

محاسبات مکانیک مولکولی و بررسی تأثیر حلال بر اثرات محیطی و ترمودینامیکی آنزیم کولین استیل ترانسفراز

ریحانه صباغ زاده ۲۰۱

^۱ دکترای بیوشیمی، گروه زیست شناسی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران
^۲ گروه بیوشیمی و تغذیه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

نشانی نویسنده مسئول: گروه بیوشیمی و تغذیه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

E-mail: reihanehsabb@chmail.ir

وصول: ۹۲/۴/۲۷، اصلاح: ۹۲/۶/۱۲، پذیرش: ۹۲/۷/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: فعالیت استیل کولین و آنزیم استیل کولین ترانسفراز در بیماری آلزایمر بررسی و مشخص شده است. از این جهت، نقص آنها می‌تواند باعث کاهش حافظه و یادگیری شود. میدان‌های نیرو، بر ساختار کولین استیل ترانسفراز تأثیر دارند. برای درک اثرات فضایی، برخی مطالعات کامپیوتری انجام شده است.

مواد و روش‌ها: روش‌های شبیه سازی مونت کارلو، دینامیک مولکولی و دینامیک لانگ‌کین به وسیله میدان‌های نیروی AMBER.MM+ و OPLS در محیط مایع روی جایگاه فعال کولین استیل ترانسفراز، انجام شده است. عوامل پایدار کننده‌ی ساختمان جایگاه فعال آنزیم، انرژی پتانسیل محاسباتی بر زوایای دی هدرال و اثر درجه روی ساختار بهینه شده محاسبه گردیده است.

یافته‌ها: متغیرهای طول پیوند (B)، زاویه‌ی پیوند (A) و زاویه‌ی دی هدرال (D) از ساختار بهینه شده‌ی استیل کولین ترانسفراز در خلا (g) و حلال (w) به صورت نمودار نشان داده شده است. انرژی پتانسیل (برحسب کیلو کالری بر مول) طی شبیه سازی دینامیک مولکولی در دمای ۳۰۰ درجه کلوین در محیط خلا ($R2=0/7656$) و حلال ($R2=0/9794$) برای ساختار پایدار شده‌ی کولین استیل ترانسفراز مطالعه شده است.

نتیجه‌گیری: در این کار، از درجه حرارت‌های مختلف در محیط حلال استفاده شده و مشاهده گردیده که در روش‌های شبیه‌سازی، بر هم کنش انرژی، اثر مشابه با کاهش یافتن درجه‌ی حرارت دارد. این بررسی و مطالعه ثابت کرده که مدل ساده‌ی اثر حلال، می‌تواند کیفیت جایگاه فعال کولین استیل ترانسفراز را شبیه سازی کند. این تحقیق، انرژی مؤثر ساختار مولکول زیستی را آشکار ساخته است.

کلمات کلیدی: کولین استیل ترانسفراز، AMBER, MM+, OPLS, MC

مقدمه

واکنش‌های آنزیمی به‌ویژه در مورد متالوپروتئین‌ها، واکنش‌های نانوتیوب و واکنش‌های بیولوژیکی موجودات زنده از این نمونه‌اند و اصولاً هر جا که تعداد اتم‌های زیادی (معمولاً بیش از ۱۰۰۰۰ اتم) در واکنشی شرکت

در مواردی که فهم یک فرآیند شیمیایی مشکل- است و یا فرآیندهایی که در آزمایشگاه به سختی قابل انجام هستند، شیمی محاسباتی کاربرد زیادی دارد.

آزیم به همراه داروهای خاص، باعث بهبود یادگیری در حیوانات شده است (۵).

مواد و روش‌ها

در نرم‌افزارهای مکانیک مولکولی، اربیتال‌های مولکولی، ترکیب خطی از اربیتال‌های اتمی هستند که امروزه به طور صحیح‌تر، «توابع پایه» نامیده می‌شوند. توابع پایه را جمعاً «سری پایه» نیز می‌نامند. ساختمان پروتئین‌ها از بانک اطلاعات پروتئین Protein (PDB) Data Bank تهیه شده است. از این طریق، می‌توان از خصوصیات پیوندهای هیدروژنی، هیدروفوب، الکتروستاتیک و فضایی پروتئین اطلاع پیدا کرد.

در خلأ، سیستم با استفاده از روش‌های مونت کارلو، مولکولار دینامیک و دینامیک لانگوین شبیه‌سازی شده است. زمان در محدوده ی 100 ps در نظر گرفته شده و دما در طول مدت 300 درجه‌ی کلون ثابت قرار داده شده است. از آب هم به عنوان حلال استفاده گردیده است. در آب، شبیه‌سازی‌ها در یک جعبه‌ی ($3 \times 3 \times 3 \text{ nm}$) انجام شده و کمپلکس با اضافه کردن مولکول‌های آب، کامل گردیده است. ابتدا با کمک الگوریتم گرادیان، انرژی سیستم به حداقل رسانده می‌شود و سپس شبیه‌سازی‌های MC، MD و LD ملایم در زمان مورد نظر به جریان می‌افتد. چندین شبیه‌سازی صورت گرفته که در جدول‌های پیوست لیست شده است.

شبیه‌سازی‌های MC، MD و LD در پروتئین استیل کولین ترانسفراز و با برنامه‌ی HyperChem 7 انجام شده است. بهینه‌سازی‌ها و برهم‌کنش‌های انرژی‌ها، پیوندها، زاویه‌ها، کششی - خمشی، الکتروستاتیک و واندروالس در فاز گازی و حلال جداگانه صورت پذیرفته است.

در محلول، واکنش‌های واندروالس داخل مولکولی در یک مولکول پروتئین، با واکنش‌های واندروالس بین مولکولی با مولکول‌های حلال به تعادل می‌رسد. بنابراین،

می‌کنند و مستلزم صرف زمان بیشتری می‌باشند، این محاسبات می‌تواند مفید باشد. علاوه بر این، باید اشاره شود که بیشترین زمان صرف شده، مربوط به جزئیات نواحی از سیستم است که توسط برهم‌کنش‌های کلاسیک نیز قابل توصیف است، به‌خصوص اگر از میدان‌های نیرویی استفاده شود که جهت سیستم‌های بیوشیمیایی طراحی شده‌اند. بنابراین، نیاز به روشی که بتواند بخش کوچکی از سیستم مورد مطالعه را با محاسبات مکانیک کوانتومی و بقیه‌ی قسمت‌های آن را به طریق مکانیک مولکولی بررسی نماید، بسیار مشهود است. آنچه که در روش‌های تلفیقی، به عنوان نکته‌ی کلیدی محسوب می‌شود آن است که انرژی و توزیع بار در اتم‌های شرکت‌کننده در واکنش از طریق کوانتومی و بقیه‌ی سیستم از طریق روش‌های کلاسیک و مکانیک مولکولی بررسی و محاسبه می‌گردد. در این میان، اثرات دی‌الکتریک ناشی از مولکول‌های حلال اطراف نیز در نظر گرفته می‌شود. مدل دی‌الکتریک به کار رفته، در اثر دوقطبی‌های القا شده از اتم‌های قطبیده پروتئین و دوقطبی‌های القا شده در اثر مولکول‌های قطبیده‌ی حلال تشکیل می‌گردد. در شکل ۱، نواحی مختلف سیستم مورد مطالعه، (I) اتم‌های ناحیه‌ی کوانتومی، (II) اتم‌های باقیمانده‌ی سیستم و (III) اتم‌های حلال نشان داده شده است (۱).

نوروترانسمی‌ترهایی مثل استیل کولین و گلوتامات، در تمایز سیستم عصبی مرکزی مهم هستند (۲). نرون‌های کولینرژیک، نقش مهمی در یادگیری و حافظه دارند. کولین استیل ترانسفراز، آزیمی است که برای سنتز استیل کولین استفاده می‌شود و یک نشانگر برای نرون‌های کولینرژیک است (۳). فعالیت استیل کولین و آزیم استیل کولین ترانسفراز در بیماری آلزایمر بررسی و مشخص شده است. از این جهت، نقص آنها می‌تواند باعث کاهش حافظه و یادگیری شود (۴). افزایش فعالیت این

ساختمان پروتئین در محیط‌های خاص بیان شده است.

وقتی موقعیت مولکول‌های حلال به روشنی مشخص نیست، واکنش‌های واندروالسی داخل مولکولی باید مطابق آن، شکل بگیرد. پس واکنش‌های واندروالسی یک حالت یکنواختی اسکلتی ایجاد می‌کند و می‌تواند به عنوان مرجعی برای محاسبات انرژی استفاده شود.

در این کار، ما از روش‌های مکانیک مولکولی برای مطالعه‌ی آنزیم استفاده و اثرات محیطی را مطالعه کردیم. نتایج به صورت جدول‌ها و نمودارهای مختلف برای

در روش‌های کامپیوتری امکان بررسی دقیق تر مولکول زیستی از ۱۰۰-۵۰ اتم در مکانیک کوانتوم تا ۵۰۰۰۰ اتم در دینامیک مولکولی امکان پذیر است. چون چنین مطالعاتی بسیار دقیق هستند، مقایسه‌ی مستقیم اطلاعات، نیز ممکن می باشد (۶). به علاوه، تکنیک‌های

یافته‌ها

جدول ۱: محاسبات متغیرهای مختلف در دمای ۳۰۰ درجه کلوین در جایگاه فعال کولین استیل ترانسفراز

مختصات هندسی						
محیط	میدان نیرو	طول پیوند	زاویه	دی هدرال	انرژی	گرادین
آب	مکانیک مولکولی	۱۲۰/۵۷۶	۲۹۷۶/۹۹	-۷/۹۷۰۱۲	۲۲۵۹۶۶۴۳۱	0/096751
آب	امبر	۴/۹۷۳۹۷	۱۲۲/۹۸	۳۴/۷۷۸۲	-۸۹۳/۳۷۵۱۲۲	۰/۰۹۹۰۰۱
آب	اپیلس	۷/۹۴۹۱۲	۶۷۳/۲۹۷	۳۲/۲۴۲۹	-۳۷۵/۹۱۳۲۶۹	۰/۰۹۸۱۵۷

جدول ۲: محاسبات شبیه سازی های MD، MC و LD، در دمای ۳۰۰ درجه کلوین در جایگاه فعال کولین استیل ترانسفراز

مونت کارلو						
دینامک مولکولی			دینامک لانگ وین			
انرژی پتانسیل	انرژی پتانسیل	انرژی سینتیک	انرژی کل	انرژی پتانسیل	انرژی سینتیک	انرژی کل
۷۱۸۷	۳۶۸۵	۱۶۹۰	۵۳۷۵	۳۷۹۴	۲۵۱۸	۶۳۱۳
۲۱۵۹	۲۸۰۶	۵۶۰۲	۸۴۰۸۶۵	۲۲۰۹	۵۶۴۲	۷۸۵۱
۴۹۹۷	۱۳۳۸	۱۷۱۵	۳۰۵۴۶۷	۱۰۹۳۲	۱۹۳۳۶	۳۰۲۶۹

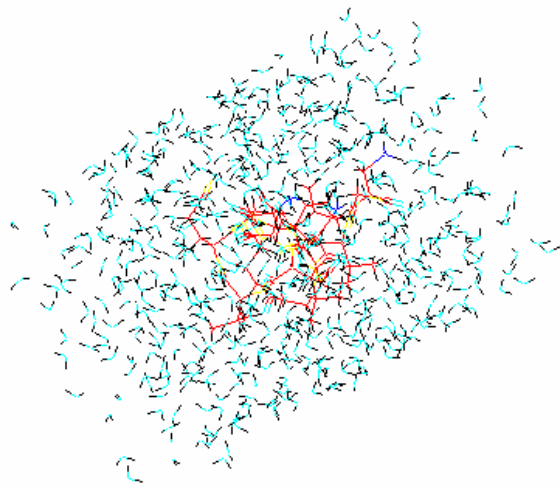
جدول ۳: خلاصه ای از محاسبات پتانسیل انرژی (کیلو کالری بر مول) در دماهای مختلف

دما	انرژی پتانسیل (مونت کارلو)		انرژی پتانسیل (دینامک مولکولی)		انرژی پتانسیل (دینامک لانگ وین)	
	اپیلس	اپیلس	امبر	امبر	مکانیک مولکولی	مکانیک مولکولی
۲۹۸	۱۱۰۶۹	۱۰۲۷۶	۲۷۲۱	۲۴۱۷	۳۶۵۳	۳۸۱۵
۳۰۲	۱۰۵۴۲	۱۰۳۴۵	۲۸۸۱	۸۹۳	۳۸۳۵	۳۸۴۷
۳۰۶	۱۱۰۷۹	۱۲۴۸۰	۲۴۹۴	۲۴۷۷	۳۸۶۱	۳۸۴۹
۲۹۸	۵۱۸۶	۵۱۶۰	۲۶۴۴	۲۶۹۵	۳۶۷۸	۳۸۱۲
۳۰۲	۴۸۹۲	۶۲۳۸	۲۷۸۱	۹۳۶	۳۸۵۵	۳۸۲۱
۳۰۶	۴۷۶۱	۴۶۲۴	۲۶۲۵	۲۴۹۷	۳۸۵۲	۳۸۵۶

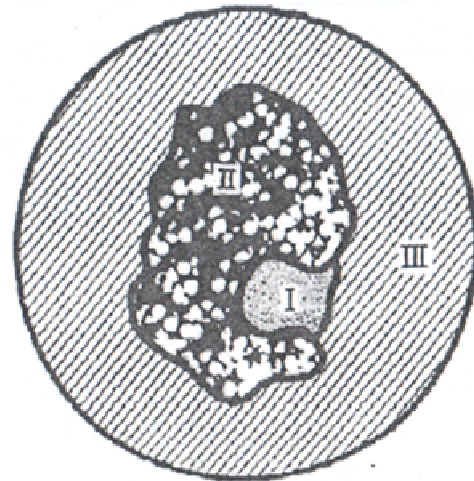
جدول ۴: جدول انحراف معیار و اختلاف میانگین بین دماهای مختلف انجام شده طی محاسبات QM/MM

میانگین	اختلاف معیار	دما (۱)
۵۱۲/۷۹۱۲×	۱/۰۸۱۴	۲۹۸
-۵۱۲/۷۹۱×	۱/۰۸۱۴۵	۳۰۰
-۱۱۵۵/۲۳×	۱/۳۶۶۵۴۶	۳۰۴
-۵۵۱/۹۳۹×	۱/۰۸۰۹۷۴	۳۰۶

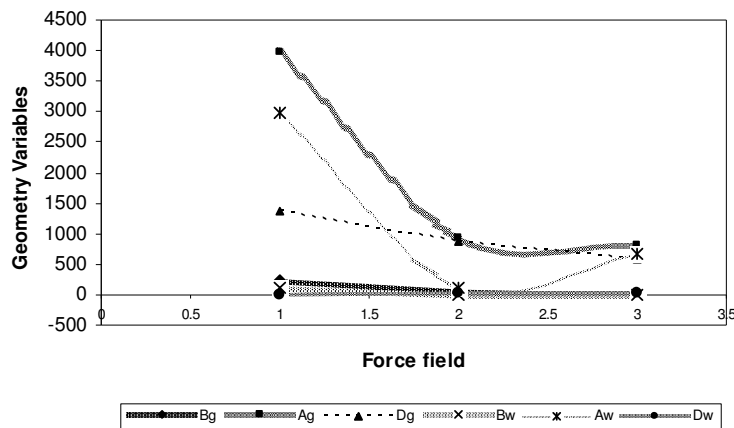
× اختلاف میانگین در سطح ۰,۰۵ معنی دار است



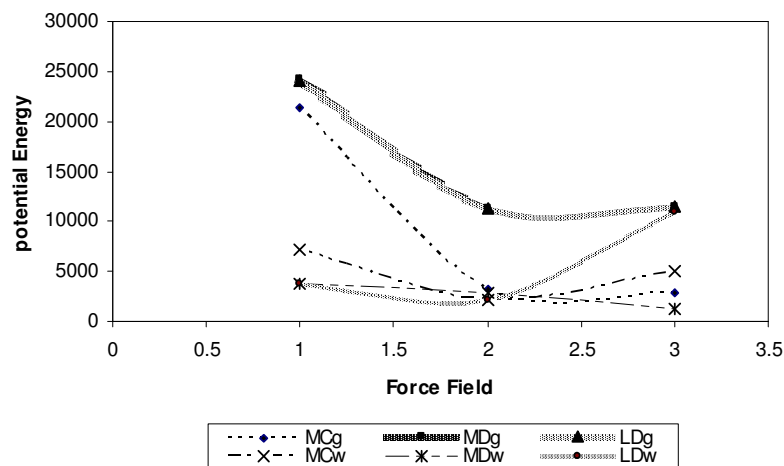
شکل ۲: جایگاه فعال کولین استیل ترانسفراز در حلال



شکل ۳: نواحی (I) کوانتومی، (II) باقیمانده‌ی مولکول و (III) حلال



شکل ۴: متغیرهای طول پیوند (B)، زاویه‌ی پیوند (A) و زاویه‌ی دی هدرال (D) از ساختار بهینه شده‌ی استیل کولین ترانسفراز در حلال (g) و حلال (w).



شکل ۵: انرژی پتانسیل (کیلو کالری بر مول) طی شبیه‌سازی دینامیک مولکولی در ۳۰۰ درجه کولین در محیط خلا ($R^2 = 0.7656$) و حلال ($R^2 = 0.9794$) با ساختار پایدار شده‌ی کولین استیل ترانسفراز

هیدروژنی بین پروتئین، باعث کاهش سطح انرژی می‌شود (۹).

در محلول، برهم کنش‌های واندروالس داخل پروتئین با جاذبه‌های واندروالس بین پروتئین و مولکولهای حلال به تعادل می‌رسد. اختلاف بین برهم

داکینگ برای بهینه‌کردن سیستم نیز کاربرد دارد (۷). شبیه‌سازی کامپیوتری، می‌تواند با توجه به ویژگی آبگریزی، جاذبه‌های حلال-حل شونده و برهم کنش الکتروستاتیک، جفت شدن قوی ایجاد کند (۸). اثرات برهم کنشی حلال مثل جاذبه‌های واندروالسی و پیوندهای

در میدان نیروی OPLS، انرژی پتانسیل در MD و LD افزایش قابل توجهی دارد که در نمودارهای MD(OPLS) و LD(OPLS) نشان داده شده است و در نتیجه بهتر می‌توان تغییرات دمایی را مطالعه کرد.

طبق تحلیل آماری مشخص شده که در میدان نیروی AMBER اختلاف معنی داری بین دمای ۲۹۸ درجه و ۳۰۴ درجه کلوین با سایر دماها (۳۰۰ و ۳۰۲ و ۳۰۵ و ۳۰۶ درجه کلوین) وجود دارد. همچنین انحراف معیار تقریباً، در تمام حالتها، برای ۳۰۴ درجه کلوین از بقیه دماها بیشتر است.

با افزایش دما، انرژی پتانسیل کاهش می‌یابد که این عمل، نشان از تغییرات ساختاری مهم در پروتئین می‌باشد و براین اساس، برهم‌کنش‌های پروتئین تحت تاثیر قرار گرفته است.

تشکر و قدردانی

از تمام همکاران محترم به ویژه آقای دکتر قدسی کمال تشکر و قدردانی را دارم.

References

1. Warshel A, Levitt M. *J mol. Biol.* 1976, 103, 227-49.
2. Richa S. Mukherjee, Robert E. Hausman. Cloning of chicken choline acetyltransferase and its expression in early embryonic retina. *Molecular Brain Research*. 2004; 129 (۱) 54-66.
3. Kimura Y, Oda Y, Take.0 Deguchi , Maruhiro I-ligashida. Enhanced acetylcholine secretion in neuroblastoma x glioma hybrid NG 108-15 cells transfected with rat choline acetyltransferase cDNA. *Federation of Europcun Biochemical Societies*. 1992; 314(3): 409-12.
4. Donahue DA, Dougherty EJ, Meserve LA. Influence of a combination of two tetrachlorobiphenyl congeners (PCB 47; PCB 77) on thyroid status, choline acetyltransferase (ChAT) activity, and short- and long-term memory in 30-day-old Sprague-Dawley rats. *Toxicology*. 2004;203: 99-107.
5. Dong Z , Fu A. Prevention of age-related memory deficit in transgenic mice by human choline acetyltransferase. *Eur J Pharmacol*. 2012; 683(1-3): 174-8.
6. Naray-Szabo G, Berenteb I . Computer modeling of enzyme reactions. *J. Mole. Struct. (Theochem)*. 2003: 666-7.
7. Kitchen DB, Decornez H, Furr JR, Bajorath J. Docking and Scoring in Virtual Screening for Drug Discovery: Methods and Applications. *Nat Rev Drug Discov*. 2004, 3(11): 935-49.
8. Monajjemi M, Ketabi S, Hashemian Zadeh M, Amiri A. Simulation of DNA Bases in Water: Comparison of the Monte Carlo Algorithm with Molecular Mechanics Force Fields. *Biochemistry (Mosc)*. 2006; 71: S1-8.
9. Ozkan SB, Dalgyn GS, Haliloglu T. Unfolding events of Chymotrypsin Inhibitor 2 (CI2) revealed by Monte Carlo (MC) simulations and their consistency from structure-based analysis of conformations. *Polymer*. 2004, 45(2): 581-95.

کنش‌های واندروالس داخل مولکول پروتئین و آب، ممکن است مرتبط با انرژی برهم‌کنش‌های آبگریز باشد (۱۰). چون برهم‌کنش‌های خاص بین باقیمانده‌ها و حلال نقش مهمی در پایداری ساختمان طبیعی بازی می‌کند، چنین شبیه‌سازی‌هایی در سطح اتمی می‌تواند بسیار مفید باشد.

بحث

همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده، انرژی سیستم در میدان نیروی AMBER از همه کمتر است. پس در این میدان نیرو، مولکول پایداری بیشتری دارد و بی‌نظمی کمتری در آن دیده می‌شود. در مقایسه با شبیه‌سازی‌های MC، MD و LD، مشخص می‌شود که میزان انرژی پتانسیل از میدان نیروی AMBER در این سه شبیه‌سازی تفاوت آشکاری نشان نمی‌دهد (جدول ۲ و ۳)، اما مقدار انرژی پتانسیل در میدان نیروی MM+ در شبیه‌سازی MC، بیشتر از MD و LD است و مقایسه بین MD و LD نیز نشانه‌ی مناسب تربودن شبیه‌سازی MD است.

Molecular mechanic calculations and evaluation the impacts of solvation on environmental and thermodynamic effects of enzyme choline acetyltransferase

Reihane Sabbagh Zadeh

Biochemical PH.D. , Biology Department, Hakim Sabzevari University
Department of Biochemistry and Nutrition, Faculty of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

Received:18/07/2013, Revised:03/09/2013, Accepted:09/10/2013

Corresponding Author:

Reyhaneh Sabbaghzadeh,
Department of Biochemistry and
Nutrition, Faculty of Medicine,
University of Sabzevar, Sabzevar,
Iran
E-mail: reihanehsabb@chmail.ir

Abstract

Introduction: Cholinergic neurons play an important role in muscle contraction, in learning and memory. Choline acetyltransferase is the enzyme that is responsible for the synthesis of acetylcholine and is a specific marker for cholinergic neurons. Computational methods investigate on Choline acetyltransferase enzyme.

Aim: The aim of the present work was to describe and characterize the molecular structure vibrational properties of choline acetyltransferase crystalline-structure. In this work, the structures of a coordination compound modeling the choline acetyltransferase computationally. Thus, it is worthwhile to collect information on their structures by the means of computational chemistry as well.

Materials and Methods: Monte Carlo simulations are based on pair wise additive potentials of the form . In concepts and algorithms of classical MD simulations the atoms of a biopolymer move according to the Newtonian equations of motion. These studies provided insights into the steric, electrostatic, hydrophobic, and hydrogen bonding properties and other structural features influencing the choline acetyltransferase.

Results: Potential energies for the three force fields of MM+, AMBER and OPLS at Monte Carlo simulation were compared. Geometry of optimized variables of Bond length (B), Bond Angle (A) and Dihedral Angle (D) investigated. The potential energy (kcal/mol) via time (ps) during Molecular Dynamic (MD) simulation at 300 K in gas ($R_2 = 0.7656$) and water ($R_2 = 0.9794$) environments studied to stabilized structure of choline acetyltransferase accepted.

Conclusion: These results also were revealed that the solvation of Choline acetyltransferase molecule is the major component for the interaction potential energy and it was clearly shown that the role of the solute-solvent interactions is more pronounced in Choline acetyltransferase molecule and its active site solvation

Keywords: IGF-1, AMBER, MM+, OPLS, MC.