

تأثیر دما بر ساختار فاکتور رشد شبه انسولینی (IGF-1) و مطالعه‌ای مبتنی بر شبیه‌سازی با روش‌های دینامیک مولکولی و محاسبات کامپیوتری

ریحانه صباغ زاده

دکترای بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران

نشانی نویسنده مسئول: سبزوار، بالاتر از شهرک توحید، دانشگاه حکیم سبزواری، گروه زیست‌شناسی، ریحانه صباغ زاده

E-mail: reihanehsabb@sttu.ac.ir

وصول: ۹۱/۶/۲۵، اصلاح: ۹۱/۹/۱۹، پذیرش: ۹۱/۱۱/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: فاکتور رشد شبه‌انسولینی به‌طور طبیعی در سیستم عصبی مرکزی (CNS) موجود است و نقش مهمی در تکثیر و تمایز سلولی در طی رشد و بلوغ مغز دارد. این فاکتورها به‌همراه پروتئین‌های پیوند به آن‌ها و گیرنده‌هایشان در نواحی آسیب دیده مغز بیان می‌شوند که نقش سیستم IGF ها را در آسیب مغزی نشان می‌دهد.

شبیه‌سازی مولکولی یک روش محاسباتی مستقیم برای مطالعه تغییرات ساختمانی طیف وسیعی از مسایل فیزیکی و بیولوژیکی می‌باشد. از نظر محاسباتی، میدان‌های نیروی تجربی اشکال زیادی در شبیه‌سازی تا خوردن فاکتور رشد شبه‌انسولینی دارند.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه درجه حرارت انتقال برای IGF-1 مدل شد. سیستم به تعادل رسید و در مدت ۱۰۰ پیکوثانیه برای تحلیل با روش مولکولار دینامیک مطالعه شد.

یافته‌ها: بررسی تغییرات انرژی پتانسیل در سه میدان نیرو مشخص نمود، میدان نیروی AMBER از میدان نیروی MM+ و OPLS بهتر می‌باشد و نیز شبیه‌سازی MD حداقل در این مدل از روش‌های MC و LD اثرپذیری بیشتری دارد.

نتیجه‌گیری: درجه حرارت‌های پایین باعث پایداری ساختار می‌شود، در صورتی که درجه حرارت‌های بالا حالت عکس دارد.

واژه‌های کلیدی: IGF-1, AMBER, MM+, OPLS, MC.

مقدمه

پدیده‌های شیمیایی و زیستی را از بیومولکول‌ها درک نمود.

برای انجام محاسبات مربوط به روش مکانیک کوانتومی، مکانیک مولکولی مرحله‌ی اصلی و قابل اهمیت آن است که سیستم مورد مطالعه را به روش صحیحی به نواحی مکانیک کوانتومی و کلاسیک تقسیم نمایم

در سال‌های اخیر روش‌های مکانیک مولکولی، مکانیک کوانتومی و شبیه‌سازی‌های کامپیوتری با روندی پرشتاب اهمیت خود را نشان داده و جایگاه ویژه‌ی خود را در علوم تجربی یافته‌اند. این امر تا آن‌جا پیش رفته است که امروزه به کمک این روش‌ها می‌توان بسیاری از

به‌طوری‌که برهم‌کنش‌های بین دو سیستم، که به‌دلیل وجود پیوند شیمیایی بین دو منطقه اهمیت دارد نیز در نظر گرفته شود. به‌این‌ترتیب ناحیه‌ی مرزی اهمیت خاصی دارد (۳).

فاکتور رشد شبه‌انسولینی (IGF-I) که اساساً سوماتومدین C نامیده می‌شود، فاکتور رشدی است که از نظر ساختمانی شبیه انسولین بوده، در پاسخ به هورمون رشد مترشح‌ه از هیپوفیز قدامی، توسط کبد ساخته می‌شود. در IGF-I زنجیره‌ی پلی‌پپتیدی به ۴ دومین تبدیل می‌شود که به‌ترتیب از پایانه‌ی N به C عبارتند از: A, B و D (۲). هلیکس ۱ در IGF-I شامل Gly 8- Cys 18 می‌باشد که در دومین B قرار دارند، در صورتی‌که هلیکس ۲ یعنی Ile 43- Cys 47 از IGF-I در دومین A قرار دارند. سه پیوند دی‌سولفید، لیگاندها را در حالت سه‌بعدی نگه می‌دارد. این پیوندهای دی‌سولفید بین سسیستین‌های ۴۷ و ۵۲، ۱۸ و ۶۱، ۶ و ۴۸ در IGF-I قرار دارند (شکل ۱). دومین‌های C و D در IGF در محلول بسیار انعطاف‌پذیرند، که این موضوع با رزونانس مغناطیسی هسته بررسی شده است (۲).

سیستم IGF شامل لیگاندها (انسولین، IGF-I و IGF-II)؛ تعدادی رسپتور سطح سلولی و ۶ پروتئین متصل به IGF (IGFBPs) می‌باشد (جدول ۱). این شش پروتئین پیوند با فاکتورهای رشد شبه‌انسولینی، در مایعات و بافت‌های بدن پیدا شده است. هر IGFBP شامل یک نیمه‌ی GCGCCXXC در پایانه‌ی -NH₂ و یک توالی CWCVC در پایانه‌ی -COOH است. این توالی‌های مشابه، ساختمان چهارم مشابهی را ارائه می‌دهند که دومین اتصال به IGF است (۵).

حالت‌های تغذیه‌ای، یک تعیین‌کننده‌ی مهم IGF-I سرم است. در طی روزه‌داری و سپس غذا خوردن، تغییر در سطح IGF-I مرتبط با تغییر در بالانس نیتروژن است. فقدان کربوهیدرات و آمینواسید باعث کاهش سطح IGF-I پلاسما می‌شود (۶).

کاهش هورمون رشد در اثر استرس بر میزان غلظت IGF-I پلاسما اثر دارد. کورتیزول IGF-I را رقیق می‌کند. چندین سیتوکین مثل ایترلوکین - ۱ و فاکتور نکروز تومور - آلفا، سنتز IGF-I تحریک شده با هورمون رشد و همچنین سطح mRNA گیرنده‌ی هورمون رشد را در سلول‌های کبدی مهار می‌کند (۶).

خواص حلال‌ها به‌وسیله‌ی ماهیت شیمیایی و فیزیکی آن‌ها مشخص می‌شود. خواص شیمیایی مولکول‌های حلال، به ساختمان مولکولی حلال بستگی دارد. مهم‌ترین خواص فیزیکی که در ماهیت کلی حلال‌ها اثر می‌گذارند عبارتند از: نقطه‌ی ذوب، نقطه‌ی جوش، فشار بخار، ضریب شکست، هدایت ویژه‌ی حرارت، تبخیر، ویسکوزیته، ممان دوقطبی و ثابت دی‌الکتریک (۷).

مولکول‌های دارای هر دو گروه آب‌دوست و آب‌گریز آمفیپاتیک نامیده می‌شوند که دنباله‌ی قطبی در حلال‌های آبی و دنباله‌ی هیدروکربنی در حلال‌های آلی حل می‌شوند. قسمت‌های مختلف یک مولکول آمفیپاتیک در آب به‌طور مجزا قرار می‌گیرد. سر آب‌دوست با آب اندرکنش می‌دهد در صورتی‌که دنباله‌ی آب‌گریز با خود اندرکنش داده و یک محیط آب‌گریز شبیه قطره‌ی روغن به‌وجود می‌آورد که شکل ساختمانی آن به نوع مولکول و خواص فیزیکی سیستم بستگی دارد. پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک آمفیپاتیک هستند. پروتئین‌ها دارای اسیدهای آمینه قطبی و غیرقطبی می‌باشند، در صورتی‌که اسیدهای نوکلئیک ترکیبی از بازهای آب‌گریز و فسفات‌های با بار منفی هستند. به‌طورکلی باقیمانده‌های آب‌دوست با آب اندرکنش می‌دهند و باقیمانده‌های آب‌گریز از آب دور می‌شوند. این اساس اثر هیدروفوبی است که باعث تاخوردگی درشت مولکول‌ها نظیر پروتئین و اسیدهای نوکلئیک در محیط آبی می‌شود (۷).

شیمی محاسباتی به دو شاخه‌ی مکانیک کلاسیک و مکانیک کوانتومی تقسیم می‌شود. مولکول‌ها ذرات

دو تابع پایه 2S و شش تابع پایه 2P (دو $2P_x$ ، دو $2P_y$ و $2P_z$) که جمعاً نه تابع پایه می‌باشد. بنابراین کل سری‌های اساسی برای متان شامل 17 تابع پایه است.

سری پایه 3-21G برای همه‌ی اتم‌ها تا Xe و سری پایه‌ی 6-21G فقط تا C1 قابل کاربرد می‌باشد. به‌رحال سری‌های پایه‌ی دیگری مشابه با این سری‌های پایه ظرفیتی شکافته وجود دارند. به‌عنوان مثال 4-31G که در آن هر لایه ظرفیتی به لایه‌ی داخلی‌تر شامل سه تابع گوسی و لایه‌ی خارجی‌تر شامل یک تابع گوسی شکافته شده است و لایه‌ی مرکزی شامل چهار تابع گوسی می‌باشد. این سری پایه برای اتم‌های H تا Ne قابل کاربرد می‌باشد.

ساختمان پروتئین‌ها از بانک اطلاعات پروتئین Protein Data Bank (PDB) تهیه شد. از این طریق می‌توان از خصوصیات پیوندهای هیدروژنی، هیدروفوب، الکترواستاتیک و فضایی پروتئین اطلاع پیدا کرد.

در خلا، سیستم با استفاده از روش‌های مونت کارلو، مولکولار دینامیک و دینامیک لانگوین شبیه‌سازی شد. زمان 100 ps در نظر گرفته شد. دما در طول مدت 300 درجه‌ی کلون ثابت قرار داده شد. آب به‌عنوان حلال استفاده شد. در آب، شبیه‌سازی‌ها در یک جعبه $(3 \times 3 \times 3 \text{ nm})$ انجام شد.

کمپلکس با اضافه کردن مولکول‌های آب، اضافه شد. ابتدا با کمک الگوریتم گرادینان، انرژی سیستم به حداقل رسانده شد، سپس شبیه‌سازی‌های MC، MD و LD ملایم در 100 پیکوثانیه به جریان افتاد. چندین شبیه‌سازی انجام شد.

شبیه‌سازی‌های MC، MD و LD در پروتئین IGF-I و با برنامه‌ی HyperChem 7 انجام شد. بهینه‌سازی‌ها و برهم‌کنش‌های انرژی‌ها، پیوندها، زاویه‌ها، کششی - خمشی، الکترواستاتیک و واندروالس در فاز گازی و حلال جداگانه انجام شد.

در محلول، واکنش‌های واندروالس داخل مولکولی

بسیار کوچکی هستند که قوانین مکانیک کوانتومی برای توصیف آن‌ها به‌کار می‌رود ولی در شرایط خاص، مفیدتر آن است که به‌منظور تسهیل در محاسبات از مکانیک کلاسیک استفاده شود. این رویکرد را مکانیک مولکولی یا روش میدان نیرو می‌نامند. داروسازان از آن برای طراحی خواص و عوارض جانبی آن استفاده می‌کنند، هر چند که به‌دلیل بزرگی ابعاد مولکول‌های مهم زیست‌شناسی، محاسبات مکانیک کوانتومی بر روی آن‌ها فوق‌العاده مشکل است ولی با این وجود، دانشمندان شیمی زیستی در زمینه‌ی مطالعه تشکیل مولکول‌های زیست‌شناختی ترکیبات آنزیم‌دار و حلالیت مولکول‌های زیست‌شناختی شروع به استفاده از مکانیک کوانتومی کرده‌اند و مقالاتی در این زمینه‌ها مثل برهم‌کنش دارو - گیرنده، آنزیم ماده و ساختارهای ماکرومولکول‌ها منتشر شده است (8).

مواد و روش‌ها

در نرم افزارهای مکانیک مولکولی، اربیتال‌های مولکولی، ترکیب خطی از اربیتال‌های اتمی هستند که امروزه به‌طور صحیح‌تر، توابع پایه نامیده می‌شوند. توابع پایه را جمعاً سری پایه نیز می‌نامند.

متداول‌ترین سری‌های پایه‌ی شکافته که توسط گروه پاپل مطرح شده عبارتند از:

3-21G: توابع ظرفیتی به یک تابع پایه با دو GTO و یکی با یک GTO شکافته می‌شوند. لایه‌ی مرکزی متشکل از سه GTO اصلی منقبض شده درون یک تابع پایه، همانند STO-36 می‌باشد.

6-31G: لایه مرکزی متشکل از شش GTO که شکافته نشده‌اند و اربیتال‌های ظرفیتی آن شامل یک اربیتال متشکل از سه GTO اصلی و یک GTO منفرد می‌باشد. این سری‌های پایه برای هیدروژن شامل دو تابع پایه 1S می‌باشد. مثلاً در سری پایه 3-21G هیدروژن، یک تابع پایه متشکل از دو GTO و تابع پایه‌ی دیگر متشکل از یک GTO می‌باشد. برای کربن شامل یک تابع پایه 1S منفرد و

در یک مولکول پروتئین، با واکنش‌های واندروالس بین مولکولی با مولکول‌های حلال به تعادل می‌رسد. بنابراین، وقتی موقعیت مولکول‌های حلال به روشنی مشخص نیست، واکنش‌های واندروالسی داخل مولکولی باید طبق آن، شکل بگیرد. پس واکنش‌های واندروالسی یک حالت یکنواختی اسکلتی ایجاد می‌کند و می‌تواند به‌عنوان مرجعی برای محاسبات انرژی استفاده شود.

یافته‌ها

مکانیک مولکولی مولکول‌ها را به‌صورت اتم‌هایی توصیف می‌کند که دارای خمیدگی‌ها (کشش‌های هارمونیک و جنبش‌های زاویه‌ای) هستند و هر اتم دارای حجم محدود و مرزهای نسبتاً معلومی، همراه انرژی‌های پیچشی سینوسی می‌باشد. میدان نیرو برای یک پروتئین معمولی شامل مجموعه‌ای از اجزای مختلف می‌باشد که عبارتند از: کشش و خمش پیوند، پتانسیل‌های پیچشی و برهم‌کنش‌های غیرپیوندی.

در این کار، ما روش‌های مکانیک مولکولی برای مطالعه‌ی IGF-I را استفاده کردیم و اثرات محیطی را مطالعه نمودیم. نتایج به‌صورت جدول و نمودارهای مختلف برای ساختمان پروتئین‌ها در محیط‌های خاص بیان شده است.

شبیه‌سازی مولکول‌های دینامیک در دو سیستم، گاز و حلال، روی مولکول IGF-I انجام شد. انرژی پتانسیل نشان داده شده با میدان‌های نیرو در MD، مهم‌ترین قسمت شبیه‌سازی است. چون آن برهم‌کنش بین اتم‌ها را به درستی نشان می‌دهد، که باید تشکیل یک تابع ریاضی

ساده را بدهند که بتواند به‌سرعت محاسبه شود. شبیه‌سازی‌های مولکول‌های دینامیک، به‌طور گسترده استفاده می‌شود تا کانفورماسیون فعال زیستی واقعی را به دست آورد، به‌ویژه در زمانی که ساختمان کریستال کمپلکس پروتئین - لیگاند در دسترس نباشد.

اثر خصوصیات ترمودینامیکی چندین حالت پروتئین، با شبیه‌سازی‌ها در دامنه‌ی زیادی از درجه حرارت‌ها بررسی شد. ما درجه‌ی حرارت انتقال را برای مولکول IGF-I محاسبه کردیم. درجه حرارت‌های کم، پایداری ساختمان کمپلکس پروتئین را موجب می‌شود، در صورتی که درجه حرارت‌های بالا مخالف آن است.

نتیجه‌گیری

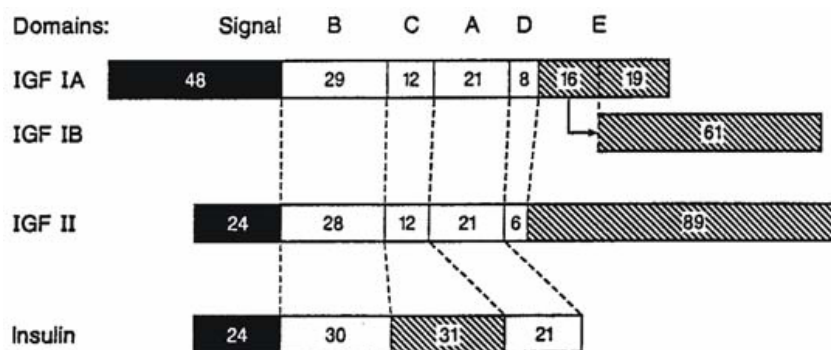
از آنجا که دینامیک مولکولی در تعیین مسیر حرکت ذرات از روش جبری استفاده می‌کند، از مزیت‌های محاسباتی خاصی برخوردار می‌باشد. حضور مشخص متغیر زمان در این روش اجازه می‌دهد که زمان مورد نیاز برای انجام هر شبیه‌سازی تخمین زده شود.

نتایج نشان می‌دهد که حل شدن IGF-I عامل مهم برهم‌کنش‌های انرژی پتانسیل است و به‌روشنی نقش برهم‌کنش‌های حلال - جزء حل شده را نشان می‌دهد. قسمت مهم این اختلاف به‌علت برهم‌کنش IGF-I با مولکول‌های حلال است که با شبیه‌سازی‌های متعدد و میدان‌های نیروی مختلف منطبق است. شبیه‌سازی ما نشان داد که تابع انرژی با اثر حلال تغییر می‌کند که دامنه‌ی مشخص دارد و می‌تواند در درجه حرارت 300 k ثابت شود.

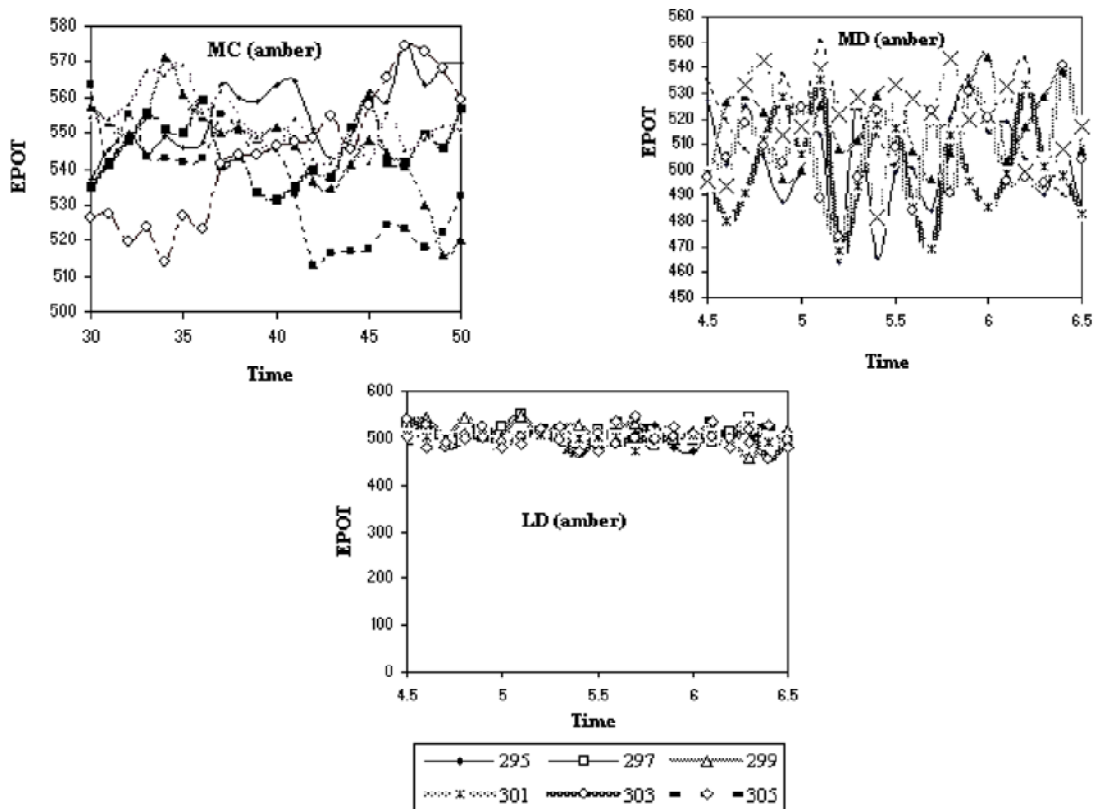
با توجه به اشکال بیان شده، نمودارهای شکل ۲،

جدول ۱: اجزای سیستم سیگنال IGF [۴].

۱- لیگاندها	۲- گیرنده‌ها	۳- پروتئین‌های پیوندی
انسولین	گیرنده‌ی انسولین	IGFBP-1
IGF-I	IGF-I-R	IGFBP-2
IGF-I	گیرنده‌ی IGF-II/ M-6-P	IGFBP-3
	هیبرید (گیرنده‌ی انسولین / IGF-I)	IGFBP-4
		IGFBP-5
		IGFBP-6



شکل ۱: ساختمان پروپرو دمین سوماتومدین‌ها و انسولین



شکل ۲: انرژی پتانسیل (کیلوکالری بر مول) در مقابل زمان (پیکوثانیه) در ماه‌های ۲۹۵، ۲۹۷، ۲۹۹، ۳۰۱، ۳۰۳ و ۳۰۵ درجه کلونین برای ساختمان پایدار شده IGF-1. در طی شبیه‌سازی مونت کارلو، مولکولار دینامیک و دینامیک لانگ‌وین، در میدان نیروی AMBER.

تشکر و قدردانی

نویسنده از سرکار خانم دکتر ملا امین و آقای دکتر منجمی که در این کار حامی و یارگر بودند کمال تشکر را دارد.

شبیه‌سازی MD، حداقل در این مدل از روش‌های MC و LD اثرپذیری بیشتری دارد و میدان نیروی AMBER تفاوت در انرژی را برجسته‌تر آشکار می‌سازد.

References

- Richard R. Young, Jennifer S. Bielak, Sarah L. Horvitz. Overview of the legal framework applicable to the marker method for the detection of human growth hormone. *Growth Hormone & IGF Research*. 2009; 19: 366-8.

2. Denley A , Cosgrove LJ , Booker GW, Wallace JC , Forbes BE. Molecular interactions of the IGF system .Cytokine & Growth Factor Reviews. 2005;16(4-5):421-39.
3. Warshel, A, Levitt M. Theoretical Studies of Enzymic Reactions: Dielectric, Electrostatic and Steric Stabilization of the Carbonium Ion in the Reaction of Lysozyme. J Mol Biol .1976: 103: 227-49.
4. Luther F, Morris DO, Hart C. Orthodontic Preparation for Orthognathic Surgery: how long does it take and why? A retrospective study. British J of Oral and Maxillofacial Surgery. 2003;41:401-6.
5. Rosenzweig SA. What is new in the IGF-binding proteins? Growth Hormone IGF Research. 2004; 14:329-36.
6. Phillips LS, Unterman TG. Somatomedin activity in disorders of nutrition and metabolism. Clin Endocrinol Metab. 1984; 13(1):145-89.
7. Jarczewskia A, Colin D. Hubbard. A review of proton transfer reactions between various carbon-acids and amine bases in aprotic solvents. Journal of Molecular Structure. 2003; 649: 287-307.
8. Sadlej J. Methos of Quantum Chemistry. Springer-Verlag. Lecture notes in chemistry .1994;64:203-30.
9. Parr RG, Ynag W, Density Functional-Theory of Atoms and Molecules, Oxford University Press, New York. 1789.
10. Kryachko, E. S., and Ludena, E. V., "Density Functional- Theory of Many Electron Systems", Kluwer, Dordrech, (1981).
11. Ziegler T. "The 1994 Alcan Award lecture: Density Functional Theory as a Practical Tool in Studies of Organometallic Energetics and Kinetics. Beating the Heavy metal Blues with DFT. Can J Chem. 1995; 73 743. Available from: <http://www.tc.Cornell.Edu/Edu/Quantum/qc/qc.html>.
12. Boatz J, Gordon MS, Voth G, Hammes-Schiffer SH, Pachter R. New materials design. Lecture notes in computer science. 2001;2073:1108-16.
13. Biology of IGF-1: its intraction with insulin in health and malignant states Gregorg Bock, Jamic Goode: Wiley.: 2004.
14. Gund P, Barry DC, Blaney JM, Cohen NC, Guidelines for Publications in Molecular Modeling Related to Medicinal Chemistry. J Med Chem. 1988; 31:2230-34.
15. Becker HGO. Jan Fleming , Frontier Orbitals and Organic Chemical Reactions. John Wiley & Sons: New York: 1976.
16. Wu CS, Neely WC, Worley SD. A Semiempirical Theoretical Study of the Molecular Interaction of Cocaine With the Biological Substrate Glycine. J Comput Chem. 1991; 12(7):826-67.
17. Madura JD, Jorgensen WL. Ab Initio and Monte Carlo Calculations for a Nucleophilic reaction in the Gas Phase and in Aqueous Solution. J Am Chem. Soc. 1986; 108(10):2517-27.
18. Szabo A, Ostlund N. Modern Quantum Chemistry. Macmillan. New York: Dover Publications; 1985.
19. Banerjee A, Adams N, Simons J, Shepard R. Search for stationary points on surfaces. J Phys Chem. 198

The effect of temperature on the structure of insulin-like growth factor (IGF-1) and a similar study based on method of molecular dynamics and computational

Sabbagh Zadeh R., Ph.D

Ph.D. in Biochemistry, Department of Biological, Wise Sabzevari University, Sabzevar, Iran

Received:16/09/2011, Revised:10/12/2011, Accepted:10/02/2012

Correspondence author:

Reihaneh Sabbaghzadeh
Biochemistry Ph.D
Hakim Sabzevari University
Faculty of Science
Department of Biology

Abstract

Introduction: The insulin-like growth factor naturally exists in the Central Nervous System (CNS) and plays a significant role in cellular multiplication and differentiation during growth and maturation of the brain. These factors are expressed with their bond proteins and their receptors in the damaged areas of the brain. This indicates the role of IGFs systems in the brain damage.

Objective: Molecular simulation is a direct computational method for studying the structural changes of a wide spectrum of physical and biological issues. Computationally, experimental force fields have various forms in simulation of folding insulin-like growth factor.

Materials and Methods: In this study, the transfer temperature for IGF1 was modulated. The system was balanced and was studied and analyzed through dynamic molecular method within 500 Pico seconds.

Results: Studying the changes occurred in the potential energy of the three force fields showed that Amber force field is better than MM+ and OPLS force field and also MD simulation, at least in this model, is more effective than MC and LD methods.

Conclusion: Low temperatures make the structure more stable while high temperatures are on the contrary.

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