

بررسی تأثیر دما بر ساختار پروتئین پرین انسانی به کمک شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

فاطمه خواجوی^{۱*}، محمدرضا دایر^۲

خلاصه

مقدمه: حالت طبیعی پروتئین پرین، PrPc و حالت بیماری‌زای آن PrPsc نامیده می‌شود. این پروتئین به شکل یک هسته متبلور برای غیر طبیعی شدن PrPc عمل کرده و موجب تبدیل آن‌ها به PrPsc می‌شود. هدف از انجام این تحقیق، بررسی تأثیر دما بر ساختار پروتئین پرین انسانی به کمک شبیه‌سازی دینامیک مولکولی بود. روش: در انجام پژوهش حاضر از نرم‌افزار GROMACS در سیستم عامل لینوکس استفاده شد. بعد از انجام دینامیک مولکولی، شاخص‌های موردنظر از فایل مسیر استخراج و تحلیل داده‌ها صورت گرفت. نتایج حاصل جهت تحلیل به نرم‌افزار Excel منتقل شد و شکل‌ها و جداول در این نرم‌افزار ایجاد گردید. یافته‌ها: تأثیر هم‌زمان دما و غلظت سدیم کلرید بر پایداری پروتئین پرین انسانی به وسیله شبیه‌سازی دینامیک مولکولی در مدت زمان ده نانوثانیه مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که در غلظت ۰/۱ مولار سدیم کلرید (غلظت طبیعی سدیم کلرید در بافت‌ها) تغییر دمای محیط از ۳۷ درجه سانتی‌گراد به ۲۷ یا ۴۷ درجه سانتی‌گراد باعث تغییرات وسیع ساختاری شد که می‌توان این مسأله را به وسیله انحراف معیار جذر میانگین مربعات ریشه پروتئین (Root mean square deviation یا RMSD)، شعاع چرخشی (Radius of gyration)، سطح قابل دسترس حلال آلی و فاصله بین گروه‌های یونی پروتئین دنبال کرد. نتیجه‌گیری: در غلظت ۰/۱ مولار سدیم کلرید و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد (غلظت طبیعی سدیم کلرید و دمای طبیعی بدن)، پروتئین ساختار طبیعی خود را به دست می‌آورد و افزایش یا کاهش دما باعث غیر طبیعی شدن پروتئین می‌گردد که این امر می‌تواند دلیل غیر طبیعی شدن این پروتئین در ایجاد بیماری‌هایی مانند جنون گاوی باشد. لازم به ذکر است، افزایش درجه حرارت نسبت به کاهش آن تأثیر بیشتری در این فرایند غیر طبیعی شدن دارد.

واژه‌های کلیدی: پروتئین پرین، دینامیک مولکولی، GROMACS، RMSD

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیمی- فیزیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات خوزستان، اهواز، ایران ۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

* نویسنده مسؤول، آدرس پست الکترونیک: fkha596@yahoo.com

پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۳/۲۱

دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۹۳/۳/۷

دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۹/۲۱

مقدمه

بیماری‌های پریونی جزء اختلالات تحلیل برنده دستگاه عصبی هستند که به مرگ بیمار منجر می‌شود. سابقه این بیماری‌ها به ۳۰۰ سال پیش برمی‌گردد که اولین بیماری کشف شده از این گروه، اسکرابی (Scrapie) نام گرفت. عامل این بیماری تا مدت‌ها نامعلوم بود و فرضیه‌های مختلف عواملی مانند ویروس آهسته (Slow virus)، ویریون‌ها و... را مسؤول بیماری معرفی می‌کردند. با این حال هیچ یک از این فرضیات تأیید نشد؛ چرا که تا آن زمان ماده ژنتیکی بیماری‌زایی از مغز بیماران استخراج نشده بود. سرانجام در سال ۱۹۸۷ محقق به نام Prusiner فرضیه پروتئین تنها (Protein-Only hypothesis) را مطرح کرد. طبق این فرضیه یک پروتئین (PrPSc) عامل بیماری است (۱). تصور می‌شود این پروتئین در اثر تبدیل پریون طبیعی (PrPc) به حالت غیر طبیعی آن (PrPSc) ایجاد می‌شود که نتیجه این تبدیل، تشکیل پلاک‌های نامحلول در مغز می‌باشد (۲).

حالت طبیعی و بیماری‌زای پروتئین پریون از لحاظ توالی اسیدهای آمینه به طور کامل مشابه هستند و تفاوتشان در مقدار زنجیره‌های آلفا و صفحات بتا است؛ به گونه‌ای که PrPc در ۴۲ درصد ساختمان آلفا و ۳ درصد ساختمان بتا وجود دارد در حالی که PrPSc حاوی ۲۱ درصد ساختمان آلفا و ۴۳ درصد ساختمان بتا است. در حقیقت علت بیماری نیز همین تبدیل دو مارپیچ آلفا به چهار صفحه بتا می‌باشد. همچنین PrPc به طور کامل محلول است و توسط پروتئیناز k تجزیه می‌شود، اما PrPSc به طور کامل نامحلول و به هضم توسط پروتئیناز k مقاوم است و همچنین بر خلاف فرم طبیعی تمایل زیادی برای اتصال به هم و ایجاد رشته‌های آمیلوئید (Amyloid fibrils) دارد (۱).

پروتئین پریون توسط ژن موجود در سلول میزبان ساخته می‌شود که میزان ساخت آن در پستانداران آلوده و غیر آلوده یکسان است. تنها تفاوت عمده بین پریون

سلول‌های آلوده و غیر آلوده، تفاوت‌های ژنتیکی حاصل از جهش‌های ایجاد شده در پروتئین پریون پس از مرحله ترجمه می‌باشد (۳). الگوی جهش‌ها باعث ایجاد یک پروتئین ناپایدار مستعد تبدیل شدن به PrPSc می‌شود. این پروتئین غیر طبیعی به صورت هسته مرکزی جهت تجمع PrPcها و غیر طبیعی شدن آن‌ها عمل می‌کند. این تجمع‌ها یا به صورت دوتایی یا اکتاپیتیدی صورت می‌گیرد (۴، ۵). مهم‌ترین بیماری‌های پریونی یا منتسب به پریون‌ها عبارت از اسکرابی در گوسفندان، انسفالوپاتی اسفنجی شکل گاوها (Mad cow disease) یا بیماری جنون گاوی، کروتزفیلد ژاکوب (Creutzfeldt-Jakob disease یا CJD)، سندرم Gerstmann-Straussler-Scheinker، بی‌خوابی کشنده فامیلی (Fatal familia insomnia)، بیماری Kuru و شاید آلزایمر در انسان باشد (۶، ۷، ۳).

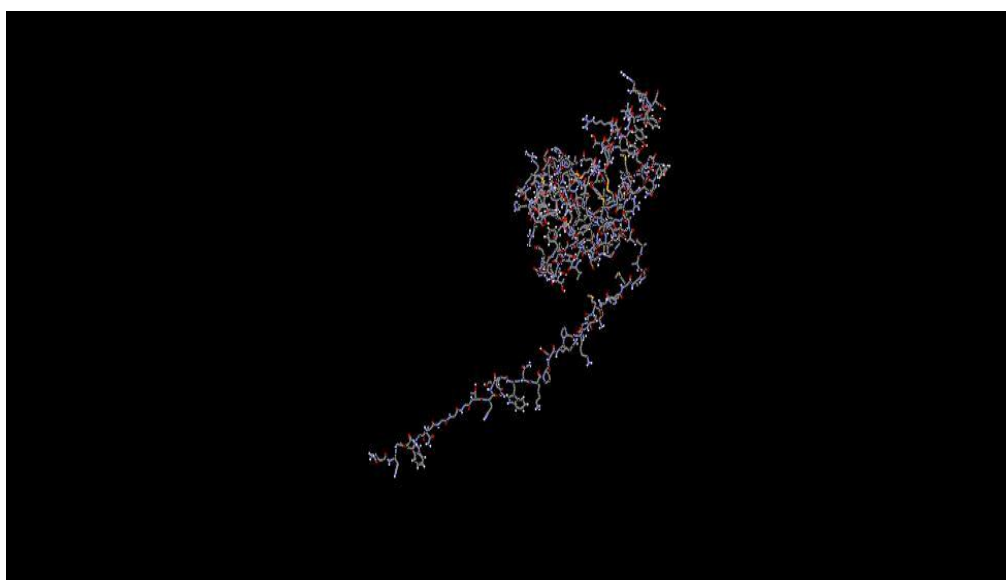
با وجود انجام تحقیقات فراوان هنوز مکانیسم دقیق غیر طبیعی شدن پریون به طور کامل مشخص نشده است. بر این اساس برای فهم ساختار و عملکرد این پروتئین تصمیم گرفته شد تا تأثیر دما بر آن در غلظت طبیعی سدیم کلرید (۰/۱ مولار) با کمک شبیه‌سازی رایانه‌ای (Computer simulation) بررسی گردد. شبیه‌سازی دینامیک مولکولی به صورت گسترده برای شبیه‌سازی حرکت مولکول‌ها، درک عمیق بر هم‌واکنش‌های شیمیایی، جریان سیال، انتقال فاز و دیگر خواص فیزیکی ناشی از بر هم‌کنش‌های مولکولی استفاده می‌شود (۸). در این راستا نرم‌افزارهای شبیه‌سازی بسیاری با کاربردهای گوناگون ارایه شده است که از آن جمله می‌توان به GROMACS، NMD، CHARMM، AMBER و... اشاره کرد. در بین آن‌ها استفاده از نرم‌افزار GROMACS به علت سادگی، در دسترس بودن و پیشرفت روزافزون آن از استقبال بیشتری برخوردار است.

روش بررسی

در این پژوهش ابتدا ساختمان بلوری پروتئین پریون با کد 2LEJ از بانک داده‌های پروتئین به آدرس www.pdb.org تهیه و پس از رفع نواقص از آن استفاده گردید. شبیه‌سازی این پروتئین در غلظت طبیعی نمک (۰/۱ مولار) و دمای بدن (۳۷ درجه سانتی‌گراد) انجام گرفت. همچنین برای بزرگ‌نمایی اثر دما بر ساختمان پریون، شبیه‌سازی در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد بالاتر و ۱۰ درجه سانتی‌گراد پایین‌تر از دمای عادی بدن (۲۷ و ۴۷ درجه سانتی‌گراد) و با کمک نسخه ۳/۳/۱ نرم‌افزار GROMACS (۹) در اوبونتو مدل ۱۲/۱۰ انجام گردید. فایل‌های توپولوژی محتوی اطلاعات غیر کووالان موردنیاز برای شبیه‌سازی با کمک میدان نیروی ۴۶A۱ ساخته شد. جعبه‌ای به شکل مکعب با ابعادی انتخاب گردید که اطراف مولکول از لبه جعبه ۰/۵ نانومتر فاصله داشته باشد؛ چرا که اگر ابعاد جعبه بزرگ باشد، حجم محاسبات زیاد و اگر کوچک باشد پروتئین از آن خارج خواهد شد. در مرحله بعدی با انجام فرامین GROMACS جعبه را به وسیله مولکول‌های آب مدل (Simple point charge) پر و برای از بین بردن اثرات سطحی از شرایط

مرزی تناوبی استفاده شد. برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی با استفاده از روش PME (Particle-mesh Ewald) انجام گردید. دما و فشار بر اساس الگوریتم Branson مورد استفاده قرار گرفت و دمای استفاده شده ۳۰۰، ۳۱۰ و ۳۲۰ کلوین و فشار ثابت یک بار در نظر گرفته شد. قبل از شروع شبیه‌سازی از طریق افزایش یون Na^+ بار سیستم خنثی و انرژی آن تا کمتر از ۵۰۰ کیلوژول بر مول کمینه گردید. بعد از انجام دینامیک مولکولی، شاخص‌های موردنظر از فایل مسیر شبیه‌سازی استخراج و تحلیل داده‌ها انجام گرفت. نتایج حاصل جهت تحلیل به نرم‌افزار Excel منتقل و شکل‌ها و جداول در این نرم‌افزار ایجاد شد.

به دلیل این که دومین N-ترمینال (باقی‌مانده‌های ۱۲۸-۸۵) رفتار متفاوتی با دومین کروی یا C-ترمینال پروتئین (باقی‌مانده‌های ۲۳۱-۱۲۹) نشان داد، در بررسی نتایج تحقیق حاضر رفتار این دو دومین مجزا بررسی و به ترتیب آن‌ها به اسامی دومین N-ترمینال و C-ترمینال نام‌گذاری شد. شکل ۱ پروتئین پریون است که با کمک نرم‌افزار WebLab تهیه شده است.



شکل ۱. ساختار پروتئین پریون انسانی

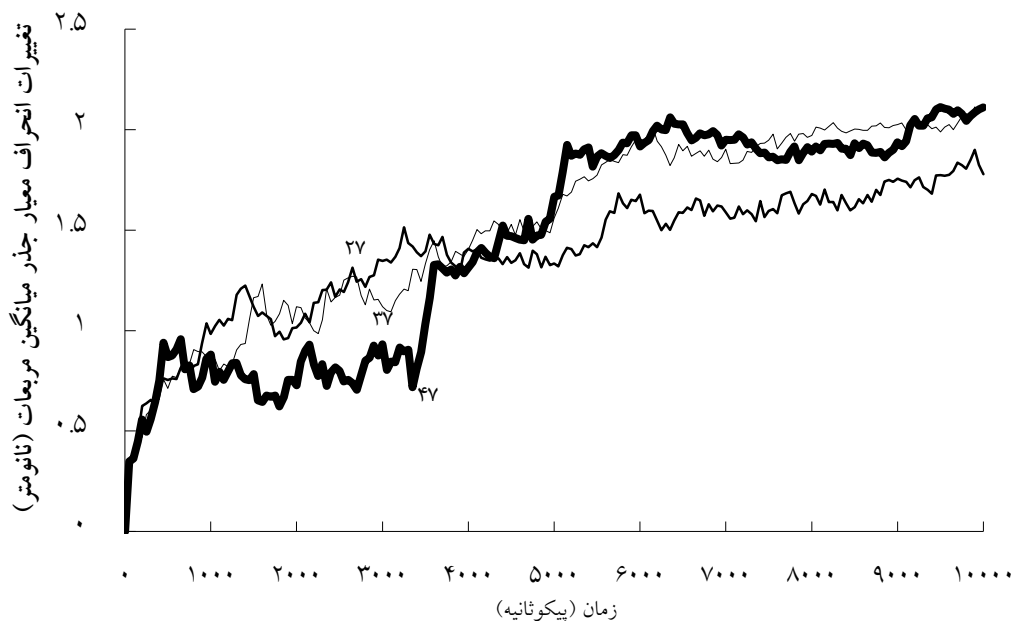
نتایج

یک معیار رایج برای ارزیابی شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، بررسی تغییرات انحراف معیار جذر میانگین مربعات (RMSD یا Root mean square deviation) پروتئین در طی شبیه‌سازی نسبت به ساختار اولیه آن یعنی قبل از شبیه‌سازی است (۱۰). تغییرات RMSD از رابطه زیر به دست می‌آید:

$$\text{RMSD} = \frac{1}{n} \left[\sum (r_i - r_j)^2 \right]^{\frac{1}{2}}$$

تغییرات RMSD با اجرای فرمان g_rms به دست می‌آید. شکل ۲ تغییرات RMSD مربوط به دومین -N ترمینال در غلظت ۰/۱ مولار سدیم کلرید در دماهای ۲۷، ۳۷ و ۴۷

درجه سانتی‌گراد را نشان می‌دهد. طبق این شکل در دماهای ۲۷ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد مقدار تغییرات RMSD از ۱/۲ نانومتر آغاز شده، تا زمان ۴۰۰۰ پیکوثانیه افزایش می‌یابد. تغییرات RMSD پس از رسیدن به ۱/۵ نانومتر در دماهای ۲۷ با ۴۷ درجه سانتی‌گراد برابر شده، تا ۲/۳ نانومتر افزایش می‌یابد، در حالی که در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تغییرات RMSD به ۱/۶ نامتر می‌رسد. این شکل نشان می‌دهد که تغییرات RMSD در دماهای ۲۷ و ۴۷ درجه سانتی‌گراد بخش -N ترمینال شدیدتر است و می‌توان نتیجه گرفت که کاهش یا افزایش دمای بدن از حد طبیعی سبب تحمیل تغییرات ساختاری بر پرپون می‌شود.



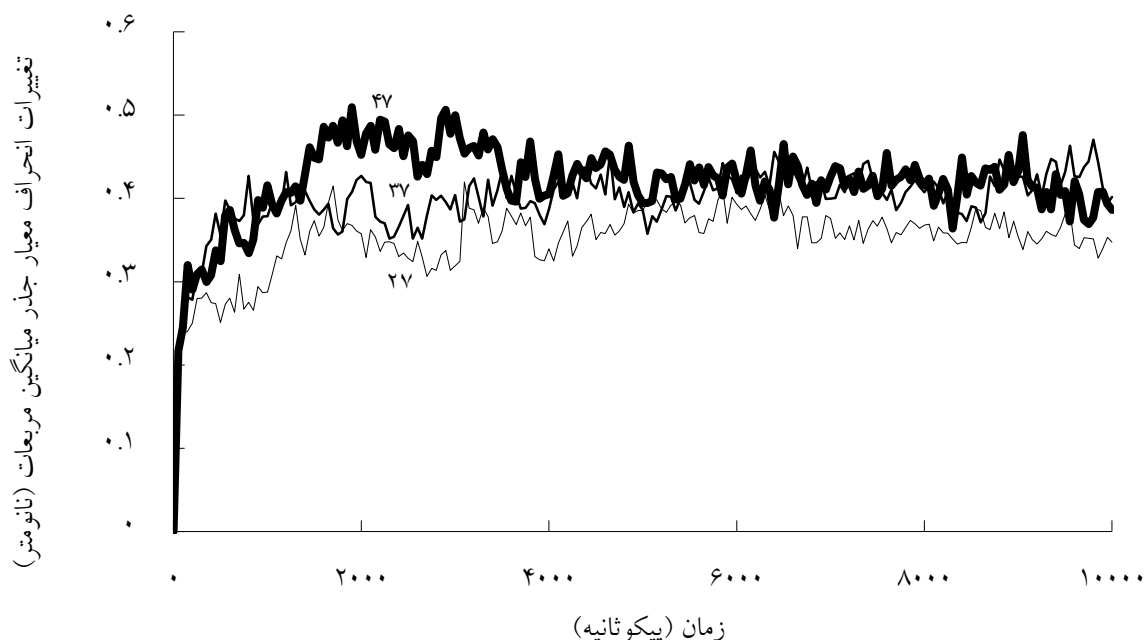
شکل ۲. تغییرات انحراف معیار جذر میانگین مربعات دومین -N ترمینال پروتئین پرپون در دماهای ۲۷، ۳۷ و ۴۷ درجه سانتی‌گراد و غلظت ۰/۱ مولار سدیم کلرید

۲۷ درجه سانتی‌گراد کمترین مقدار را دارد. پس از گذشت ۴۰۰۰ پیکوثانیه از آغاز شبیه‌سازی تغییرات انحراف معیار جذر میانگین مربعات، این بخش از پروتئین در دو دمای ۳۷ و ۴۷ درجه سانتی‌گراد با هم برابر شده و بعد از رسیدن به ۰/۴ نانومتر به طور تقریبی ثابت می‌ماند. تغییرات انحراف

شکل ۳ تغییرات انحراف معیار جذر میانگین مربعات مربوط به دومین -C ترمینال پروتئین پرپون را در دماهای ۲۷، ۳۷ و ۴۷ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد. تغییرات انحراف معیار جذر میانگین مربعات تا قبل از ۴۰۰۰ پیکوثانیه در دمای ۴۷ درجه سانتی‌گراد بیشترین و در دمای

ساختاری بیشتر این بخش از پریون در دماهای بالاتر را نشان می‌دهد.

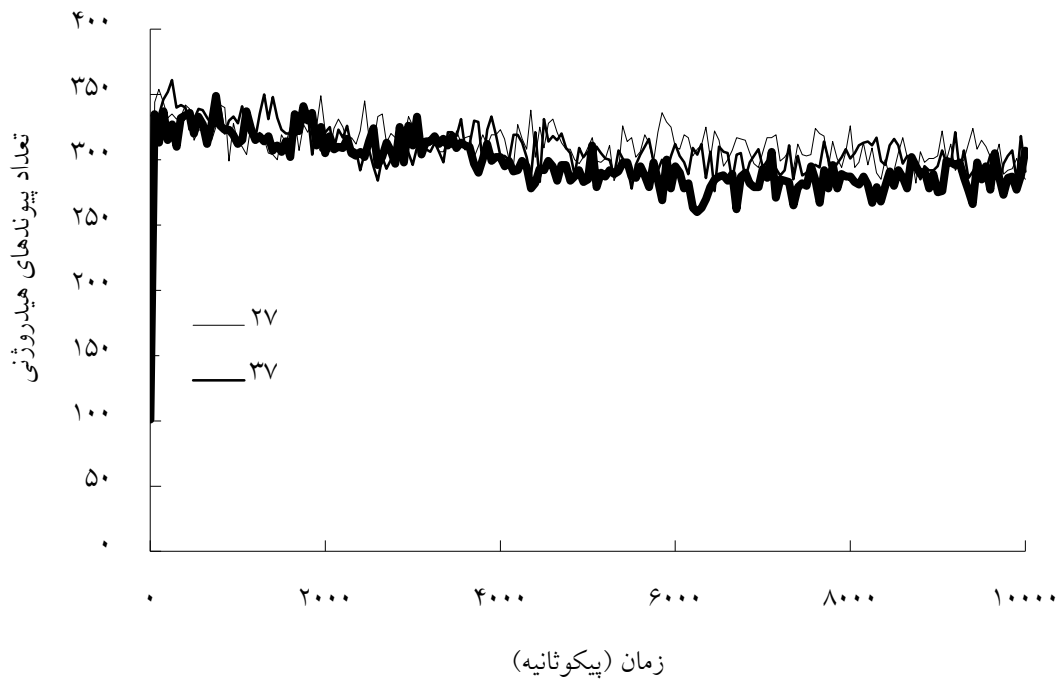
معیار جذر میانگین مربعات بخش C- ترمینال پروتئین پریون در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد از دو دمای بررسی شده دیگر کمتر است که این مسأله بی‌ثباتی و تغییرات



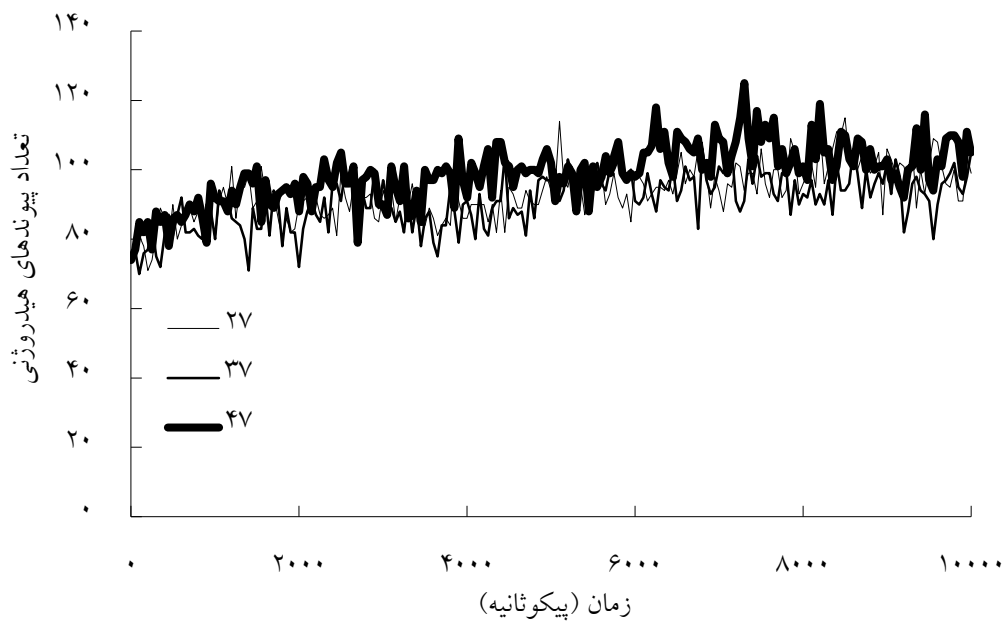
شکل ۳. تغییرات انحراف معیار جذر میانگین مربعات بخش C- ترمینال پریون در دماهای ۲۷، ۳۷ و ۴۷ درجه سانتی‌گراد و غلظت ۰/۱ مولار سدیم کلرید.

حلال را خواهد داشت و این امر می‌تواند بیانگر این مسأله باشد که افزایش دما سبب شکستن این نوع پیوندها می‌شود. شکل ۵ تغییرات تعداد پیوندهای هیدروژنی پروتئین- پروتئین در دماهای ۲۷، ۳۷ و ۴۷ درجه سانتی‌گراد را در حضور سدیم کلرید با غلظت ۰/۱ مولار نشان می‌دهد. بررسی تعداد پیوندهای هیدروژنی پروتئین- پروتئین نشانگر آن بود که پروتئین پریون در دمای ۴۷ درجه سانتی‌گراد بیشترین و در دمای طبیعی بدن کمترین تعداد پیوند هیدروژنی را دارد.

شکل ۴ تغییرات تعداد پیوندهای هیدروژنی پروتئین- حلال پروتئین پریون را در سه دمای ۲۷، ۳۷ و ۴۷ درجه سانتی‌گراد در حضور سدیم کلرید با غلظت ۰/۱ مولار نشان می‌دهد. بررسی تعداد پیوندهای هیدروژنی پروتئین- حلال حاکی از آن بود که پریون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تا قبل از ۴۰۰۰ میکروثانیه بیشترین تعداد پیوند هیدروژنی پروتئین- حلال را دارد، اما از این زمان به بعد و با افزایش دما تعداد این پیوندها کمتر می‌شود؛ به طوری که اگر دما در هنگام شبیه‌سازی ۴۷ درجه سانتی‌گراد باشد، پروتئین مورد بررسی کمترین تعداد پیوند هیدروژنی پروتئین-



شکل ۴. تغییرات تعداد پیوندهای هیدروژنی پروتئین - حلال پرپون در دماهای ۲۷، ۳۷ و ۴۷ درجه سانتی‌گراد و غلظت ۰/۱ مولار سدیم کلرید



شکل ۵. تغییرات تعداد پیوند هیدروژنی پروتئین - پروتئین پرپون در دماهای ۲۷، ۳۷ و ۴۷ درجه سانتی‌گراد و غلظت ۰/۱ مولار سدیم کلرید

می دهد که کاهش شعاع چرخشی پروتئین پریون تا قبل از زمان ۴۰۰۰ پیکوثانیه در دو دمای ۲۷ و ۳۷ درجه سانتی گراد به طور تقریبی برابر، اما میزان این تغییرات در دمای ۴۷ درجه سانتی گراد بیشتر است. پس از گذشت این زمان پریون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد بیشترین شعاع چرخشی را دارد و با افزایش دما از حد طبیعی بدن، کاهش شعاع چرخشی سریع تر صورت می گیرد.



شکل ۶. تغییرات شعاع چرخشی دومین N-ترمینال پروتئین پریون در دماهای ۲۷، ۳۷ و ۴۷ درجه سانتی گراد و غلظت ۰/۱ مولار سدیم کلرید

مولار سدیم کلرید در دماهای مختلف را نشان می دهد. بر اساس این شکل تا زمان ۴۰۰۰ پیکوثانیه با افزایش دما فاصله بارهای منفی افزایش می یابد؛ به طوری که این فاصله در دمای ۴۷ درجه سانتی گراد بیشترین و در دمای ۲۷ درجه سانتی گراد کمترین مقدار را دارد. پس از گذشت ۴۰۰۰ پیکوثانیه از آغاز شبیه سازی متوسط فاصله بارهای منفی- منفی پروتئین پریون برای دمای ۴۷ درجه سانتی گراد بیشترین و برای دمای ۳۷ درجه سانتی گراد کمترین مقدار را نشان می دهد. از این مشاهده می توان چنین حدس زد که ساختار پروتئین پریون در طول زمان شبیه سازی پایدار نیست و در حضور نمک ۰/۱ مولار با تغییر دما دچار تغییر می شود.

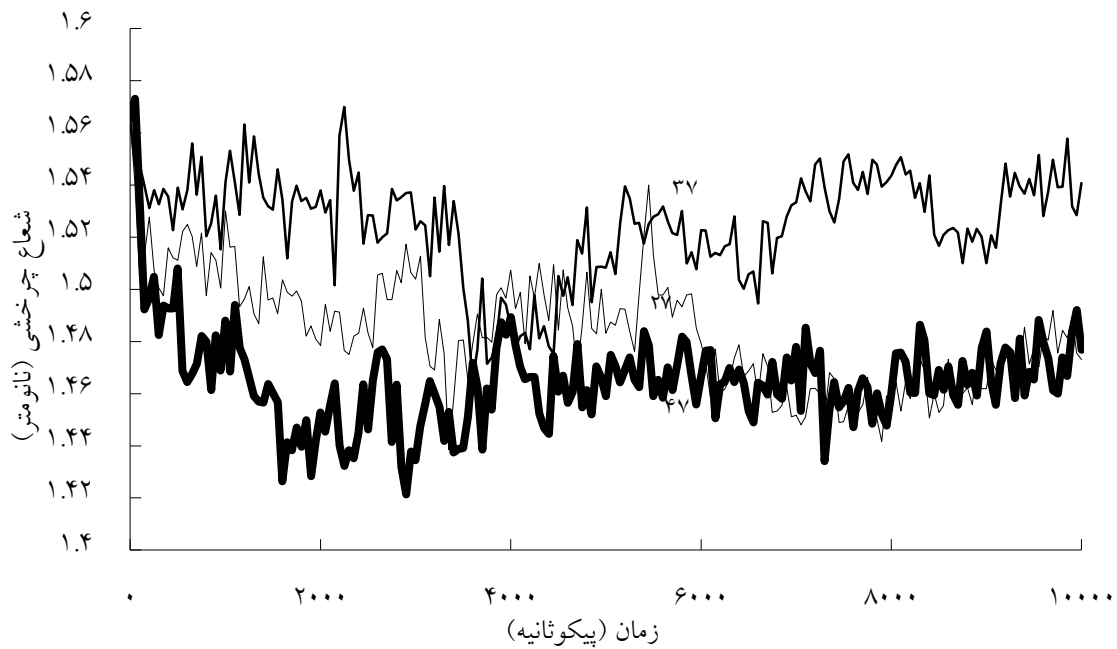
شعاع چرخشی (Rg) حاصل شده توسط برنامه g-gyrate مقیاسی از اندازه پروتئین است. شعاع چرخشی به صورت میانگین مربع فاصله آنها از مرکز ثقل مولکول تعریف می شود:

$$Rg(t) = \text{SUM}_{i=1..N} (\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_{\text{com}})^2$$

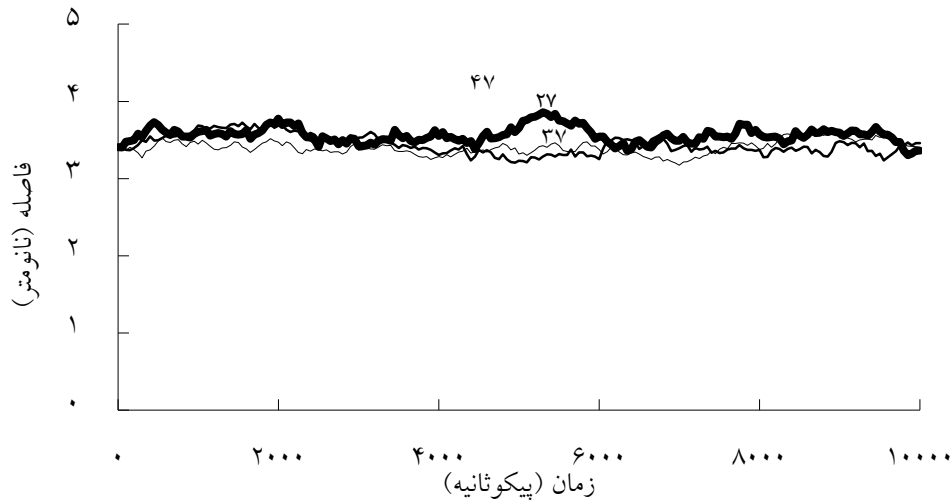
شکل ۶ شعاع چرخشی دومین N-ترمینال پروتئین پریون در سه دمای ۲۷، ۳۷ و ۴۷ درجه سانتی گراد و در حضور سدیم کلرید با غلظت ۰/۱ مولار را نشان می دهد. بررسی داده های به دست آمده در تحقیق حاضر نشان

شکل ۷ شعاع چرخشی دومین C-ترمینال پروتئین پریون در سه دمای ۲۷، ۳۷ و ۴۷ درجه سانتی گراد را در حضور سدیم کلرید با غلظت ۰/۱ مولار نشان می دهد. شعاع چرخشی دومین C-ترمینال پروتئین پریون در حضور سدیم کلرید ۰/۱ مولار در دمای طبیعی بدن (۳۷ درجه سانتی گراد) بیشتر است، اما کاهش شعاع چرخشی در دمای بالاتر (۴۷ درجه سانتی گراد) و یا پایین تر از دمای طبیعی بدن (۲۷ درجه سانتی گراد) با شدت بیشتری صورت می گیرد.

تحلیل پل های نمکی با فرمان g_saltbr صورت می گیرد. این تحلیل نشان خواهد داد که آیا پل های نمکی طی شبیه سازی تشکیل می شوند یا می شکنند؟ شکل ۸ متوسط فاصله بارهای منفی- منفی پروتئین پریون در غلظت ۰/۱



شکل ۷. تغییرات شعاع چرخشی دومین C- ترمینال پروتئین پریون در دماهای ۲۷، ۳۷ و ۴۷ درجه سانتی‌گراد و غلظت ۰/۱ مولار سدیم کلرید



شکل ۸. فاصله بارهای منفی- منفی پروتئین پریون در دماهای ۲۷، ۳۷ و ۴۷ درجه سانتی‌گراد و غلظت ۰/۱ مولار سدیم کلرید

بحث و نتیجه‌گیری

تغییرات ساختاری و بی‌ثباتی این بخش از پروتئین می‌شود. تغییرات RMSD دومین C- ترمینال پریون (شکل ۳) در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد کمترین مقدار را دارد و می‌تواند بیانگر این مسأله باشد که تغییرات ساختمانی این بخش از پروتئین در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد نسبت به دماهای

از شکل RMSD چنین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که در حضور سدیم کلرید با غلظت ۰/۱ مولار دومین N- ترمینال پریون در دمای طبیعی بدن (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد) کمترین تغییرات را دارد و کاهش یا افزایش دما سبب

سانتی گراد در حدود ۵۹ درصد متراکم می‌شود؛ در حالی که در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد این بخش از پروتئین ۳۸ درصد فشرده خواهد شد. به عبارت دیگر، با تغییر دمای بدن از مقدار طبیعی خود (۳۷ درجه سانتی گراد) شعاع چرخشی بخش N- ترمینال پرویون با شدت بیشتری کاهش یافته و این بخش از پروتئین دچار تغییر و ناپایداری بیشتری می‌گردد.

از طرف دیگر شعاع چرخشی دومین C- ترمینال پرویون (شکل ۷) در حضور نمک ۰/۱ مولار با تغییر دما از حالت طبیعی کاهش پیدا می‌کند؛ به طوری که شعاع چرخشی در دمای طبیعی بدن (۳۷ درجه سانتی گراد) بیشترین مقدار را دارد. محاسبات نظری نشان داده‌اند شعاع چرخشی دومین C- ترمینال پروتئین پرویون در دمای شبیه‌سازی ۲۷ درجه سانتی گراد، ۹۴ درصد و در دمای ۴۷ درجه سانتی گراد در حدود ۹۳ درصد متراکم می‌شود؛ در حالی که در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد این بخش از پروتئین تنها ۴/۵ درصد فشرده خواهد شد، یعنی با تغییر دما مقدار طبیعی (چه افزایش و چه کاهش آن) ساختار پروتئین پرویون دچار تغییر می‌شود. به عبارت دیگر با تغییر دمای بدن از مقدار طبیعی خود (۳۷ درجه سانتی گراد) شعاع چرخشی بخش C- ترمینال پرویون با شدت بیشتری کاهش یافته و این بخش از پروتئین بیشتر دچار تغییر و ناپایداری می‌شود.

شکل‌های حاصل از تحلیل پل‌های نمکی نشان می‌دهد که در حضور سدیم کلرید با غلظت ۰/۱ مولار با افزایش یا کاهش دما از ۳۷ درجه سانتی گراد فاصله بین اسیدهای آمینه باردار افزایش پیدا می‌کند. به عبارت دیگر با تغییر دما، حجم پروتئین افزایش می‌یابد و از آن جا که هر عاملی که سبب افزایش حجم مولکول شود موجب ناپایداری آن می‌گردد، می‌توان نتیجه گرفت افزایش یا کاهش دما یکی از دلایلی است که موجب تغییر ساختار و عملکرد پروتئین پرویون می‌شود و این مطلب را شکل‌های مربوط به RMSD، شعاع چرخشی و پیوندهای هیدروژنی نیز نشان داده‌اند.

بالتر از آن کمتر است. پس به نظر می‌رسد دومین C- ترمینال پرویون در حضور نمک ۰/۱ مولار در دمای ۲۷ درجه سانتی گراد به نسبت پایدار است و افزایش دما این بخش را ناپایدار می‌کند.

از مقایسه شکل ۲ و ۳ می‌توان نتیجه گرفت که تغییرات ساختاری بخش N- ترمینال پروتئین پرویون از C- ترمینال بیشتر است؛ چرا که در این شکل‌ها مشخص است تغییرات RMSD بخش N- ترمینال پروتئین در حدود ۰/۵ آنگستروم، اما این تغییرات برای بخش C- ترمینال پرویون در حدود ۰/۱ آنگستروم است.

بررسی تغییرات پیوندهای هیدروژنی نشان می‌دهد که با تغییر دما از ۳۷ درجه سانتی گراد به دماهای بالاتر یا پایین‌تر از آن تعدادی از پیوندهای هیدروژنی شکسته می‌شوند؛ به طوری که بیشترین پیوندهای هیدروژنی پروتئین - حلال پرویون در دمای طبیعی بدن وجود دارد (شکل ۴). در حالی که طبق شکل ۵ تعداد پیوندهای هیدروژنی پروتئین - پروتئین در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد از دو دمای دیگر کمتر است. از این دو شکل می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که در دمای طبیعی بدن پروتئین باز می‌شود؛ چرا که در این دما نسبت به دماهای بالاتر یا پایین‌تر تعداد پیوندهای هیدروژنی پروتئین - حلال افزایش و تعداد پیوندهای هیدروژنی پروتئین - پروتئین کاهش یافته است.

شعاع چرخشی پروتئین مقیاسی از اندازه پروتئین است. شکل شعاع چرخشی پرویون (شکل ۶) نشان می‌دهد که تغییرات دمایی سبب تغییر شعاع چرخشی دومین N- ترمینال پرویون می‌شود؛ به طوری که بیشترین شعاع چرخشی مربوط به دمای ۳۷ درجه سانتی گراد است و با افزایش یا کاهش دما شعاع چرخشی این بخش از پروتئین کاهش می‌یابد. محاسبات نظری نشان داده‌اند شعاع چرخشی دومین N- ترمینال پروتئین پرویون در دمای شبیه‌سازی ۲۷ درجه سانتی گراد، ۹۴ درصد و در دمای ۴۷ درجه

References

1. Sakaguchi S. Molecular biology of prion protein and its first homologous protein. *J Med Invest* 2007; 54(3-4): 211-23.
2. Okimoto N, Yamanaka K, Suenaga A, Hirano Y, Futatsugi N, Narumi, et al. Molecular Dynamics Simulations of Prion Proteins - Effect of Ala117? Val mutation-. *Chem-Bio Informatics Journal* 2003; 3(1): 1-11.
3. Prusiner SB. Molecular biology of prion diseases. *Science* 1991; 252(5012): 1515-22.
4. Trevitt CR, Singh PN. Variant Creutzfeldt-Jakob disease: pathology, epidemiology, and public health implications. *Am J Clin Nutr* 2003; 78(3 Suppl): 651S-6S.
5. Ironside JW. Variant Creutzfeldt-Jakob disease: risk of transmission by blood transfusion and blood therapies. *Haemophilia* 2006; 12(Suppl 1): 8-15.
6. Will RG. Acquired prion disease: iatrogenic CJD, variant CJD, kuru. *Br Med Bull* 2003; 66: 255-65.
7. Wadsworth JD, Hill AF, Beck JA, Collinge J. Molecular and clinical classification of human prion disease. *Br Med Bull* 2003; 66: 241-54.
8. Sekijima M, Motono C, Yamasaki S, Kaneko K, Akiyama Y. Molecular dynamics simulation of dimeric and monomeric forms of human prion protein: insight into dynamics and properties. *Biophys J* 2003; 85(2): 1176-85.
9. Van Der Spoel D, Lindahl E, Hess B, Groenhof G, Mark AE, Berendsen HJ. GROMACS: fast, flexible, and free. *J Comput Chem* 2005; 26(16): 1701-18.
10. Humphrey W, Dalke A, Schulten K. VMD: visual molecular dynamics. *J Mol Graph* 1996; 14(1): 33-8.

A Study on The Effect of Temperature on Human Prion Protein Structure through Molecular Dynamic Simulation

Fatemeh Khajavi, B.Sc.^{1*}, Mohamad Reza Dayer, Ph.D.²

1- M.Sc. Student, Department of Physical Chemistry, School of Basic Sciences, Islamic Azad University, Science and Research Branch Khuzestan, Ahvaz, Iran

2- Assistant Professor, Department of Biology, School of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

* Corresponding author; e-mail: fkha596@yahoo.com

(Received: 12 Dec. 2013 Accepted: 11 June 2014)

Abstract

Background & Aims: The normal form of the prion protein is called PrP^C and its infectious form is called PrP^{Sc}. This protein functions like a crystallized core for the transformation of PrP^C into an abnormal PrP^{Sc}. The aim of the present study was to investigate the effect of temperature on human prion protein structure through molecular dynamic simulation.

Methods: In this research, the GROMACS software was used in Linux operating system for simulation. After performing molecular dynamic simulation, the parameters were extracted from the trajectory and data analysis was performed. The results were entered into an Excel spreadsheet and figures and tables were designed in this software.

Results: In this study, the effect of temperature and density of sodium chloride on human prion protein stability was studied by molecular dynamics simulation during 10 nanoseconds. The results of this study show that, with 0.1 molar sodium chloride (natural density in tissues), a change in the temperature of environment from 37 °C (natural temperature of the body) to 27 °C or 47 °C leads to structural changes. This can be studied using root mean squared deviation (RMSD) of protein root and structure, radius of gyration of hydrophobic accessible surface, and distances between ionic groups of protein.

Conclusion: The results of this study show that in 0.1 molar sodium chloride and 37 °C, protein regains its natural structure and an increase or decrease in temperature causes protein to change to an abnormal structure. This can be the cause of the abnormal structure of this protein observed in some illness like mad cow diseases. It is noteworthy that an increase in temperature is more effective in causing this anomaly than a decrease.

Keywords: Prion protein, Molecular dynamic, GROMACS, RMSD

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2015; 22(2): 161-171