مجله مهندسی مکانیک مدرس، مهر 1395، دوره 16، شماره 7، ص‌ص 385-391

ماهنامه علمی پژوهشی

مهندسی مکانیک مدرس

mme.modares.ac.ir

بررسی برهم‌کنش بین نانوعملگر پریفولدینی و محموله بیماری‌زا دیمر آمیلوئید بتا به روش دینامیک مولکولی

مسعود کرامتی[1]، رضا حسن‌زاده قاسمی[2*]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، مهندسی مکانیک، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار

2- استادیار، مهندسی مکانیک، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار

* سبزوار، صندوق پستی 397، r.hasanzadeh@hsu.ac.ir

اطلاعات مقاله

مقاله پژوهشی کامل

دریافت: 03 اردیبهشت 1395

پذیرش: 19 تیر 1395

ارائه در سایت: 16 مرداد 1395

کلید واژگان:

بیماری آلزایمر

الیگومر آمیلوئید بتا

چپرون مولکولی

نانوعملگر پریفولدینی

دینامیک مولکولی

چکیده

بیماری آلزایمر شایع‌ترین نوع زوال عقل است. پپتیدهای آمیلوئید بتا نقش کلیدی را در آسیب‌شناسی بیماری آلزایمر عهده‌دار هستند و تحقیقات اخیر نشان داده است که الیگومرهای آمیلوئید بتا سمی‌ترین جز آن هستند. در بین الیگومرها، نوع دیمر با توجه به ماندگاری بالا در مقایسه با دیگر انواع، دارای اثرات سمی بیشتری می‌باشد. پریفولدین یک چپرون مولکولی است که از تجمع پروتئین‌هایی که اشتباه تاخورده‌اند جلوگیری کرده و نشان داده شده است که می‌تواند به‌عنوان یک نانوعملگر نیز ایفای نقش کند. در اینجا ما به بررسی برهم‌کنش بین نانوعملگر پریفولدینی و نانو محموله بیماری‌زا دیمر در ابعاد مولکولی پرداختیم که بدین منظور شبیه‌سازی دینامیک مولکولی تمام اتم در محیط حلال صریح در دمای فیزیولوژیک انجام گرفت. بعد از تصویرسازی از نتایج و همچنین بررسی فواصل اتمی بین اتم‌های نانوعملگر و محموله بیماری‌زا مشخص شد که دو بازو از شش بازوی عملگر توانسته‌اند محموله را در برگیرند و با آن در طول مدت زمان شبیه‌سازی، پیوندهای هیدروژنی برقرار کنند. همچنین با بررسی اثرات آب‌گریزی بین آمینواسیدهای آب‌گریز در محموله و نانوعملگر مشخص شد آب‌گریزی تأثیر مثبتی در پایداری اتصال دو بازوی پیوند یافته با محموله داشته است. پژوهش حاضر، پریفولدین را به‌عنوان یک عامل مهارکننده برای الیگومر نوع دیمر از آمیلوئید بتا معرفی می‌کند که می‌تواند در درمان بیماری آلزایمر بسیار مؤثر باشد.

Study of interaction between prefoldin nano actuator and amyloid beta dimeric pathogenetic cargo with MD simulation

Masoud Keramati, Reza Hasanzadeh Ghasemi*

Department of Engineering, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran.
* P.O.B. 397, Sabzevar, Iran, r.hasanzadeh@hsu.ac.ir

ARTICLE INFORMATION

Original Research Paper
Received 22 April 2016
Accepted 09 July 2016
Available Online 06 August 2016

Keywords:
Alzheimer's disease
Amyloid beta oligomers
Molecular chaperone
Prefoldin nano actuator
Molecular Dynamics

ABSTRACT

Alzheimer's is the most common form of dementia. Amyloid beta peptides play a key role in the pathology of Alzheimer's disease and the recent surveys have demonstrated that amyloid beta oligomers are the most toxic component of them. Among oligomers, considering the high durability of dimer in comparison to other kinds has more toxic effects. Prefoldin is a molecular chaperone which prevents accumulation of misfolded proteins. Prefoldin has demonstrated that it can also operate as a nano actuator. In this article, the interaction between the prefoldin nano actuator and dimeric pathogenic nano cargo in molecular dimensions is investigated; hence all-atom molecular dynamic simulation in explicit solvent was performed at physiological temperature. Visualizing the results and investigating the atomic distance between nano actuator and pathogenic nano cargo revealed that two arms of six arms of prefoldin nano actuator have been able to capture cargo and during the simulation they have made hydrogen bonds. Furthermore, investigating the hydrophobic effects between the hydrophobic amino acids in the cargo and nano actuator revealed that these effects have positively affected the stability of the binding between arms and the cargo. This article introduces prefoldin as an inhibitory factor for dimeric oligomer from amyloid beta.

1- مقدمه

بیماری آلزایمر شایع‌ترین نوع زوال عقل است و برای اولین بار در سال 1907 معرفی شد [1]. اکنون این بیماری به‌عنوان یک خطر بزرگ برای سلامت در جوامع مدرن شناخته می‌شود. تخمین زده شده که مقدار مبتلایان به این بیماری در جهان که در سال 2010 میلادی حدود 36 میلیون نفر بوده است در سال 2016 میلادی به 116 میلیون نفر برسد. برخلاف تلاش‌های صورت گرفته در دهه‌های گذشته، طبیعت بیماری آلزایمر هنوز به‌صورت کامل شناخته شده نیست که این موضوع برای توسعه یک درمان کامل، حیاتی می‌باشد [2].

پیدایش و گسترش بیماری آلزایمر توسط تجمع پپتیدهای آمیلوئید

برای ارجاع به این مقاله از عبارت ذیل استفاده نمایید:

Please cite this article using:
M. Keramati, R. Hasanzadeh Ghasemi, Study of interaction between prefoldin nano actuator and amyloid beta dimeric pathogenetic cargo with MD simulation, *Modares Mechanical Engineering*, Vol. 16, No. 7, pp. 385-391, 2016 (in Persian)

Archive of SID
www.SID.ir

بتا[1]به شکل پلاک پیری[2] در خارج از سلول و تشکیل کلافه‌های عصبی[3] در داخل سلول توسط پروتئین تائو[4]، شناخته می‌شود. این ساختارها، اثرات زیان‌باری مانند مرگ سلول‌های عصبی و سیناپس‌ها[5] را دارا بوده که باعث ظهور بیماری آلزایمر می‌شود. پپتید آمیلوئید بتا از تجزیه پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید[6] ایجاد شده و اغلب دارای 36-43 آمینواسید[7] است [3].

در ابتدا تصور می‌شد که رسوب پلاک‌ها در خارج از سلول، عامل شروع بیماری است [4] ولی امروزه شواهد زیادی حاکی از این است که الیگومرهای محلول[8] نقش اصلی را در از دست دادن سیناپس‌ها و آسیب‌های شناختی بر عهده دارند [5]. اخیرا در تحقیقی آزمایشگاهی مشخص شد که الیگومرهای آمیلوئید بتا42 به‌خصوص دیمرها[9] باعث آسیب دیدن حافظه و شکل‌پذیری سیناپس[10] می‌شود، درحالی‌که چنین اثراتی برای پلاک‌های نامحلول[11] یافت نشده است [6].

مکانیسم سمی بودن الیگومرها به‌صورت گسترده‌ای چه تئوری و چه آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفته است که در اینجا به‌طور خلاصه معرفی می‌شوند: (1) به کار انداختن اثرات فساد آمیز بوسیله برهم‌کنش مستقیم با غشای سلول (2) القاء تنش اکسایشی[12] توسط تشکیل کمپلکس فلز-آمیلوئید بتا (3) از کار انداختن گیرنده‌های غشا توسط اتصال به آن‌ها (4) ایجاد روزنه و سوراخ در غشا (5) تغییر ساختار DNA خاص بوسیله فرآیند الصاق [3].

چپرون‌های مولکولی[13] معرف یک گروه متمایز از پروتئین‌ها هستند که پروتئین‌های تانخورده[14] را شناسایی و محصور کرده و از تاخوردن اشتباه[15] و انباشته شدن آن‌ها جلوگیری می‌کنند و همچنین کمکی برای گذار پروتئین-ها به یک ساختار طبیعی هستند [7]. توانایی چپرون‌های مولکولی در جلوگیری از تاخوردن نادرست و دوباره تازدن پروتئین‌هایی که ساختار طبیعی خود را از دست داده‌اند باعث شده تا آنان دارای نقشی کلیدی در مطالعه بیماری‌هایی باشند که درنتیجه تاخوردن نادرست پروتئین‌ها ایجاد می‌شوند و یک عامل درمانی بالقوه به‌حساب آیند [9,8].

در تحقیقات متعددی به نقش چپرون‌های مولکولی در بیماری آلزایمر پرداخته شده است. پژوهشی بر روی پروتئین شوک حرارتی کوچک[16] αβ-کریستالین[17] نشان داد که این چپرون می‌تواند فرآیند فیبریل شدن را متوقف کرده و اثرات سمی آن‌ها را تقلیل دهد [10]. گزارش شده است پروتئین شوک حرارتی Hsp27 در مغز مبتلایان به آلزایمر افزایش می‌یابد و این پروتئین می‌تواند سلول‌های عصبی غشایی را در مقابل اثرات سمی آمیلوئید بتا محافظت کند [11]. هنگامی‌که فیبریل‌های آمیلوئید بتا تشکیل شوند، سطوح آن‌ها تشکیل الیگومرهای سمی را تسهیل می‌کند. بررسی اثر یک چپرون مولکولی (بریچوز[18]) نشان داده است که این چپرون می‌تواند از اثر تسهیل‌کنندگی تولید الیگومر جلوگیری کرده و سمی بودن آمیلوئید بتا42 را محدود سازد. این چپرون با اتصال به سطح فیبریل می‌تواند مسیر تجمع را به سمت تولید حداقل الیگومرها سوق دهد [12].

پریفولدین[19] یک چپرون مولکولی است که در هر دو نوع سلول آرکیا[20] و یوکاریوت‌ها وجود دارد. پریفولدین در سیتوزول[21] یوکاریوت با پلی‌پپتیدهای[22] تازه متولدشده واکنش انجام می‌دهد و آنان را پایدار می‌کند. پریفولدین یوکاریوتی به اکتین‌ها[23]، توبولین‌ها[24] و احتمالا دیگر پروتئین‌های تانخورده متصل می‌شود و آن‌ها را به چپرونین[25] سیتوزولی شامل TCP-1 (CCT) برای تاخوردن به حالت عادی و طبیعی منتقل می‌کند [13].

پریفولدین آرکیایی یک مجموعه 6 تایی از 2 زیر واحد آلفا (متشکل از 151 آمینواسید) و 4 زیر واحد بتا (متشکل از 117 آمینواسید) است. همان‌طور که در شکل 1 آمده، حفره مرکزی بزرگ به همراه 6 بازوچه مارپیچ به آن ساختاری شبیه به ستاره دریایی داده است. تقریبا زنجیره‌های جانبی قطبی و باردار در معرض حلال هستند. از سویی دیگر، آمینواسیدهای آب‌گریز[26] در همان زیر واحد بین دو مارپیچ آلفا شیار آب‌گریز را تشکیل می‌دهند. این شیارهای آب‌گریز مسئول برهم‌کنش با نواحی آب‌گریز پروتئین‌های تانخورده است [14].

با بررسی اثر پریفولدین آرکیایی بر روی توده‌های آمیلوئید بتای 1-42 در محیط آزمایشگاهی، نتایج حاکی از تشکیل الیگومرهای محلول آمیلوئید بتا و از بین رفتن فیبریل‌های آن در محیط آزمایش بوده است. همچنین نشان داده شده است که این الیگومرها نسبت به فیبریل‌های آمیلوئید سمی‌تر

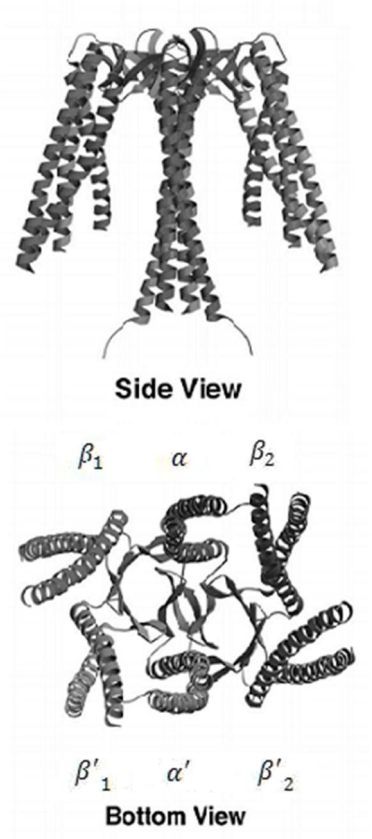


Fig. 1 Crystal structure of archea prefoldin [14]

شکل 1 ساختار کریستالی پریفولدین آرکیایی [14]

[1] amyloid β
[2] senile plaque
[3] neurofibrillary tangle
[4] tau
[5] synapses
[6] amyloid precursor protein
[7] amino acid
[8] soluble oligomer
[9] dimer
[10] Synaptic plasticity
[11] insoluble plaque
[12] oxidative stress
[13] Molecular chaperones
[14] unfolded protein
[15] misfolding
[16] heat shock protein
[17] crystallin
[18] Brichos
[19] Prefoldin (PFD)
[20] archaea
[21] cytosol
[22] polypeptide
[23] actin
[24] tubulin
[25] chaperonin
[26] hydrophobic

Archive of SID

www.SID.ir

هستند و قابلیت فراهم کردن پروسه مرگ سلول را دارا می‌باشند. دلیل ایجاد الیگومرهای محلول، گرفتن و رها کردن آن‌ها توسط پریفولدین عنوان شده است [15]. در یک شبیه‌سازی دینامیک مولکولی مشخص شد که بازوهای پریفولدین آرکیایی، انعطاف‌پذیری بالایی برای واکنش با محموله‌های مختلف دارد. هر دو پارامتر دما و pH محیط روی ساختار کلی آن اثرگذار بوده و دهانه پریفولدین که معیاری برای اندازه نانومحموله قابل حمل توسط آن است را دچار تغییر قابل توجه می‌کند. این تغییرات شامل باز و بسته شدن دهانه می‌باشد. در این پژوهش مفهوم نانوعملگر پریفولدینی به‌عنوان یک بیو نانوعملگر[1] جدید ارائه شد [16].

هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر نانوعملگر پریفولدینی بر روی دیمر آمیلوئید بتا42 و نحوه گرفتن این عامل بیماری‌زا توسط پریفولدین است. بدین منظور شبیه‌سازی دینامیک مولکولی تمام اتم[2] در محیط حلال صریح[3] در دمای فیزیولوژیک بدن انجام شد.

2- مواد و روش‌ها

ساختار الیگومرهای آمیلوئید بتا ناپایدار و گذرا هستند [17]. به همین دلیل بسیار مشکل است تا بوسیله روش‌های بلورشناسی پرتو ایکس[4] و طیف‌سنجی NMR[5]، مدل اتمی آن‌ها استخراج شود. در عوض ساختارهای متعددی برای فیبریل‌های آمیلوئید بتا همانند ساختار فیبریل 5تایی[6] آمیلوئید بتا 17-42 پیشنهاد شده است [18]. تحقیقات ثابت کرده است که الیگومرها در ساختار ثانویه غالبا دارای صفحات بتا هستند [19] و بنابراین ساختار فیبریل 5 تایی آمیلوئید بتا17-42 در تألیفات به‌عنوان الیگومر نیز استفاده می‌شود [20]. همچنین نوع آمینواسیدهای محموله از نظر بار و آب‌گریز بودن در PH خنثی نیز در جدول 1 آمده است. دلیل انتخاب دیمر آمیلوئید بتا به عنوان محموله هدف این است که هرچه مرتبه اولیگومر افزایش می‌یابد علی رغم افزایش سمی بودن، در مدت زمان کمتری به شکل فیبریل‌های بالغ تبدیل می‌شوند که باعث کاهش اثرات سمی شده [6] ولی نوع دیمر با توجه به تغییرات ساختاری بسیار زیادی که دارد مدت زمان بیشتری به عنوان اولیگومر فعالیت می‌کند و این ماندگاری بالا می‌تواند توضیحی برای اثرات بالای سمی بودن آنها برای سیناپس‌ها باشد [21].

نانومحموله دیمر به‌عنوان هدف در این شبیه‌سازی، ساختار فیبریل اولیه[7] آمیلوئید بتا17-42 با کد 2BEG در پایگاه اطلاعاتی پروتئین[8]، انتخاب و سپس با استفاده از نرم‌افزار پایمول[9] ساختار دیمر مورد نظر ایجاد شد (شکل 2). ساختار اولیه پریفولدین آرکیایی نیز با کد 2ZDI در پایگاه اطلاعاتی پروتئین انتخاب گردید [14]. برای آماده‌سازی اولیه پریفولدین یعنی بدست آوردن بخش‌های متقارن و تکمیل بخش‌های نامشخص، از نرم‌افزارهای دیپ‌ویو[10] و پایمول و برای شبیه‌سازی دینامیک مولکولی از نرم‌افزار گرومکس[11] 5.06 با میدان نیروی[12] OPLS-AA استفاده شده است.

باید محموله در دهانه پریفولدین قرار داده شود که بدین منظور ابزارهای بیوانفورماتیک[13] نرم‌افزار متلب بکار برده شد (شکل 3).

[1] Bio Nano Actuator
[2] All-atom
[3] explicit solvent
[4] X-ray crystallography
[5] Solid-state nuclear magnetic resonance
[6] pentamer
[7] protofibril
[8] protein data bank
[9] Pymol
[10] DeepView
[11] GROMACS
[12] force field
[13] Bioinformatics Toolbox

سیستم با اضافه کردن 2 یون سدیم خنثی‌سازی شده و در یک جعبه آب دوازده وجهی[14] TIP3P با فاصله 1 nm از دیواره آن قرار داده شد.

جدول 1 مشخصات آمینو اسیدهای دیمر آمیلویید بتا از نظر بار و آب‌گریزی

Table 1 Properties of Amino acids of amyloid beta1-42's dimer in terms of charge and hydrophobicity scales

آمینو اسید	بار	میزان آب‌گریزی از 100 (*)
Leu	خنثی	97
Val	خنثی	76
Phe	خنثی	100
Ala	خنثی	41
Glu	منفی	-31
Asp	منفی	-55
Val	خنثی	76
Gly	خنثی	0
Ser	خنثی	-5
Asn	خنثی	-28
Lys	مثبت	-23
Met	خنثی	74

(*) هرچه عدد بزرگتر و مثبت باشد، میزان آب‌گریز بودن آمینو اسید مربوطه بیشتر است.

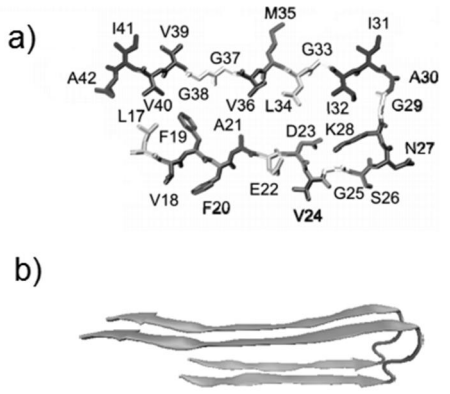


Fig. 2 (a) Amino acid chain for a strand amyloid beta fibril (b) dimeric cargo has U shape structure and parallel and in-register beta sheets

شکل 2 a) زنجیره آمینواسید مربوط به یک رشته از فیبریل آمیلوئید بتا [19] b) محموله دیمر ، دارای پیکربندی U شکل و صفحات بتا موازی و هم‌راستا

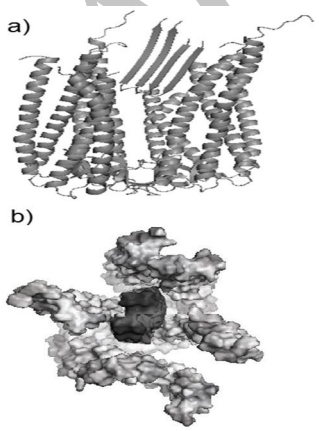


Fig. 3 (a) Dimeric pathogenic nano cargo in the Prefoldin nano actuator's cavity (b) electrostatic potential surface for initial complex

شکل 3 a) نانومحموله دیمر بیماری‌زا در دهانه نانوعملگر پریفولدینی b) سطوح پتانسیل الکترواستاتیک برای نمایش واقعی‌تر مجموعه

[14] dodecahedron

Archive of SID

www.SID.ir

مینیمم‌سازی انرژی در 1536 گام و با الگوریتم بیشترین نزول[1] انجام گرفت تا تماس‌های نامناسب بین اتم‌ها، حذف شود. برای رسیدن سیستم به حالت تعادل، در دو مرحله، شبیه‌سازی با قیود موقعیت برای اتم‌های سنگین انجام گرفت. مرحله اول شامل 100 ps شبیه‌سازی تحت شرایط NVT (حجم ثابت) بود. اتم‌های پروتئین و غیر پروتئین تحت کوپل حرارتی جداگانه قرار گرفتند و دما توسط الگوریتم V-ری‌اسکیل[2] ثابت نگه‌داشته شد. بعد از NVT، سیستم به مدت 100 ps دیگر تحت شرایط NPT (فشار ثابت) با کوپل پرینلو-رحمان[3] برای ثابت نگه‌داشتن فشار در 1 bar متعادل شد.

شبیه‌سازی دینامیک مولکولی به مدت 12 ns انجام گرفت. در حین شبیه‌سازی، الگوریتم لینکس[4] برای مقید کردن تمام پیوندها، روش PME[5] برای برهمکنش‌های الکترواستاتیک دوربرد، شعاع قطع 1 nm برای برهمکنش‌های کوتاه برد الکترواستاتیکی و واندروالس، گام زمانی 2 fs و شرایط مرزی پریودیک[6] اتخاذ شد. دما نیز بوسیله کوپل جداگانه سیال و پروتئین با ترموستات V-ری‌اسکیل و فشار هم با تنظیم‌کننده فشار پرینلو-رحمان در 1 bar ثابت نگه‌داشته شده است. برای تصویر کردن ساختارهای اولیه و نتایج حاصل از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی از نرم‌افزارهای پایمول و VMD[7] استفاده شده است.

3- نتایج

برای بررسی عملکرد نانوعملگر پریفولدینی و مشاهده برهم‌کنش آن با نانومحموله بیماری‌زا از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی استفاده شد. شکل 4 نتایج حاصل را نشان می‌دهد که بیان‌گر تغییرات پیکربندی نانوعملگر پریفولدینی به دلیل برهم‌کنش با محموله بیماری‌زا نسبت به موقعیت اولیه می‌باشد. همان‌طور که در شکل 4 قابل مشاهده است بعد از 2 ns پریفولدین توانسته با دو بازوی خود محموله را در بر بگیرد. در بقیه زمان‌های شبیه‌سازی دیگر بازوها قادر به گرفتن محموله نبودند و فقط توانستند نزدیک و سپس دور شوند. آشکار است که ساختار کلی نانوعملگر پریفولدینی حفظ شده و تنها شکل و اندازه حفره مرکزی برای گرفتن نانومحموله تغییر کرده است. این نتایج نشان‌دهنده تغییرات شدید بازوهای مارپیچ است، به عبارتی نانوعملگر پریفولدینی دارای انعطاف‌پذیری بالایی برای گرفتن نانومحموله می‌باشد.

محاسبه فاصله اتمی بین یک اتم یا یک آمینواسید منتخب از نانومحموله با یک اتم یا یک آمینواسید منتخب از بازوهای نانوعملگر راه دیگری برای مشاهده دقیق‌تر گرفته شدن نانومحموله توسط نانوعملگر است. به عبارتی امکان صحه‌گذاری نتایج گرافیکی بدست آمده از شبیه‌سازی‌های دینامیکی را فراهم می‌آورد. فواصل بین اتم‌های بازوهای نانوعملگر پریفولدینی و نانومحموله در شکل 5 رسم شده است. زنجیره‌های B، C، E، G و H مربوط به نانوعملگر و D، F مربوط به نانومحموله می‌باشند. در شکل 5-الف، مشخص است که بازوی G در 2 ns به محموله نزدیک شده و تقریبا در ادامه نیز در همان فاصله نسبت به محموله باقی مانده است ولی بازوی B در طول مدت شبیه‌سازی نسبت به محموله دارای نوسان بوده و نتوانسته آن را بگیرد. در شکل 5-ب نیز می‌توان دریافت که دومین بازویی که توانسته با نانومحموله پیوند برقرار کند و آن را در بر بگیرد بازوی H است. همچنین در این شکل واضح است که بازوی C نتوانسته در یک فاصله ثابت نسبت به محموله قرار گیرد که این مطلب در مورد بازوهای A و E نیز صادق می‌باشد. این مشاهدات نشان می‌دهد بازوهای نانوعملگر پریفولدینی دارای تغییرات موقعیتی قابل توجهی بوده است.

برای اینکه دقیق‌تر مشخص شود نانوعملگر پریفولدینی تا چه میزان توانسته با نانومحموله پیوند برقرار کند، تعداد پیوندهای هیدروژنی برقرار شده بین این دو به‌صورت تابعی از مدت زمان شبیه‌سازی در شکل 6 مورد بررسی قرار داده شده است. بر این اساس پریفولدین و محموله در ابتدا دارای هیچ پیوندی نبودند و اولین پیوندها تقریبا در 1.5 ns ابتدایی و مطابق با نتایج حاصله از بررسی فواصل اتمی این پیوندها به هنگام نزدیک شدن دو بازو به محموله اتفاق افتاده و البته تعداد آن‌ها در طول مدت شبیه‌سازی دارای نوسان است و به پایداری نرسیده است. با توجه به عدم پایداری پیوندهای هیدروژنی عامل دیگری نیز باید در جذب نانومحموله و همچنین پایدار ماندن تماس بین آن و پریفولدین مؤثر باشد.

اثرات آب‌گریزی[8] معرف جاذبه مشاهده شده بین ذرات غیرقطبی[9] به‌منظور تجمع آن‌ها در محیط‌های آبی برای داشتن کمترین سطح تماس با مولکول‌های آب است. با توجه به اینکه زنجیره جانبی در محموله بیماری‌زا غالبا آب‌گریز است [18] و همچنین به دلیل حضور آمینواسیدهای آب‌گریز در نانوعملگر [14]، اثرات آب‌گریزی بین محموله و عملگر مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور تعداد تماس‌ها بین آمینواسیدهای آب‌گریز از نانومحموله و پریفولدین یعنی یک اتم از محموله بیماری‌زا و یک اتم از نانوعملگر در فاصله کمتر از 0.6 nm بررسی شد که نتایج حاصل از آن در شکل 7 آمده است. همان‌طور که قابل مشاهده است در اینجا نیز در ابتدا هیچ تماسی بین مولکول‌های نانومحموله و پریفولدین نبوده و تعداد تماس‌ها تا 5 ns ابتدایی در حال نوسان است ولی در بقیه مدت زمان شبیه‌سازی به حالتی تقریبا پایدار می‌رسد که می‌توان نتیجه گرفت اثرات آب‌گریزی با توجه به اینکه زنجیره جانبی در نانومحموله غالبا آب‌گریز است، نقش مهمی را در جذب محموله توسط پریفولدین و همچنین پایدار ماندن تماس بین این دو ایفا می‌کند.

مشاهده شده است که دیمرهای آمیلوئید بتا دارای تغییرات بسیار زیادی در پیکربندی هستند و نسبت به الیگومرهای دیگر، مدت زمان بیشتری لازم است تا با فیبریل‌ها ترکیب شوند. همین ماندگاری بالای آن‌ها می‌تواند به‌عنوان توضیحی برای اثرات بالای سمی بودن آن‌ها برای سیناپس‌ها باشد [21]. یکی از دلایل عدم اتصال دیگر بازوها می‌تواند همین تغییرات زیاد در پیکربندی محموله بیماری‌زا دیمر باشد که در شکل 8 آمده است.

از شکل 8 که تغییرات در پیکربندی نانومحموله را در زمان‌های مختلف نمایش می‌دهد می‌توان دریافت که ساختار U شکل اولیه که در شکل 2 نمایش داده شد در همان 3 ns ابتدایی شبیه‌سازی به‌کلی تغییر کرده که این تغییرات باعث می‌شود تا آمینواسیدهای باردار، قطبی و آب‌گریز در محموله نسبت به بازوهای پریفولدین در زمان‌های مختلف به نحوی قرار گیرند تا با ایجاد اثرات منفی مانند دافعه الکترواستاتیکی، مانع از اتصال تمام بازوهای پریفولدین به محموله بیماری‌زا شود که این نتیجه سازگار با یافته‌های تجربی است که بر اساس آن در حضور پریفولدین آرکیایی میزان تولید الیگومرهای سمی افزایش یافته که یکی از دلایل این موضوع گرفتن و رها کردن آن‌ها

[1] steepest descent
[2] V-rescale
[3] Parrinello-Rahman
[4] LINCS
[5] Particle mesh Ewald
[6] Periodic boundary condition
[7] Visual Molecular Dynamics
[8] hydrophobic effect
[9] nonpolar

Archive of SID

www.SID.ir

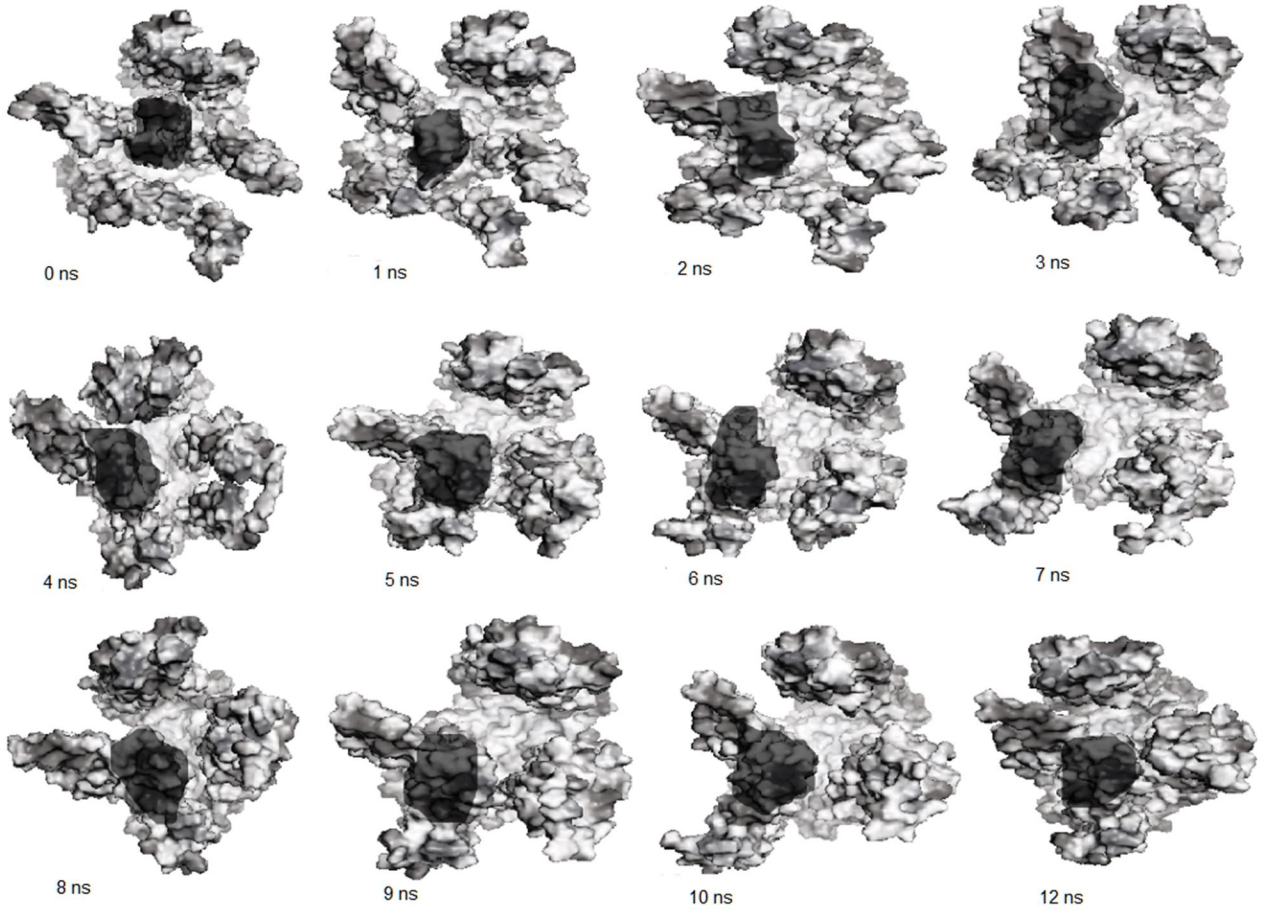


Fig. 4 Conformational changes in prefoldin nano actuator in the presence of pathogenetic cargo in the various time of simulation, the cargo marked as dark color for better recognition.

شکل 4 تغییرات پیکربندی نانوعملگر پریفولدینی در حضور محموله بیماری‌زا در مراحل و زمان‌های مختلف شبیه‌سازی و نحوه گرفتن محموله توسط آن، محموله برای تشخیص بهتر با رنگ مشکی مشخص شده است.

توسط پریفولدین آرکیایی عنوان شده است [15].

4- نتیجه‌گیری

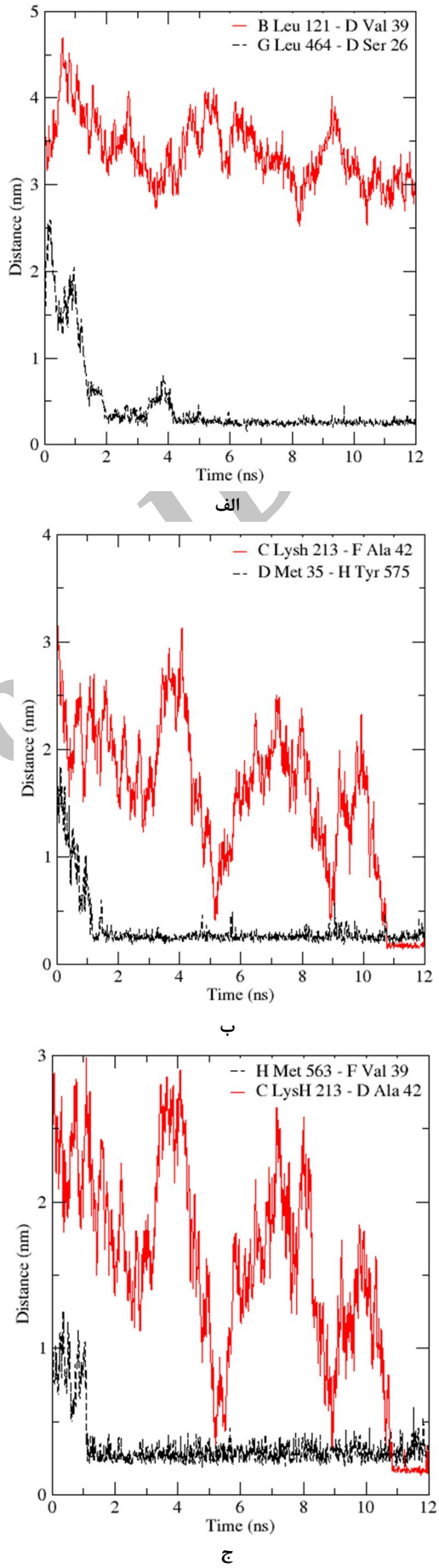
در این مقاله نحوه تعامل نانوعملگر پریفولدینی و محموله بیماری‌زا مربوط به آلزایمر مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نقش الیگومرها در پیشروی بیماری آلزایمر و از دست‌دادن سیناپس‌ها و آسیب‌های شناختی، الیگومرها به عنوان عامل بیماری‌زا در نظر گرفته شد. چپرون‌های مولکولی به دلیل کاربرد آن‌ها در شناسایی پروتئین‌های تانخورده و جلوگیری از اشتباه تاخوردن و انباشته شدن آن‌ها مورد توجه هستند و به‌عنوان عامل درمانی بالقوه برای بیماری‌هایی که معلول درست تانخوردن پروتئین‌ها هستند شناخته می‌شوند. در این پژوهش پریفولدین آرکیایی که قبلا به‌عنوان یک نانوعملگر معرفی شده است [16]، به‌منظور عاملی مهارکننده برای الیگومر نوع دیمر انتخاب شد. بعد از انجام شبیه‌سازی دینامیک مولکولی تمام اتم در محیط حلال صریح در دمای فیزیولوژیک و بررسی نتایج مربوط به فواصل اتمی نتایج زیر بدست آمد:

- دو بازو از شش بازوی نانوعملگر پریفولدینی توانایی اتصال به محموله بیماری‌زا دیمر را داشته و بقیه بازوها در طول مدت زمان شبیه‌سازی قادر به اتصال نبودند و تنها دور و نزدیک شدند.
- با توجه به تغییر پیکربندی شدید محموله بیماری‌زا در طول مدت شبیه‌سازی و اثبات این موضوع در شکل 8، دلیل عدم اتصال دیگر بازوها می‌تواند همین تغییرات باشد زیرا باعث می‌شود تا آمینواسیدهای باردار، قطبی و آب‌گریز در محموله نسبت به بازوهای پریفولدین در زمان‌های مختلف به نحوی قرار گیرند تا با ایجاد اثرات منفی مانند دافعه الکترواستاتیکی مانع از اتصال تمام بازوهای پریفولدین به محموله بیماری‌زا شود.
- بررسی تعداد پیوندهای هیدروژنی برقرارشده بین نانوعملگر و محموله بیماری‌زا نشان داد که این دو در ابتدا دارای هیچ پیوندی نبوده و سپس با نزدیک شدن دو بازو در 1.5 ns ابتدایی اولین پیوندها بین آن‌ها شکل گرفته است ولی تعداد پیوندها در طول مدت شبیه‌سازی به مقداری پایداری نرسیده است.
- با توجه به حضور آمینواسیدهای آب‌گریز در نانومحموله و نانوعملگر و بررسی اثرات آب‌گریزی بین محموله و عملگر این نتیجه حاصل شد که اثرات آب‌گریزی نقش مهمی را در جذب محموله توسط پریفولدین و همچنین پایدار ماندن تماس بین این دو ایفا می‌کند.
- با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان دریافت که نانوعملگر پریفولدینی با توجه به قابلیت‌ها و ویژگی‌های طبیعی خود می‌تواند تاحدی محموله بیماری‌زا دیمر را مهار کند.

به منظور افزایش قدرت مهار، نانوعملگر پریفولدینی نیاز به ویژگی‌های جدیدی دارد تا بتواند در مدت زمان کم‌تر و همچنین با تعداد بازوهای

Archive

www.SID.ir



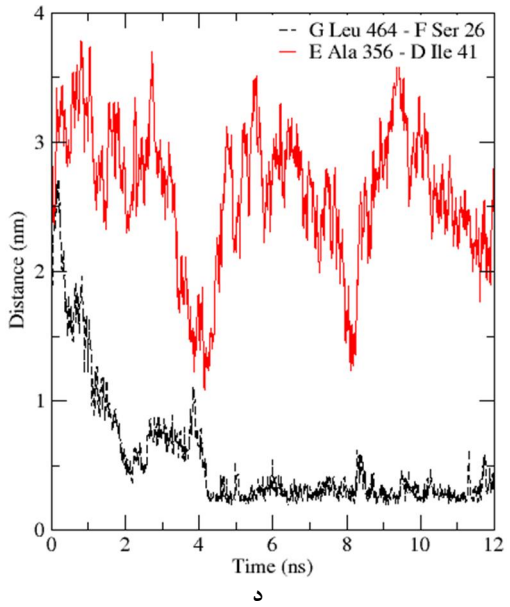


Fig. 5 Atomic distance between prefoldin nano actuator and pathogenetic nano cargo in the 12 ns MD simulation

شکل 5 فاصله اتمی بین بازوهای نانوعملگر پریفولدینی و نانومحموله بیماری‌زا در طول مدت 12 ns شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

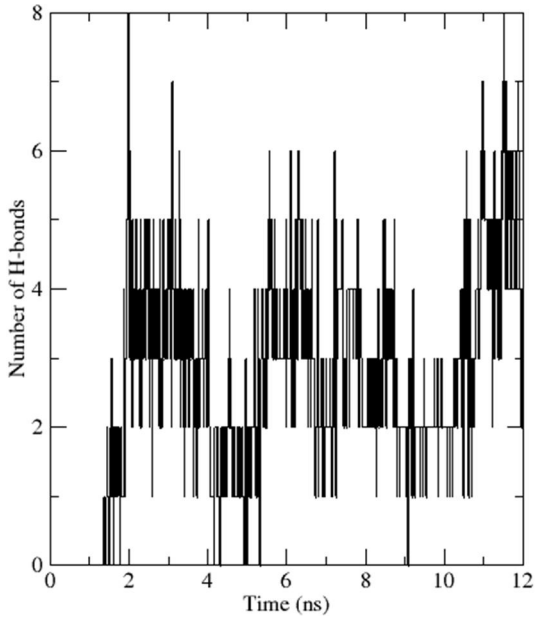


Fig. 6 The number of H-bonds between nano cargo and nano actuator as function of simulation time

شکل 6 تعداد پیوندهای هیدروژنی برقرار شده بین نانومحموله و نانوعملگر به‌صورت تابعی از زمان شبیه‌سازی

بیشتری محموله بیماری‌زا را به دام انداخته و از فعالیت آن جلوگیری به عمل آورد. به همین منظور لازم است بررسی‌های بیشتری صورت پذیرد و با افزودن قابلیت‌های جدید به نانوعملگر پریفولدینی آن را برای مهارکردن الیگومرهای آمیلوئید بتا بهینه‌سازی کرد. به عنوان مثال پیشنهاد می‌شود که برای بهبود رفتار بازوها در نانوعملگر پریفولدینی جهش ایجاد شود. یعنی با جایگزین کردن آمینواسیدهای آب‌گزیر به جای آب‌دوست باعث ایجاد برهم‌کنش و جاذبه هیدروفوبیک بین محموله و نانوعملگر شد که این موضوع می تواند به اتصال دیگر بازوها کمک کند.

www.SID.ir

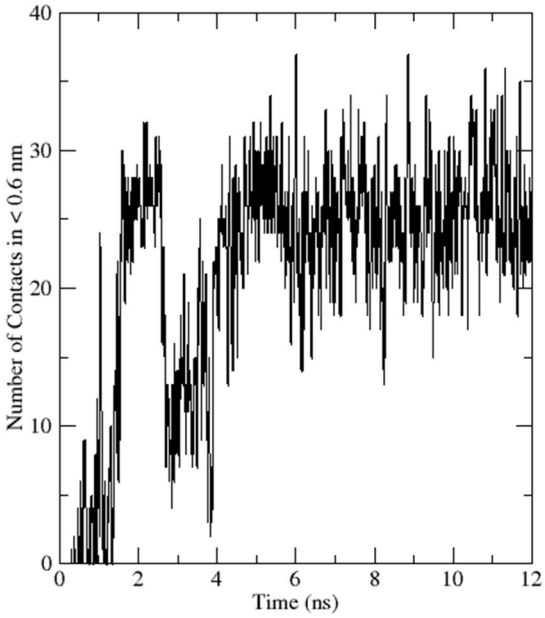


Fig. 7 The number of contacts between two atoms of cargo and actuator in the distance of less than 0.6 nm as function of simulation time

شکل 7 تعداد تماس‌ها بین جفت اتم‌های محموله و عملگر در فاصله کمتر از 0.6 nm به‌صورت تابعی از زمان شبیه‌سازی

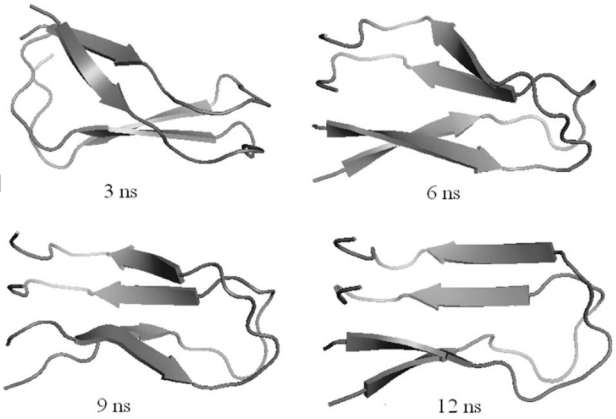


Fig. 8 Conformational changes of dimeric pathogenetic nano cargo in the various time of simulation

شکل 8 تغییرات پیکربندی محموله بیماری‌زا دیمر در زمان‌های مختلف شبیه‌سازی

5- منابع

[1] J. Hardy, A hundred years of Alzheimer's disease research, *Neuron*, Vol. 52, No. 1, pp. 3–13, 2006.

[2] C. Tinker-Mill, J. Mayes, D. Allsop, O. V. Kolosov, Ultrasonic force microscopy for nanomechanical characterization of early and late-stage amyloid-β peptide aggregation, *Scientific Reports*, Vol. 4, No. 1, pp. 1-7, 2014.

[3] L. N. Zhao, H. W. Long, Y. Mu, L. Y. Chew, The toxicity of amyloid β oligomers, *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 13, No. 12, pp. 7303–7327, 2012.

[4] D. J. Selkoe, The molecular pathology of Alzheimer's disease, *Neuron*, Vol. 6, No. 4, pp. 487–498, 1991.

[5] G. M. Shankar, S. Li, T. H. Mehta, A. Garcia-Munoz, N. E. Shepardson, I. Smith, F. M. Brett, M. A. Farrell, M. J. Rowan, C. A. Lemere, C. M. Regan, D. M. Walsh, B. L. Sabatini, D. J. Selkoe, Amyloid-β protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory, *Nature Medicine*, Vol. 14, No. 8, pp. 837–842, 2008.

[6] K. Ono, M. M. Condron, D. B. Teplow, Structure-neurotoxicity relationships of amyloid -protein oligomers, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 106, No. 35, pp. 14745–14750, 2009.

[7] B. Bukau, J. Weissman, A. Horwich, Molecular chaperones and protein quality control, *Cell*, Vol. 125, No. 3, pp. 443–451, 2006.

[8] Y. O. Ali, B. M. Kitay, R. G. Zhai, Dealing with misfolded proteins: examining the neuroprotective role of molecular chaperones in neurodegeneration, *Molecules*, Vol. 15, No. 10, pp. 6859–6887, 2010.

[9] P. J. Muchowski, J. L. Wacker, Modulation of neurodegeneration by molecular chaperones, *Nature Reviews Neuroscience*, Vol. 6, No. 1, pp. 11–22, 2005.

[10] F. C. Dehle, H. Ecroyd, I. F. Musgrave, J. A. Carver, αβ-Crystallin inhibits the cell toxicity associated with amyloid fibril formation by κ-casein and the amyloid-β peptide, *Cell Stress Chaperones*, Vol. 15, No. 6, pp. 1013–1026, 2010.

[11] M. King, F. Nafar, J. Clarke, K. Mearow, The small heat shock protein Hsp27 protects cortical neurons against the toxic effects of β-amyloid peptide, *Journal of Neuroscience Research.*, Vol. 87, No. 14, pp. 3161–3175, 2009.

[12] S. I. A. Cohen, P. Arosio, J. Presto, F. R. Kurudenkandy, H. Biverstål, L. Dolfe, C. Dunning, X. Yang, B. Frohm, M. Vendruscolo, J. Johansson, C. M. Dobson, A. Fisahn, T. P. J. Knowles, S. Linse, A molecular chaperone breaks the catalytic cycle that generates toxic Aβ oligomers, *Nature Strutural and MolecularBiology*, Vol. 22, No. 3, pp. 207–213, 2015.

[13] I. E. Vainberg, S. A. Lewis, H. Rommelaere, C. Ampe, J. Vandekerckhove, H. L. Klein, N. J. Cowan, Prefoldin, a chaperone that delivers unfolded proteins to cytosolic chaperonin, *Cell*, Vol. 93, No. 5, pp. 863–873, 1998.

[14] A. Ohtaki, H. Kida, Y. Miyata, N. Ide, A. Yonezawa, T. Arakawa, R. Iizuka, K. Noguchi, A. Kita, M. Odaka, K. Miki, M. Yohda, Structure and molecular dynamics simulation of archaeal Prefoldin: the molecular mechanism for binding and recognition of nonnative substrate proteins, *Journal of Molecular Biololgy*, Vol. 376, No. 4, pp. 1130–1141, 2008.

[15] M. Sakono, T. Zako, H. Ueda, M. Yohda, M. Maeda, Formation of highly toxic soluble amyloid beta oligomers by the molecular chaperone prefoldin, *FEBS Journal*, Vol. 275, No. 23, pp. 5982–5993, 2008.

[16] A. Shokuhfar, A. Ghaffari, R. H. Ghasemi, Cavity control of Prefoldin nano actuator (PNA) by temperature and pH, *Nano-Micro Letters*, Vol. 4, No. 2, pp. 110–117, 2012.

[17] B. Barz, B. Urbanc, Dimer formation enhances structural differences between amyloid β-protein (1–40) and (1–42): an explicit-solvent molecular dynamics study, *PLoS One*, Vol. 7, No. 4, pp. 1-17, 2012.

[18] T. Luhrs, C. Ritter, M. Adrian, D. Riek-Loher, B. Bohrmann, H. Dobeli, D. Schubert, R. Riek, 3D structure of Alzheimer's amyloid (1-42) fibrils, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 102, No. 48, pp. 17342–17347, 2005.

[19] J. D. Pham, R. K. Spencer, K. H. Chen, J. S. Nowick, A fibril-like assembly of oligomers of a peptide derived from β-amyloid, *Journal of American Chemical Society*, Vol. 136, No. 36, pp. 12682–12690, 2014.

[20] W.-J. Du, J.-J. Guo, M.-T. Gao, S.-Q. Hu, X.-Y. Dong, Y.-F. Han, F.-F. Liu, S. Jiang, Y. Sun, Brazilin inhibits amyloid β-protein fibrillogenesis, remodels amyloid fibrils and reduces amyloid cytotoxicity, *Scientific Reports*, Vol. 5, No. 1, pp. 1-10, 2015.

[21] A. H. C. Horn, H. Sticht, Amyloid-β42 oligomer structures from fibrils: a systematic molecular dynamics study, *Journal of Physical Chemistry B*, Vol. 114, No. 6, pp. 2219–2226, 2010.

Archive of SID

www.SID.ir