

水溶液中 β 淀粉样蛋白片段 A β 16-21 的动态结构研究

庄丹玲, 严思仪, 刘 佳, 蔡开聪

(福建师范大学化学与化工学院, 福建省理论与计算化学重点实验室, 福州 350007)

摘要: 对阿尔兹海默症 (Alzheimer's disease, AD) 的致病因子——淀粉样蛋白 A β 体的片段 (amyloid amyloid β protein16-21, A β 16-21) 开展分子动力学模拟, 探索其在水溶液中的动态结构变化。对所得全原子运动轨迹进行统计分析, 深化了对 A β 16-21 多肽中酰胺单元水合能力及其所处化学微结构的认识, 揭示了多肽分子与溶剂水分子之间氢键相互作用的强弱, 为 AD 的病理研究提供了必要的理论基础。

关键词: 物理化学; 阿尔兹海默症; β 淀粉样蛋白; 分子动力学模拟; 结构动力学

中图分类号: O64 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-2850(2015)03-0264-06

Dynamic structure of amyloid β protein fragment A β 16-21 in aqueous solution

ZHUANG Danling, YAN Siyi, LIU Jia, CAI Kaicong

(Fujian Provincial Key Laboratory of Theoretical and Computational Chemistry, College of Chemistry and Chemical Engineering, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China)

Abstract: Molecular dynamic simulations were performed for the amyloid β protein fragment 16-21 (A β 16-21) which is known as the factor of Alzheimer's disease (AD) to gain insight into the conformational feature of A β 16-21 in aqueous solution. Statistic analysis was carried out on the all atoms trajectory. The understanding about the hydration effect and the microstructure around of amide units of A β 16-21, and the degree of the hydrogen effect between A β 16-21 and the water molecules were also revealed. These results provided the oretical insights and would be helpful for further pathological research of AD.

Key words: physical chemistry; Alzheimer's disease; amyloid β protein; molecular dynamic simulations; structural dynamics

0 引言

AD 是一种神经退行性疾病, 由 β -淀粉样蛋白 (amyloid β protein, A β) 在细胞外发生异常折叠后, 非正常聚集并沉积引起。AD 患病人群会逐渐丧失记忆, 行为能力退化, 情绪起伏不定, 性情大变并且失去自理能力, 从而给公共卫生带来巨大压力, 引发重大社会问题。因此, 探究凝聚相中 A β 的构型变化对 AD 的病理性研究至关重要^[1-10]。

A β 多肽由 39~42 个残基构成, 其中 A β 1~40 和 A β 1~42 是 2 个最主要的致病性多肽, 后者具有更显著的神经毒性, 而神经毒性取决于它的聚集和构象状态^[8]。研究表明, A β 聚集体构象以 β 折叠为主, 而非聚集状态时则根据不同的溶剂环境呈现不同的构象。例如, 研究者们利用圆二色谱法发现在生物膜或有机溶剂中 A β 聚体以 β 螺旋为主, 而在水溶液中则以卷曲为主^[11]; 而二维核磁共振 (two-dimensional

基金项目: 国家自然科学基金 (21103021); 福建省教育厅高校杰出青年科研人才培育计划 (JA13063); 福建省教育厅面上项目 (JB12005)

作者简介: 庄丹玲 (1995—), 女, 本科生, 主要研究方向: 分子动态结构

通信联系人: 蔡开聪, 副教授, 主要研究方向: 分子动态结构. E-mail: ckc1117@iccas.ac.cn

nuclear magnetic resonance, 2D NMR) 能够检测出 A β 在溶液及细胞膜界面形成复合物的空间结构^[12-13]。利用手性诱导二维红外(chirality induced two-dimensional infrared spectroscopy, CI 2DIR)手段,能在皮秒(ps)的时间分辨率下检测 A β 多肽从无序构象到有序排列构象的转变过程^[14]。分子模拟和光谱实验相结合的研究方法目前已遍及蛋白质二级结构研究领域,分子模拟手段能在原子、分子层次上进行实验现象和理论解释的互补,有力地揭示真实世界中蛋白质动态结构信息。

这里选取的多肽片段 A β 16-21(Lys-Leu-Val-Phe-Phe-Ala)来源于蛋白质数据库(protein data bank, PDB)^[1,15],对该多肽片段开展分子动力学模拟(molecular dynamics simulations, MD),在飞秒(fs)至纳秒(ns)的时间尺度下跟踪分子动态结构变化过程,捕捉到 α 螺旋、 β 折叠以及 P $_{II}$ 构象,揭示凝聚相中溶质-溶剂相互作用强弱,为在原子、分子层次上深化对 AD 致病因子结构特性的研究奠定必要的理论基础。

1 计算方法

借助 NAMD 软件^[16]对水溶液中的 A β 16-21 开展分子动力学模拟。为多肽选用了 CHARMM 全原子力场(版本: c35b2)^[17],水分子则用 TIP3P 模型^[18]描述。为模拟体系搭建包含 A β 16-21 的 5.2 nm \times 5.2 nm \times 5.2 nm 的具有周期性边界的溶剂盒子(体系总分子数为 4 348,密度为 0.932 9 g \cdot cm⁻³),采用 PME (particle mesh ewald)^[19-20]方法计算静电力之间的相互作用,静电力和范德华力的截断半径设为 1.2 nm。用共轭梯度法,在 0 K 下对体系进行 10 000 次能量最小化循环,改善原始体系高能量下的不稳定结构;随后将体系升温至 298 K,并对体系进行 1 ns 的平衡动力学,周期性地调整分子速度,使体系在室温下稳定化;最后在等温等压系综下,控制压力为 1.013 25 \times 10⁵ Pa,温度为 298 K,利用 Langevin-Piston Nosé-Hoover 方法,进行分子动力学采样(步长为 2 fs),获取了 1 ns 的全原子运动轨迹,并对得到的动力学轨迹进行进一步解析。

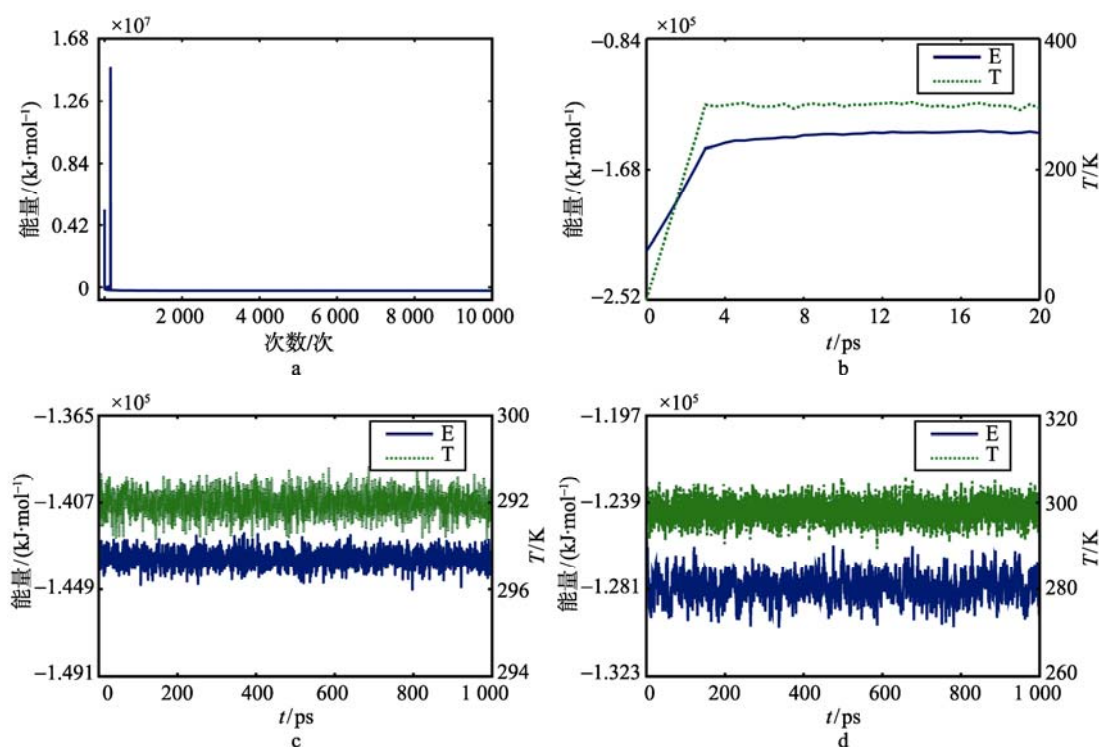
2 结果与讨论

2.1 分子动力学模拟

分子动力学模拟各个过程中的体系能量及温度随时间变化趋势如图 1 所示。经过能量最小化过程后(如图 1a 所示),体系中存在的高能构象发生了改变,其能量从 1.470 \times 10⁷ kJ \cdot mol⁻¹快速下降,最终维持在势能最低点(-2.310 \times 10⁵ kJ \cdot mol⁻¹)。在升温过程中(如图 1b 所示),体系能量随着温度上升呈上升趋势,在 4 ps ($T=298$ K)时,能量趋于稳定(-1.428 \times 10⁵ kJ \cdot mol⁻¹)。在平衡过程中(如图 1c 所示),体系能量趋于稳定,温度在 298 K 上下浮动,能量于-1.449 \times 10⁵~-1.407 \times 10⁵ kJ \cdot mol⁻¹ 范围内波动。在数据采集过程中(如图 1d 所示),温度趋于 298 K,能量趋于-1.260 \times 10⁵ kJ \cdot mol⁻¹。数据采集进程中能量和温度都在一定范围内变动,在相对平衡的体系下进行数据采集。

2.2 溶液中 A β 16-21 结构的动态变化

在水溶液中,由于分子的热运动,分子骨架上酰胺单元与 H₂O 的相互作用处在不停变化之中。在 0.244 ps 时, P20 上氧原子与水中氢原子间的距离为 0.177 nm(如图 2a~图 2d 所示),溶质-溶剂相互作用力较强, P19~P20 的分子骨架二面角($\Phi/\Psi=-113.06^\circ/85.56^\circ$)构象主要以无规则卷曲为主;在 24.400 ps 时,上述两原子间距离变为 0.174 nm,骨架二面角($\Phi/\Psi=-111.99^\circ/146.01^\circ$)呈现 β 折叠构象;在 122.000 ps 时,两原子间距为 0.171 nm,随着距离减短,分子间作用力增强,骨架二面角($\Phi/\Psi=-129.72^\circ/153.54^\circ$)构象仍以 β 折叠为主;在 244.000 ps 时,两原子间距为 0.203 nm,其间相互作用力减弱,分子的骨架二面角($\Phi/\Psi=-110.92^\circ/148.86^\circ$)主要以 β -折叠构象为主。研究表明,多肽上所有残基由于进行热运动,



注：图例中 E 为能量，T 为温度

图 1 分子动力学模拟中能量和温度随时间变化的示意图

Fig. 1 Time dependence of the system energy and temperature during molecular dynamics simulations

a—能量最小化；b—体系升温；c—平衡；d—MD 采样

a-Energy minimization; b-Heat; c-Equilibration; d-MD production

骨架在不同时刻倾向于形成不同的二级结构，分子与溶剂之间存在的相互作用也处于不停的微观波动之中。为系统研究水溶液中 A β 16-21 的结构特性，进一步借助径向分布函数（radial distribution function, RDF）进行统计分析。

2.3 溶液中 A β 16-21 微结构

径向分布函数结果表明，A β 16-21 中不同残基的酰胺单元与周围水溶剂分子存在一定的相互作用。如图 2e~图 2i 所示，多肽分子骨架上的酰胺单元均与水分子形成了氢键（范围在 0.175~0.215 nm）。对于 H (N—H) \cdots O (H—O) 而言，最大峰值出现在 0.195 nm，N—H 基团与水分子有较强的氢键作用（如表 1 所示）。其中，A21 在 0.215 nm 处出现最大峰值 [$g(r)=0.57$]，且该峰值小于其他氨基酸与水分子间相应距离的峰值，因此 A21 上的 N—H 基团与水中氧原子之间氢键作用相对较弱；对于 O (C=O) \cdots H (H—O) 来说，除 P19 之外的氨基酸与水分子间距离在 0.175 nm 出现最大峰值。但 L16 的最大峰值最小 [$g(r)=0.71$]，P19 在距离为 0.185 nm 时才出现最大峰值，因此二者之间的氢键作用更弱。总的来说，C=O 基团周围氢原子的 $g(r)$ 第一峰值基本上高于 N—H 基团，并且 C=O 基团上氧原子离水中氢原子的距离比 N—H 基团上氢原子离水中氧原子的距离更近，表明 C=O 基团与水形成分子间氢键的能力强。

为深入了解溶质-溶剂作用，通过式 (1) 对径向分布函数 $g(r)$ 积分得到 A β 16-21 第一溶剂层的溶剂配位数 (N):

$$N = 4\pi \int_0^{R_{\min 1}} \rho g(r) r^2 dr, \quad (1)$$

其中， ρ 为密度； $R_{\min 1}$ 为第一最小峰值； $g(r)$ 为对应的距离。

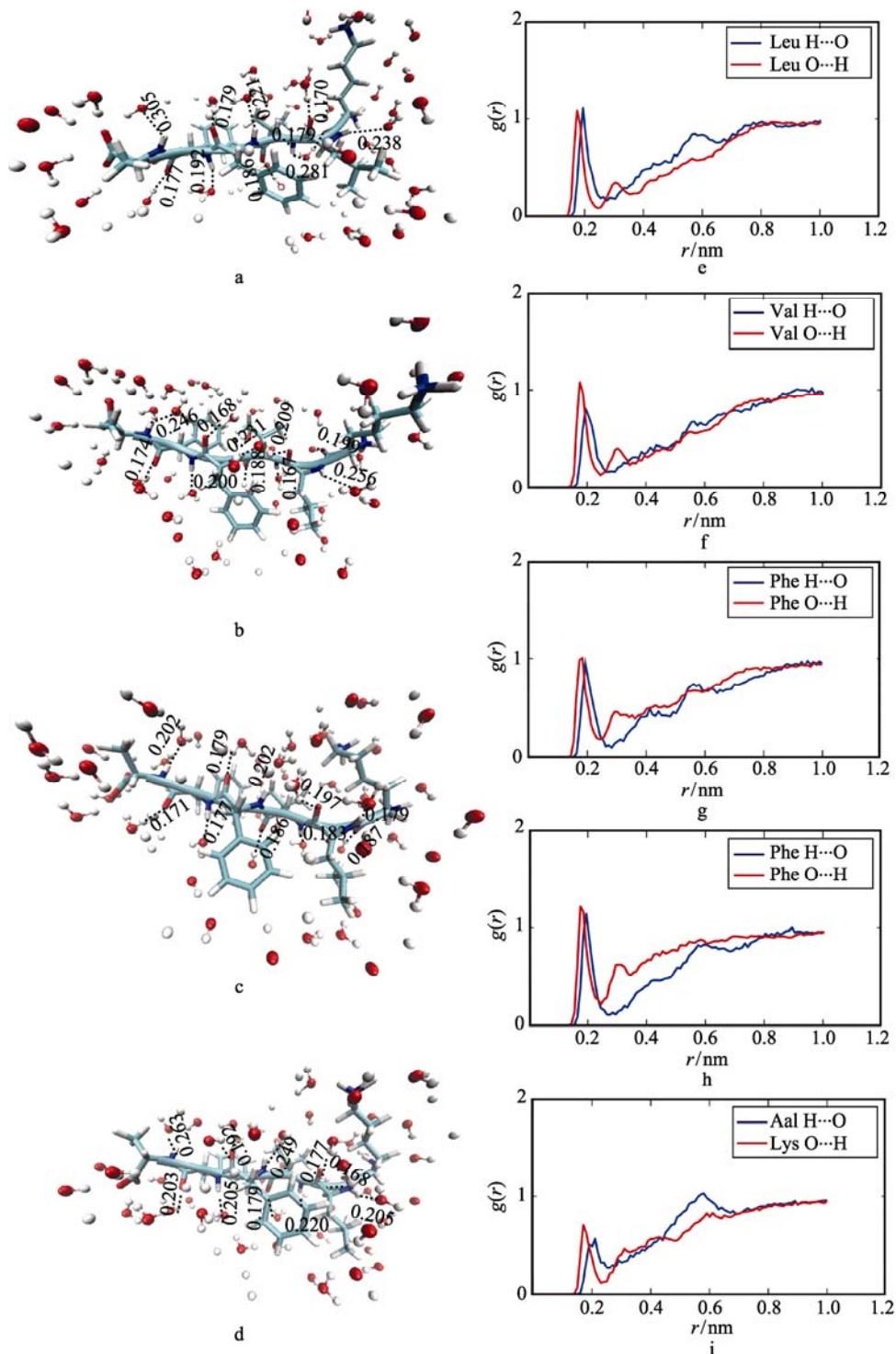


图2 Aβ16-21 处于不同时刻的瞬态结构及酰胺单元中 C=O 或 N—H 基团与水分子中 H 原子或 O 原子之间的径向分布曲线
 Fig. 2 MD snapshots of Aβ16-21 at different times and the radial distribution functions between C=O or N—H from amide groups of Aβ16-21 and H atom and O atom from water

a—0.244 s; b—24.400 s; c—122.000 s; d—244.000 s; e—L17 的径向分布曲线; f—V18 的径向分布曲线; g—P19 的径向分布曲线; h—P20 的径向分布曲线; i—L6 与 A21 的径向分布曲线

a-0.244 s; b-24.400 s; c-122.000 s; d-244.000 s; e-Radial distribution of L17; f-Radial distribution of V18; g-Radial distribution of P19; h-Radial distribution of P20; i-Radial distribution of L16 and A21

对 $\text{H}(\text{N}-\text{H}) \cdots \text{O}(\text{H}-\text{O})$ 而言, 在距离为 0.265 nm 或 0.275 nm 时, N—H 基团的第一水层中约有 1 个水分子(如表 1 所示)。其中, A21 的配位数 ($N=0.77$) 最小, 与水分子接触的机率相对较小, P19 的距离值最大(0.285 nm), 配位数 N 为 0.96, 与水溶剂间的相互作用相对较弱; 对于 $\text{O}(\text{C}=\text{O}) \cdots \text{H}(\text{H}-\text{O})$ 来说, 氨基酸在 0.245 nm 的距离时, C=O 基团的第一水层中大约有 0.65~0.90 个水分子(配位数 $N=1.33\sim 1.83$)。L16 的配位数最小 ($N=0.5$), 且距离值也最小, 因此, 其与水分子之间的氢键作用虽然较强, 但是周围较少出现水分子。此外, C=O 基团与水分子的氢原子距离和 N—H 基团与水分子上氧原子间距离相比较近, 并且氧原子的电负性比氮原子大, 因此其溶质与溶剂间形成稳定的氢键; 而 N—H 基团周围的第一水合层上的氧原子数少, 不易形成氢键。

表 1 A β 16-21 径向分布曲线的峰值与配位数

Tab.1 Peak values and coordination numbers from radial distribution curves of A β 16-21

残基序列	H(N—H) vs O(H ₂ O)		O(C=O) vs H(H ₂ O)		H(N—H) vs O(H ₂ O)		O(C=O) vs H(H ₂ O)	
	r/nm	$g(r)$	r/nm	$g(r)$	r/nm	$g(r)$	r/nm	$g(r)$
Lys (L16)	—	—	0.175	0.71	—	—	0.235	1.00
Leu (L17)	0.195	1.11	0.175	1.08	0.275	1.00	0.245	1.33
Val (V18)	0.195	0.80	0.175	1.08	0.265	0.86	0.245	1.49
Phe (P19)	0.195	0.96	0.185	1.01	0.285	0.96	0.245	1.56
Phe (P20)	0.195	1.14	0.175	1.22	0.275	0.99	0.245	1.83
Ala (A21)	0.215	0.57	—	—	0.265	0.77	—	—

注: “—”表示在多肽键端基无 N—H 或 C=O 基因, 所以无相应数值

综上所述, N—H 基团倾向于指向多肽分子内部; 而 C=O 基团, 由于 C=O 上的氧原子与水中氢原子的距离相比, N—H 上的氢原子与水中氧原子的距离小, 配位数也较大, $\text{O}(\text{C}=\text{O}) \cdots \text{H}(\text{H}-\text{O})$ 的径向函数曲线的第一峰值也大于 $\text{H}(\text{N}-\text{H}) \cdots \text{O}(\text{H}-\text{O})$, 所以该多肽中的基团 C=O 倾向于指向分子本身的外部。基团 C=O 和 N—H 与水之间的相互作用, 也使得多肽分子的螺旋程度增大。

3 结论

对 A β 16-21 多肽分子进行分子动力学模拟, 获得其在水溶剂环境中的全原子运动轨迹。借助径向分布函数揭示 A β 16-21 在水溶液中的微结构, 并进一步分析多肽分子中 C=O 和 N—H 基团与周围水分子相互作用的强弱。研究表明, 虽然 C=O 或 N—H 基团均能与水分子中氢原子或氧原子形成氢键, 但 C=O 基团与水分子的作用更强, 在 A β 16-21 分子中, C=O 指向多肽分子二级结构外部, 易与溶剂间发生相互作用, 而 N—H 基团与水分子间作用较弱, 偏向于指向蛋白质内部。研究结果深化了对凝聚相中多肽所处化学微结构的认识, 同时为探究 AD 致病因子的结构特性提供了丰富的理论基础。

致谢

感谢中国科学院超算中心网格计算提供的高性能计算服务。感谢福建师范大学刘亚男在分子动力学模拟工作中给予的建议和帮助。

[参考文献] (References)

- [1] BALBACH J J, ISHII Y, ANTZUTKIN O N, et al. Amyloid fibril formation by A beta16-22, a seven-residue fragment of the Alzheimer's beta-amyloid peptide, and structural characterization by solid state NMR[J].

- Biochemistry, 2000, 39(45): 13748-13759.
- [2] BALL K A, PHILLIPS A H, WEMMER D E, et al. Differences in β -strand populations of monomeric A β 40 and A β 42[J]. Biophys. J., 2013, 104(12): 2714-2724.
- [3] DETOMA A S, SALAMEKH S, RAMAMOORTHY A, et al. Misfolded proteins in Alzheimer's disease and type II diabetes[J]. Chem. Soc. Rev., 2012, 41(2): 608-621.
- [4] JAKOB-ROETNE R, JACOBSEN H. Alzheimer's disease: from pathology to therapeutic approaches[J]. Angew. Chem. Int. Ed., 2009, 48(17): 3030-3059.
- [5] PETTY S A, DECATUR S M. Experimental evidence for the reorganization of beta-strands within aggregates of the A β (16-22) peptide[J]. J. Am. Chem. Soc., 2005, 127(39): 13488-13489.
- [6] RAUK A. The chemistry of Alzheimer's disease[J]. Chem. Soc. Rev., 2009, 38(9): 2698-2715.
- [7] ROSS C A, POIRIER M A. Protein aggregation and neurodegenerative disease[J]. Nat. Med., 2004, 10(7): S10-S17.
- [8] SHI H, KANG B T, LEE J Y. Zn²⁺ effect on structure and residual hydrophobicity of amyloid β -peptide monomers[J]. J. Phys. Chem. B, 2014, 118(35): 10355-10361.
- [9] SOTO C. Protein misfolding and disease; protein refolding and therapy[J]. FEBS Lett., 2001, 498(2-3): 204-207.
- [10] SOTO C. Unfolding the role of protein misfolding in neurodegenerative diseases[J]. Nat. Rev. Neurosci., 2003, 4(1): 49-60.
- [11] XU Y C, SHEN J H, LUO X M, et al. Conformational transition of amyloid beta-peptide[J]. PNAS, 2005, 102(15): 5403-5407.
- [12] SHAO H Y, JAO S C, MA K, et al. Solution structures of micelle-bound amyloid beta-(1-40) and beta-(1-42) peptides of Alzheimer's disease[J]. J. Mol. Biol., 1999, 285(2): 755-773.
- [13] USACHEV K S, EFIMOV S V, YULMETOV A R, et al. Spatial structure of heptapeptide A β (16-22) (beta-amyloid A β (1-40) active fragment) in solution and in complex with a biological membrane model[J]. Magn. Reson. Chem., 2012, 50(12): 784-792.
- [14] ZHUANG W, SGOURAKIS N G, LI Z, et al. Discriminating early stage A β 42 monomer structures using chirality-induced 2DIR spectroscopy in a simulation study[J]. PNAS, 2010, 107(36): 15687-15692.
- [15] SANTINI S, MOUSSEAU N, DERREUMAUX P. In silico assembly of Alzheimer's A β 16-22 peptide into beta-sheets[J]. J. Am. Chem. Soc., 2004, 126(37): 11509-11516.
- [16] PHILLIPS J C, BRAUN R, WANG W, et al. Scalable molecular dynamics with NAMD[J]. J. Comput. Chem., 2005, 26(16): 1781-1802.
- [17] MACKERELL A D, BASHFORD D, BELLOTT M, et al. All-atom empirical potential for molecular modeling and dynamics studies of proteins[J]. J. Phys. Chem. B, 1998, 102(18): 3586-3616.
- [18] JORGENSEN W L, CHANDRASEKHAR J, MADURA J D, et al. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water[J]. J. Chem. Phys., 1983, 79(2): 926-935.
- [19] DARDEN T, YORK D, PEDERSEN L. Particle mesh ewald: an $N \cdot \log(N)$ method for ewald sums in large systems[J]. J. Chem. Phys., 1993, 98(12): 10089-10092.
- [20] ESSMANN U, PERERA L, BERKOWITZ M L, et al. A smooth particle mesh ewald method[J]. J. Chem. Phys., 1995, 103(19): 8577-8593.