ผลของความซับซ้อนของแบบจำลองเยื่อหุ้มเซลล์ต่อการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทอง Effect of Membrane Complexity Model on Cellular Uptake of Gold Nanoparticles

ทศพล ลุนนู (Thodsaphon Lunnoo)* จิรวัฒน์ อัศวบจรศักดิ์ (Jirawat Assawakhajornsak)** นพมาศ โยลัย (Noppamas Yolai)*** คร.ธีระพงษ์ พวงมะลิ (Dr.Theerapong Puangmali)****

บทคัดย่อ

งานวิจัขนี้มุ่งเน้นศึกษาอันตรกิริขาระหว่างอนุภาคนาโนทองและเยื่อหุ้มเซลล์ โดขใช้การจำลองแบบทาง กอมพิวเตอร์แบบกลุ่มอะตอม เพื่อศึกษาผลการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทองผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ 2 ชนิด คือ เยื่อหุ้ม เซลล์อย่างง่าย และเยื่อหุ้มเซลล์พลาสมาที่มีความซับซ้อนใกล้เคียงกับเยื่อหุ้มเซลล์ของสิ่งมีชีวิตมากที่สุด จากผล การศึกษาพบว่าขนาดของอนุภาคนาโนทอง และความซับซ้อนของเมมเบรนมีผลต่อการเข้าสู่เซลล์ ซึ่งรูปแบบการเข้าสู่ เซลล์ของอนุภาคนาโนทองสามารถแบ่งได้ 3 รูปแบบ คือ 1) การเข้าสู่เซลล์แบบแพร่ 2) การเข้าสู่เซลล์แบบกึ่งเอนโคไซ โทซิส และ 3) การเข้าสู่เซลล์แบบเอนโคไซโทซิส สำหรับอนุภาคทองที่มีขนาด 2 นาโนเมตร สามารถผ่านเข้าสู่เซลล์ใด้ ดีกว่าอนุภาคนาโนทองที่มีขนาดใหญ่ อนุภาคนาโนทองที่มีขนาด 2-8 นาโนเมตรมีรูปแบบการเข้าสู่เซลล์เหมือนกันทั้ง 2 แบบจำลองเซลล์แมมเบรน แต่สำหรับอนุภาคทองขนาด 10 นาโนเมตรจะมีการเข้าสู่เซลล์แตกต่างกัน โดยเข้าสู่เซลล์ แบบเอนโคไซโทซิสสำหรับเมมเบรนอย่าง่าย และเข้าสู่เซลล์แบบแพร่สำหรับพลาสมาเมมเบรน ดังนั้นความซับซ้อน ของเยื่อหุ้มเซลล์มีผลต่อการอธิบายรูปแบบการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทอง ซึ่งความเข้าใจอันตรกิริยาระหว่าง อนุภาคนาโนทองและเยื่อหุ้มเซลล์จะสามารถออกแบบอนุภาคนาโนทองเพื่อประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ระดับนาโน

ABSTRACT

In this work, we studied the interactions between gold nanoparticles (AuNPs) and cell membrane. To investigate the effect of membrane complexity on the cellular uptake of AuNP, the internalization of AuNP in simple membrane (DSPC/DSPG membrane) and idealized plasma membrane based on coarse-grained molecular simulation (CGMD) technique was studied. Simulation results show that sizes of AuNP and the complexity of plasma membrane play significant roles in the internalization of AuNP. The cellular uptake pathway of AuNP across cell membrane can be classified into three different processes including (i) direct translocation, (ii) semi-endocytosis, and (iii) endocytosis. A 2-nm-in-diameter AuNP can be translocated across cell membranes easier than larger particles. The translocation of AuNP (2-8nm) in both simple membrane and plasma membrane had the same cellular uptake pathway. In contrast, the endocytosis pathway and the direct translocation of a 10 nm AuNP were found in the simple membrane and the plasma membrane, respectively. Our study indicates that the complexity of membrane model play an important role in the uptake pathway of AuNP. Understanding the interaction between AuNPs and cell membrane provides the novel design of AuNP for applications nanomedicine.

คำสำคัญ: กลไกการเข้าสู่เซลล์ อนุภาคนาโนทอง พลาสมาเมมเบรน

Keywords: Cellular uptake pathway, AuNP, Plasma membrane

* นักศึกษา หลักสูตรปรัชญาคุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

**** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

^{**} นักศึกษา หลักสูตรปรัชญาคุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ธรรมชาติและคณิตศาสตร์ คิงส์คอลเลจลอนคอน

^{***} นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิคล

บทนำ

อนุภาคนาโนทองถูกนำมาประชุกต์ใช้ในทางการแพทย์อย่างแพร่หลาย เช่น การนำส่งยา (drug delivery) (Vigderman et al., 2013) การบำบัดทางแสง (photothermal therapy) (Mayer et al., 2011) เป็นค้น เนื่องจากอนุภาคนาโน ทองมีสมบัติเฉพาะหลายประการ เช่น สามารถเข้ากับเซลล์ของสิ่งมีชีวิตได้ดี และมีสมบัติทางแสงที่สามารถตอบสนอง ต่อแสงที่ตกกระทบที่เรียกว่า Localized surface plasmon resonance (LSPR) (Wang et al., 2013) ซึ่งมีช่วงการดูดกลืน แสงช่วงใกล้อินฟราเรด (near-infrared) และสมบัติทางแสงนี้ขึ้นอยู่กับรูปทรงของอนุภาคนาโนทอง เช่น อนุภาคนาโน ทองแบบทรงกลมจะมีช่วงการดูดกลืนแสงในช่วง 520 นาโนเมตร และอนุภาคนาโนทองแบบแท่ง (nanorod) มีช่วงการ ดูดกลืนแสงในย่าน 800 นาโนเมตร ซึ่งรูปทรง และขนาดของอนุภาคนาโนทองส่งผลต่อช่วงการดูดกลืนแสงที่แตกต่าง กัน อย่างไรก็ตามการนำอนุภาคนาโนทองไปประชุกต์ใช้ในด้านการแพทย์นั้นเกี่ยวข้องกับกลไกการเข้าสู่เซลล์ ซึ่งเป็น ปัจจัยหลักในการพิจารณาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการนำอนุภาคนาโนทองไปยังอวัยวะเป้าหมาย

เมื่ออนุภาคนาโนทองมาถึงเซลล์เป้าหมาข อนุภาคนาโนทองจะเข้าสู่เซลล์เป้าหมาขโดขขึ้นอยู่กับลักษณะทาง กายภาพ และการปรับปรุงพื้นผิวของอนุภาคนาโนทอง โดยที่ขนาดของอนุภาคเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อการเข้าสู่เซลล์ เช่น อนุภาคที่มีขนาดเล็กจะเข้าสู่เซลล์แบบแพร่ (direct translocation) และอนุภาคมีขนาดใหญ่จะเข้าสู่เซลล์แบบเอนโด ใซโทซิส (endocytosis) (Rossi et al., 2016; Huang et al., 2012; Deserno, 2014; Li, 2012; Ginzburg and Balijepalli, 2007; Ding et al., 2012) Chithrani และคณะ (Chithrani et al., 2006) ได้ศึกษาผลของขนาดและรูปทรงของอนุภาคนาโนทอง ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม พบว่าอนุภาคนาโนทองทรงกลมขนาด 50 นาโนเมตร สามารถผ่านเข้าสู่เซลล์ แบบเอนโดไซโทซิสและเป็นขนาดที่ให้ประสิทธิภาพการเข้าสู่เซลล์ก็ที่ดีสุด (Chithrani et al., 2006; Perrault et al., 2009) สำหรับการศึกษาการจำลองแบบทางคอมพิวเตอร์เริ่มจากปี 2010 Lin และคณะ (Lin et al., 2010) ได้ศึกษาการ เข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทองที่มีประจุแตกต่างกัน (ประจุบวก กลาง และประจุบลบ) ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีประจุลบ (DSPC/DPPG) พบว่า อนุภาคที่มีประจุบวกจะมีประสิทธิภาพการเข้าสู่เซลล์ (translocation rate) ชนิด DSPC/DSPG ของอนุภาคนาโนทองที่มีรูปทรงแตกต่างกัน ซึ่งพบว่าอนุภาคที่มีรูปทรงแบบแท่งมีอัตราการผ่านเข้าสู่เซลล์ได้ดีที่สุด

แม้ว่าการศึกษาการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทองที่ขนาดแตกต่างกันมีการศึกษาอย่างแพร่หลาย ยังมีหลาย ประเด็นที่ยังไม่มีคำตอบ หรือมีคำตอบแต่ยังไม่ชัดเจน การจำลองทางคอมพิวเตอร์จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการศึกษา และแบบจำลองเมมเบรนที่มีการศึกษามาก่อนหน้านี้ยังเป็นแบบจำลองอย่างง่ายซึ่งประกอบด้วยลิพิดน้อยกว่า 3 ชนิด เช่น แบบจำลองของลิพิด 1 ชนิด (Salassi et al., 2017; Simonelli et al., 2015; Quan et al., 2017; Potdar et al., 2015; Song et al., 2012; Lin et al., 2010; Ge et al., 2014) 2 ชนิด (Quan et al., 2017; Nangia et al., 2012; Angelikopoulos et al., 2017; Heikkila et al., 2014; Lin et al., 2011) และ 3 ชนิด (Gupta et al., 2017; Gupta et al., 2016) ซึ่งในความเป็นจริง พลาสมาเมมเบรนประกอบด้วยลิพิดมากกว่า 1000 ชนิด ซึ่งการที่จะอธิบายผลของความซับซ้อนของเยื่อหุ้มเซลล์ใน แบบจำลองอย่างง่ายนี้ต่อการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนนั้นจึงยังไม่เพียงพอ

จากรายงานข้างต้นพบว่า การศึกษาอันตรกิริยาระหว่างอนุภาคนาโนทองและเยื่อหุ้มเซลล์สามารถนำไปสู่การ ประยุกต์ในด้านการแพทย์ จึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้ โดยศึกษาผลของขนาดอนุภาคนาโนทองที่แตกต่างกันผ่านเยื่อหุ้ม เซลล์ของสิ่งมีชีวิต ผ่านการจำลองแบบทางกอมพิวเตอร์แบบกลุ่มอะตอม (coarse-grained molecular dynamic: CGMD) และผลของความซับซ้อนของเซลล์เมมเบรนต่อการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทอง ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาคาดว่าจะ สามารถนำไปสู่การออกแบบอนุภาคนาโนทองเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในด้านการแพทย์ระดับนาโน (nanomedicine) ได้

วัตถุประสงค์การวิจัย

- 1. เพื่อศึกษาอันตรกิริยาระหว่างอนุภาคนาโนทองกับเยื่อหุ้มเซลล์
- 2. เพื่อศึกษาผลของขนาดอนุภากนาโนทองต่อการเกลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์
- เพื่อศึกษาผลของความซับซ้อนของเซลล์เมมเบรนต่อการเคลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของอนุภาคนาโนทอง

วิธีการวิจัย

สนามแรง (Force field) ในงานวิจัขนี้ได้ปรับปรุงสนามแรงจากแบบจำลองสนามแรงของ Martini (Marrink et al., 2007) เพื่อใช้ในการอธิบาขอันตรกิริขาระหว่างอนุภาคนาโนทองและเซลล์เมมเบรน สำหรับในงานวิจัขนี้ได้ใช้ แบบจำลองระดับกลุ่มอะตอม (Coarse-grain model: CG) ในการอธิบาขอันตรกิริขาระหว่างอนุภาคนาโนทองกับเซลล์ แมแบรน โดยการลดจำนวนอะตอมจากระดับอะตอม (all atom) เป็นระดับกลุ่มอะตอม เช่น 4 อะตอมที่มีสมบัติ กล้ายกันลดลงเป็น 1 บิต สำหรับการลดจำนวนอะตอมตามแบบจำลอง Martini แบ่งกลุ่มระดับอะตอมออกเป็น 4 ประเภท คือ มีประจุใช้สัญลักษณ์หลัก Q มีขั้วใช้สัญลักษณ์หลัก P ไม่มีขั้วใช้สัญลักษณ์หลัก N และกิ่งมีขั้วใช้สัญลักษณ์ C สำหรับกลุ่มอะตอมที่มีประจุ Q และไม่มีขั้ว N โดยแบ่งลักษณะการเกิดพันธะเป็น 4 ประเภท กลุ่มอะตอมที่ไม่ สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนใช้สัญลักษณ์รอง 0 (Q₀ หรือ N₀) กลุ่มอะตอมที่ประพฤติดัวเป็นผู้ให้สำหรับการเกิดพันธะ ไฮโดรเจนใช้สัญลักษณ์รอง 0 (Q₀ หรือ N₀) กลุ่มอะตอมที่ประพฤติดัวเป็นผู้ให้สำหรับการเกิดพันธะ ไปโดรเจนใช้สัญลักษณ์รอง เป็น a และกลุ่มอะตอมที่ประพฤติดัวเป็นผู้ให้และผู้รับใช้สัญลักษณ์รองเป็น a และกลุ่มอะตอมที่ประพฤติดัวเป็นผู้ให้และผู้รับใช้สัญลักษณ์รองเป็น a และกลุ่มอะตอมที่ประพฤติดัวเป็นผู้ให้และผู้รับใช้สัญลักษณ์รองเป็น b กล่ารงจับดัวเลา 5 ระดับเช่น P₁ อธิบาขอะตอมที่มีขั้วแบบแรงสุด ส่าน f. โดรเจนาร์ด โลนส์ (Lennard-Jones potential)

$$U_{\rm LJ}(r_{ij}) = 4\varepsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{6} \right] = \frac{C_{ij}^{(12)}}{r_{ij}^{(12)}} - \frac{C_{ij}^{(6)}}{r_{ij}^{(6)}}$$
(1)

เมื่อ r_{ij} คือ ระยะระหว่างโมเลกุลลำดับที่ i และ j C_{ij}⁽¹²⁾ และ C_{ij}⁽⁶⁾ คือ ค่าคงที่ซึ่งขึ้นกับชนิดของอะตอมที่ทำปฏิกิริยา และ อันตรกิริยาทางไฟฟ้า (electrostatic interaction) ดังสมการ (2)

$$U_{\rm el}(r_{ij}) = f \frac{q_i q_j}{\varepsilon_{ij} r_{ij}}$$
⁽²⁾

เมื่อ r_{ij} คือ ระยะระหว่างโมเลกุลลำดับที่ i และ j q_i และ q_j คือ ค่าประจุของอนุภาค i และ j ตามลำดับ และ f คือ ค่าคงที่ ทางไฟฟ้า และ є คือ ค่าสภาพยอมสัมพัทธ์ (relative permittivity) ส่วนการอธิบายอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลอธิบาย ด้วยพลังงานศักย์ในการยืดหดของพันธะ (bond stretching potential) ดังสมการ (3)

$$U_{\rm str}(r_{ij}) = \frac{k_{ij}^{b} \left(r_{ij} - b_{ij}\right)^{2}}{2}$$
(3)

เมื่อ r_{ij} คือ ระยะระหว่างโมเลกุลลำดับที่ i และ j b_{ij} คือ ความยาวพันธะ ที่ตำแหน่งสมดุลของอะตอมที่ i และ j และ k^bij คือ ค่าคงที่ของแรงที่อธิบายความแรงของพันธะ และพลังงานศักย์ของการกางเข้าออกของมุม ดังสมการ (4)

$$U_{\text{angle}}(\theta_{ij}) = \frac{k_{ijk}^{b} \left(\theta_{ij} - \theta_{ijk}^{0}\right)^{2}}{2}$$
(4)

เมื่อ θ_{ij} คือ ก่ากงที่ของมุมที่เกิดขั้นกับลำดับอะตอมที่ *i* และ *j* k_{ijk} คือ ก่ากงที่ของแรง และ θ_{ijk} คือ ก่ามุมที่ตำแหน่งสมดุล สำหรับอะตอม *i j* และ *k* ตามลำดับ สำหรับรายละเอียดต่าง ๆ สามารถศึกษาเพิ่มเติมตามบทความของ Martini (Marrink SJ et al., 2007) ซึ่งแบบจำลองสนามพลังงานของ Martini สามารถอธิบายอันตรกิริยาและเพิ่มเวลาในการกำนวณได้เร็ว ขึ้นเป็น 4 เท่า ดังนั้นด้วยเหตุผลดังกล่าวสนามแรงของ Martini จึงเหมาะสมกับงานวิจัยนี้

แบบจำลองกลุ่มอะตอมของอนุภาคนาโนทอง (CG model of AuNP) สำหรับแบบจำลองของอนุภาคนาโนทองจะ สอดกล้องกับสนามแรงของ Martini ซึ่งโครงสร้างของอนุภาคนาโนทองจะเป็นแบบ face center cubic (FCC) และมี ระยะห่างระหว่างอะตอมเป็น 0.408 นาโนเมตร ซึ่งสอดกล้องกับค่าคงที่ระยะห่างแลตทิซ (lattice constant) ของอนุภาค นาโนทอง สำหรับอนุภาคนาโนทองที่ใช้ในการศึกษามีขนาด 6 ขนาดซึ่งประกอบด้วย 0.82, 2, 4, 6, 8 และ 10 นาโน เมตร ซึ่งสอดกล้องกับจำนวนอะตอม 19 249 1,958 6,699 15,707 และ 30,887 ตามลำดับ และค่าคงที่ต่าง ๆ ของ สนามแรงของอนุภาคนาโนทองสอดกล้องกับงานวิจัยของ Lin และคณะ (Lin JQ et al., 2010) ซึ่งได้มีการปรับเทียบกับ ผลการทดลอง และอนุภาคนาโนทองใช้เป็นแบบอะตอม (1:1 mapping) และใช้พารามิเตอร์ C₅ ซึ่งมีค่า $\varepsilon = 3.5$ กิโลจูล ต่อโมล และ $\sigma = 0.47$ นาโนเมตร ค่าคงที่เหล่านี้ถูกนำมาใช้อธิบายพฤติกรรมของออนุภาคนาโนทอง

แบบจำลองเซลล์เมมเบรน (Cell membrane models) สำหรับในงานวิจัยนี้เพื่อเปรียบเทียงผลของความซับซ้อน ของเซลล์เมมเบรนต่อการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทองได้ศึกษาเชิงเปรียบเทียบในเยื่อหุ้มเซลล์ 2 แบบ คือ แบบจำลองเซลล์เมมเบรนอย่างง่าย และแบบจำลองพลาสมาเมมเบรน ซึ่งแบบจำลองเมมเบรนอย่างง่าย ใช้แบบจำลอง เซลล์เมมเบรนที่มีประจุสุทธิบนพื้นผิวเป็นลบในอัตราส่วน 3:1 ของ distearoyl phosphatidyl choline (DSPC) มีประจุ เป็นกลาง และ distearoyl phosphatidyl glycerol (DSPG) มีประจุเป็นลบ และมีความสมมาตรดังภาพที่ 1 (ก) สำหรับ แบบจำลองของพลาสมาเมมเบรนประกอบไปด้วยลิพิดจำนวน 63 ชนิด และคอเลสเตอรอลที่ความเข้มข้น 30 mol% ซึ่งเปรียบเทียบระหว่างลิพิดชั้นบน (outer leaflet) และลิพิดชั้นล่าง (inner leaflet) จะไม่มีความสมมาตร ดังแสดงในภาพ ที่ 1 (ข) สำหรับลิพิดที่มีประจุประกอบด้วย phosphatidylinostitol (PI) PI-phosphate PI-bisphosphate PI-trisphosphate (PIPs) และ phosphatidylserine (PS) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเมมเบรนชั้นล่าง ส่วนลิพิดชนิด glycolipids (GM) เป็น ส่วนประกอบของเมมเบรนด้านบน ลิพิดที่มีประเป็นจุกลาง (zwitterionic lipid) เช่น sphingomyelin (SM) phosphatidylethanolamine (PE) และ phosphatidylcholines (PC) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของพลาสมาเมมเบรนทั้งชั้นบน และชั้นล่าง และลิพิดที่มีประจุเป็นกลางซึ่งเป็นส่วนประกอบทั้งพลาสมาเมมเบรนชั้นบนและชั้นล่าง ซึ่งประกอบด้วย ceramide (CER) diacylglycerol (DAG lysophosphatidylcholine (LPC) และพลาสมาเมมเบรนมีประจุสุทธิเป็นอบ ซึ่ง



ภาพที่ 1 แบบจำลองเซลล์เมมเบรนระหว่าง (ก) แบบจำลองเมมเบรนอย่างง่าย (DSPC:DSPG) และ (ง) แบบจำลอง พลาสมาเมมเบรน

แบบจำลองพลาสมาเมมเบรนที่ใช้ในการศึกษาในงานวิจัยนี้ใช้จากแบบจำลองของ Martini http://cgmartini.nl. ซึ่ง รายละเอียดต่าง ๆ ในการจำลองพลาสมาเมมเบรนสามารถอ่านได้ที่ (Ingolfsson et al., 2014) และในงานวิจัยนี้ ประกอบด้วยลิพิดทั้งหมด ~7000 สิพิค น้ำ ~700000 โมเลกุล Na⁺ ~3000 และ CI⁻ ~2000 ไอออน ซึ่งจำนวนอะตอมที่ ใช้ในการศึกษาแต่ละขนาดมากกว่า 712000 อนุภาค และขนาดของกล่องที่ใช้ศึกษาคือ 40x40x50 nm³

รายละเอียดของการคำนวณ (simulation details) อนุภาคนาโนทองจะถูกวางไว้ด้านบนของเซลล์เมมเบรนที่ระยะ ~10 นาโนเมตร ในการจำลองใช้เทคนิค NPT ensemble จำลองระบบที่อุณหภูมิ 310 เคลวิน โดยใช้เทคนิค Berendsen barostat ค่าคงที่ไดอิเล็กทริก (dielectric constant) $\varepsilon = 15$ อันตรกิริยาทางไฟฟ้า (electrostatic interaction) คำนวณ โดยวิธี Fast Particle Meah Ewald (PME) และอันตรกิริยา van de Waals ใช้การพิจารณาอะตอมในรัศมี 1.2 และ 1.4 นา โนเมตร ตามลำดับ สำหรับการศึกษาเราใช้เทคนิค Steered MD โดยการผลักให้อนุภาคนาโนทองเคลื่อนผ่านเซลล์เมม เบรน ในทิศทาง z โดยใช้แรงคงที่ 1000 กิโลจูลต่อโมลต่อนาโนเมตร และในงานวิจัยนี้ศึกษาพลวัติเชิงโมเลกุลด้วย โปรแกรม GROMACS 5.0.7 (Van Der Spoel et al., 2005) และทำการวิเคราะห์ผลทางรูปภาพจาก Visual Molecular Dynamics (VMD) (Humphrey et al., 1996)

การคำนวณศักย์ของแรงเฉลี่ย (Potential of mean force : PMF) ด้วยเทคนิค Umbrella sampling สำหรับ การศึกษาการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทองโดยระยะทางอนุภาคนาโนทองที่เคลื่อนที่ผ่านเซลล์เมมเบรนประมาณ 25 นาโนเมตร ในทิศทาง z ซึ่งอนุภาคนาโนทองจะถูกผลักให้เคลื่อนที่ด้วยอัตรา 0.0002 นาโนเมตรต่อพิโควินาที ด้วยแรง 1000 กิโลจูลต่อโมลต่อตารางนาโนเมตรเพื่อให้อนุภาคนาโนทองเคลื่อนที่ผ่านเชื่อหุ้มเซลล์ (Gupta et al., 2017; Gupta et al., 2016) สำหรับการกำนวณพลังงานอิสระ (PMF) จะเลือกตำแหน่งของอนุภาคทองห่างจากเซลล์เมมเบรนทีละ 0.02 นาโนเมตรและนำตำแหน่งมากำนวณพลังงานด้วยเทคนิค umbrella sampling โดยแต่ละตำแหน่งกำนวณ 1 นาโนวินาที ในการกำนวณใช้อุณหภูมิ 310 เคลวิน โดยใช้เทคนิค Nose-Hoover อันตรกิริยาทางไฟฟ้ากำนวณโดยวิธี PME และ อันตรกิริยา van de Waals ใช้การพิจารณาอะตอมในรัศมี 0-1.2 นาโนเมตร และวิเคราะห์ผลเพื่อให้ได้กราฟ PMF โดยใช้ เทคนิค The weighted histogram analysis สำหรับการกำนวณการเข้าสู่เซลล์ โดยพิจารณาทฤษฎีทรานซิซันเตท (transition state theory) (Nangia et al., 2012; Mhashal et al., 2016) โดยจะมีกำแพงพลังงานซึ่งพิจารณาจากตำแหน่งที่ มีค่าพลังงานต่ำสุดและสูงสูดที่ได้จากกราฟ PMF ใช้กำนวณอัตราการเข้าสู่เซลล์ (the rate constants of internalization) ดังแสดงในสมการที่ (5)

$$k = \frac{k_{\rm B}T}{h} \exp\left[-\frac{\Delta G(z)}{k_{\rm B}T}\right]$$
(5)

เมื่อ T คืออุณหภูมิ $k_{\rm B}$ ค่าคงที่โบลทซ์มันน์ (Boltzmann constant) h ค่าคงที่ของพลังค์ (Planck's constant) $\Delta G(z)$ กำแพงพลังงานอิสระ หลังจากนั้นกี่สามารถคำนวณหาเวลา t_{χ} ของการเข้าสู่เซลล์ได้ดังสมการที่ (6)

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{0.693}{k} \tag{6}$$

ผลการวิจัย

ผลของความซับซ้อนของเมมเบรนในการทำอันตรกิริยาระหว่างอนุภาคนาโนทอง กับเซลล์เมมเบรน ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ ทำการศึกษาการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทองผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ 2 ชนิด คือเซลล์เมมเบรนอย่างง่าย โดย แบบจำลองลิพิดใน อัตราส่วน 3:1 ของลิพิดชนิด DSPC (ประจุกลาง) และ DSPC (ประจุลบ) กับพลาสมาเมมเบน ที่มีความซับซ้อน ใช้ลิพิด ทั้งหมด 63 ชนิดและมีความไม่สมมาตรระหว่างลิพิดชั้นบนและชั้นล่างของเซลล์เมมเบรน สำหรับพลังงานอิสระ (free energy) ของการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทองผ่านเซลล์เมมเบรนของแบบจำลองทั้ง 2 ชนิด ดังแสดงในภาพที่ 2 ซึ่งแสดงพลังงานอิสระของอนุภาคนาโนทองและระขะห่างระหว่างจุดกึ่งกลางของอนุภาคนาโน ทองกับจุดกึ่งกลางของเซลล์เมมเบรน สำหรับจุดกึ่งกลางของเซลล์เมมเบรนที่ z = 0 พบว่าอนุภาคทองขณะที่ผ่านเซลล์เมม เบรนทั้ง 2 แบบจำลองจะมีพลังงานอิสระแตกต่างกันทั้ง 0.82 และ 2 นาโนเมตร สำหรับทองที่มีขนาด 0.82 นาโนเมตรเมื่อ เกลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์จะทำให้เมมเบรนเสียสภาพน้อยหรือไม่มีความเสียหาย กราฟพลังงานอิสระที่เกิดขึ้นจะมีความ สมมาตรทั้งช่วงก่อนเข้าสู่เซลล์เมมเบรน (z>0) และช่วงหลังออกจากเซลล์ (z<0) ดังแสดงในภาพที่ 2 (ก) และ (ค) และมีความ สมมาตรของกราฟพลังงานอิสระได้ชัดเจนในแบบจำลองพลาสเมมเบรน (ภาพที่ 2 (ก)) ดังนั้นกราฟพลังงานอิสระของ อนุภาคนาโนทอง ณ ตำแหน่งที่มีพลังงานต่ำสุดที่ z~2.0 (s1) และ -2.2 (s4) นาโนเมตรสำหรับเซลล์เมมเบรนอย่างง่าย และ z~2.2 (p1) และ -2.2 (p4) นาโนเมตร สำหรับพลาสมาเมมเบรน ซึ่งอธิบายได้ว่าอนุภาคนาโนทองที่มีสมบัติเป็นกิ่งชอบน้ำยัง มีความชอบที่จะอยู่บนพื้นผิวของเซลล์เมมเบรนและจะมีพลังงานอิสระสูงเมื่ออนุภาคนาโนทองอยู่บริเวณกึ่งกลางของเซลล์ เมมเบรนเนื่องจากอนุภาคนาโนทองเคลื่อนที่จากบริเวณที่ชอบน้ำมายังบริเวณที่ไม่ชอบน้ำ

อนุภาคนาโนทองที่มีขนาด 2 นาโนเมตร ขณะที่ผ่านเซลล์เมมเบรนทั้ง 2 แบบจำลองจะมีพลังงานอิสระแตกต่างกันอย่าง มีนัยสำคัญ พิจารณาแบบจำลองอย่างง่าย (DSPC/DSPG) อนุภาคนาโนทองจะมีกำแพงพลังงาน (free energy barrier) 3 ตำแหน่งด้วยกัน คือ ที่ z = -2.46 - 7.06 และ -8.88 นาโนเมตร ซึ่งสอดกล้องกับพลังงานที่ 43.74 ±4.70 28.61±5.50 และ 25.42±7.03 กิโลจูลต่อโมล ตามลำดับ สำหรับกราฟของพลังงานอิสระจะมีตำแหน่งที่มีพลังงาน อิสระสูงสุด คือ S1 ที่ z = 3.60 นาโนเมตร และก็มีพลังงานอิสระต่ำที่สุด ณ ตำแหน่งก่อนที่อนุภาคนาโนทองจะเข้าสู่ เซลล์ที่เวลา



ภาพที่ 2 แสดงพลังงานอิสระ (PMF) ของอนุภาคนาโนทอง ขนาด 0.82 ((ก) และ (ก)) และ 2 ((ข) และ (ง)) นาโนเมตร ผ่านแบบจำลองเชื่อหุ้มเซลล์ 2 ชนิด คือ (ก) และ (ข) เมมเบรนอย่างง่าย (DSPC/DSPG) และ (ก) และ (ง) พลาสมาเมมเบรน และแสดงภาพที่สอดคล้องกับกราฟพลังงานที่เวลาต่าง ๆ

23.85 นาโนวินาที ดังแสดงในภาพที่ 2 (ข) ส่วนตำแหน่งที่มีพลังงานอิสระสูงที่สุด S2 ที่เวลา 51.60 นาโนวินาทีเป็นตำแหน่ง ที่อนุภาคนาโนจะหลุดออกจากเซลล์ สำหรับแบบจำลองพลาสมาเมมเบรน รูปร่างของกราฟพลังงานอิสระจะมีความแตกต่าง จากแบบจำลองเมนเบรนอย่างง่าย ซึ่งจากการสังเกตพบว่ามีกำแพงพลังงานอิสระเท่ากับ 260±6.04 กิโลจูลต่อโมล ที่ ตำแหน่ง z = 14.87 นาโนเมตร ก่อนที่อนุภาคนาโนทองจะผ่านเซลล์เมมเบรน จะมีพลังงานอิสระลดลงที่ตำแหน่ง PI ซึ่ง อนุภาคนาโนทองเกลื่อนที่มาจากบริเวณที่เป็นน้ำมาที่พื้นผิวของพลาสมาเมมเบรน และก็จะมีพลังงานสูงขึ้นเมื่ออนุภาคนา โนทองแทรกเข้าไปในพลาสมาเมมเบรน ซึ่งผลที่ได้จะมีลักษณะของกราฟพลังงานอิสระคล้ายกับแบบจำลองเมมเบรนอย่าง ง่าย แต่จะมีพลังงานอิสระสูงกว่าเมมเบรน อย่างง่ายเนื่องจากพื้นผิวของอนุภาคนาโนทองมีสมบัติกึ่งชอบน้ำ จึงทำให้ ตำแหน่งดังกล่าวเป็นจุดต่ำสุดของกราฟพลัง งานอิสระซึ่งพบ 2 ตำแหน่ง ณ บริเวณพื้นผิวของเซลล์เมมเบรนที่มีสมบัติสอบ น้ำเหมือนกัน ซึ่งพบที่เวลา 23.85 (S1) และ 52.30 (S3) นาโนเมตร ดังแสดงในภาพที่ 2 (ข) ส่วนจุดที่ทำให้ก่าพลังงานอิสระ สูงสุดคือตำแหน่งที่อยู่กึ่งกลางของเซลล์เมมเบรน ซึ่งเป็นบริเวณส่วนทางของลิพิดที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำซึ่งการที่อนุภาคนา โนทองเคลื่อนที่ผ่านบริเวณที่ชอบน้ำมาบริเวณที่ไม่ชอบน้ำจึงทำให้พลังงานอิสระสูง ในทางตรงกันข้ามกราฟพลังงาน อิสระของพลาสมาเมมเบรนจะมีกวามแตกต่างเพราะมีส่วนประกอบของกลอเลสเตอรอลซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของเยื่อหุ้ม เซลล์ มีผลทำให้รูปแบบของกราฟพลังงานอิสระแตกต่างจากแมมเบรนอย่างว่าย ซึ่งในแบบจำลองจะมีการเพิ่มคอเลสเตอรอล เข้าไปทั้งในส่วนของชั้นบนและชั้นล่าง ดังนั้นจึงไม่พบตำแหน่งที่มีพลังงานอิสระด่ำ ณ บริเวณของส่วนหางของลิพิดใน พลาสมาเมมเบรน

ผลการคำนวณอัตราการเข้าสู่เซลล์และเวลาในการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทองแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งถูกคำนวณ ด้วยสมการ (5) และ (6) จากผลการคำนวณแสดงให้เห็นถึงผลของขนาดของอนุภาคนาโนทองต่อการเคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์และ ผ่านแบบจำลองเยื่อหุ้มเซลล์แตกต่างกัน ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับการทดลองการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทองที่มี ขนาดเล็กกว่า 10 นาโนเมตร (Nangia et al., 2012) จากตารางที่ 1 แสดงเวลาในการเข้าสู่เซลล์ของ อนุภาคนาโนทองขนาด 0.82 และ 2 นาโนเมตรเท่ากับ 1.0×10⁻¹¹ และ 4.1×10⁻⁶ วินาที สำหรับเซลล์เมมเบรนอย่างง่าย และเปรียบเทียบกับ พลาสมาเมมเบรนเท่ากับ 2.3×10⁻¹⁰ และ 3.0×10³² วินาทีตามลำดับ จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าขนาดของอนุภาค นาโนทองและแบบจำลองของเซลล์เมมเบรนมีผลต่อการเข้าสู่เซลล์

$\frac{1}{2}$			
อุนภาคนาโนทอง	กำแพงพลังงานอิสระ (Barrier)	อัตราการเข้าสู่เซลล์ (k)	เวลาในการเข้าสู่เซลล์ (t _{1/2})
	(kJ/mol)	(s^{-1})	(s)
เมมเบรนอย่างง่าย			
0.82 nm	11.24 ± 3.33	6.9×10 ¹⁰	1.0×10^{-11}
2 nm	43.47 ± 4.70	1.7×10^{5}	4.1×10^{-6}
พลาสมาเมมเบรน			
0.82 nm	19.06 ± 4.81	3.0×10 ⁹	2.3×10^{-10}
2 nm	260.85 ± 6.04	2.3×10^{-33}	3.0×10^{32}

ตารางที่ 1 ตารางแสดงกำแพงพลังงานอิสระ (kJ/mol) ค่าค่งที่การเข้าสู่เซลล์ (s⁻¹) และเวลาในการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนา โนทองขนาด 0.82 และ 2 นาโนเมตร ผ่านแบบจำลองเยื่อห้มเซลล์อย่างง่ายและพลาสมาเมมเบรน

🗰 😰 20th NGRC การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 20 SDO2-8

จากการศึกษาของ Ingolfsson และคณะ (Ingolfsson et al., 2017) ได้รายงานว่าถ้าความซับซ้อนและตำแหน่งของพลาสมา เมมเบรนมีการเปลี่ยนแปลงจะส่งผลโดยรวมต่อสมบัติของพลาสมาเมมเบรน เช่น การเคลื่อนไหว (dynamics) และความเป็น ระเบียบของเซลล์แมมเบรน การเปลี่ยนแปลงสมบัติของเมมเบรนเนื่องจากความเข้มข้นของคอเลสเตอรอลที่เพิ่มขึ้นส่งผล โดยตรงต่อการเรียงตัวของเมมเบรน (the sol-called condensing effect) และการเรียงด้วของสายไฮโครคาร์บอน (the so-called ordering effect) (Rog et al., 2009; Rog et al., 2003; Berkowitz et al., 2009; Pendit et al., 2009) นอกจากนี้ คอเลสเตอรอลขึง ส่งผลถึงความหนาของเมมเบรน (thickness) และความแข็งแรงของเมมเบรน ซึ่งป้องกันการเกิดช่องว่างระหว่างเมมเบรน และ การเปลี่ยนรูปร่างของเมมเบรน (membrane deformations) ดังนั้นจึงสรุปว่าพลังงานอิสระที่สูงขึ้นในแบบจำลองพลาสมาเมม เบรนเป็นผลมาจากคอเลสเตอรอล และส่งผลให้ความสามารถในการเข้าสู่เซลล์ล์ลดลง จากกราฟพลังงานอิสระสามารถสรุป การเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทองได้ 2 ขั้นตอน ในช่วงแรกอนุภาคนาโนทองจะทำอันตรกิริยากับพื้นผิวของเซลล์แมม เบรน ในขณะที่พลังงานอิสระ ณ ตำแหน่งนี้จะส่งผลให้มีก่าต่ำ (S1 และ P1 สำหรับแบบจำลองเมมเบรนอย่างง่ายและ พลาสมาแมมเบรน ตามลำดับ) และขั้นที่สอง กราฟพลังงานอิสระจะแสดงมีก่าสูงสุดเมื่ออนุภาคนาโนทองกำลังหลุดออกจาก แมมเบรน (S2 และ P3 ในภาพที่ 2 (ข) และ (ง))



ภาพที่ 3 รูปแบบการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทองที่ขนาด 2 – 10 นาโนเมตร ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์อย่างง่าย (DSPC/DSPG) ที่เวลาต่างๆ (ก) 2 นาโนเมตร (ง) 4 นาโนเมตร (ก) 6 นาโนเมตรเมตร (ง) 8 นาโนเมตร และ (ง) 10 นาโนเมตร



ภาพที่ 4 รูปแบบการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทองที่ขนาด 2 – 10 นาโนเมตร ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์พลาสมาเมมเบรนที่ เวลาต่างๆ (ก) 2 นาโนเมตร (ข) 4 นาโนเมตร (ก) 6 นาโนเมตรเมตร (ง) 8 นาโนเมตร และ (ง) 10 นาโนเมตร

นอกจากความแตกต่างของพลังงานอิสระ ความซับซ้อนของเมมเบรนส่งผลต่อรูปแบบการเข้าสู่เซลล์ (uptake pathways) ของอนุภาคนาโนทอง การเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทองสามารถเกิดขึ้นผ่าน 2 กระบวนการ คือ กระบวนการเข้าสู่เซลล์ แบบแพร่ (direct translocation) และเอนโคไซโทซิส (endocytosis) โดยกระบวนการเอนโคไซโทซิส เมมเบรนจะมีการเปลี่ยน รูปโดยการงอกยื่นออกมา หรือโค้งเพื่อพยายามห่อหุ้มอนุภาคนาโนทอง สำหรับอนุภาคนาโนทองที่มีขนาดเล็ก (2-8 นาโน เมตร) จะมีการเข้าสู่เซลล์แบบแพร่หรือแบบแทรก ดังแสดงในภาพที่ 3 และ 4 ซึ่งแสดงรูปแบบการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนา โนทองที่มีขนาดแตกต่างกันทั้งแบบจำลองเมมเบรนอย่างง่ายและพลาสมาเมมเบรน สำหรับอนุภาคที่มีขนาด 2 นาโนเมตร จะสามารถเข้าสู่เซลล์ได้เร็วและง่าย กว่าอนุภาคนาโนทองที่มีขนาดใหญ่ โดยที่จะเริ่มทำอันตรกิริยากับเซลล์แมมเบรนที่เวลา 12 และ 20 นาโนวินาที และก็จะสร้างรู เพื่อแทรกผ่านเซลล์แมมเบรน โดยใช้เวลา 22 และ 42 นาโนวินาที สำหรับ เมมเบรนอ ย่างง่ายและพลาสมาเมมเบรน ตามลำดับ เมื่ออนุภาคมีขนาดที่ใหญ่ขึ้น 4-8 นาโนเมตร จากการสังเกต สามารถสรุปได้ว่าจะ ผ่านเข้าสู่เซลล์เมมเบรนแบบกึ่งเอนโคไซโทซิส (semi-endocytosis)

กระบวนการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคที่มีขนาด 10 นาโนเมตร โดยอนุภาคนาโนจะถูกวางอยู่เหนือเมมเบรน จากนั้น อนุภาคนาโนจะเริ่มทำปฏิกิริยากับเซลล์เมมเบรน ทำให้เซลล์เมมเบรนเริ่มเปลี่ยนรูปร่างยื่นออกเพื่อปรับตัวในการเข้าสู่เซลล์ สำหรับเมมเบรนอย่างง่ายเมื่ออนุภาคนาโนทองพยายามเข้าสู่เซลล์ทำให้เมมเบรนโค้งงอ จนกระทั่งเวลา 118 นาโนวินาที เซลล์เมมเบรนจะมีลักษณะกล้ายกองวดที่มีขนาดเล็กดังแสดงในภาพที่ 3 (จ) หลังจากนั้นเมมเบรนก็จะงาดที่เวลา 122 นาโน วินาที ทำให้เกิดเป็นถุง (vesicle) ห่อหุ้มอนุภากนาโนทอง หรือ เอนโดโซม (endosome) เรียกกระบวนการนี้ว่า เอนโดไซโท ซิส และสำหรับพลาสมาเมมเบรนรูปแบบการเข้าสู่เซลล์จะแตกต่างจากเมมเบรนอย่างง่าย จากภาพที่ 4 (จ) แสดงให้เห็นว่า อนุภากนาโนทองจะมีการทำลายเซลล์เมมเบรน ทำให้ฉีกงาดซึ่งผลทำให้เกิดช่องว่างระหว่างพลาสมาเมมเบรน ที่เวลา 30 นา โนวินาที และอนุภากนาโนก็ผ่านเข้าสู่เซลล์โดยกระบวนการแทรกผ่านเซลล์เมมเบรน ซึ่งกระบวนการเข้าสู่เซลล์แบบเอนโด ใชโทซิสไม่สามารถเกิดขึ้นกับพลาสมาเมมเบรน ซึ่งโมเลกุลงองคอเลสเตอรอลมีบทบาทสำคัญต่อความแข็งแรงของเมม เบรนและควบกุมกลไกการเข้าสู่เซลล์ (Sun et al., 2014; Bennett et al., 2009) ดังนั้นความแข็งของพลาสมาเมมเบรน จึงมีก่า มากกว่าเมมเบรนอย่างง่าย ซึ่งสุดท้ายเราสามารถสรุปได้ว่าความซับซ้อนของเมมเบรนมีผลโดยตรงต่อรูปแบบการเข้าสู่เซลล์ ของอนุภาคนาโนทอง

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

การศึกษาอันตรกิริยาของอนุภาคนาโนทองและเซลล์เมมเบรนโดยใช้เทคนิคแบบกลุ่มอะตอม (coarse-grained molecular dynamic simulation) เพื่อศึกษาผลของขนาดอนุภาคนาโนทอง (2-10 นาโนเมตร) ต่อการเข้าสู่เซลล์ และ แบบจำลองของเมมเบรนที่มีความซับซ้อนแตกต่างกัน ซึ่งเราสามารถจำแนกรูปแบบการเข้าสู่เซลล์เป็น 3 แบบ ดังนี้ 1) การเข้าสู่เซลล์แบบแพร่หรือแทรก (direct translocation) 2) กึ่งเอนโดไซโทซิส (semi-endocytosis) และ 3) เอนโดไซโท ซิส (endocytosis) สำหรับอนุภาคที่มีขนาด 10 นาโนเมตร รูปแบบการเข้าสู่เซลล์จะแตกต่างกัน โดยที่ เมมเบรนอย่าง ง่ายเข้าสู่เซลล์แบบเอนโดไซโทซิส และพลาสมาเมมเบรนเข้าสู่เซลล์แบบกึ่งเอนโดไซโทซิส ดังนั้นขนาดของอนุภาคนา โนทองและความซับซ้อนของเซลล์เมมเบรนที่ใช้ศึกษามีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมกลไกการเข้าสู่เซลล์ สำหรับ การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างการศึกษาเชิงคอมพิวเตอร์ที่สามารถออกแบบ หรืออธิบายกลไกการ เข้าสู่เซลล์สำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในด้านชีวการแพทย์ได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบกุณทุนวิจัยสำหรับคณาจารย์บัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่มอบทุนการศึกษา ขอขอบคุณ ศูนย์คอมพิวเตอร์สำหรับวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น สาขาวิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ สนับสนุนในการใช้ทรัพยากรคอมพิวเตอร์เพื่อการวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คร.ธีระพงษ์ พวงมะลิ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานวิจัยเป็นอย่างสูงที่ให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะต่าง ๆ ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Angelikopoulos P, Sarkisov L, Cournia Z, Gkeka P. Self-Assembly of anionic, ligand-coated nanoparticles in lipid membranes. Nanoscale 2017; 9(3): 1040-1048.
- Bennett WFD, MacCallum JL, Tieleman DP. Thermodynamic analysis of the effect of cholesterol on dipalmitoylphosphatidylcholine lipid membranes. J. Am. Chem. Soc 2009; 131(5): 1972-1978.
- Berkowitz ML. Detailed molecular dynamics simulations of model biological membranes containing cholesterol. Biochim. Biophys. Acta 2009; 1788(1): 86-96.
- Chithrani BD, Ghazani AA, Chan WCW. Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells. Nano Letters 2006; 6(4): 662-668.

- Deserno M. Elastic deformation of a fluid membrane upon colloid binding. Phys. Rev. E 2004; 69(3): 031903-031903-14.
- Ding HM, Tian WD, Ma YQ. Designing nanoparticle translocation through membranes by computer simulations. ACS Nano 2012; 6(2): 1230-1238.
- Ge Z, Li Q, Wang Y. Free energy calculation of nanodiamond-membrane association the effect of shape and surface functionalization. J. Chem. Theory Comput 2014; 10(7): 2751-2758.
- Ginzburg VV, Balijepalli S. Modeling the thermodynamics of their of nanoparticles with cell membranes. Nano Lett 2007; 7(12): 3716-3722.
- Gupta R. Rai, B. Effect of size and surface charge of gold nanoparticles on their skin permeability: a molecular dynamics study. Sci. Rep 2017; 7: 45292.
- Gupta R, Rai B. Penetration of gold nanoparticles through human skin: unraveling its mechanisms at the molecular scale. J. Phys. Chem. B 2016; 120(29): 7133-7142.
- Heikkila E, Martinez-Seara H, Gurtovenko AA, Javanainen M, Hkkinen H, Vattulainen I, Akola J. Cationic Au nanoparticle binding with plasma membrane-like lipid bilayers: potential mechanism for spontaneous permeation to cells revealed by atomistic simulations. J. Phys. Chem. C 2014; 118(20): 11131-11141.
- Huang K, Ma H, Liu J, Huo S, Kumar A, Wei T, Zhang X, Jin S, Gan Y, Wang PC, He S, Zhang X, Liang XJ. Size dependent localization and penetration of ultrasmall gold nanoparticles in cancer cells, multicellular spheroids, and tumors in vivo. ACS Nano 2012; 6(5): 4483-4493.
- Humphrey W, Dalke A, Schulten K. VMD: Visual molecular dynamics. J. Mol. Graphics 1996; 14: 33-38.
- Ingolfsson HI, Carpenter TS, Bhatia H, Bremer PT, Marrink SJ, Lightstone FC. Computational lipidomics of the neuronal plasma membrane. Biophys. J 2017;113(10): 2271-2280.
- Ingolfsson HI, Melo MN, van Derden FJ, Arnrez C, Lopez CA, Wassenaar TA, Periole X, de Vries AH, Tieleman DP, Marrink SJ. Lipid organization of the plasma membrane. J. Am. Chem.Soc 2014; 136: 14554-14559.
- Li X. Size and shape effects on receptor mediated endocytosis of nanoparticles. J. Appl. Phys. 2012; 111(2): 024702.
- Lin JQ, Zhang HW, Chen Z, Zheng YG. Penetration of lipid membranes by gold nanoparticles: insights into cellular uptake, cytotoxicity, and their relationship. ACS Nano 2010; 4(9): 5421-5429.
- Lin JQ, Zheng YG, Zhang HW, Chen Z. A Simulation study on nanoscale holes generated by gold nanoparticles on negative lipid bilayers. Langmuir 2011; 27(13): 8323-8332.
- Marrink SJ, Risselada HJ, Yefimove S, Tieleman DP, de Vries AH. The MARTINI force field: coarse grained model for biomolecular simulation. J.Phys.Chems B 2007; 111(27):7812-7824.
- Mayer KM, Hafner JH. Localized surface plasmon resonance sensors. Chem. Rev 2011; 111(6): 3828-3857.
- Mhashal AR, Roy S. Free energy bare and capped gold nanoparticles permeating through a lipid bilayer. Chem. Phys. Chem 2016; 17(21): 3504-3514.
- Nangia S, Sureshkumar R. Effects of nanoparticle charge and shape anisotropy on translocation through cell membranes. Langmuir 2012; 28(51): 17666-17671.

- Pandit SA, Scott HL. Multiscale simulations of heterogeneous model membranes. Biochim. Biophys. Acta 2009; 1788(1); 136-148.
- Perrault SD, Walkey C, Jennings T, Fischer HC, Chan WCW. Mediating tumor targeting efficiency of nanoparticles through design. Nano Letters;2009: 9(5), 1909-1915.
- Potdar D, Sammalkorpi M. Asymmetric heat transfer from nanoparticles in lipid bilayers. Chem. Phys. 2015; 463: 22-29.
- Quan X, Peng C, Zhao D, Li L, Fan J, Zhou J. Molecular understanding of the penetration of functionalized gold nanoparticles into asymmetric membranes. Langmuir 2017; 33(1): 361-371.
- Rog T, Pasenkiewicz-Gierula M, Vattulainen I, Karttunen M. Ordering effects of cholesterol and its analogues. Biochim. Giophys. Acta 2009; 1788(1): 97-121.
- Rog T, Pasenkiewicz-Gierula M. Effects of epicholesterol on the phosphatidylcholine bilayer: a molecular simulation study. Biophys. J 2003; 84(3): 1818-1826.
- Rossi G, Monticelli L. Gold nanoparticles in model biological membranes: a computational perspective. Biochim. Biophys. Acta 2016; 1858(1): 2380-2389.
- Salassi S, Simonelli F, Bochicchio D, Ferrando R, Rossi G. Au nanoparticles in lipid bilayers: a comparison between atomistic and coarse-grained models. J. Phys. Chem. C 2017; 121(20): 10927-10935.
- Simonelli F, Bochicchio D, Ferrando R, Rossi G. Monolayer-protected anionic Au nanoparticles walk into lipid membranes step by step. J. Phys. Chem. Lett 2015; 6(16): 3175-3179.
- Song B, Yuan H, Pham SV, Jameson CJ, Murad S. Nanoparticle permeation induces water penetration, ion transport, and lipid flip-flop. Langmuir 2012; 28(49): 16989-17000.
- Sun D, Lin X, Gu N. Cholesterol affects C60 translocation across lipid bilayers. Soft Matter 2014; 10(13): 2160-2168.
- Van Der Spoel D, Lindahl E, Hess B, Groenhof G, Mark AE, Berendsen HJC. GROMACS: fast, flexible, and free. J. Comput. Chem. 2005; 26(16): 1701-1718.
- Vigderman L, Zubarev ER. Therapeutic platforms based on gold nanoparticles and their covalent conjugates with drug molecules. Adv. Drug Delivery Rev. 2013; 65(5): 663-676.
- Wang Y, Black KCL, Luehmann H, Li W, Zhang Y, Cai X, Wan D, Liu SY, Li M, Kim P, Li ZY, Wang LV, Liu Y, Xia Y. Comparison study of gold nanohexapods, nanorods, and nanocages for photothermal cancer treatment. ACS Nano 2013; 7(3): 2068-2077.