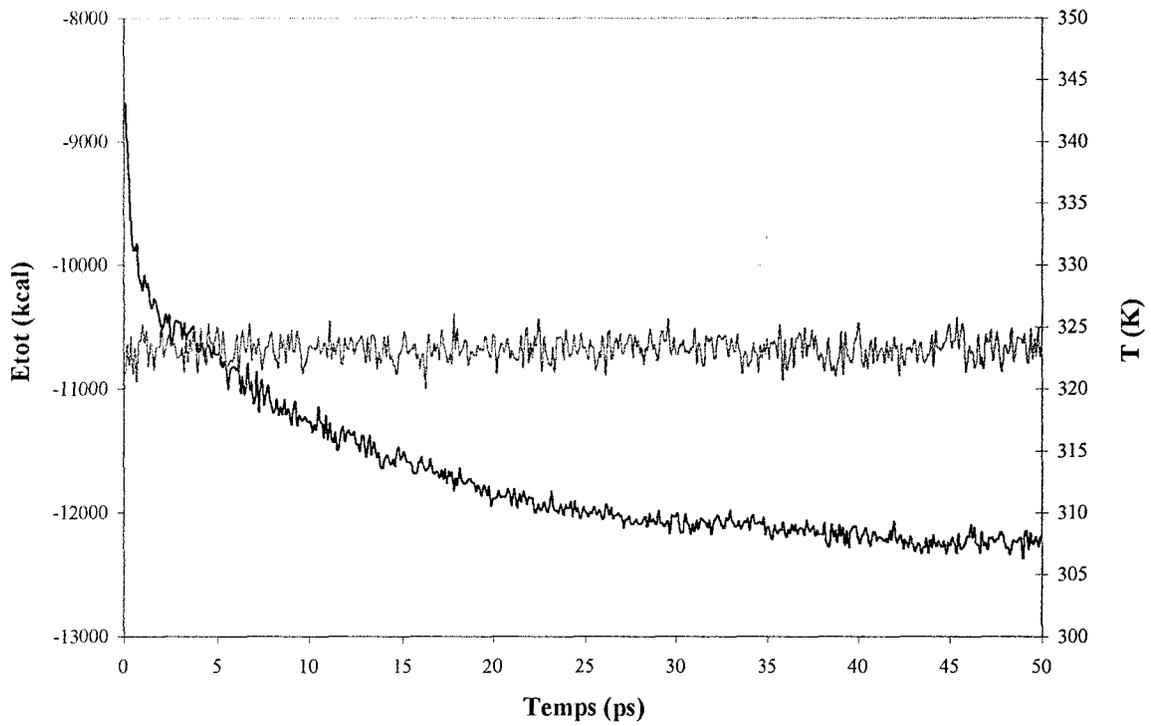


Figure n°6: Variations de l'énergie totale E_{tot} (en bleu) et de la température T (en rose) en fonction du temps.

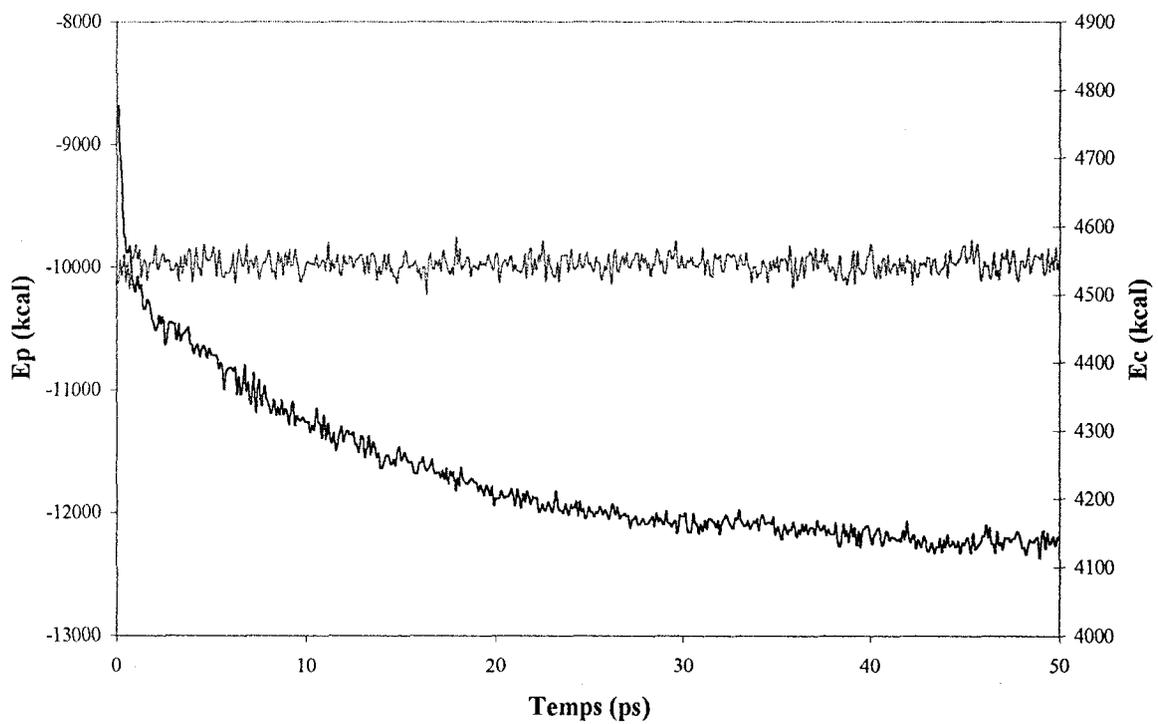


Figure n°7: Variations des énergies potentielle E_p (en bleu) et cinétique E_c (en rose) en fonction du temps.

Conclusion

Ce chapitre nous a permis de comprendre quelles étaient les limites des renseignements expérimentaux nécessaires à la construction d'un modèle de bicouche lipidique. Le modèle obtenu est évidemment fondé sur les données moléculaires disponibles mais reste malgré tout issu d'une certaine forme de spéculation. Ce fait devra sans aucun doute être pris en compte lors de l'interprétation des résultats issus des simulations de dynamique moléculaire ultérieures.

Nous avons donc construit un modèle de bicouche lipidique composé de 24 molécules de DMPC et de 629 molécules d'eau soient 4719 atomes. Ce système de taille non négligeable a subi divers étapes de simulation par des méthodes de minimisation puis de dynamique moléculaire. Compte tenu des études énergétiques et structurales réalisées, ce modèle de bicouche peut être considéré comme fiable pour la suite de cette étude. Nous avons poursuivi deux études par simulation de dynamique moléculaire présentées dans le chapitre 6.

Bibliographie

1. R.H. Pearson and I. Pascher, *Nature*, 281, 499 (1979).
2. H. Hauser, I. Pearson, R.H. Pearson and S. Sandell, *Biochim. Biophys. Acta*, 650, 21 (1981).
3. D. Marsh, *CRC Handbook of Lipid Bilayer*, CRC Press, Boca Raton (1990).
4. M. Sundaralingham, *Ann. N. Y. Acad. Sci. U.S.A.*, 195, 324 (1972).
5. B.A. Lewis and D.M. Engelman, *J. Mol. Biol.*, 166, 211 (1983).
6. A. Ulrich, F. Volke and A. Watts, *Chem. Phys. Lipids*, 55, 61 (1990).
7. M.J. Janiak, D.M. Small and G.G. Shipley, *J. Biol. Chem.*, 254, 6068 (1979).
8. J. Seelig and A. Seelig, *Biochemistry*, 13, 4839 (1974).
9. J. Seelig, H. Gally and R. Wohlgemuth, *Biochim. Biophys. Acta*, 467, 109 (1977).
10. J. Seelig, *Biochem. Biophys. Acta*, 515, 105 (1978).
11. R. Skarjune and E. Oldfield, *Biochemistry*, 18, 5903 (1979).
12. C. Mayer, K. Muller, K. Weisz and G. Kothe, *Liq. Cryst.*, 3, 797 (1988).
13. J.F. Nagle, *Biophys. J.*, 64, 1476 (1993).
14. G. Büldt, H.U. Gally, A. Seelig and J. Seelig, *Nature*, 271, 182 (1978).
15. G. Büldt, H.U. Gally, A. Seelig and J. Seelig, *J. Mol. Biol.*, 134, 673 (1979).
16. H. Hauser, I. Pascher and S. Sundell, *Biochemistry*, 27, 9166 (1988).
17. I. Pascher, M. Lundmark, P.G. Nyholm and S. Sundell, *Biochim. Biophys. Acta*, 1113, 339 (1992).
18. M. Elder, P.B. Hitchcock, R. Mason and G.G. Shipley, *Proc. R. Soc. London A*, 354, 157 (1977).
19. Tripos Associate Inc, St Louis, Mo, USA, "Sybyl. Molecular Modelling Software.", version 6.5 (1998).
20. H. Frischleder, R. Krahl and E. Lehman, *Chem. Phys. Lipids*, 28, 291 (1981).
21. J.M. Essex, PH. D. thesis, Oxford University, England (1992).
22. A.J. Robinson, W.G. Richards, P.J. Thomas and M.M. Hann, *Biophys. J.*, 67, 2345 (1994).
23. P. Derreumaux and G. Vergoten, *J. Chem. Phys.*, 102, 8586 (1995).
24. M. Chhiba and G. Vergoten, *J. Mol. Struct.*, 384, 55 (1996).
25. J.P. Ryckaert, I.R. McDonald and M.L. Klein, *Mol. Phys.*, 67, 957 (1989).
26. D.E. Williams, *J. Chem. Phys.*, 47, 4680 (1967).
27. M. Chhiba, Thèse, Université de LilleI, France (1995).

28. S.J. Weiner, P.A. Kolman, D.A. Case, U.C. Singh, C. Ghio, G. Alagona, S. Profeta Jr. And P. Weiner, *J. Am. Chem. Soc.*, 106, 765 (1984).
29. W.L. Jorgensen and J. Tirado-Rives, *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 1657 (1988).
30. W.L. Jorgensen, J. Chandrasekhar and J.D. Madura, *J. Chem. Phys.*, 79, 926 (1983).
31. H.J.C Berendsen, J.P.M. Postma, W.F. van Gunsteren, A. Di Nola and J.R. Haak, *J. Chem. Phys.*, 81, 3684 (1984).
32. L. Verlet, *Phys. Rev.*, 159, 98 (1967).

-RESULTATS-

CHAPITRE 6

Dynamique moléculaire de modèles de bicouches lipidiques.

Introduction

Au cours du chapitre 5, nous avons pu mettre en évidence quelles étaient les difficultés à établir un modèle de bicouche lipidique. Après plusieurs essais infructueux, un modèle composé de 24 molécules de DMPC et 629 molécules d'eau a montré une stabilité énergétique et structurale après plusieurs pas de simulation par dynamique moléculaire. Ce test de stabilité est incontournable et indispensable à la poursuite d'une étude de trajectoire de dynamique moléculaire.

Les objectifs de cette étude sont de deux types:

-juger de la fiabilité et de la robustesse du champ de forces SPASIBA à reproduire la structure et le comportement au cours du temps d'une bicouche lipidique en phase cristal liquide.

-juger des effets du mode de calcul des interactions non liées sur la structure de cette bicouche.

Nous avons donc procédé à une étude comparative de deux trajectoires obtenues par simulation de dynamique moléculaire. Ces deux simulations ont, pour unique différence, leur mode de calcul des interactions non liées: pour la première, la méthode classique du potentiel tronqué de type sphérique, pour la seconde, notre nouvelle stratégie (présentée lors du chapitre 4) combinant deux types de "cutoff" selon les monomères mis en jeu dans ces interactions.

Dans ce chapitre, nous rappellerons dans un premier temps notre méthodologie de simulation par dynamique moléculaire de ces bicouches lipidiques.

L'analyse de ces trajectoires a nécessité le développement de programmes permettant d'établir une étude structurale complète de la bicouche et de son environnement aqueux. La présentation de l'ensemble de ces programmes constitue ce que l'on a appelé "Partie 1" dans ce chapitre.

Les "Partie 2" et "Partie 3" concernent les études structurales au niveau moléculaire et atomique des bicouches, réalisées sur les deux trajectoires de dynamique moléculaire. Elles présentent respectivement les résultats détaillés du potentiel tronqué sphérique et le potentiel tronqué non sphérique tout en incluant une étude comparative de ces deux modes de calcul.

Enfin, une discussion sur l'efficacité et les performances du champ de forces SPASIBA ainsi que sur l'effet du mode de calcul des interactions non liées est présentée dans la dernière partie de ce chapitre ("Partie 4"). Nous verrons que des études complémentaires (dynamique n°3 et n°4) nous ont été nécessaires à appuyer cette discussion.

La figure n°1 présente un résumé schématique de l'ensemble de ces études.

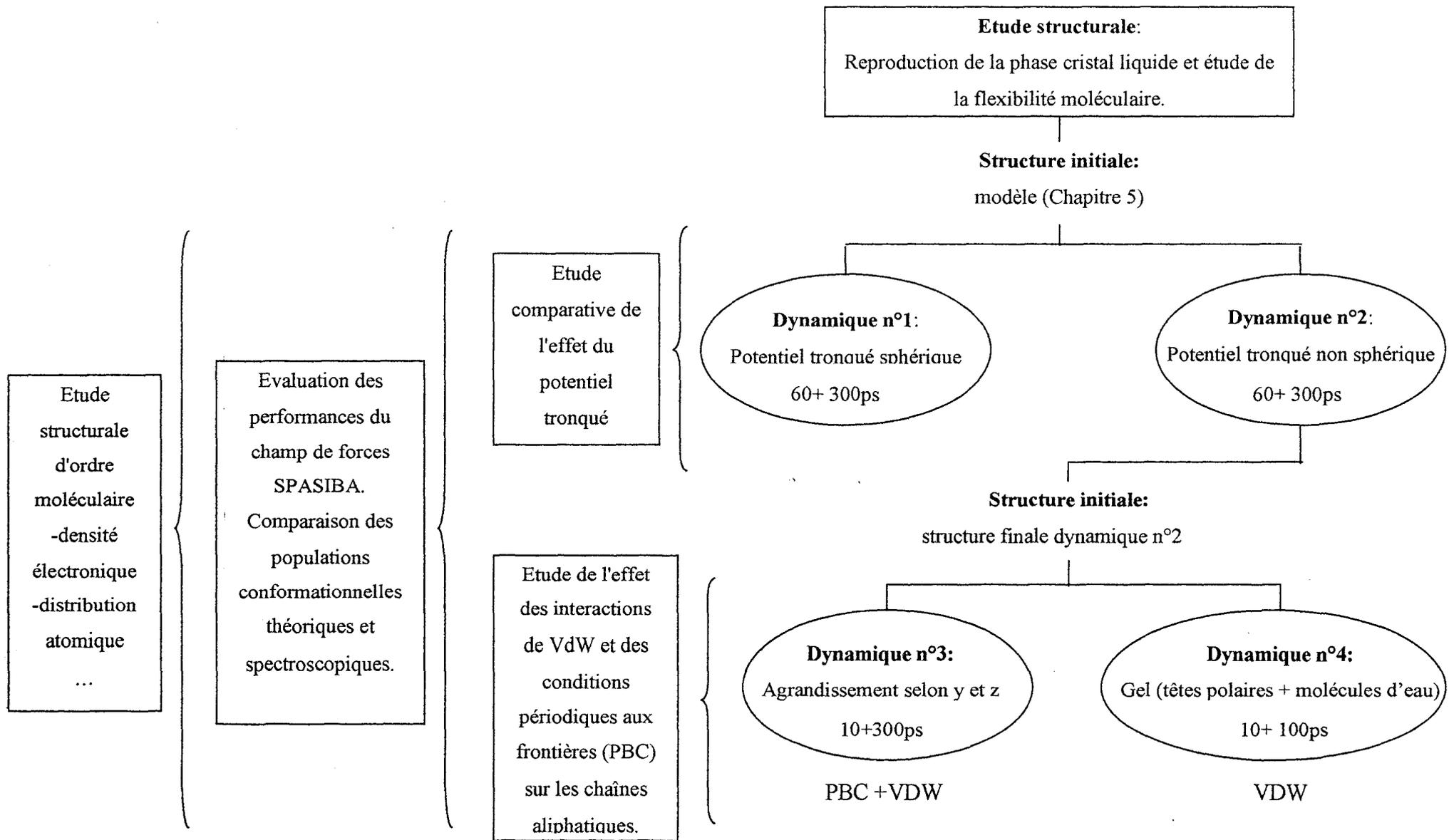


Figure n°1: Résumé des travaux réalisés au cours de cette étude.

I. Simulations par dynamique moléculaire: méthodologie.

Dans le tableau n°1 sont rassemblés les principaux paramètres utilisés pour réaliser les simulations de dynamique moléculaire de ce chapitre.

Le modèle de bicouche choisi comme structure initiale a été précédemment décrit au cours du chapitre 5. Ce modèle, préalablement équilibré, est constitué de 24 molécules de DMPC disposées en deux monocouches de 12 monomères. Aux extrémités de cette bicouche ont été ajoutées 629 molécules d'eau de type TIP3P [1]. Les dimensions de l'ensemble de ce modèle de bicouche sont respectivement de 50.4Å, 33.6Å et 25.5Å selon les axes x, y et z. La normale à la bicouche est représentée par l'axe x de cet espace.

Les simulations de dynamique moléculaire ont été réalisées sous des conditions thermodynamiques de volume et de température constants (NVT). La température ciblée est de 323K soit 23K de plus que la température de transition T_m entre la phase gel et la phase cristal liquide du DMPC [2]. Durant la période d'équilibrage (60ps), cette température a été maintenue à sa valeur d'équilibre par la "méthode de contrainte des vitesses". Puis, durant la trajectoire de dynamique moléculaire à proprement parler, la méthode du bain thermique [3] a été employée.

Le pas choisi pour l'intégration des équations de mouvements est de 1fs. Les liaisons et les angles n'ont pas été contraints à leur valeur d'équilibre mais ont été laissés libres d'osciller. Les vitesses initiales n'ont pas été attribuées aléatoirement mais selon les forces en présence dans la structure minimisée.

Concernant les interactions non liées, chaque monomère phospholipidique et chaque molécule d'eau ont été considérés comme un seul résidu.

Pour la dynamique n°1, la méthode de calcul des interactions non liées est celle du potentiel tronqué classique de type sphérique (noté R_c). Toutes les interactions non liées entre atomes situés à une distance inférieure ou égale à 11Å ($\approx 25,52/2 - 1,5$ (rayon de giration

d'une molécule d'eau)) ont été prises en compte. Le choix de cette valeur a été dirigé par la plus petite taille du système de simulation soient 25.52Å.

Pour la dynamique n°2, la stratégie a été d'employer deux types de potentiels tronqués:

-pour les interactions entre solutés, d'une part, et entre soluté et solvant, d'autre part, la forme du "cutoff" est du même type que les monomères lipidiques soit rectangulaire. Ses dimensions sont de 23.5Å, 15Å et 11Å selon les axes x, y et z. Ces valeurs ont été respectivement appelées Rcutx, Rcuty et Rcutz.

-pour les interactions entre molécules de solvant, le traditionnel "cutoff" de forme sphérique a été choisi. Sa taille est de 11Å.

A intervalles réguliers (toutes les 0,1 ps), les positions et les vitesses de chacun des atomes du système ont été enregistrées de manière à obtenir une trajectoire de dynamique moléculaire. La durée des trajectoires de dynamique moléculaire ayant été de 300ps, 3000 conformères ont donc été récoltés.

Le champ de forces employé pour ces études est le champ de forces SPASIBA dont l'expression analytique a été détaillée au cours du chapitre 2.

Ces travaux de modélisation ont été réalisés pour une partie au laboratoire sur le matériel suivant: VAX DecAlpha 3400 et stations graphiques Silicongraphics (O₂,Indy). L'autre moitié des calculs a été réalisée à distance sur un supercalculateur Silicongraphics de type Origin 2000 (CRIHAN, Rouen).

Tableau n°1: Conditions de simulation des deux premières dynamiques moléculaires.

	Dynamique n°1	Dynamique n°2
<u>Structure initiale:</u>		
-phase	Cristal liquide	
-nombre de monomères	24 molécules de DMPC	
-nombre de molécules d'eau	629 H ₂ O	
-dimensions	50.35Å selon x / 33.60Å selon y / 25.52Å selon z	
<u>Champ de forces</u>	SPASIBA	
<u>Simulation:</u>		
-conditions thermodynamiques	NVT	
-équilibrage:		
contrôle cinétique	Echantillonnage des vitesses ("scaling")	
température	323 K	
durée	60ps	
-trajectoire		
contrôle cinétique	"bain thermique"	
température	323 K	
pas d'intégration	1fs	
durée	300ps	
fréquence d'enregistrement	0.1ps	
<u>Interactions non liées:</u>		
méthode	"cutoff" sphérique classique	"cutoff" modifié
taille	11.5Å	23.5 Å/ 15Å/ 11Å

Partie 1:

**Analyse des résultats de la simulation par dynamique
moléculaire de modèles de bicouches lipidiques:**

**Définition des paramètres structuraux renseignant sur la
conformation et l'assemblage moléculaire.**

**Programmation informatique des relations mathématiques
permettant cette analyse.**

II. Définition des paramètres d'étude structurale d'une bicouche lipidique.

L'analyse de l'étude structurale d'une bicouche lipidique simulée par dynamique moléculaire est le plus souvent décomposée en deux parties. La première étude porte sur la globalité du système lipidique, les données calculées se situant au niveau moléculaire. La seconde partie porte sur la structure à l'échelle atomique des bicouches (par exemple, leur conformation).

L'ensemble des programmes d'exploitation de la dynamique moléculaire appliquée aux bicouches lipidiques forme une librairie désormais disponible avec le programme SPASIBA.

II.1. Paramètres mesurés pour une étude structurale d'ordre moléculaire.

L'étude structurale moléculaire consiste en la vérification de la conservation des critères expérimentaux relatifs à la phase simulée soit, dans notre cas, la phase cristal liquide.

II.1.1. Distribution des atomes le long de la normale à la bicouche.

(Programme DisANorm)

Après avoir défini la normale à la bicouche comme étant l'axe perpendiculaire à la surface de la membrane, une étude de la répartition des atomes lourds le long de cette normale a été réalisée. Concrètement, on établit un histogramme de la probabilité de trouver chacun des types atomiques le long de l'axe x du repère tridimensionnel. Le choix de cet axe suppose que l'on considère la normale à la bicouche comme parallèle à celui-ci.

S'agissant des molécules lipidiques, les atomes sélectionnés pour cette étude sont les atomes d'azote, les atomes de phosphore et les atomes de carbone du groupement glycérol. Pour ce qui est des molécules d'eau, les distributions des deux types atomiques à savoir les atomes d'oxygène et d'hydrogène sont étudiées.

Au travers de cette étude, l'arrangement moléculaire des lipides peut être explicitée. Plus précisément, à partir de la répartition des atomes de phosphore, l'épaisseur de la bicouche peut être calculée.

II.1.2. Etude de la densité électronique (De^-). (Programme DensE)

L'étude de la densité électronique le long de la normale à la bicouche constitue le second point d'étude au niveau moléculaire. Calculé à partir des numéros atomiques et des charges atomiques, le profil de densité électronique peut être notamment comparé aux résultats expérimentaux de diffraction des rayons X lorsqu'ils sont disponibles.

La densité électronique (De^-) à la distance $x=i$ est calculée de la manière suivante: elle est supposée être égale au nombre total d'électrons (Ne^-) dans un parallélépipède de base $y*z$ et de hauteur comprise entre $x=i$ et $x=(i + 0,5 \text{ \AA})$. L'ensemble est divisé par le volume de ce parallélépipède noté V et égal au produit ($y* z* 0,5$).

$$(De^-)_i = \langle (Ne^-)_i / V \rangle \quad (6.1)$$

où le symbole $\langle \rangle$ signifie la moyenne sur l'ensemble des configurations de la dynamique moléculaire.

Le nombre d'électrons, associés à chaque atome, correspond à son numéro atomique diminué de sa charge résiduelle partielle.

II.2. Paramètres pour une étude structurale au niveau atomique.

La seconde partie de l'analyse structurale de la trajectoire de dynamique moléculaire porte sur les renseignements structuraux à l'échelle atomique. On distingue séparément les divers groupements moléculaires de la bicouche, à savoir les têtes polaires, les chaînes aliphatiques et enfin, les molécules d'eau.

II.2.1. Etude conformationnelle des torsions lipidiques.(Programme ConfLip)

Une étude conformationnelle des têtes et des chaînes est réalisée au travers de la mesure des angles de torsion de ces groupements. Ces conformations correspondantes sont définies comme étant *trans* (*t*), *cis*, *gauche*⁺ (*g*⁺) ou *gauche*⁻ (*g*⁻) selon que les angles de torsion sont respectivement compris entre -30° et 30° , 150° et -150° , 30° et 90° et enfin entre -30° et 90° . La description de l'ensemble des angles de torsion est représentée sur la figure n°2. Cette description de la conformation d'un phospholipide est basée sur la notation de Sundaralingham [4] conventionnellement employée pour les molécules lipidiques.

II.2.2. Orientation des têtes polaires par rapport à la normale à la bicouche. (Programme AngTet)

Considérant le vecteur dipôle (PN) comme étant le vecteur reliant les atomes de phosphore et d'azote de chaque monomère lipidique, la distribution angulaire correspond au nombre de vecteurs (PN) formant un angle compris entre θ et $(\theta + 1^\circ)$ par rapport à la normale à la bicouche.

$$f(\theta) = \langle (PN) \rangle \quad (6.2)$$

où le symbole $\langle \rangle$ signifie la moyenne sur l'ensemble des configurations de la dynamique moléculaire.

II.2.3. Orientation des chaînes aliphatiques par rapport à la normale. (Programme AngChain)

L'inclinaison moyenne des chaînes aliphatiques par rapport à la normale à la bicouche est déterminée par l'angle θ défini comme l'angle entre la normale à la bicouche et le "vecteur

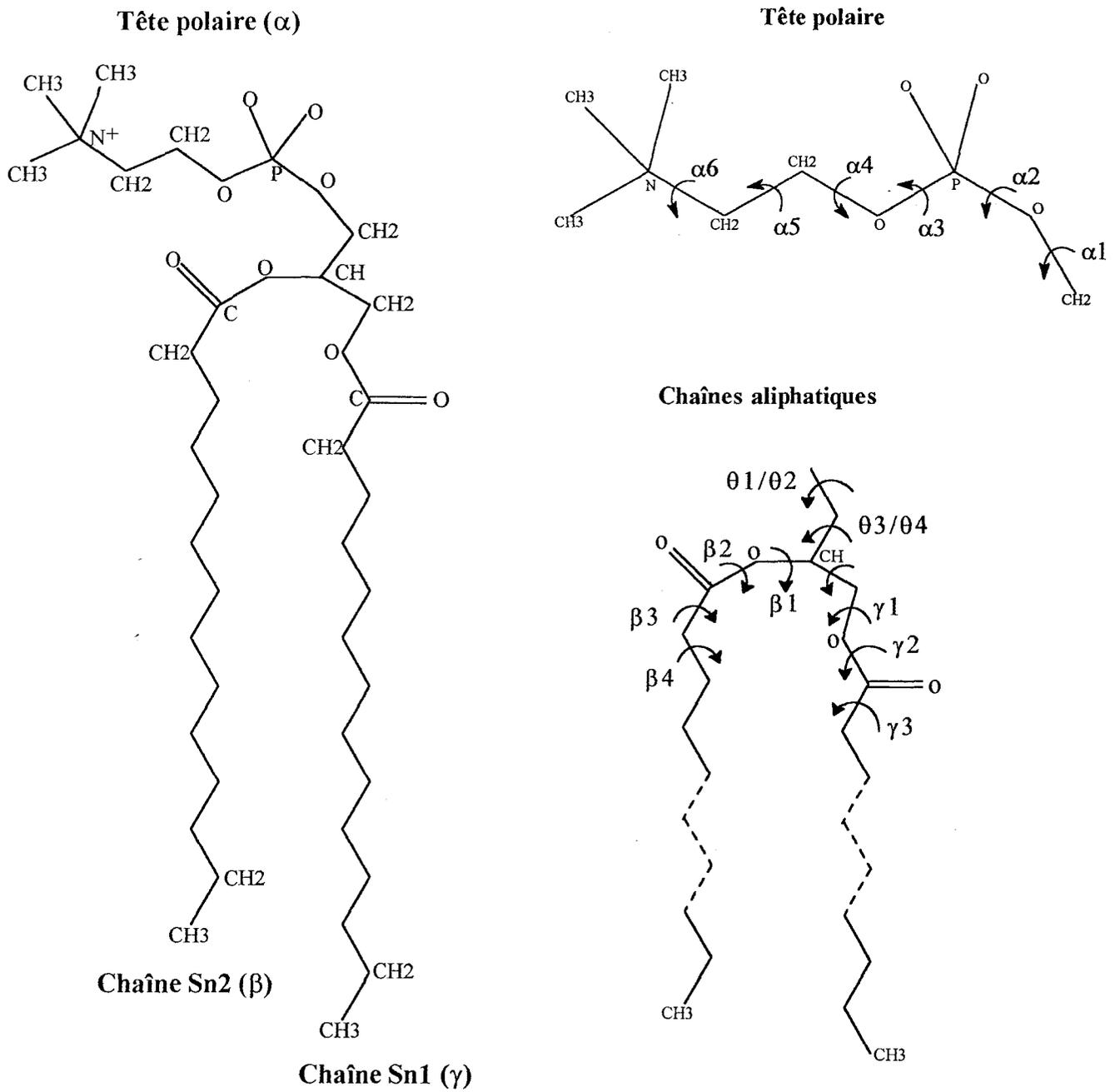


Figure n°2: Description d'une molécule de DMPC. Les angles de torsion sont numérotés selon la notation de Sundaralingam [4].

chaîne" V_c . Ce dernier correspond au vecteur reliant les milieux des liaisons C2-C3 et C10-C11 dans une chaîne donnée.

De la même manière que pour le vecteur dipôle, la distribution angulaire correspond au nombre de "vecteurs chaînes" V_c formant un angle compris entre θ et $(\theta + 1^\circ)$ par rapport à la normale à la bicouche

$$f(\theta) = \langle (V_c) \rangle \quad (6.3)$$

où le symbole $\langle \rangle$ signifie la moyenne sur l'ensemble des chaînes aliphatiques, de toutes les molécules et de toutes les configurations de la dynamique.

II.2.4. Paramètre d'ordre S_{CD} (Programme SCD)

Le paramètre d'ordre noté S_{CD} est un critère relatif à l'orientation des groupements méthylènes (CH_2) des chaînes aliphatiques. Ce paramètre constitue l'information de mesure de l'ordre dans la bicouche.

Le calcul théorique de ce paramètre peut être comparé aux valeurs expérimentales lorsqu'elles sont disponibles. La définition du tenseur paramètre d'ordre est la suivante:

$$S_{ij} = \frac{1}{2} \langle 3 \cos \Theta_i \cos \Theta_j - \delta_{ij} \rangle \quad (6.4)$$

où Θ_i représente l'angle formé entre le $i^{ème}$ axe moléculaire et la normale à la bicouche. Les crochets signifient la moyenne sur l'ensemble des configurations de la dynamique moléculaire. Les axes moléculaires sont définis par rapport à chaque groupe méthylène (CH_2) (figure n°3). Ainsi, pour le $n^{ème}$ groupe méthylène, ils correspondent à:

$$\left\{ \begin{array}{l} x: \text{le vecteur H-H.} \\ y: \text{la bissectrice de l'angle H-C-H.} \\ z: \text{le vecteur perpendiculaire au plan formé par H-C-H.} \end{array} \right.$$

Le paramètre d'ordre S_{zz} est appelé paramètre d'ordre local. Il peut prendre des valeurs comprises entre +1 (signifiant que les liaisons C-C sont en configuration complètement *trans* et que la chaîne aliphatique est parallèle à la normale à la bicouche) et -0.5 (pour lequel toutes les liaisons se trouvent en configuration *trans* tandis que la chaîne est perpendiculaire à la normale). La valeur nulle est synonyme d'une distribution isotrope (les chaînons CH_2 n'ont aucune orientation préférentielle). La méthode expérimentale permettant d'accéder à ce paramètre est la spectroscopie RMN de composés deutérés. Elle mesure le paramètre S_{CD} définissant l'orientation moyenne du vecteur C-D par rapport à la normale.

La relation entre le paramètre d'ordre calculé et celui issu de la mesure expérimentale est la suivante:

$$S_{CD} = \frac{2}{3} S_{xx} + \frac{1}{3} S_{yy} \quad (6.5)$$

De même, si le mouvement moléculaire est tel que l'on puisse considérer l'existence d'une rotation isotrope autour de l'axe z, alors on a $S_{zz} = -2 S_{xx} = -2 S_{yy}$ soit $S_{CD} = -1/2 S_{zz}$.

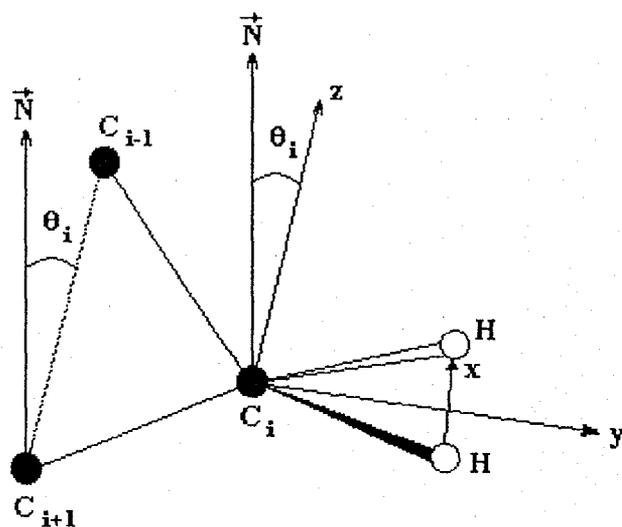


Figure n°3: Description des axes moléculaires x, y et z impliqués dans le calcul du paramètre d'ordre. N représente la normale à la bicouche.

II.2.5. Distribution radiale des molécules d'eau autour des têtes polaires. (Programme DistRad)

L'objectif de cette analyse est de juger de l'influence de la méthode de calcul des interactions non liées sur l'organisation structurale du solvant autour de groupements chargés. Afin d'obtenir des informations sur la disposition spatiale des molécules d'eau, les fonctions de distribution radiale de l'eau autour des atomes d'azote, de phosphore, d'oxygène (phosphate) et de carbone (glycérol) ont été étudiées à partir des résultats de dynamique moléculaire. Ces fonctions ont été calculées à partir de l'équation suivante:

$$g(r) = \frac{N(r)}{4\pi r^2 \rho \delta r} \quad (6.6)$$

où, $N(r)$ est le nombre d'atome d'oxygène de l'eau situé dans une "coquille" sphérique distante de r de l'atome de référence et d'épaisseur δr ; ρ est la densité, soit le rapport entre le nombre d'atome compris dans cette sphère et le volume de la boîte de simulation.

Le tracé de ces courbes nous ont alors permis de définir les diverses caractéristiques de la première couche de solvation. De même, le nombre de coordinats a pu être déterminé par intégration de ces courbes.

Partie 2:

Simulation par dynamique moléculaire de type NVT

(300ps) d'une bicouche lipidique:

Analyse structurale des effets de l'utilisation d'un potentiel tronqué de type sphérique pour le calcul des interactions non liées.

III. Méthode classique de calcul des interactions non liées.

L'étude structurale présentée ci-après a été réalisée à partir de la trajectoire de dynamique moléculaire NVT obtenue après 300ps de simulation. Le modèle de bicouche ayant été utilisé correspond à celui décrit dans le chapitre précédent. Les coordonnées et les vitesses de chacun des atomes ont été enregistrées toutes les 0,1ps. La méthode de calcul des interactions non liées correspond à la méthode classique du potentiel tronqué de type sphérique. Toutes les interactions ont donc été calculées en fonction d'un "cutoff" sphérique de 11Å.

III.1. Caractéristiques structurales d'ordre moléculaire de la bicouche.

L'étude structurale présentée dans ce paragraphe porte sur la globalité de la bicouche. Il s'agit d'étudier l'architecture de la membrane au travers des études de distribution atomique et de densité électronique le long de la normale à cette bicouche.

III.1.1. Distribution atomique le long de la normale à la bicouche.

La figure n°4 représente les distributions moyennes des atomes le long de la normale à la bicouche. Seuls les atomes de phosphate, d'azote et d'oxygène estérifiés des monomères lipidiques ainsi que les atomes d'oxygène et d'hydrogène des molécules d'eau y sont représentés.

On constate tout d'abord une relative symétrie des pics en terme de position de leur maximum le long de la normale à la bicouche (voir Partie 4,paragraphe V.2.). Les lipides positionnés dans les deux monocouches présentent un comportement indépendant l'un de l'autre même s'il tend à être identique.

Méthode classique

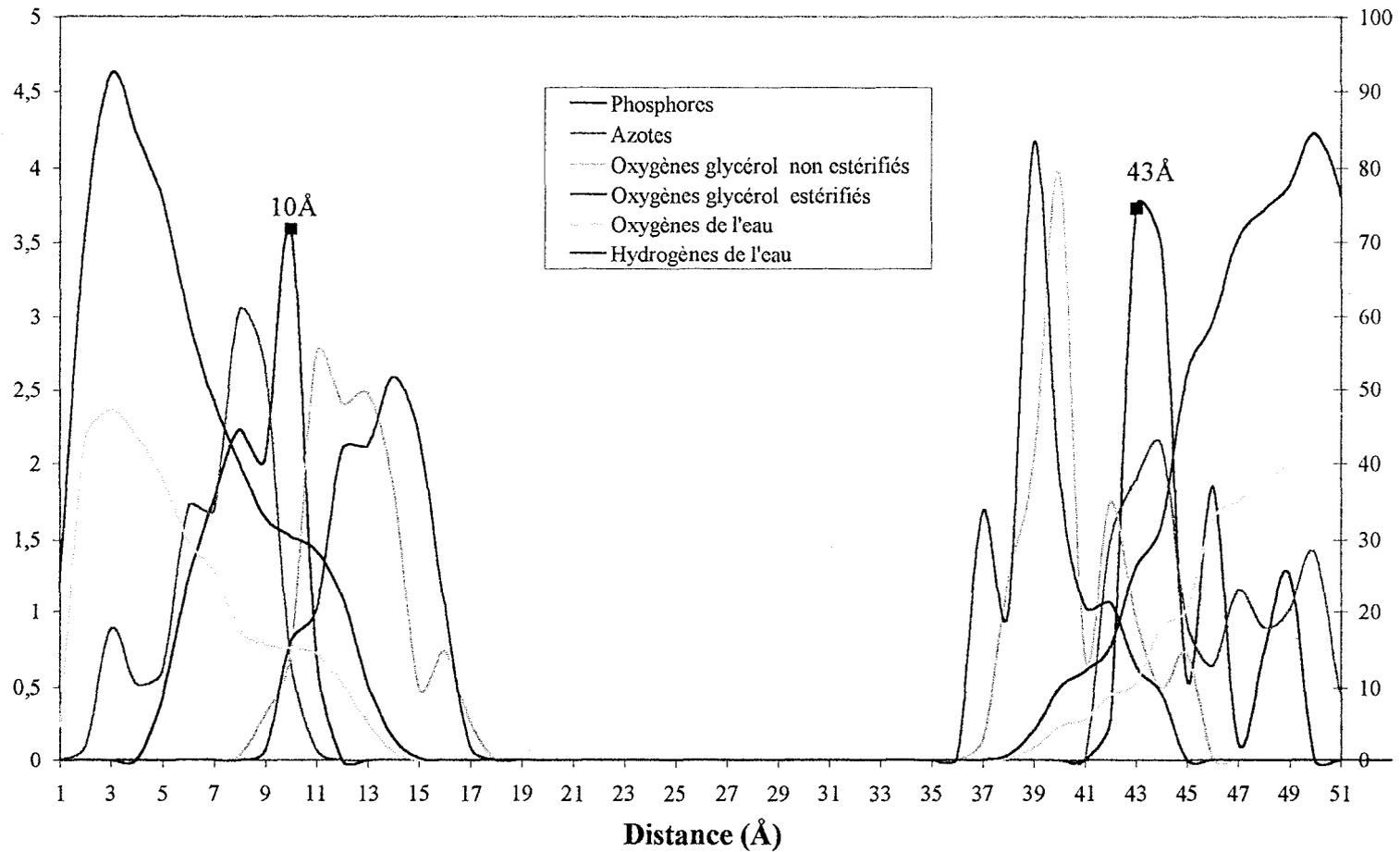


Figure n°4: Distribution atomique le long de la normale à la bicouche. L'épaisseur de la bicouche est calculée à partir de la distance entre les maximum des pics liés aux atomes de phosphores soit 33Å.

Sur la partie gauche du graphique, on remarque le chevauchement des pics liés aux atomes de phosphore et des atomes d'azote. Ce chevauchement traduit la tendance des têtes polaires à se replier dans le plan de la bicouche. Ce repliement a notamment été mis en évidence par Franks [5] au travers d'une étude par diffraction des rayons X pour des lécithines d'œufs. A partir du profil de densité électronique interprété en termes de conformation des composantes lipidiques, cet auteur est arrivé à la conclusion que le modèle de bicouche le plus probable était celui correspondant au positionnement approximatif de la tête polaire dans le plan de la bicouche. De même, par la méthode de diffraction des neutrons, Worcester et ses collaborateurs [6] sont arrivés à la même conclusion. La tendance des têtes polaires à se replier le long du plan de la bicouche est désormais un consensus général [7-9].

Le comportement des lipides de la deuxième moitié de la bicouche (à droite sur le graphique) est différent dans le sens que l'on observe cette fois une superposition des pics liés aux atomes d'azote et de phosphore. De même, une partie des atomes d'azotes se positionnent avant les atomes de phosphore. Ce phénomène traduit l'existence de têtes polaires complètement repliées le long de la bicouche voir vers l'intérieur de celle-ci. Les résultats expérimentaux ne réfutent pas l'existence de ces orientations mais les jugent comme peu stables [5,6]. Or, ces orientations apparaissent au travers de nos résultats comme représentant la majorité des conformations possibles de la tête polaire. Ceci est à notre sens un artefact de calcul dû à l'utilisation du potentiel tronqué sphérique.

Enfin, nos résultats présentent une distribution plus étendue pour les atomes d'azote comparativement aux atomes de phosphores présentant un pic plus fin. Ces atomes d'azote étant situés à l'extrémité de la tête polaire, une plus grande flexibilité leur est permise.

Cette large distribution entraîne l'apparition de différents pics à la fois pour l'azote et pour le phosphore. C'est donc à partir de la distance entre les pics les plus intenses du phosphate que l'on détermine de manière approximative la largeur de la bicouche lipidique.

Dans notre cas, cette distance est de 34 Å, résultat en accord avec la valeur expérimentale de $34 \pm 1 \text{Å}$ estimée par Lewis et Engelman [10]. Leur travaux ont porté sur l'étude par diffraction des rayons X de vésicules composées d'une ou plusieurs bicouches de phosphatidylcholines non hydratées à la température de 36°C.

Concernant les positions des molécules d'eau le long de la normale à la bicouche, on remarque leur présence jusqu'aux oxygènes de la partie glycérol des lipides. Cette pénétration des molécules d'eau a été observée par Marrink et al [11] lors de la simulation par dynamique moléculaire d'une bicouche lipidique de DMPC en phase cristal liquide. Elle traduit la possible formation de liaisons hydrogènes entre les molécules d'eau et les atomes d'oxygène non estérifiés des lipides.

III.1.2. Profil de densité électronique.

Le profil de densité électronique de l'ensemble de la bicouche (DMPC+ H₂O) est représenté sur la figure n°5. Afin de tenir compte de la présence du moment dipolaire des têtes polaires, le calcul de la densité électronique a été réalisé en attribuant 16 électrons à chaque atome de phosphore et 6 aux atomes d'azote.

Aux extrémités de cette figure, on observe tout d'abord une très forte densité électronique correspond à l'interface eau/tête polaire. Puis survient une diminution de cette densité dans la région correspondant à la partie glycérol des phospholipides. L'augmentation au centre de la bicouche traduit un enchevêtrement des chaînes aliphatiques spécifique à la phase cristal liquide. Cependant, cet enchevêtrement semble trop important. Nous aurions dû en effet observer une diminution de la densité électronique au centre de la bicouche [5,12,13]. La phase cristal liquide présente la spécificité d'un "désordre" des chaînes aliphatiques se traduisant effectivement par un enchevêtrement des chaînes aliphatiques mais aussi et surtout par une inclinaison de ces chaînes par rapport à la normale à la bicouche [14-16].

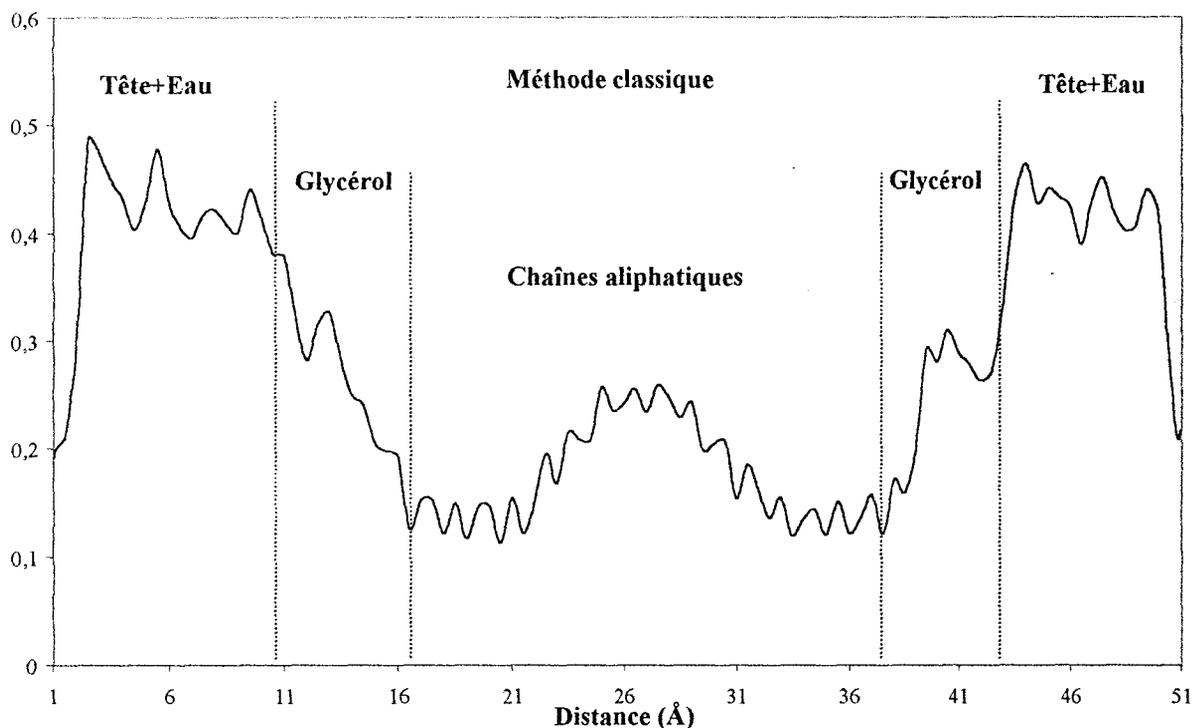


Figure n°5: Profil de densité électronique le long de la normale à la bicouche. La densité est exprimée en unité arbitraire.

III.2. Etude structurale lipidique à l'échelle atomique.

Afin de réaliser cette étude structurale, nous avons choisi de détailler l'analyse successive de trois zones de la bicouche, à savoir, les têtes polaires, les chaînes aliphatiques et enfin les molécules d'eau.

III.2.1. Etude structurale des têtes polaires.

Cette étude structurale se décompose en deux parties distinctes. La première porte sur l'orientation des têtes polaires par rapport à la normale à la bicouche et la seconde sur la conformation de celles-ci. Selon la notation de Sundaralingam (figure n°2) [4], nous avons donc étudié les diverses torsions notées α_1 , α_2 , α_3 , α_4 et α_5 de la tête polaire.

III.2.1.1. Orientation des têtes polaires.

La figure n°6 présente l'orientation du dipôle PN des têtes polaires par rapport à la normale à la bicouche. On observe une répartition relativement large de l'angle qui s'étend de 69° à 157° . Dans ce domaine apparaissent trois conformations privilégiées correspondant respectivement aux angles de 76° , 104° et 147° . La valeur la plus probable est donnée pour 104° . Cette valeur traduit une tendance des têtes polaires à se replier sur le plan de la bicouche et confirme les prédictions établies à partir de l'analyse de la distribution atomique le long de la normale à la bicouche. L'accord avec les résultats expérimentaux est donc confirmé [5-9]. Cependant, il faut garder à l'esprit que ces résultats représentent une moyenne des têtes polaires des deux monocouches (voir partie IV: "Discussion", paragraphe V.2). Ceci explique notamment l'existence d'une population (7%) dont les têtes polaires forment soit un angle inférieur à 90° avec la normale à la bicouche correspondant à un repliement de la tête polaire vers l'intérieur de la bicouche.

Robinson et al [17] ont également observé, lors de la simulation de dynamique moléculaire d'une bicouche similaire de DMPC, un angle moyen de 5° formé par les têtes polaires avec le plan de la bicouche (soit une valeur équivalente à 95° par rapport à nos résultats). D'autres études théoriques [17-21] ont aussi montré que l'orientation du dipôle PN des têtes polaires de phosphatidylcholines était en moyenne parallèle au plan de la bicouche. Marrinck et al [11] ont notamment calculé à partir des résultats de la dynamique moléculaire un angle moyen de 20° entre le vecteur PN et le plan de la bicouche. De même, il a été démontré expérimentalement [5-9] et théoriquement [17] que cette orientation de la tête polaire ne dépendait pas du taux d'hydratation de la bicouche. En terme énergétique, cette orientation est en fait la plus probable puisqu'elle tend vers l'annulation par les oxygènes des esters de la charge positive portée par l'azote. De même, cette inclinaison favorise la

formation de liaisons hydrogène entre les molécules d'eau et les groupements phosphate PO_4^{2-} de potentiel négatif.

L'angle de 147° fait référence à un vecteur PN orienté vers le milieu aqueux. Cette conformation des têtes polaires représente 13% de la population lipidique. Son existence confirme l'hypothèse que nous avons émise précédemment concernant la flexibilité de la tête polaire.

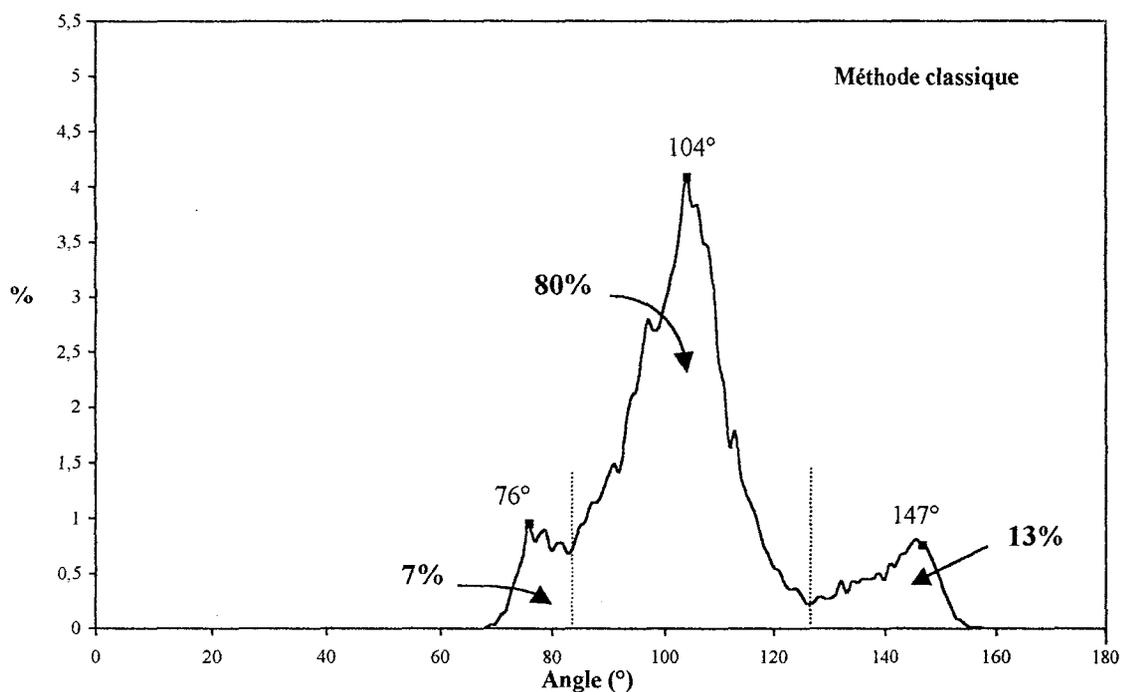


Figure n°6: Orientation moyenne des têtes polaires. Un angle de 0° signifie que le dipôle PN de la tête polaire est orientée vers l'intérieure de la bicouche, tandis qu'un angle de 180° traduit l'orientation de ce vecteur en direction des molécules d'eau.

III.2.1.2. Conformation des têtes polaires.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau n°2 et comparés avec ceux obtenus par Robinson et al [17] lors de l'étude par simulation de dynamique moléculaire d'une bicouche de DMPC en phase cristal liquide.

Concernant les trois premières torsions α_1 , α_2 et α_3 , les résultats sont similaires à ceux obtenus par Robinson et al [17] et conformes aux prédictions expérimentales [22-28]. Ainsi, pour ces trois angles, on trouve respectivement une conformation t/ g/ g en proportion de plus de 65%. Pour la torsion α_4 , 90% des torsions présentent une conformation *trans*. Robinson et al [17] ont également trouvé une majorité de formes *trans* mais dans un pourcentage nettement inférieur (soit 56%). Enfin, la torsion α_5 présente une conformation prédominante *gauche*. Cette prédominance a été montrée expérimentalement par Akutsu [28-29]. L'interprétation des spectres Raman des groupements choline de bicouches lipidiques (soit le DPPC) sélectivement deutérées a montré que la torsion O-C-C-N⁺ (soit la torsion α_5) présentait une conformation majoritairement *gauche* que ce soit en phase gel ou cristal liquide. La reproduction de la conformation majoritairement *gauche* pour cette torsion est très intéressante par le fait qu'elle n'avait jamais été observée lors des simulations par dynamique moléculaire de DMPC. La prédominance *gauche* de la torsion α_5 a également été mise en évidence à partir de spectres de RMN ¹H et ¹³C réalisés sur des phosphatidylcholines [23].

Tableau n°2: Etude conformationnelle des torsions des têtes polaires phospholipidiques.

Pourcentages trans/gauche.

Torsion	Méthode classique			Robinson et al [4]			Exp[22-29]
	g ⁺	g ⁻	t	g ⁺	g ⁻	t	
α_1	1	13	86	8	25	67	t
α_2	30	35	35	36	37	27	g
α_3	33	42	25	36	37	26	g
α_4	9	1	90	18	26	56	t
α_5	60	33	7	6	12	82	g

Les pourcentages élevés trouvés pour les cinq torsions traduisent une flexibilité réduite mais présente des têtes polaires. A partir d'une étude effectuée par RMN ^2H et ^{31}P des têtes polaires de bicouches phosphatidylcholine en phase cristal liquide, Seelig et al [24] ont montré qu'une libre rotation de cette tête était exclue sans pour autant présenter une rigidité totale. De même, Stouch et al [18] ont démontré qu'il n'existait qu'un nombre réduit de conformations possibles pour les têtes polaires de type phosphatidylcholine.

III.2.2. Etude structurale des chaînes aliphatiques.

L'étude structurale des chaînes aliphatiques se décompose en trois parties, portant successivement sur l'orientation des chaînes aliphatiques, leurs conformations et enfin leur "désordre". Ce dernier critère est mesuré au travers de ce que l'on appelle le paramètre d'ordre.

III.2.2.1. Distribution angulaire des chaînes aliphatiques.

L'angle moyen formé entre les chaînes aliphatiques et la normale à la bicouche est présenté dans la figure n°7. La distribution s'étend de 0° à 27° . L'angle moyen arithmétique est de 6.7° tandis que l'angle le plus probable est de 3° . Expérimentalement, l'angle le plus probable représentatif de la phase cristal liquide des phosphatidylcholines est généralement donné à 30° environ [30,31]. Cependant, il faut savoir qu'il s'agit le plus souvent d'une approximation et non d'une mesure expérimentale directe. De plus, ces données ne concernent pas celles du DMPC mais du DPPC possédant deux carbones supplémentaires par chaînes aliphatiques.

On remarque que les chaînes aliphatiques ont perdu leur orientation initiale de 0° pour s'étendre jusqu'à 27° . Elles présentent donc une mobilité qui tend à les orienter vers 30° . La

durée de 300ps de l'étude structurale apparaît comme une limite à l'observation de l'inclinaison des chaînes aliphatiques représentative de la phase cristal liquide.

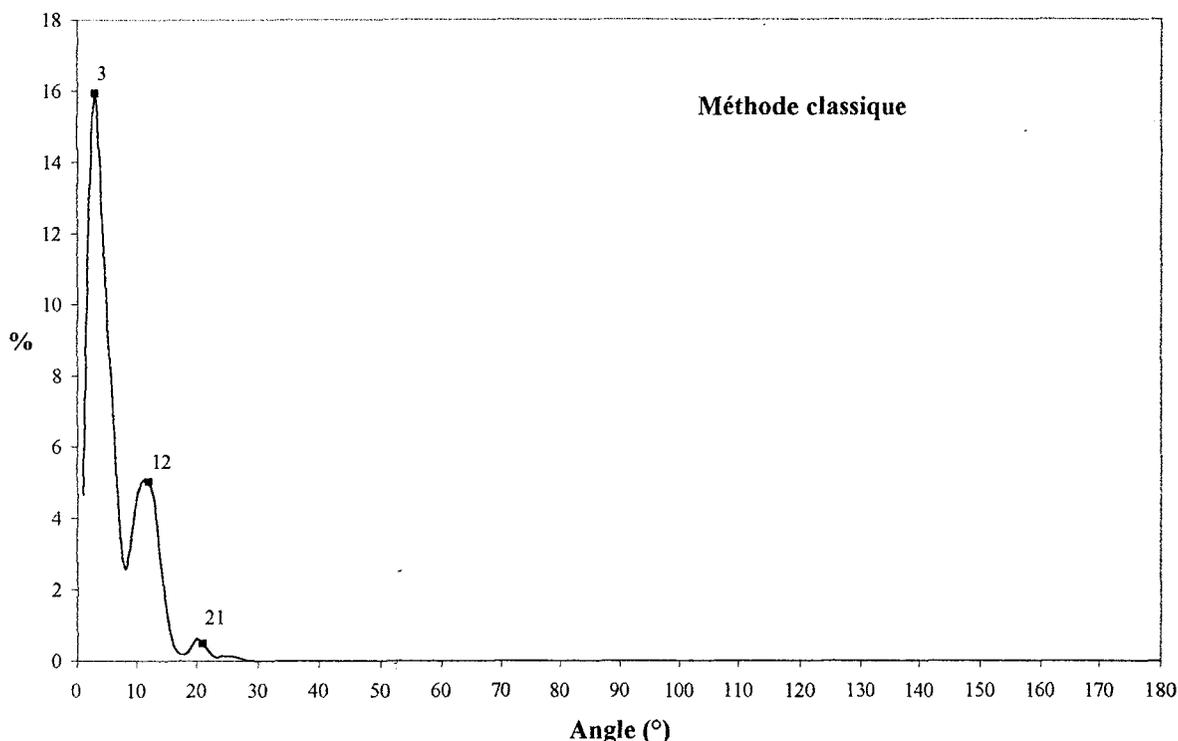


Figure n°7: Orientation des chaînes aliphatiques par rapport à la normale à la bicouche. Un angle de 0° signifie que le vecteur reliant les milieux les extrémités des chaînes aliphatiques est orienté vers le centre de la bicouche.

Les divers travaux théoriques portant sur la simulation par dynamique moléculaire du DMPC ont en général obtenu une inclinaison des chaînes supérieures à nos résultats [17-21]. Le plus souvent, la structure initiale de leur modèle de bicouche présente une inclinaison non nulle des chaînes par rapport à la normale ce qui n'est pas le cas dans notre étude. Cependant, comment peut-on juger de l'efficacité du champ de forces à balayer l'espace conformationnel si on le restreint dès la construction? De même, ces auteurs ont généralement employé des champs de forces pour lesquels la représentation étendue n'était pas employée. Ceci implique donc que les hydrogènes des chaînes aliphatiques n'étaient pas explicitement pris en compte.

III.2.2.2. Conformation des chaînes aliphatiques.

Dans leur ensemble, les torsions présentent une conformation majoritairement *trans* (tableau n°3). On observe l'apparition de conformères gauches pour les torsions proches de la partie glycérol. Ce phénomène est plus accentué pour les chaînes Sn2 que pour les chaînes Sn1. Cette forte probabilité de conformation *gauche* pour les torsions β_2 à β_6 des chaînes Sn2 est essentiellement due à la tendance du groupement glycérol à s'orienter de manière perpendiculaire au plan de la bicouche. Cette différence de comportement entre les deux chaînes a été démontrée de manière expérimentale au travers d'études RMN de bicouches lipidiques en phase cristal liquide [32,33].

On constate que pour les torsions β_7 à β_{13} , la flexibilité est très réduite puisque seule la conformation initiale *trans* est représentée. L'absence de conformation *gauche* est à déplorer.

L'existence de torsions présentant des torsions de type *gauche* est malgré tout encourageant. Ce constat trouve confirmation dans les résultats expérimentaux suivants. Des mesures expérimentales ont montré que le temps de conversion entre les conformations *gauche* et *trans* d'un groupement méthyle terminal était de l'ordre de 10ps. Cette durée passe à plusieurs centaines de picosecondes lorsqu'il s'agit des groupements éthyliques de chaînes aliphatiques [34]. L'observation de cette transition peut parfois nécessiter jusqu'à 500ps voire 1ns [18].

III.2.2.3. Paramètre d'ordre S_{CD} .

Les résultats obtenus pour le calcul du paramètre d'ordre S_{CD} sont présentés dans la figure n°8. La courbe obtenue peut être séparée en trois parties distinctes. Tout d'abord, on observe une augmentation progressive de la valeur du paramètre d'ordre pour atteindre ensuite

Tableau n°3: Valeurs des angles de torsion des chaînes aliphatiques (Méthode classique de calcul des interactions non liées)

Chaînes Sn2				Chaînes Sn1			
Torsions	g+	g-	trans	Torsions	g+	g-	trans
β_1	0	0	100	γ_1	0	0	100
β_2	46	28	26	γ_2	9	20	71
β_3	22	3	75	γ_3	8	4	88
β_4	25	4	71	γ_4	0	9	91
β_5	27	0	72	γ_5	3	0	97
β_6	0	0	100	γ_6	2	0	98
β_7	0	0	100	γ_7	1	0	99
β_8	0	0	100	γ_8	3	0	97
β_9	0	0	100	γ_9	0	0	100
β_{10}	0	0	100	γ_{10}	0	0	100
β_{11}	0	0	100	γ_{11}	1	0	99
β_{12}	0	0	100	γ_{12}	0	0	100
β_{13}	0	0	100	γ_{13}	0	0,2	99,8
β_{14}	40	28	32	γ_{14}	25	38	37

Méthode classique

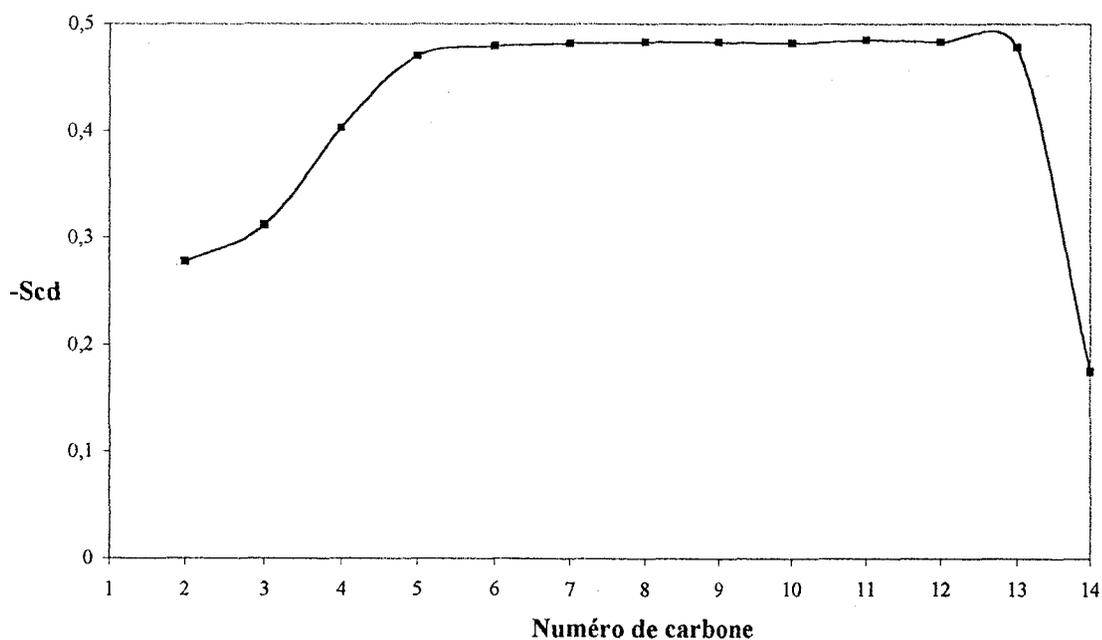


Figure n°8: Paramètre d'ordre ($-S_{CD}$) des chaînes aliphatiques.

un plateau et enfin une diminution pour les carbones centraux. Cette allure générale est caractéristique des phospholipides de type PC tel que le DMPC [31,35-37].

Cependant, les valeurs obtenues du paramètre $-S_{CD}$ sont en moyenne supérieures à celles attendues. En effet, les études théoriques résultant de la simulation de bicouche de DMPC tendent à donner une valeur de $-S_{CD}$ proche de 0.2 traduisant un désordre partiel des chaînes aliphatiques [17-19,21]. Cependant, ces résultats sont en général comparés aux données expérimentales relatives au DPPC en phase cristal liquide [38]. Il n'existe en effet pas de données complètes et précises sur le DMPC dans cette phase.

D'autre part, Stouch [18] a observé que ce paramètre était très sensible aux conditions de simulation par dynamique moléculaire. De plus, il a été démontré expérimentalement qu'une variation de température de l'ordre de 20 à 50°C pouvait engendrer une variation de près de 50% de la valeur du paramètre d'ordre [39].

La durée de la simulation par dynamique moléculaire peut être là aussi la cause de ce manque de "désordre" dans les chaînes aliphatiques.

III.3. Etude structurale de l'environnement aqueux des têtes polaires.

Nous voulons au travers de l'étude de l'environnement des têtes polaires juger de l'influence du mode de calcul des interactions non liantes. C'est en effet sur l'organisation des molécules d'eau dans la proximité des têtes polaires chargées que cette influence sera certainement la plus marquée.

III.3.1. Distribution radiale de l'eau autour de l'azote.

La courbe $g(r)$ présente un premier pic de solvation dont l'intensité maximale correspond à une distance de 4,55Å entre l'atome d'oxygène de l'eau et l'atome d'azote (figure n°9). Chiu et al [19] ainsi que Damodoran et al [20,21] ont obtenu des résultats similaires dont les valeurs maximales correspondent à des distances entre les atomes d'azote et les molécules d'eau de 4.5Å et 4.6Å. La largeur importante de cette première couche de solvation peut être attribuée aux diverses configurations que prend la tête polaire. Le second pic observé présente un maximum à 6,85Å. Il semble être la résultante du chevauchement de deux pics très proches. On observe de même une valeur non nulle pour le retour à la base entre ces deux pics. Ceci peut être interprété comme étant la résultante d'un échange de molécules d'eau entre les deux couches de solvation.

Compte tenu de la définition de la distribution radiale, $g(r)$ doit à longue distance tendre vers la valeur unité 1 relative à la densité en eau dans un milieu purement aqueux. Dans notre cas, cette valeur est atteinte pour des distances supérieures à 12Å montrant l'influence à longue distance du groupement choline ($-N^+-(CH_3)_3$) sur l'organisation des molécules d'eau environnantes.

Par l'intégration de cette courbe, nous avons pu déterminer le nombre de molécules d'eau de la première couche de solvation soit 22 molécules de coordination.

III.3.2. Distribution radiale de l'eau autour du phosphore.

La première couche de solvation est représentée par un pic fin à deux sommets situés respectivement à 3,45Å et 3,85Å de l'atome de phosphore (figure n°9). L'existence d'une distribution bimodale des molécules d'eau autour des atomes de phosphore est certainement liée au repliement plus ou moins important des têtes polaires observé précédemment.

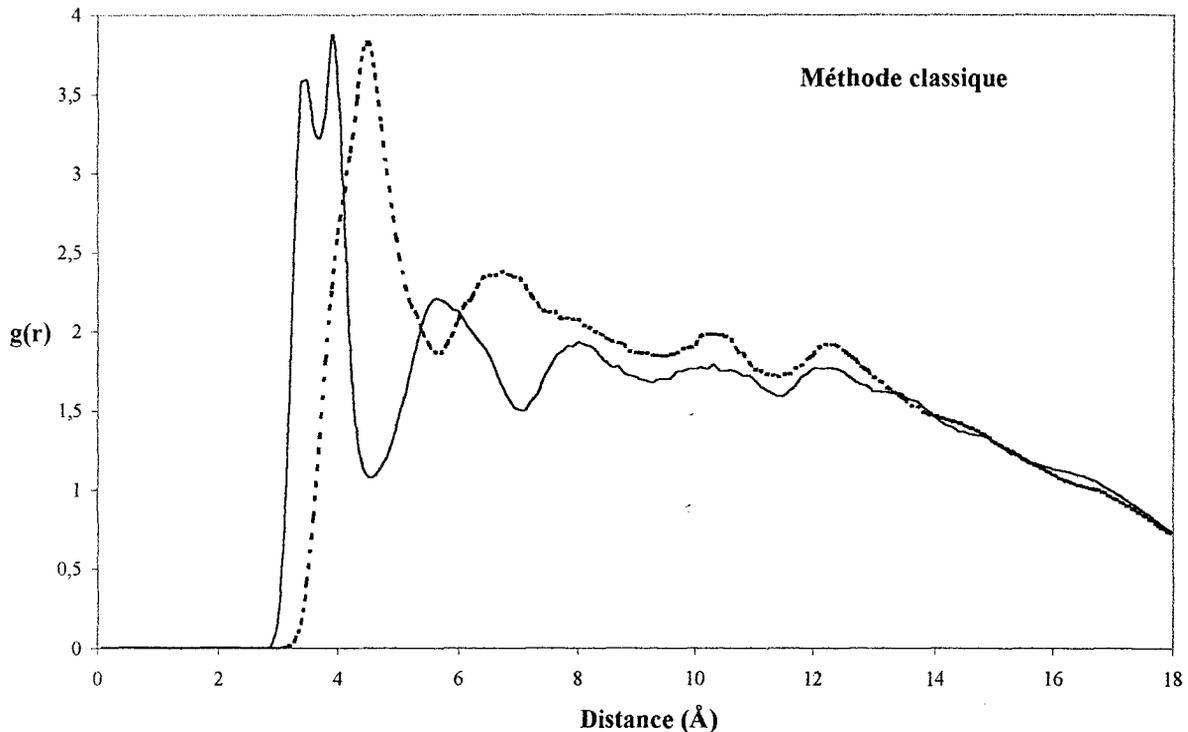


Figure n°9: Distribution radiale des molécules d'eau autour des atomes d'azotes (courbe pointillée) et des atomes de phosphores (courbe pleine).

Selon le repliement et donc la position spatiale des groupements phosphatés, l'hydratation est différente. L'origine de cette distribution bimodale peut aussi être la présence des deux types atomes d'oxygène (estérifiés et non estérifiés) autour de l'atome de phosphore. Du fait de leur inéquivalence en terme de type atomique et de charge (chapitre 5, tableau n°3), ces atomes vont présenter une hydratation différente. Alper et al [40] n'ont pour leur part observé qu'un seul pic centré à 3,6Å.

L'intégration de ces pics a permis de dénombrer la présence de 9 molécules d'eau en moyenne dans cette première couche de solvatation.

La seconde couche de solvatation prend sa valeur maximale à 5,65Å. Ce deuxième pic de solvatation est beaucoup plus marqué que dans le cas des atomes d'azote. De même, la séparation entre ces deux couches est plus nette. Le retour à la base est plus important. Les forces intermoléculaires entre le groupement (PO_4^{2-}) et les molécules d'eau sont certainement de type "liaison hydrogène". Ces liaisons possèdent une géométrie bien définie qui s'adapte très facilement à la flexibilité. C'est pourquoi cette première couche de solvatation se distingue aussi nettement des suivantes.

De la même façon, on distingue de manière très nette une troisième couche de solvatation à une distance de 8,2Å. Des travaux de simulation similaires ont aussi observé la présence de cette troisième couche de solvatation mais pour une distance de 9Å [40].

Les interactions entre molécules d'eau et atomes de phosphore semblent donc être très différentes celles impliquant le groupement choline. Du fait du repliement de la tête polaire dans le plan de la bicouche, ces groupements phosphatés sont alors mis en valeur face aux molécules d'eau. De plus, ces dernières présentent une affinité plus grande pour les charges portées par les atomes d'oxygène non estérifiés du groupe phosphaté (PO_4^{2-}) que pour la charge positive de l'atome d'azote du groupement choline ($\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$) du fait de la possible formation de liaisons hydrogènes. Ceci se traduit en termes énergétiques par une enthalpie d'interaction beaucoup plus faible entre la choline et les molécules d'eau que celle représentant l'interaction entre le groupement phosphate et ces mêmes molécules d'eau [18]. De même, on constate que les interactions choline/eau sont très proches énergétiquement des interactions eau/eau d'où une influence plus faible et moins marquée du groupement choline sur les molécules d'eau environnantes que le groupement phosphaté.

III.3.3. Distribution radiale de l'eau autour des oxygènes du groupement phosphate.

La figure n°10 illustre les courbes de distributions radiales des molécules d'eau autour des atomes d'oxygène du groupement phosphate des têtes polaires. Les atomes d'oxygène estérifiés et non estérifiés ont été distingués.

Concernant les atomes d'oxygène non estérifiés, la courbe de distribution radiale présente un premier maximum situé à 2,7Å puis deux autres à des distances respectives de 4,9Å et 7Å. Cette courbe présente une parfaite similitude avec celle obtenue par Alper et al [40] lors de l'étude de l'hydratation d'une bicouche de DMPC par simulation de dynamique moléculaire. De par leur charge délocalisée et leur absence d'encombrement stérique, les oxygènes phosphoryles présentent une hydratation intense. L'intégration de cette courbe de distribution radiale montre que la première couche de solvation rassemble en moyenne 4 molécules d'eau autour de ces atomes d'oxygène.

Pour les oxygènes estérifiés, on note l'apparition de trois pics dont les maxima sont positionnés à des distances identiques à celles des atomes d'oxygène non estérifiés. Le premier pic est très étroit tandis que les second et troisième pics de solvation sont quant à eux plus étendus. L'intensité de ce premier pic est très faible comparativement à celui observé pour les oxygènes non estérifiés. La solvation du groupement phosphaté est donc principalement localisée autour des oxygènes non estérifiés. Alper et al [40] ont également observé cette différence.

III.3.4. Distribution radiale de l'eau autour des carbones du groupement glycérol.

L'étude du profil de distribution radiale des molécules autour des carbones glycérol montre la présence d'un pic fin et de très faible intensité à 3,8Å (figure n°11). Ce pic traduit la

présence faible de molécules d'eau dans la proximité des groupement glycérol des lipides. Cette présence a été observée expérimentalement [41] et soulignée par la théorie [40]. Un second pic est observable vers 6Å. Il apparaît comme la juxtaposition de deux pics très proches. Sa valeur étant de très faible intensité, nous ne pouvons le désigner comme relatif à une couche de solvation.

Avec l'augmentation de la distance entre les atomes de carbones et les molécules d'eau, la courbe de distribution radiale présente une augmentation constante jusqu'à atteindre la valeur unitaire. L'intégration de cette courbe pour des distances comprises entre 0 et le premier minimum observé donne un nombre de molécules d'eau équivalent à ~2.

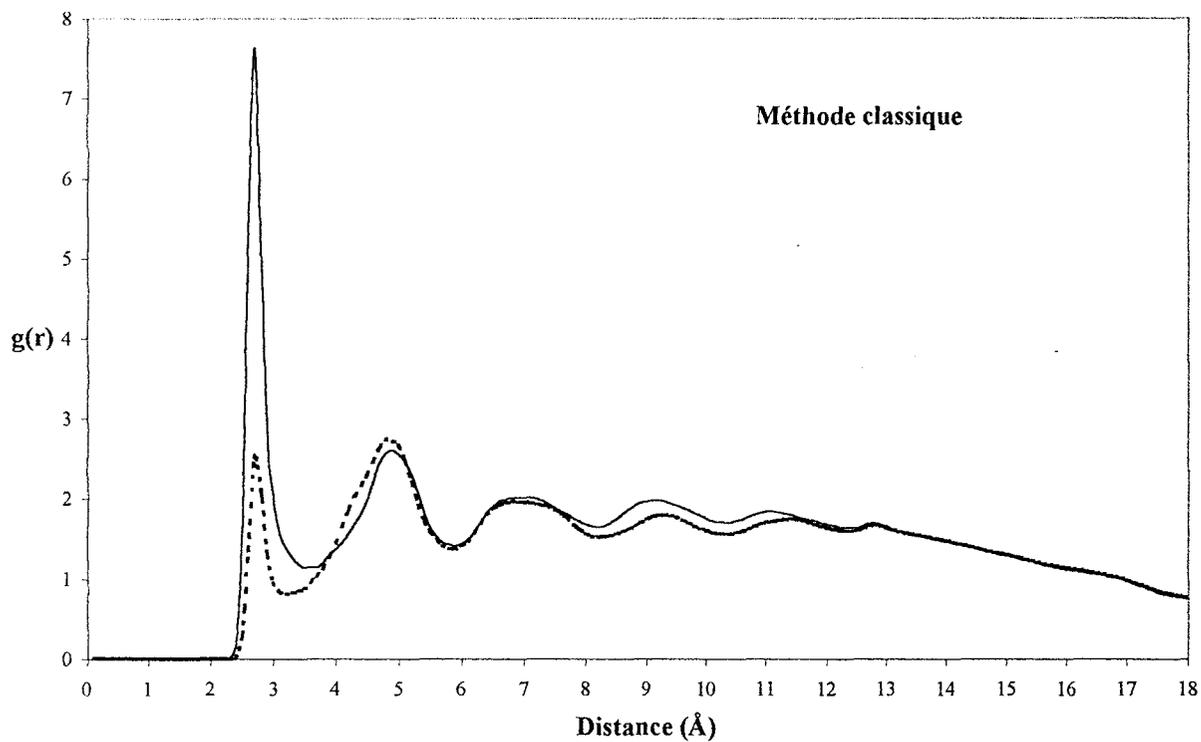


Figure n°10: Distribution radiale des molécules d'eau autour des oxygènes non estérifiés (courbe pleine) et estérifiés (courbe pointillée) du groupement phosphate.

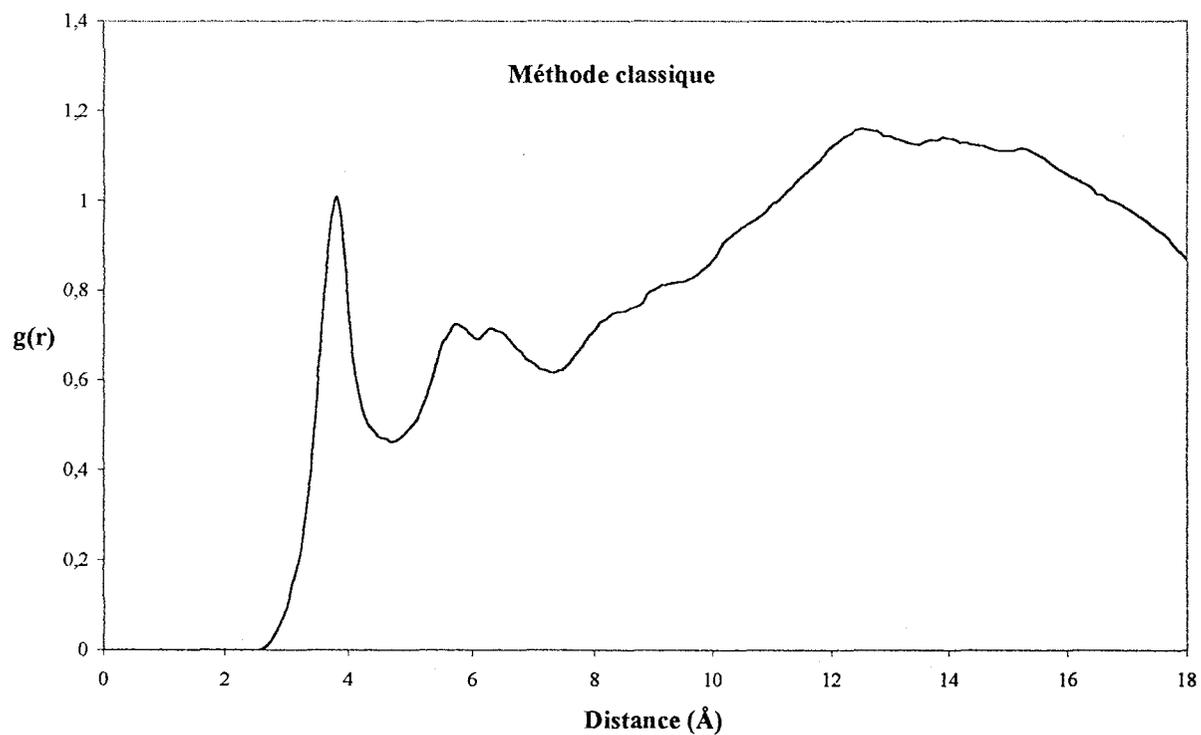


Figure n°11: Distribution radiale des molécules d'eau autour des carbones glycérols.

Partie 3:

Simulation par dynamique moléculaire de type NVT

(300ps) d'une bicouche lipidique:

Analyse structurale des effets de l'utilisation d'un potentiel tronqué non sphérique pour le calcul des interactions non liées.

Développement d'une nouvelle méthodologie de calcul.

IV. Méthode modifiée de calcul des interactions non liées.

L'étude structurale présentée dans cette troisième partie concerne la trajectoire de dynamique moléculaire NVT calculée à partir de notre nouvelle stratégie de calcul des interactions non liées. La structure initiale du modèle de bicouche employé dans cette simulation est parfaitement identique à celui utilisé dans l'étude précédente. La durée de la simulation a également été de 300ps après équilibrage énergétique du système. La fréquence de collection des coordonnées est de 0,1ps. Les dimensions des distances de coupure employées dans cette étude sont respectivement de 23,5Å, 15Å et 11Å pour le "cutoff" de type rectangulaire appliqué aux interactions entre soluté/soluté et soluté/solvant, et de 11Å pour le "cutoff" de type sphérique appliqué aux interactions solvant/solvant.

IV.1. Caractéristiques structurales d'ordre moléculaire de la bicouche.

De la même manière que pour l'étude structurale précédente, nous avons distingué les informations d'ordre moléculaire et atomique.

IV.1.1. Distribution atomique le long de la normale à la bicouche.

Les différentes courbes de distribution atomiques sont présentées au travers de la figure n°12. Nous pouvons constater dans un premier temps, la meilleure symétrie des courbes par rapport au centre de la bicouche comparativement à la méthode "classique" (figure n°4). De même, les distributions des atomes d'azote et de phosphate présentent une étendue plus étroite.

L'épaisseur de la bicouche mesurée à partir de la distance d(P-P) reste de 34Å si elle est mesurée à partir des pics les plus hauts ce qui est en accord avec les mesures expérimentales [10].

Méthode modifiée

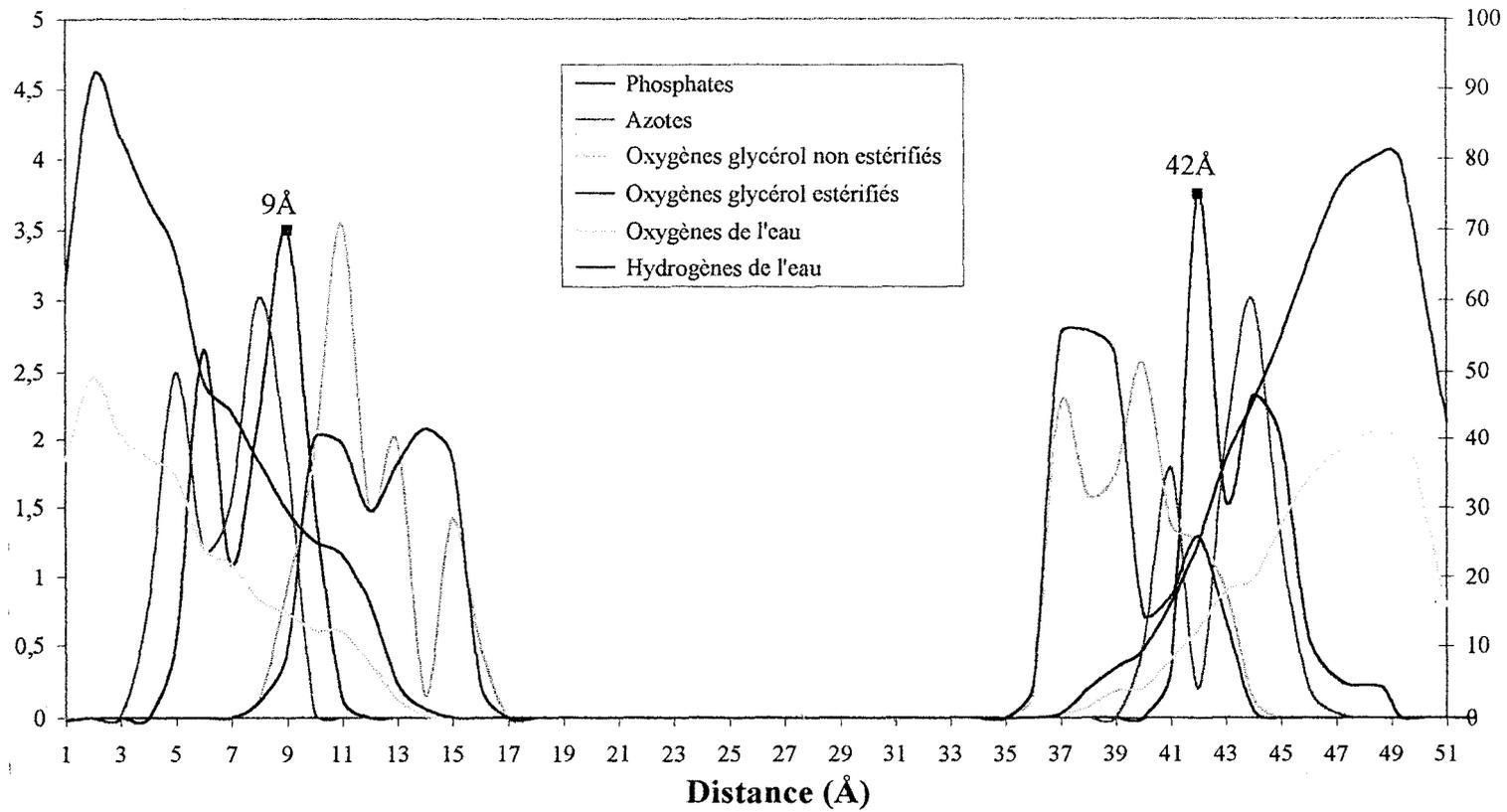


Figure n°12: Distribution atomique le long de la normale à la bicouche. L'épaisseur de la bicouche est calculée à partir de la distance entre les maximum des pics liés aux atomes de phosphores soit 33Å.

La répartition des atomes d'azote et de phosphore s'étend respectivement de 6Å à 7Å en moyenne. La méthode "modifiée" fait également apparaître un pic relatif aux atomes d'azote qui traduit le repliement des têtes polaires vers l'intérieur de la bicouche. Cependant, ce pic ne représente pas la conformation privilégiée de ces têtes contrairement à la méthode "classique". En opposition avec les résultats issus de la "méthode classique", la "méthode modifiée" de calcul des interactions non liées ne fait pas apparaître de manière aussi évidente l'existence de têtes polaires parfaitement repliées (90°) le long de la surface à la bicouche. Le chevauchement des pics liés aux atomes d'azote et aux atomes de phosphore a en effet disparu. De même, une orientation complètement dirigée vers le milieu aqueux semble spécifique à la méthode du "cutoff" sphérique classique (les pics extrêmes liés aux atomes d'azote ont disparu).

Pour ce qui est des molécules d'eau, leur présence dans la région glycérol des lipides est une nouvelle fois observée.

IV.1.2. Profil de densité électronique.

Le profil de densité électronique le long de la normale à la bicouche est représenté sur la figure n°13. Les trois régions distinctes des têtes polaires, de la partie glycérol et enfin des chaînes aliphatiques décrivent un profil de densité parfaitement similaire à celui obtenu par la méthode classique de calcul des interactions non liées (figure n°5). L'enchevêtrement des chaînes aliphatiques n'a ni disparu, ni diminué. Ceci confirme l'hypothèse que le mode de calcul des interactions non liées n'est pas mis en jeu dans ce phénomène. L'hypothèse émise à propos de l'impact de la durée de la dynamique ainsi que du choix de la conformation initiale des chaînes aliphatiques sur l'allure du profil de densité semble la plus plausible.

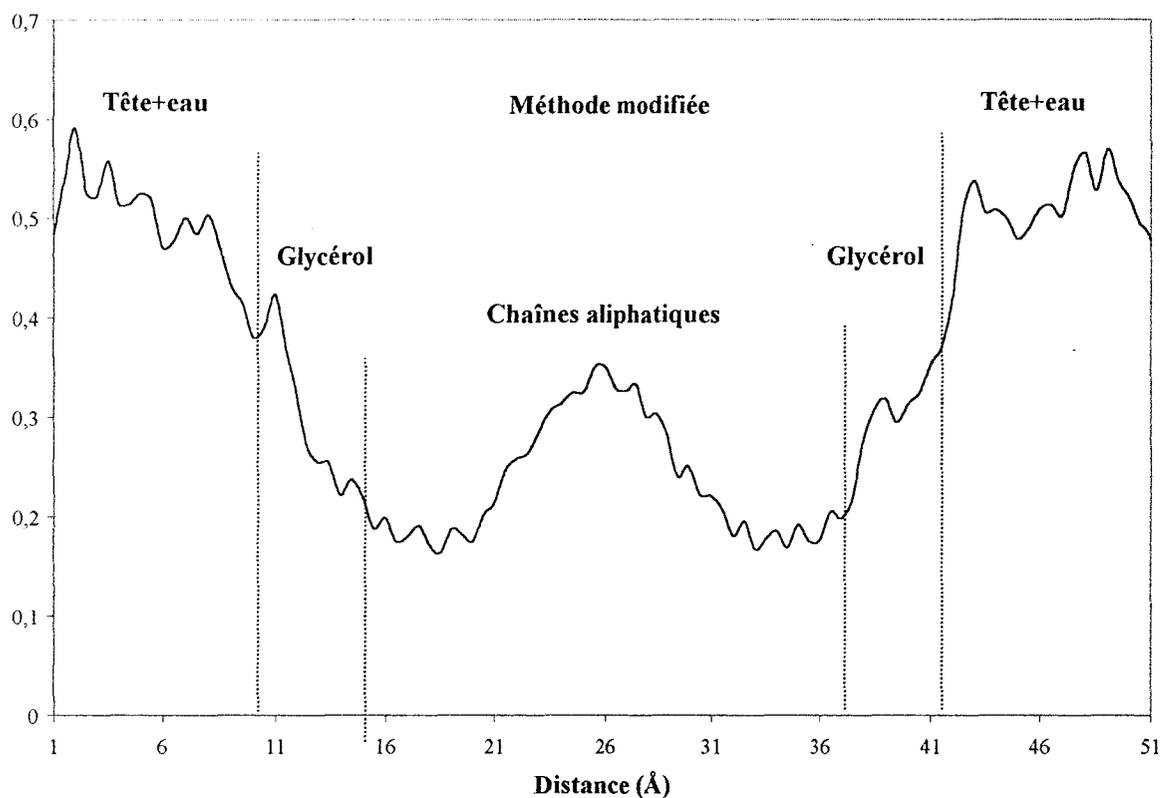


Figure n°13: Profil de densité électronique le long de la normale à la bicouche. La densité est exprimée en unité arbitraire.

IV.2. Etude structurale lipidique à l'échelle atomique.

Au cours de ce paragraphe, l'orientation et la conformation des têtes polaires ainsi que celle des chaînes aliphatiques seront décrites et comparées aux résultats obtenus par la méthode "classique" de calcul des interactions non liées.

IV.2.1. Etude structurale des têtes polaires.

Cette étude spécifique aux têtes polaires des molécules lipidiques est une analyse de l'orientation et de la conformation moyennes de ces groupements.

IV.2.1.1. Orientation des têtes polaires.

L'orientation moyenne des têtes polaires par rapport à la normale à la bicouche est représentée par la figure n°14.

On remarque à nouveau la présence de trois angles privilégiés correspondant aux valeurs de 76° , 106° et 138° . La configuration la plus probable correspond là encore à un repliement des têtes polaires le long de la surface de la bicouche. Elle est caractérisée par l'angle de 106° . Cette conformation représente 86% de la population soit 6% de plus que pour la méthode dite "classique".

Les deux autres pics signifiant une orientation vers l'intérieur ou l'extérieur de la bicouche sont équiprobables (7% pour chacune des configurations).

La différence majeure entre les résultats obtenus par cette méthode et la méthode classique précédente réside dans l'étendue du troisième pic. En effet, le pic atteint son maximum à 106° et s'étend jusqu'à 146° contre un maximum de 147° et une étendue jusqu'à 157° pour la méthode précédente. L'étendue de cette configuration est donc plus restreinte. La "méthode modifiée" limite donc les têtes polaires dans leur déploiement vers le milieu aqueux.

IV.2.1.2. Conformation des têtes polaires.

L'étude conformationnelle de la tête polaire (angles de torsion selon la notation de Sundaralingham [4]) est représentée par le tableau n°4. Les résultats obtenus montrent tout d'abord l'existence d'une libre rotation des têtes polaires. Les cinq torsions présentent un pourcentage non nul pour les trois conformations possibles.

Concernant la répartition entre les conformations *gauche* et *trans* des cinq torsions α_i , on retrouve les mêmes conformations privilégiées que pour la simulation de dynamique moléculaire précédente. On obtient donc la succession *t/t/g/t/g*. Seuls les pourcentages de ces

conformations ont légèrement augmenté (pour les torsions α_2 et α_3) ou diminué (pour les torsions α_1, α_4 et α_5).

Tableau n°4: Etude conformationnelle des torsions des têtes polaires phospholipidiques (Méthode "modifiée" de calcul des interactions non liées).

Torsion	Méthode modifiée			Méthode classique		
	g+	g-	t	g+	g-	t
α_1	25	3	72	1	13	86
α_2	40	33	27	30	35	35
α_3	35	45	20	33	42	25
α_4	10	6	84	9	1	90
α_5	43	42	15	60	33	7

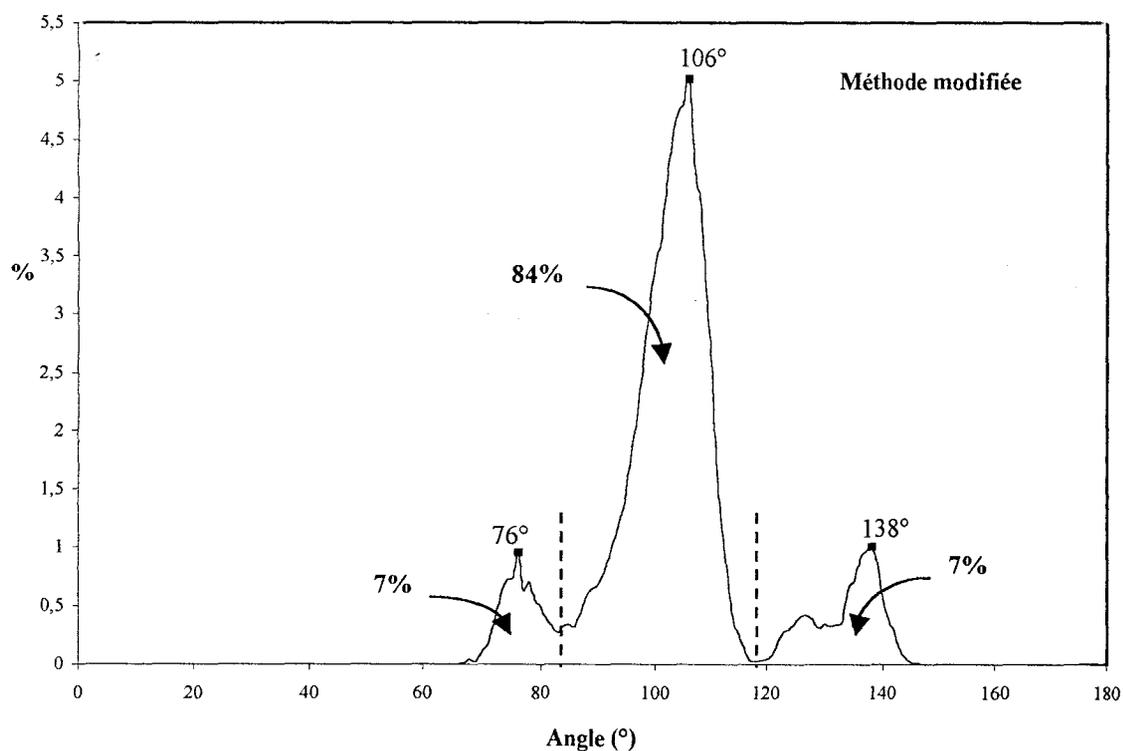


Figure n°14: Orientation moyenne des têtes polaires. Un angle de 0° signifie que le dipôle PN de la tête polaire est orientée vers l'intérieur de la bicouche, tandis qu'un angle de 180° traduit l'orientation de ce vecteur en direction des molécules d'eau.

IV.2.2. Etude structurale des chaînes aliphatiques.

La présentation de cette étude structurale au niveau atomique des chaînes aliphatiques est identique à la précédente menée sur les résultats de la méthode dite "classique". Après l'étude de l'orientation moyenne des chaînes, l'ordre de celles-ci sera étudié au travers de leur conformation et du paramètre d'ordre.

IV.2.2.1. Distribution angulaire des chaînes aliphatiques.

Les chaînes aliphatiques présentent une orientation par rapport à la normale à la bicouche pouvant aller de 0 à 30° (figure n°15). L'orientation la plus probable correspond à un angle de 3° et l'angle moyen est donné à 6,8°. Ces résultats ne présentent donc aucune différence avec ceux de la simulation de dynamique moléculaire précédente.

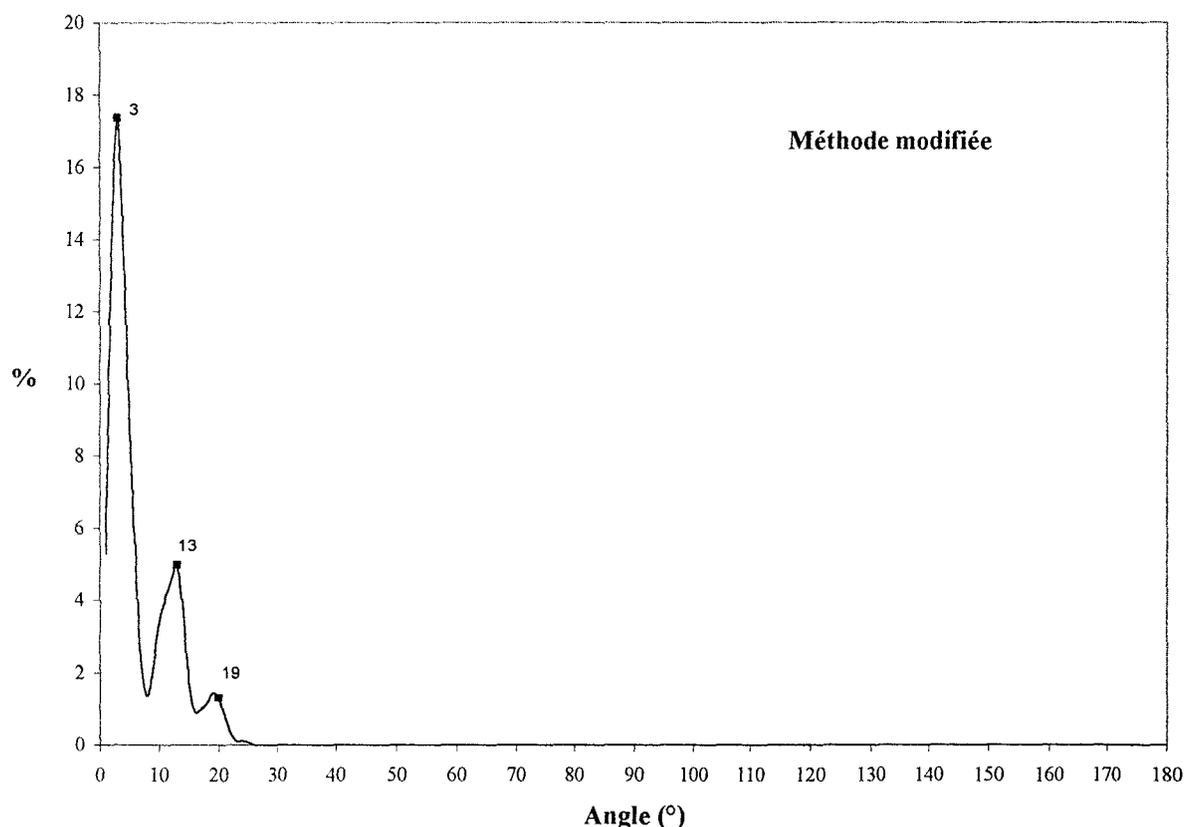


Figure n°15: Orientation des chaînes aliphatiques par rapport à la normale à la bicouche.

IV.2.2.2. Conformation des chaînes aliphatiques.

Les conformations moyennes prises par les torsions des chaînes aliphatiques Sn1 et Sn2 au cours de la dynamique moléculaire sont rassemblées dans le tableau n°5. En comparaison avec les résultats obtenus par la méthode classique de calcul des interactions non liées, on note qu'au bout de 300ps de dynamique moléculaire peu de différences sont observables entre les deux méthodes. L'inéquivalence des chaînes est une nouvelle fois mise en évidence. La chaîne Sn2 présente une population de plus de 25% de conformères *gauche* pour les torsions β_2 à β_5 . Les torsions β_6 à β_{13} conservent la position *trans* à 100%.

Comparativement à la méthode "classique", on observe une très légère augmentation de conformères *gauche* pour les torsions γ_6 à γ_{13} de la chaîne Sn1. Cette augmentation ne change en rien le manque de flexibilité de ces chaînes.

IV.2.2.3. Paramètre d'ordre S_{CD} .

Au travers de la figure n°16, on se propose de comparer les paramètres d'ordre $-S_{CD}$ obtenus pour les deux simulations. On constate tout d'abord une parfaite similitude entre les deux courbes que ce soit dans le profil puis dans les valeurs calculées. Le paramètre d'ordre conserve une valeur supérieure à 0,2 et proche de 0,5. La méthode "modifiée" de calcul des interactions non liées n'a donc pas amplifié l'ordre moléculaire dans les chaînes comparativement à la méthode du "cutoff" sphérique. La succession des phases d'augmentation, de stagnation puis de diminution avec la position du carbone le long de la chaîne aliphatique est toujours présente.

Le mode de calcul des interactions non liées n'a donc pas d'influence sur la flexibilité des chaînes.

Tableau n°5: Conformation des chaînes aliphatiques (Méthode modifiée de calcul des interactions non liées).

Chaînes Sn2				Chaînes Sn1			
Torsions	g+	g-	trans	Torsions	g+	g-	Trans
$\beta 1$	0	0	100	$\gamma 1$	0	0	100
$\beta 2$	27	27	45	$\gamma 2$	7	26	67
$\beta 3$	30	0	70	$\gamma 3$	3	2	95
$\beta 4$	26	0	74	$\gamma 4$	0	1	99
$\beta 5$	26	0	74	$\gamma 5$	1	0	99
$\beta 6$	0	0	100	$\gamma 6$	0	7	93
$\beta 7$	0	0	100	$\gamma 7$	0	0	100
$\beta 8$	0	0	100	$\gamma 8$	0	1	99
$\beta 9$	0	0	100	$\gamma 9$	0	0,1	99,9
$\beta 10$	0	0	100	$\gamma 10$	0,2	0	99,8
$\beta 11$	0	0	100	$\gamma 11$	0	3	97
$\beta 12$	0	0	100	$\gamma 12$	0	0,1	99,9
$\beta 13$	0	0	100	$\gamma 13$	3	0	97
$\beta 14$	32	33	35	$\gamma 14$	32	36	32

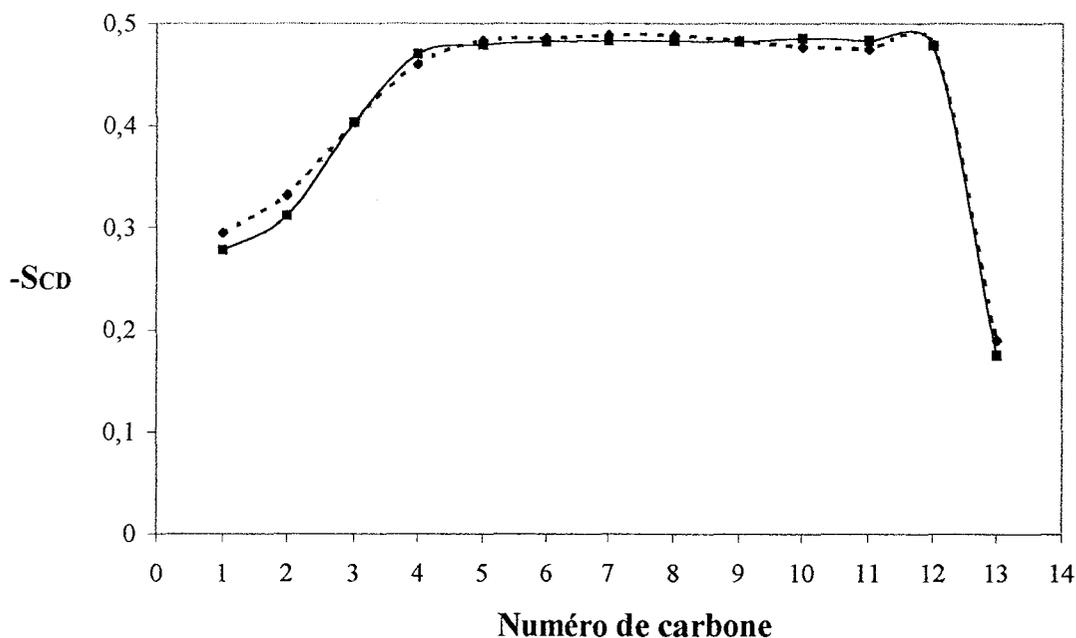


Figure n°16: Paramètre d'ordre S_{CD} : étude comparative des résultats obtenus par la méthode "modifiée" (courbe pointillée) et la méthode "classique" (courbe pleine) de calcul des interactions non liées.

IV.3. Etude structurale de l'environnement aqueux des têtes polaires.

L'étude structurale de l'environnement aqueux consiste en l'étude des distributions radiales des molécules d'eau autour des atomes clefs de la tête polaire: les atomes d'azote, les atomes de phosphore, les atomes d'oxygène du groupement phosphate et enfin, les atomes de carbone des groupements glycérol.

IV.3.1. Distribution radiale de l'eau autour de l'azote.

La courbe $g(r)$ présente deux pics de solvation (figure n°17). Le premier présente un maximum à 4,45Å contre 6,85Å pour le second. Le retour à la base entre ces deux pics est très élevé. Le phénomène d'échange de molécules d'eau est donc similaire à celui observé avec la méthode classique. On constate une meilleure définition des limites de la seconde couche de solvation. Ceci s'exprime notamment par un retour à la base plus marqué que pour la dynamique précédente (figure n°9). Le nombre de molécules d'eau présent dans la première couche de solvation est en moyenne de 22.

Au delà de 8Å, la courbe de $g(r)$ tend régulièrement vers l'unité. On ne voit pas apparaître de manière nette de couche de solvation supplémentaire comme pour la précédente méthode. L'observation de plus de deux couches de solvation est un phénomène spécifique à l'emploi de "cutoff" sphérique classique comme mode de calcul des interactions non liées [42]. Il s'agit donc uniquement d'un artefact de simulation et non d'une réalité physique. Notre stratégie de calcul des interactions non liées ne semble pas donner lieu à de tels artefacts.

IV.3.2. Distribution radiale de l'eau autour du phosphore.

La courbe de distribution radiale des molécules d'eau autour des atomes de phosphore est donnée par la figure n°17. Le premier pic de solvation autour des atomes de phosphore

présente, comme pour la simulation de dynamique moléculaire précédente, deux maxima à 3,45Å et 3,85Å. La séparation entre ces deux sommets est bien nette. On remarque l'équivalence de ces deux pics en terme de solvation ce qui n'était pas le cas précédemment. Le nombre de molécules d'eau de coordination est de 10.

La seconde couche de solvation est elle aussi semblable à celle trouvée pour la méthode de "cutoff" sphérique que ce soit en terme de profil ou en terme de valeur maximale.

La troisième couche de solvation présente un maximum à 8,4Å légèrement décalé par rapport à la valeur de 8,1Å de la méthode "classique". De même, la courbe a perdu son allure de type "gaussienne", et tend à diminuer en hauteur. Comme pour les atomes d'azote, la méthode "classique" de calcul des interactions non liées semble amplifier l'apparition de ces couches.

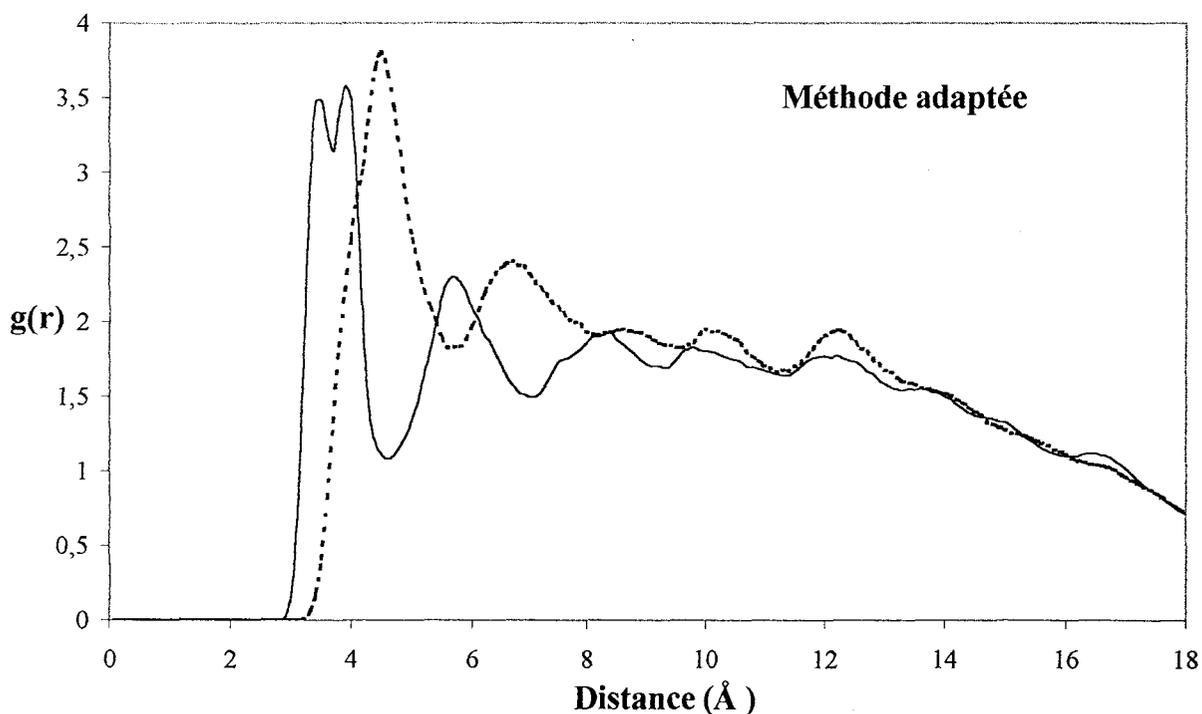


Figure n°17: Distribution radiale des molécules d'eau autour des atomes d'azote (en rose) et de phosphore (en bleu).

IV.3.3. Distribution radiale de l'eau autour des oxygènes du groupement phosphate.

Les courbes de distribution radiale des molécules d'eau autour des atomes d'oxygène estérifiés et non estérifiés du groupement glycérol sont présentée sur la figure n°18. Ces deux courbes présentent un premier pic de solvation situé à 2,7Å puis un second à 4,9Å. Ces valeurs sont parfaitement identiques à celles obtenues par la méthode "classique" de calcul des interactions non liées (figure n°10). On constate une forte hydratation des atomes d'oxygène non estérifiés. La distance de 2,7Å laisse supposer la possible formation de liaisons hydrogènes entre ces atomes d'oxygène et les atomes d'hydrogène des molécules d'eau. L'allure étroite du pic traduit une structure stable des molécules d'eau autour de ces atomes liée à la présence de liaisons hydrogènes.

Le nombre de molécules d'eau constituant la première couche de solvation est respectivement de 5 et 2 pour les atomes d'oxygènes non estérifiés et estérifiés.

IV.3.4. Distribution radiale de l'eau autour des carbones du groupement glycérol.

Là encore, la similitude entre les courbes obtenues pour les deux méthodes de calcul est importante (figures n°19 et n°11). La distribution radiale montre l'existence d'un pic de solvation de faible intensité mais bien marqué à 3,8Å. La présence de molécules d'eau dans la région glycérol des phospholipides est une nouvelle fois confirmée.

Pour ce qui est du second pic observé précédemment, on remarque à nouveau une augmentation de $g(r)$ vers 6Å. Cependant, on ne peut parler de véritable pic compte tenu de l'augmentation régulière de l'intensité de $g(r)$ en fonction de la distance. La "méthode classique" tend à accentuer la manifestation de ce pic en comparaison avec la méthode "modifiée".

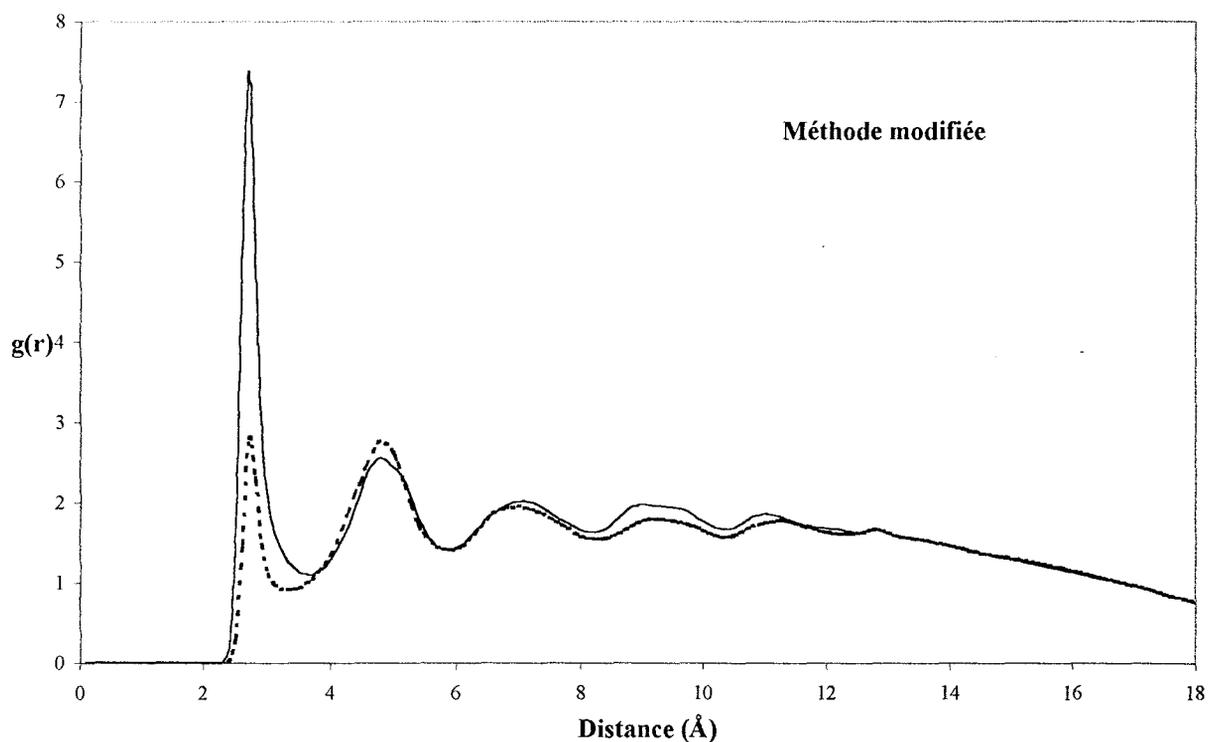


Figure n°18: Distribution radiale des molécules d'eau autour des oxygènes non estérifiés (courbe pleine) et estérifiés (courbe pointillée) du groupement phosphaté.

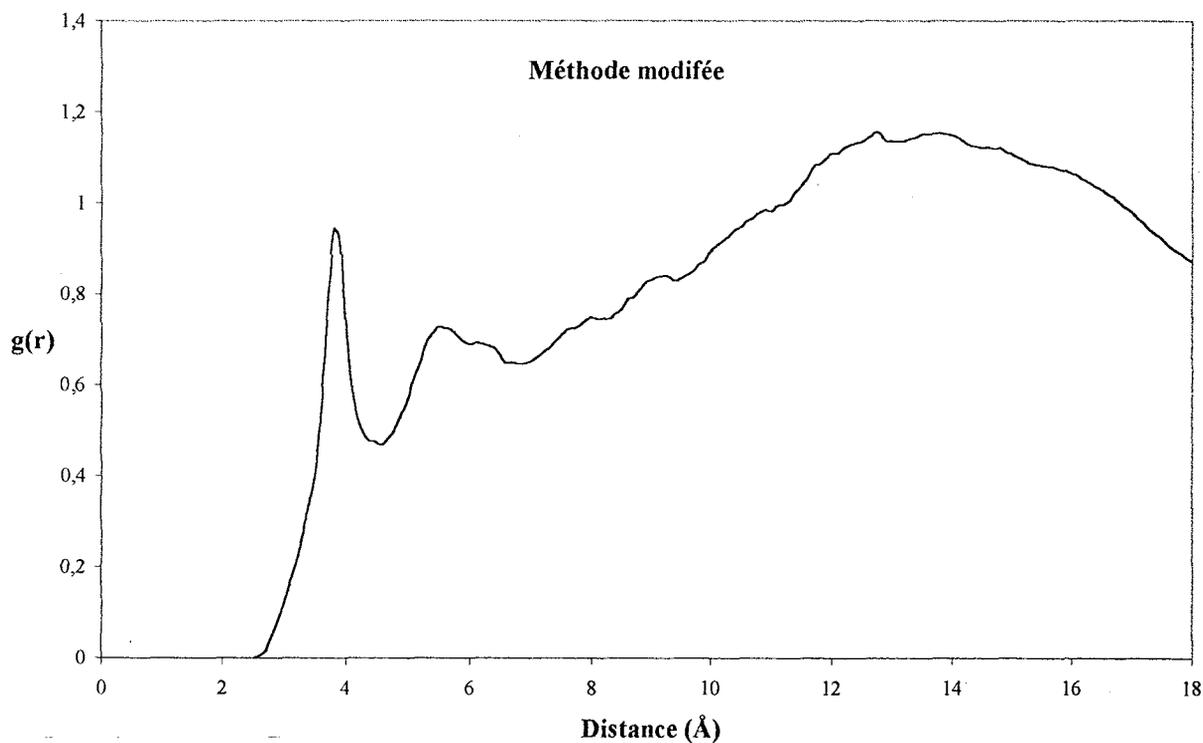


Figure n°19: Distribution radiale des molécules d'eau autour des carbones glycérols

Partie 4:

Discussion:

Performances du champ de forces SPASIBA.

Validation de notre méthodologie de simulation.

Influence du mode de calcul des interactions non liées.

V. Discussion.

V.1. Performances du champ de forces SPASIBA et validation de notre méthodologie de simulation.

Au travers des résultats de ces études structurales, nous avons prouvé la validité de notre modèle initial, de notre méthodologie de calcul des interactions non liées ainsi que la qualité du champ de forces SPASIBA. En effet, ces études montrent que:

- tout d'abord, les caractéristiques moléculaires de la bicouche en phase cristal liquide ont été reproduites. L'épaisseur de la bicouche est, à 1Å près, parfaitement identique aux valeurs expérimentales.

- les caractéristiques structurales des têtes polaires dans leur environnement aqueux ont été parfaitement reproduites. On constate en moyenne un repliement des têtes polaires le long de la surface de la bicouche.

- pour la première fois, comme il est résumé dans le tableau n°6, les caractéristiques structurales d'ordre atomique des têtes polaires ont été reproduites telles qu'elles étaient observées par les méthodes expérimentales spectroscopiques. Ce tableau confronte également nos résultats à une partie de la littérature d'ordre théorique. Notre étude apparaît comme de loin la meilleure. En effet, la conformation $t/g/g/t/g$ a été correctement prédite si on la compare avec la conformation $t/g/g/t/t$ trouvée par Robinson et al [4].

- en terme de flexibilité de la bicouche, les comportements des têtes polaires, des groupements glycérols ainsi que des groupements éthyles du début des chaînes aliphatiques sont en accord avec les caractéristiques de la phase cristal liquide. Seule l'extrémité des chaînes aliphatiques présentent un ordre trop élevé lié à l'entrecroisement de celles-ci au centre de la bicouche.

La membrane est une barrière sélective mais aussi le siège d'un transfert d'informations entre milieux intra et extra cellulaire. Ce transfert engendre indéniablement un mouvement des têtes polaires lui-même induisant des mouvements internes dans la bicouche. Ceci se traduit par une fluidité et/ou une flexibilité de l'ensemble de la bicouche. On peut donc penser que la corrélation entre les mouvements de la tête polaire et ceux de la chaîne aliphatique est d'une importance primordiale. Notre choix de considérer chacun des monomères phospholipidiques comme un seul groupe sans aucune subdivision artificielle fait suite à cette réflexion. La majorité des travaux de simulation de bicouches lipidiques [14,17-21,43-47] propose une flexibilité importante de la bicouche (figure n°20). Or, ces simulations ont été réalisées en introduisant une séparation artificielle de la structure phospholipidique. On peut craindre que cette subjectivité entraîne une spéculation supplémentaire ainsi qu'une absence de corrélation entre les mouvements des chaînes aliphatiques et des têtes polaires.

Tableau n°6: Caractéristiques structurales expérimentales et théoriques des têtes polaires de la bicouche de DMPC en phase cristal liquide.

	Nos résultats						Littérature			
	Méthode modifiée			Méthode classique			Théorique [4]			Expérimental [22-29]
Torsion	g+	g-	t	g+	g-	t	g+	g-	t	
α_1	25	3	72	1	13	86	8	25	67	trans
α_2	40	33	27	30	35	35	36	37	27	gauche
α_3	35	45	20	33	42	25	36	37	26	gauche
α_4	10	6	84	9	1	90	18	26	56	trans
α_5	43	42	15	60	33	7	6	12	82	gauche

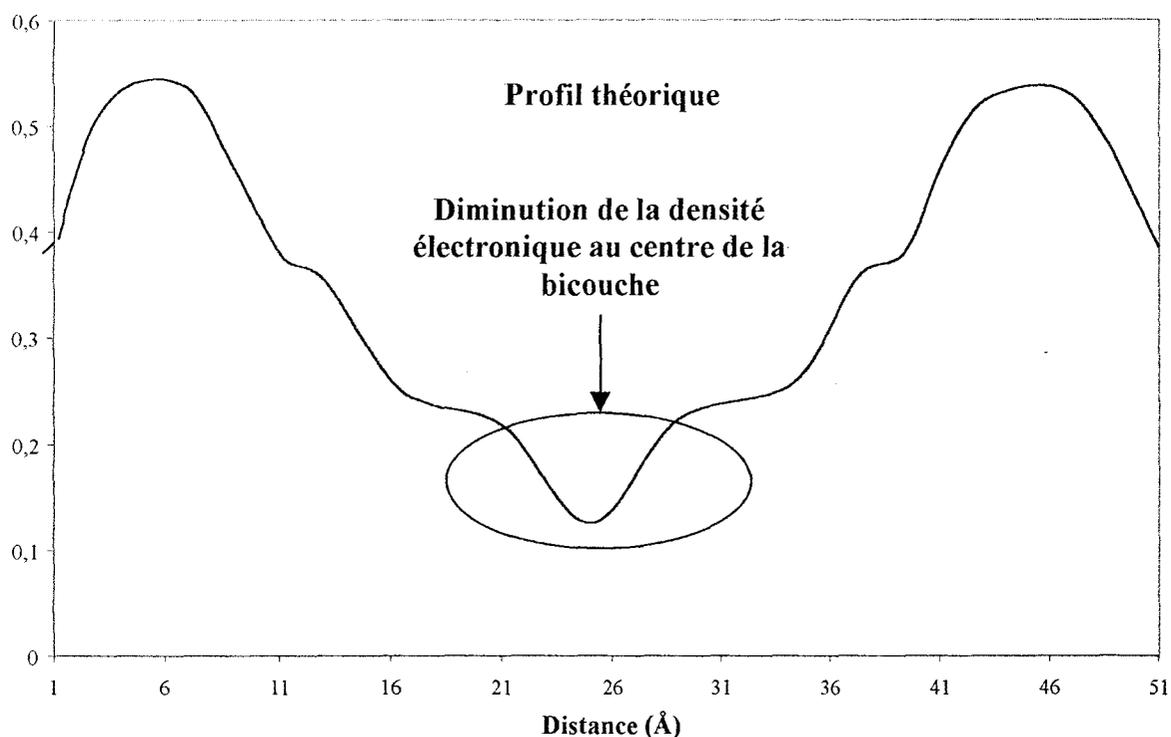


Figure n°20: Profil théorique de la densité électronique relative à la phase cristal liquide d'une bicouche lipidique [15].

D'autre part, si la partie extrême des chaînes aliphatiques souffre d'une insuffisance de flexibilité, ceci ne peut être dû à notre méthodologie. En effet, comme il l'a été signalé dans le paragraphe (III.2.2.2.) de ce chapitre, l'observation des transitions *trans/gauche* des chaînes aliphatiques ne peut se faire qu'entre 500ps et 1ns de durée de simulation.

L'avantage de notre étude est donc de mettre l'accent sur cette réalité qui n'a pu être constatée auparavant étant donnés les artefacts de construction (inclinaison initiale des chaînes aliphatiques) et de simulation ("shake", séparation artificielle des monomères) généralement utilisés.

Etude de l'effet des conditions périodiques aux frontières (PBC) et des interactions de van der Waals. (dynamique n°3)

Ce manque de flexibilité au centre de la bicouche n'a pu également être attribué à une surestimation des interactions de type van der Waals dans cette zone introduite par les conditions périodiques aux frontières (PBC). En effet, suite à ce constat, une étude complémentaire a été réalisée. Sur les bases du modèle de bicouche employé précédemment, nous avons augmenté les dimensions du système de simulation selon les axes y et z de l'espace. Cette augmentation avait pour but d'augmenter le volume occupé par les chaînes aliphatiques et par conséquent d'étudier l'influence des interactions de van der Waals et des PBC. Cette simulation de dynamique moléculaire a été menée durant 200ps. De la même manière que pour les simulations précédentes, nous avons procédé à une étude en termes structuraux de la trajectoire de dynamique obtenue. Nous avons pu constater que l'augmentation des dimensions du système n'avait pas eu d'incidence sur la flexibilité du centre de la bicouche (figure n°21).

On peut conclure que le passage entre conformations *trans* et *gauche* des chaînes aliphatiques est tout simplement un mouvement lent.

Exaltation des mouvements des chaînes aliphatiques. Evaluation de leur encombrement stérique. (dynamique n°4)

L'ultime démonstration de la lenteur de ce mouvement est constituée par les résultats présentés ci-après. Nous avons en effet réalisé une simulation par dynamique moléculaire au cours de laquelle seules les chaînes aliphatiques ont été laissées libres de tout mouvement. Les têtes polaires ainsi que les molécules d'eau ont donc été figées à leur position. Le détail des conditions de cette simulation est présenté dans le tableau n°7.

Tableau n°7: Conditions de simulation de dynamique moléculaire.

Bicouche	24 DMPC+629 H ₂ O
Phase	Cristal liquide
Dimensions du système	50.35Å / 33.60Å / 25.52Å
Conditions thermodynamiques	NVT
Contrôle cinétique	Bain thermique
Méthode de calcul des interactions non liantes	Méthode modifiée
Champ de forces	SPASIBA
Méthodologie de simulation	Gel des têtes polaires +molécules d'eau 30ps à 1000K puis 100ps à 323K

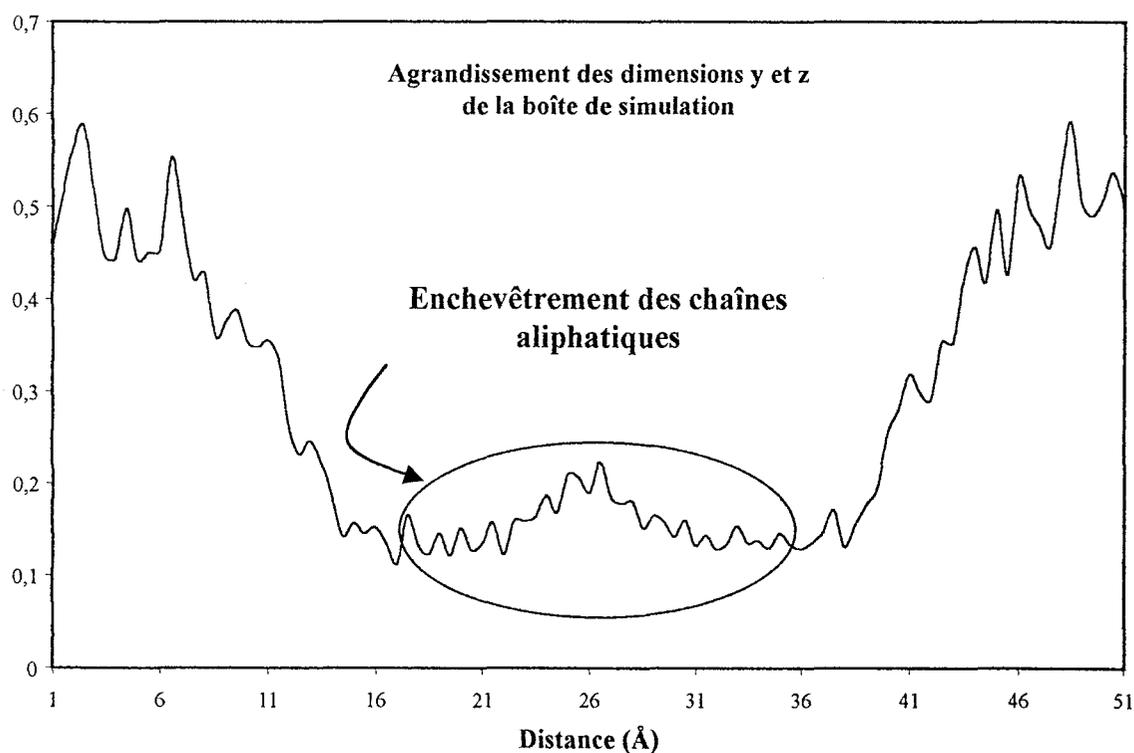


Figure n°21: Densité électronique le long de la normale à la bicouche obtenue après simulation par dynamique moléculaire d'une bicouche lipidique dont les dimensions du système ont été agrandies selon les axes y et z de l'espace tridimensionnel.

La figure n°22 représente la structure de quelques conformères de la bicouche lipidique après 100ps de simulation. On constate une distortion des chaînes aliphatiques se traduisant par l'apparition d'inclinaison de plus de 40° de ces chaînes par rapport à la normale à la bicouche (figure n°23). Par cet artefact de calcul, nous avons donc pu en quelque sorte "accélérer" les mouvements de ces chaînes. Cette étude nous a donc permis de prouver que le phénomène de flexibilité lent constaté auparavant ne dépendait ni d'un artefact de calcul, ni de la méthodologie de simulation et enfin ni de la qualité du champ de forces SPASIBA.

De plus, l'intérêt principal d'une simulation de dynamique moléculaire n'est pas de reproduire coûte que coûte des bribes d'informations mais de corréler l'ensemble des informations structurales avec la flexibilité de la bicouche. Le but principal de la simulation des bicouches est de rechercher les propriétés de l'assemblage moléculaire. En terme de relation entre la structure tridimensionnelle et la propriété fonctionnelle, le but essentiel est donc de corréler les mouvements de la tête polaire avec ceux des chaînes. De même, il est d'évaluer en fonction du temps l'ordre de leur apparition. Nous pensons que la relation entre la fonction d'une bicouche et sa structure tridimensionnelle ne peut être mise en évidence si des artifices de calcul sont employés.

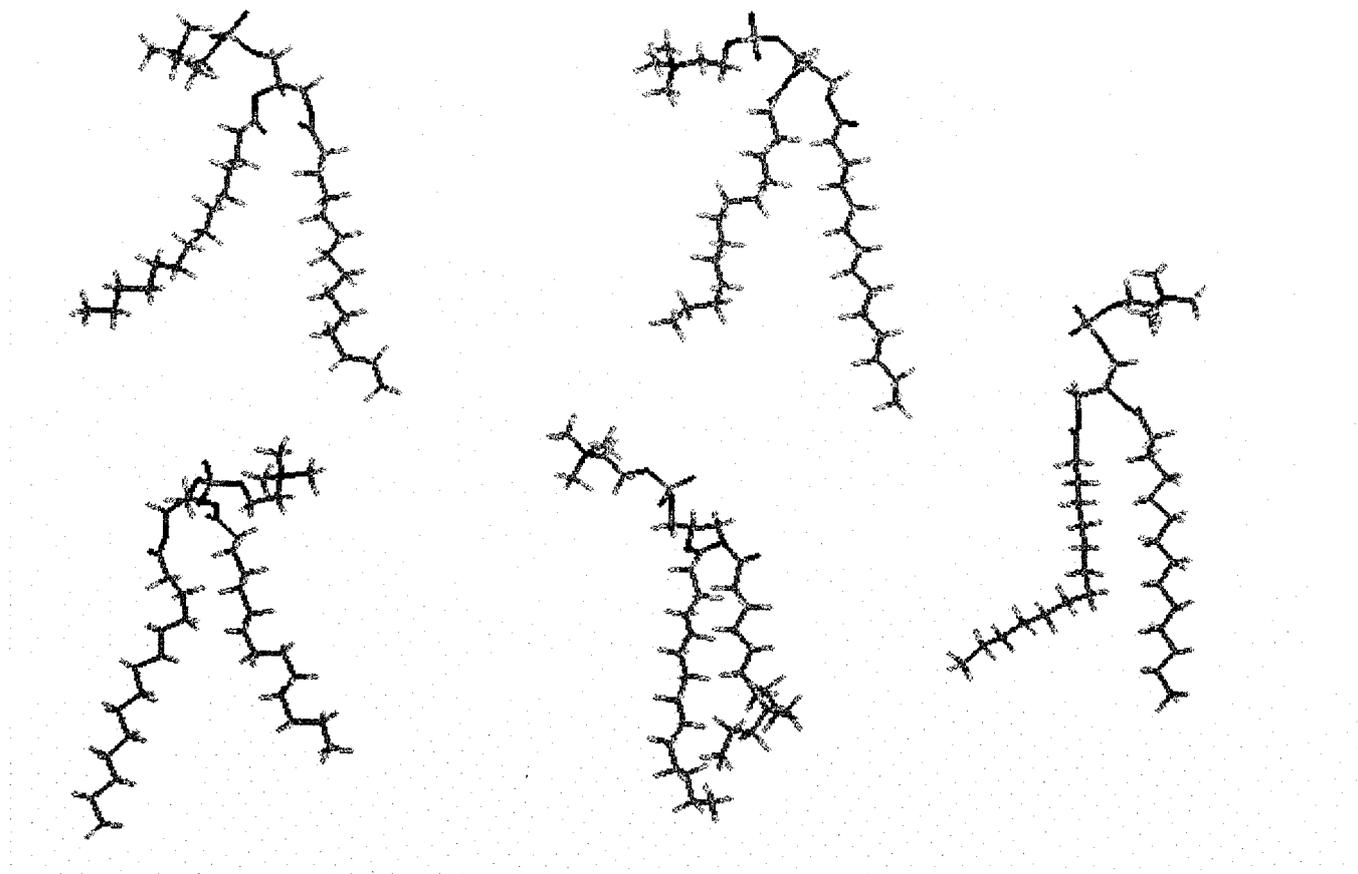


Figure n°22: Arrangement structural de quelques phospholipides de la bicouche lipidique après le "gel" des têtes polaires et des molécules d'eau durant 100ps.

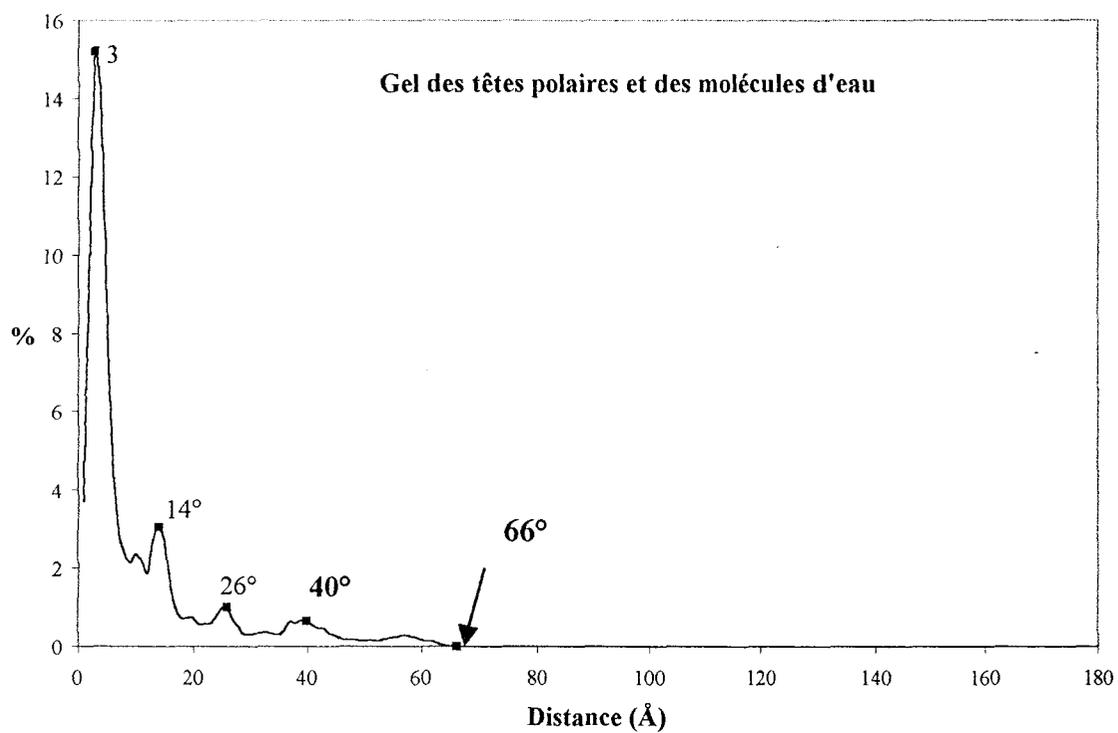


Figure n°23: Orientation moyenne des chaînes aliphatiques durant 100ps de simulation de dynamique moléculaire d'une bicouche lipidique dont les têtes polaires et les molécules d'eau ont été "gelées".



V.2. Influence du mode de calcul des interactions non liées. Etude comparative.

Potentiel tronqué de type sphérique.

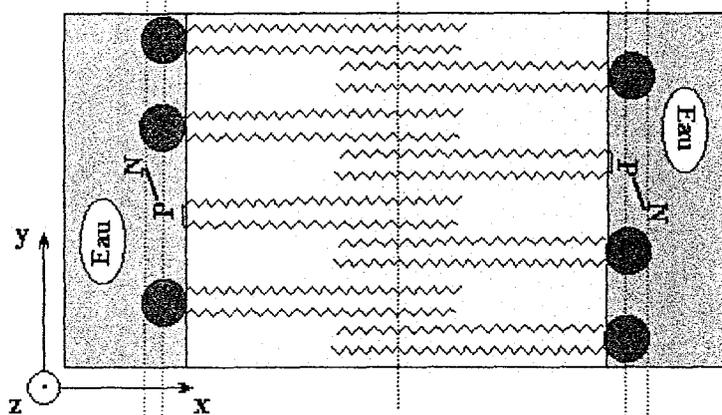
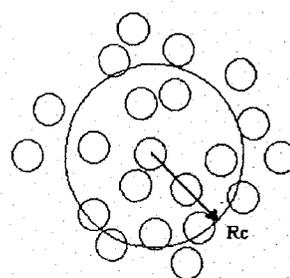
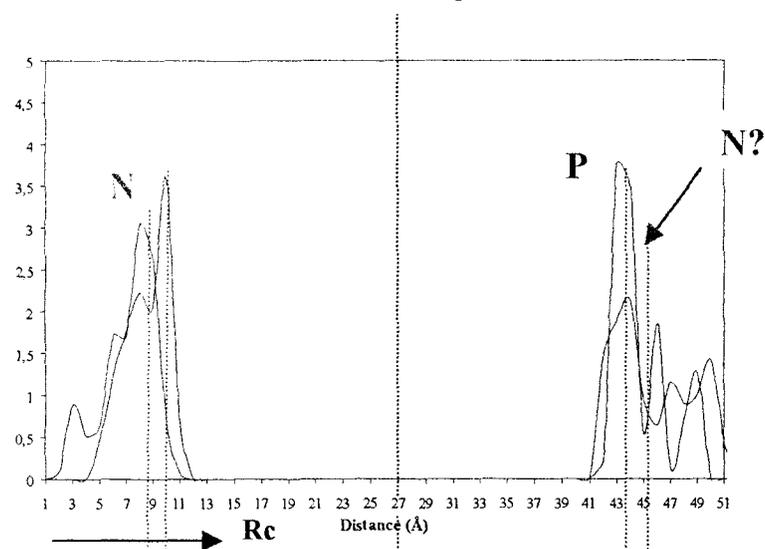
L'étude structurale a montré une différence marquée des distributions des atomes d'azote et de phosphore en fonction du mode de calcul des interactions non liées. Une asymétrie très marquée des pics de part et d'autre de la membrane est apparue pour la méthode "classique" (figure n°24, haut). La méthode de potentiel tronqué de type sphérique a fait l'objet de nombreuses études critiques sur ses qualités et défauts. Cette méthode est notamment réputée pour introduire des artefacts dans la limite de la distance de coupure [42]. L'énergie potentielle ainsi que les forces dans cette région subissent une variation brutale due à l'arrêt net de la prise en compte des interactions non liées. Compte tenu de l'épaisseur de la bicouche lipidique ($\sim 34\text{\AA}$) par rapport à la taille du "cutoff" (11\AA), cet artefact de simulation va se traduire par une sous estimation des interactions non liées entre monomères lipidiques de monocouches opposées.

Potentiel tronqué de type non sphérique.

Les résultats obtenus par l'utilisation de la méthode "modifiée" ne révèlent pas cette asymétrie (figure n°24, bas). L'étendue des pics reste restreinte et quasi similaire de chaque côté de la bicouche. L'utilisation couplée de deux types de "cutoff" selon la nature des monomères permet donc d'éliminer les artefacts liés à la troncation du potentiel. Cette stratégie permet donc de conserver l'intégrité et la symétrie de la bicouche.

Les conséquences majeures de cette perturbation de l'énergie potentielle et des forces à la limite du "cutoff" sont d'ordre structural et se traduisent notamment par une perturbation de l'orientation des têtes polaires. L'analyse des études de l'orientation de ces têtes par rapport

Méthode classique



Méthode modifiée

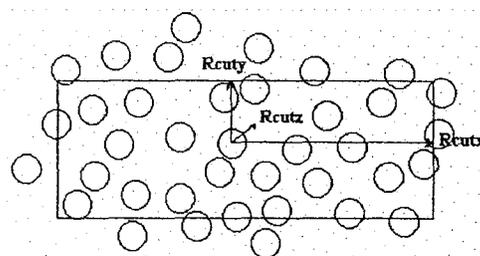
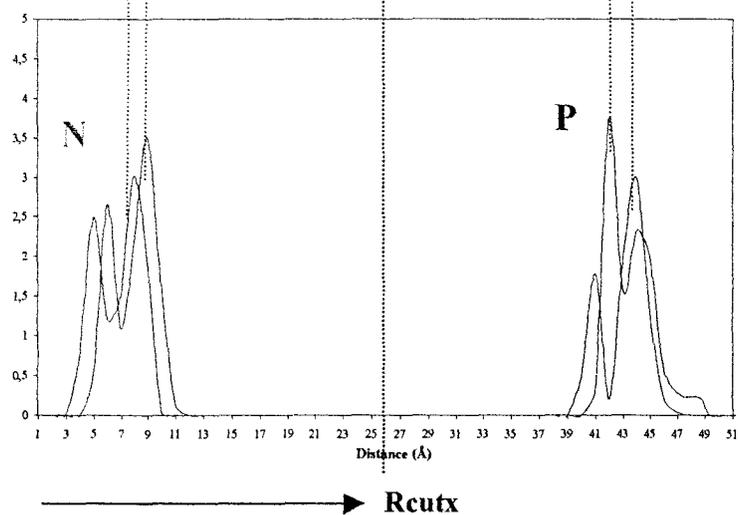


Figure n°24: Influence du mode de calcul des interactions non liées sur la symétrie de la bicouche.
Mise en évidence de la discontinuité de potentiel introduit par un potentiel tronqué classique.

à la normale à la bicouche pour la méthode classique a révélé l'existence de trois orientations privilégiées (figure n°6). Trois monomères lipidiques issus de cette trajectoire de dynamique moléculaire et représentatifs de ces orientations sont représentés sur la figure n°25. L'orientation des dipôles a été soulignée par la représentation des vecteurs PN. A chacune de ces orientations, nous y avons associé une représentation schématique de l'arrangement phospholipidique induit par ces orientations.

Comparativement à la méthode "modifiée", la méthode "classique" semble favoriser l'existence d'orientations des têtes polaires inférieures à 100° (figure n°25, bas). Ce type d'orientation entraîne une augmentation de l'encombrement stérique entre les têtes polaires et les chaînes aliphatiques (cas n°1). Ces interactions impliquent une modification de l'arrangement moléculaire lipidique. Or, compte tenu de l'encombrement stérique relatif à la phase cristal liquide, ces orientations n'apparaissent pas comme naturellement favorables.

Sans la présence de l'environnement aqueux, on peut supposer que l'orientation préférentielle des têtes lipidiques serait certainement celle correspondant à un alignement du dipôle avec l'axe des chaînes aliphatiques (soit $\sim 180^\circ$). Cette conformation serait en effet de basse énergie. Cependant, la phase cristal liquide présente un taux d'hydratation important impliquant un nombre important d'interactions de type coulombienne et de liaisons hydrogène entre les molécules d'eau et les têtes polaires. L'orientation du dipôle PN induite par cette présence correspond donc au cas n°2 décrit dans la figure n°25.

Le cas n°3 correspond à un déploiement de la tête polaire vers le milieu aqueux. Cette population est, en pourcentage, deux fois plus représentée dans le cas de la méthode "classique" que pour la méthode "modifiée" (13% contre 7%). Compte tenu de la nature polaire des têtes, cette orientation traduit une sous estimation des interactions de type coulombienne. La première conséquence de cette orientation est la réduction de l'encombrement stérique imposé par la juxtaposition des chaînes.

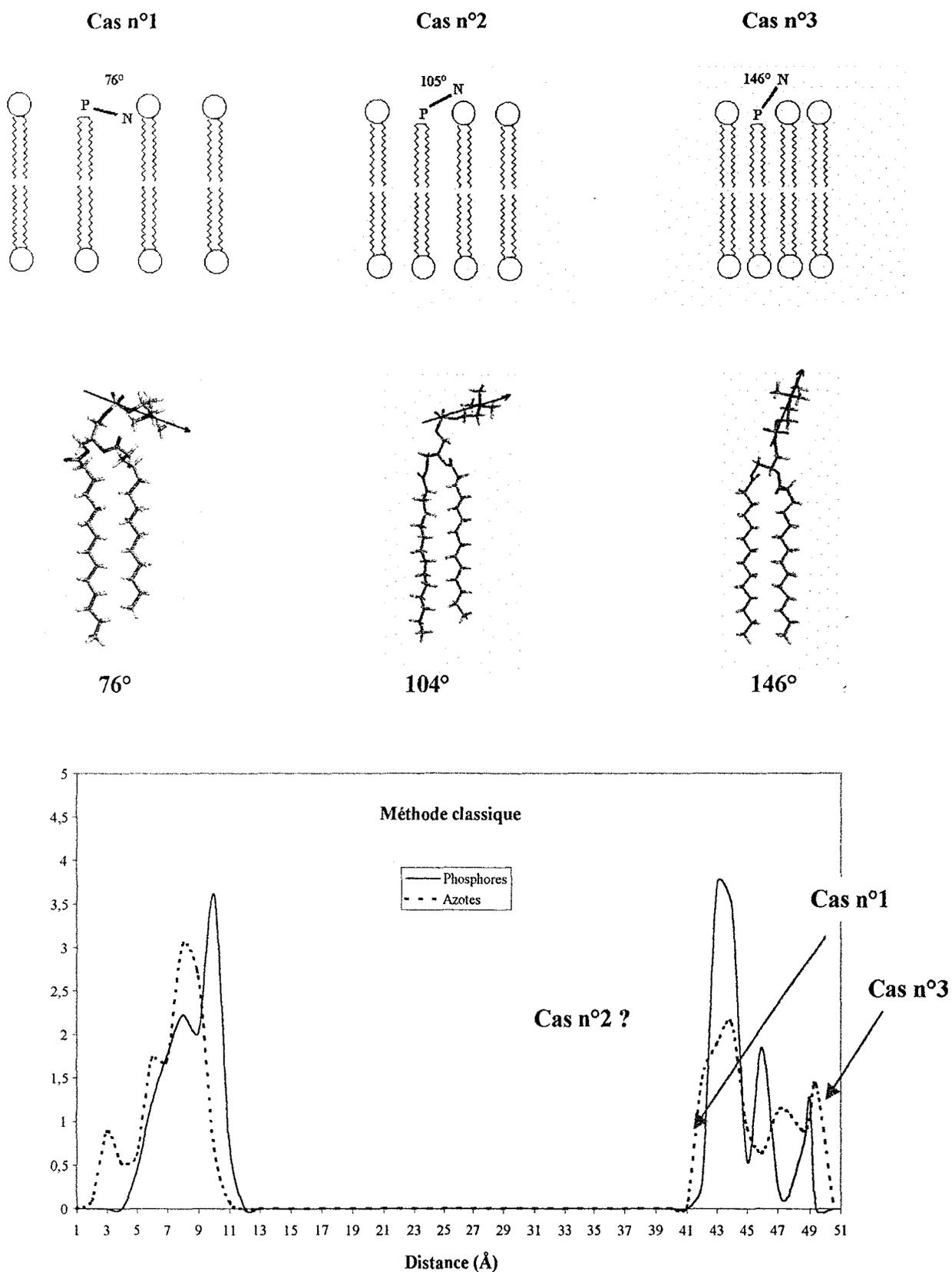


Figure n°25: Influence du potentiel tronqué de type sphérique sur l'orientation des têtes polaires et sur l'arrangement moléculaire lipidique.

L'apparition de cette population moléculaire entraîne donc l'émergence d'une architecture de l'assemblage moléculaire de plus basse énergie et donc non représentative de la phase cristal liquide. En effet, dans le cas d'une recherche conformationnelle par dynamique moléculaire, l'utilisation de la méthode classique du potentiel tronqué de type sphérique présente le risque d'une interprétation erronée ne reflétant pas la réalité.

D'autre part, l'apparition de telles orientations favorise l'éloignement du monomère lipidique du centre de la bicouche. Au cours du temps, on risque donc d'observer un "éclatement" de la bicouche.

Par ailleurs, en pourcentage, la population relative au cas n°3 est faible. Cependant, les conséquences néfastes de la présence de ces orientations seraient amplifiées dans les deux cas suivants:

- la simulation d'un modèle de plus grandes dimensions en vue de l'étude de la fluidité de la membrane.

- l'introduction de constituants membranaires autre que des monomères lipidiques (protéines, sucres).

En effet, l'introduction supplémentaire de phospholipides ou d'autres constituants dans le modèle entraînerait une augmentation non négligeable des dimensions du système sans pour autant que la taille du "cutoff" sphérique augmente (figure n°25).

Enfin, si l'on étudie de manière distincte l'orientation relative des lipides des deux monocouches, on constate que ces orientations particulières inférieures et supérieures à 100° correspondent majoritairement aux lipides situés à plus de 40Å par rapport à l'origine du système selon x (figure n°24). Ce constat fait une nouvelle fois la preuve de la présence d'artefacts de simulation liés à l'utilisation du potentiel tronqué de type sphérique.

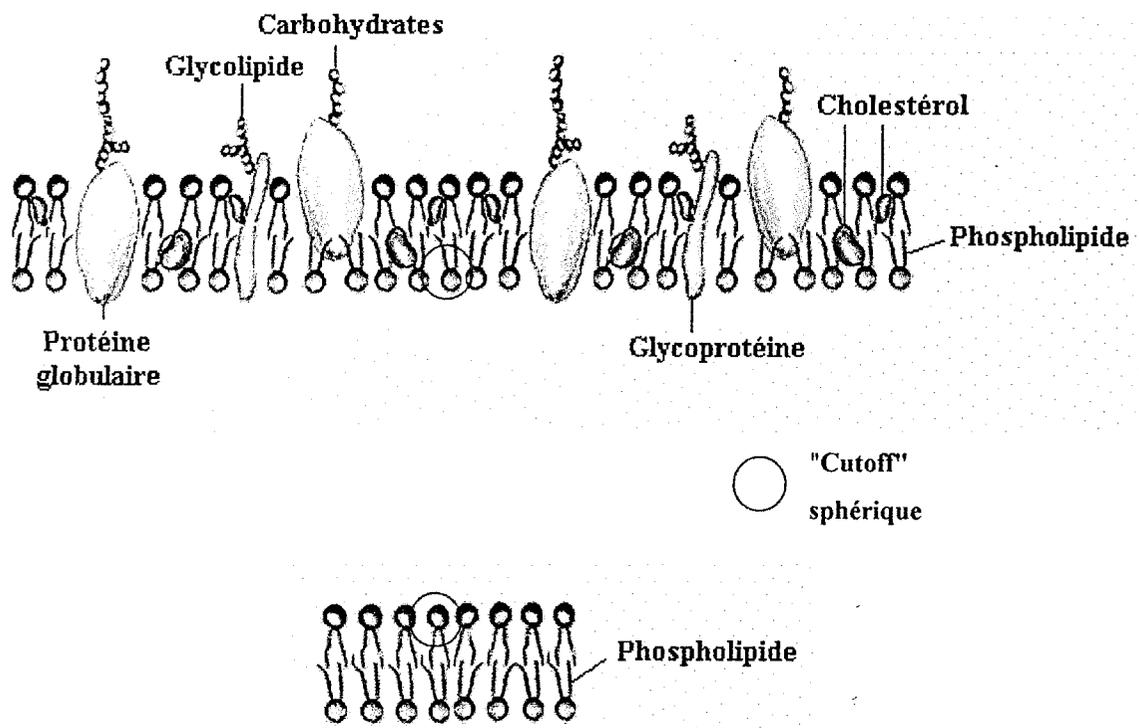


Figure n°25: Illustration des effets du rapport entre la taille et la forme du système d'une part, et la valeur maximale autorisée du "cutoff" de type sphérique.

Conclusion

Au cours de ce chapitre, nous avons pu juger de l'ensemble des travaux réalisés pour l'étude de bicouches lipidiques par simulation de dynamique moléculaire. Ces travaux ont tout d'abord consisté en l'établissement d'une stratégie de simulation puis d'un développement de programmes d'analyse et enfin d'une étude structurale comparative.

La première conclusion concerne la validité du champ de forces SPASIBA à reproduire le comportement des bicouches lipidiques. Ses performances ne font aucun doute et particulièrement dans la reproduction des résultats expérimentaux spectroscopiques de la conformation des têtes polaires. Comparativement aux résultats théoriques, il apparaît même le meilleur disponible actuellement.

Par ailleurs, notre étude a permis de mettre l'accent sur la lenteur des mouvements des chaînes aliphatiques. Notre stratégie en terme de méthodologie de simulation et de construction du modèle de bicouche souffre peut être d'une reproduction partielle du comportement des chaînes aliphatiques mais elle présente la légitimité de n'avoir usé d'aucun artéfact de simulation pour orienter ou accélérer la simulation.

Au travers de l'étude de l'influence du mode de calcul des interactions non liées, nous avons pu mettre en évidence les faiblesses de la méthode classique du potentiel tronqué de type sphérique. Les discontinuités de l'énergie potentielle et des forces dans la zone de coupure entraînent une asymétrie de la bicouche ainsi que l'apparition de conformations non représentatives de la phase cristal liquide.

A l'opposé, la combinaison de plusieurs "cutoff" de taille et de formes différentes permet de conserver l'intégrité de la bicouche. Les artefacts liés à la troncation du potentiel sont donc limités. Notre méthode de calcul des interactions non liées est donc appropriée à la simulation des bicouches lipidiques en particulier et aux systèmes de type rectangulaire en général.

Bibliographie

1. W.L. Jorgensen, J. Chandrasekhar and J.D. Madura, *J.Chem.Phys.*, 79, 926 (1983).
2. M.J. Janiak, D.M. Small and G.G. Shipley, *J. Biol. Chem.*, 254, 6068 (1979).
3. H.J.C Berendsen, J.P.M. Postma, W.F. van Gunsteren, A. Di Nola and J.R. Haak, *J. Chem. Phys.*, 81, 3684 (1984).
4. M. Sundaralingham, *Ann. N. Y. Acad. Sci. U.S.A.*, 195, 324 (1972).
5. N.P. Franks, *J. Mol. Biol.*, 100, 345 (1976).
6. D.L. Worcester and N.P. Franks, *J. Mol. Biol.*, 100, 359 (1976).
7. W. Lesslauer, J.E. Cain and J.K. Blasie, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, 69, 1499 (1972).
8. H. Hauser, I. Pascher, R.H. Pearson and S. Sundell, *Biochim. Biophys. Acta*, 650, 21 (1981).
9. D.L. Worcester, in "*Biological Membranes*", Eds D. Chapman and D.F.H. Wallach, Academic press, New York, Vol. 3, (1976).
10. B.A. Lewis and D.M. Engelman, *J. Mol. Biol.*, 166, 211 (1983).
11. S. Marrink, M. Berkowitz and H.J.C. Berendsen, *Langmuir*, 9, 122 (1993).
12. J.B. Nelander and A.E. Blaurock, *J. Mol. Biol.*, 1118, 497 (1978).
13. J.B. Finean, R. Coleman and R.H. Michell, in "*Membranes and their Cellular Functions*", 2nd Edition, Blackwell, Oxford, England (1978).
14. K.V. Damodoran and K. Merz Jr, *Rev. Comput. Chem.*, 5, 269 (1984).
15. A. Tardieu, V. Luzzati and F.C. Reman, *J. Mol. Biol.*, 75, 711 (1973).
16. F. Leterrier and C. Gary-Bobo, in "*Biologie Membranaire. Structure et dynamique des membranes biologiques*", Eds Hermann (1989).
17. A.J. Robinson, W.G. Richards, P.J. Thomas and M.M. Hann, *Biophys. J.*, 67, 2345 (1994).
18. T.R. Stouch, *Mol. Sim.*, 10, 335 (1993).
19. S.W. Chiu, M. Clark., V. Balaji, S. Subramaniam, H.L. Scott and E. Jakobsson, *Biophys. J.*, 69, 1230 (1995).
20. K.V. Damodoran and K.M. Merz, *Biophys. J.*, 66, 1076 (1994).
21. K.V. Damodoran and K.M. Merz, *Langmuir*, 9, 1179 (1993).
22. E.J. Dufourc, C. Mayer, J. Stohrer, G. Althoff and G. Kothe, *Biophys. J.*, 61, 42 (1992).
23. G. Büld and R. Wohlgemuth, *J. Membr. Biol.*, 134, 673 (1981).
24. J. Seelig, H. Gally and R. Wohlgemuth, *Biochim. Biophys. Acta.*, 467, 109 (1977).
25. H. Hauser, W. Guyer, I. Pascher, P. Skrabal and S. Sundell, *Biochemistry*, 19, 366 (1980).
26. R. Skarjune and E. Oldfield, *Biochemistry*, 18, 5903 (1979).

27. H. Gally, W. Niederberger and J. Seelig, *Biochemistry*, 14, 3647 (1975).
28. H. Akutsu and T. Nagamori, *Biochemistry*, 30, 4510 (1991).
29. H. Akutsu, *Biochemistry*, 20, 7359 (1981).
30. N.O. Petersen and S.I. Chan, *Biochemistry*, 16, 2657 (1977).
31. E. Oldfield, M. Meadows, D. Rice and R. Jacobs, *Biochemistry*, 17, 2727 (1978).
32. J.H. Davis, *Biochim. Biophys. Acta*, 727, 117 (1983).
33. H. Hauser, I. Pasher, R.H. Pearson and S. Sundell, 650, 21 (1981).
34. J. Seelig and A. Seelig, *Q. Rev. Biophys.*, 13, 19 (1980).
35. J. Seelig, *Q. Rev. Biophys.*, 10, 353 (1977).
36. A. Seelig and J. Seelig, *Biochemistry*, 13, 4839 (1974).
37. M. Lafleur, P.R. Cullis and M. Bloom, *Eur. Biophys. J.*, 19, 55 (1990).
38. J. Seelig and L. Browning, *FEBS Letters*, 92, 41 (1978).
39. J.M. Seddon, G. Cevc and D. Marsh, *Biochemistry*, 22, 1280 (1983).
40. H.E. Alper, D. Bassolino-Klimas and T. Stouch, *J. Chem. Phys.*, 99, 5547 (1993).
41. S.L. Blechner, V. Skita and D.G. Rhodes, *Biochim. Biophys. Acta*, 1022, 291 (1990).
42. A.R. Leach, in "Molecular Modelling. Principles and Applications", Ed Longman (1996).
43. L. Perera, U. Essman and M.L. Berkowitz, *Langmuir*, 12, 2625 (1996).
44. E. Egberts and H.J.C. Berendsen, *J. Chem. Phys.*, 89, 3718 (1988).
45. D.P. Tieleman and H.J.C. Berendsen, *J. Chem. Phys.*, 105, 4871 (1996).
46. E. Egberts, S.J. Marrink and H.J.C. Berendsen, *Eur. Biophys. J.*, 22, 423 (1994).
47. P. Huang, J.J. Perez and G.H. Loew, *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 11, 927 (1994).

CONCLUSION GENERALE

Le travail présenté dans ce mémoire avait pour double but:

-l'établissement d'une méthodologie pour la simulation par dynamique moléculaire du comportement d'une bicouche lipidique en phase cristal liquide.

-le développement d'une programmation adaptée à la simulation et à l'étude structurale de ces bicouches.

Le logiciel utilisé au cours de ce travail a été le champ de forces SPASIBA, développé au sein de notre laboratoire. L'assemblage moléculaire étudié consistait en une bicouche lipidique, en phase cristal liquide, composée de 24 molécules de DMPC et de 629 molécules d'eau.

Remarquons tout d'abord que les résultats obtenus dans un premier temps sont le développement d'une librairie de programmes spécifiques aux bicouches qui sont désormais implémentés dans le logiciel SPASIBA. Ces programmes permettent à la fois d'effectuer une analyse complète des fichiers de sortie de la simulation par dynamique moléculaire et de rendre aisée l'utilisation du logiciel.

Nous avons constaté que la réalisation d'un travail de simulation par dynamique moléculaire, selon une application de la méthodologie courante et classique, présentait des limites. Un certain nombre de points concernant à la fois la construction et la simulation d'un modèle de bicouche lipidique nous ont semblés essentiels. Ces points sont:

-le choix de la conformation initiale des phospholipides et de l'architecture de l'assemblage moléculaire.

-le choix de la non-division subjective du monomère phospholipidique en sous-groupes.

-le choix de ne pas employer d'artefact de calcul permettant, d'une part, l'accélération du calcul, et d'autre part, de chercher coûte que coûte à corroborer un maximum d'informations d'origine expérimentale.

-la décision d'envisager l'adaptation de la méthode du potentiel tronqué à la simulation des bicouches lipidiques, le but étant d'en dépasser les limites, voire d'en corriger les artefacts.

En plus de l'intérêt direct présenté par la simulation de dynamique moléculaire des bicouches lipidiques, il nous est apparu important d'utiliser et de comparer la méthode de potentiel tronqué à notre nouvelle stratégie de calcul sur un modèle plus simple. Pour cela, nous devons choisir un modèle d'étude dont les différentes facettes ont été largement étudiées et publiées. Notre choix s'est donc porté sur l'étude de la solvation d'un cation sodium. Les tests effectués sur ce modèle, à savoir, l'influence de la taille et de la forme du "cutoff" sur des systèmes non cubiques, nous ont permis d'extrapoler l'utilisation de notre nouvelle stratégie sur la simulation de modèles de bicouches lipidiques.

Par ailleurs, à partir des résultats des simulations de dynamique moléculaire de bicouches lipidiques, nous avons pu discuter d'un certain nombre de paramètres expérimentaux renseignant sur la structure d'ordre moléculaire et atomique des bicouches. Ces paramètres ont été comparés à nos résultats théoriques. Cette étude comparative a porté essentiellement sur l'analyse structurale (épaisseur de la bicouche, orientation du dipôle et des chaînes) et conformationnelle (conformation des têtes polaires et des chaînes aliphatiques) des monomères lipidiques ainsi que de leur environnement aqueux. Nous avons donc pu juger de la fiabilité des deux techniques à reproduire la phase cristal liquide du DMPC. De plus, au

travers de l'analyse de ces résultats, nous avons pu confirmer les capacités et la robustesse du champ de forces SPASIBA à reproduire les données spectroscopiques relatives aux bicouches lipidiques.

Quelles conclusions peut-on tirer de la présente étude concernant la reproduction par simulation de dynamique moléculaire de la phase cristal liquide d'une bicouche lipidique et de sa flexibilité?

Comme nous l'avons vu au cours du chapitre 5, la première étape sujette à controverse portait sur le choix de la conformation initiale des monomères phospholipidiques et de l'architecture de l'assemblage moléculaire. A ce propos, nous avons pu constater que l'imprécision des renseignements structuraux expérimentaux, due au caractère indirect de la mesure ou bien de son aspect direct non complet, est également un problème dont il faut tenir compte. Pour notre part, nous avons estimé que l'introduction d'un jugement subjectif n'était pas acceptable. C'est pourquoi nous avons cherché à faire coïncider les résultats théoriques et les faits expérimentaux à partir d'un modèle de bicouche ne présentant aucune restriction initiale.

Dans ce cas, comment peut-on valider les résultats de la simulation par dynamique moléculaire ? Pour la majorité des points structuraux étudiés, nos calculs sont en accord soit avec l'aspect expérimental, soit avec la littérature théorique, voire meilleurs. Cependant, un doute a subsisté concernant l'enchevêtrement des chaînes aliphatiques au centre de la bicouche lipidique. Nous avons donc complété ce mémoire par deux simulations de dynamique moléculaire complémentaires. Ces simulations consistaient en:

-l'élargissement des dimensions du système de simulation selon les axes y et z du repère. Cette augmentation avait pour but de juger de l'effet des conditions périodiques aux frontières (PBC) sur les interactions non liantes de type van der Waals. L'objectif était donc la réduction de ces contacts dans cette zone de la bicouche lipidique.

-l'accélération artificielle de la durée de la dynamique par l'introduction d'une agitation thermique couplée au "gel" des têtes polaires et des molécules d'eau.

Par l'analyse de ces résultats de dynamique moléculaire, nous avons conforté notre hypothèse consistant à dire que la transition *trans/ gauche* des chaînes aliphatiques était un phénomène lent observable entre 500ps et 1ns. Cette hypothèse se réfère également à des travaux d'autres groupes.

Enfin, l'étude comparative de l'influence du mode de calcul des interactions non liées a mis en évidence un certain nombre d'erreurs introduites par le potentiel tronqué sphérique classique. Les faiblesses de cette méthode à reproduire correctement la phase cristal liquide sont directement liées à l'apparition d'une discontinuité de l'énergie potentielle et des forces dans la limite du "cutoff". Cet artefact bien connu de cette méthode montre son inefficacité au traitement des interactions non liées présentes dans les systèmes lamellaires phospholipidiques.

A l'opposé, notre nouvelle méthode de potentiel tronqué non sphérique s'est montrée performante et parfaitement adaptée à la simulation des bicouches lipidiques. La symétrie de la bicouche et la reproduction conformationnelle des monomères lipidiques sont des preuves de la conservation de l'intégrité de la structure lamellaire relative à la phase cristal liquide des phospholipides.

