



بررسی مکانیزم مولکولی جلوگیری از تشکیل توده‌های بتا-آمیلوئید توسط پنتا-پپتاید به روش شبیه‌سازی داکینگ و دینامیک مولکولی

وحید خندان¹، بهار فیروزآبادی دهقان²، محمدسعید سعیدی²

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی شریف، تهران

2- استاد مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی شریف، تهران

* تهران، صندوق پستی 11365-9567، firoozabadi@sharif.edu

اطلاعات مقاله

مقاله پژوهشی کامل

دریافت: 26 مرداد 1393

پذیرش: 11 مهر 1393

ارائه در سایت: 01 آذر 1393

کلید واژگان:

بیماری آلزایمر

آمیلوئید بتا

شبیه‌سازی داکینگ

دینامیک مولکولی

چکیده

آلزایمر شایع‌ترین نوع بیماری زوال عقل در افراد بالای 65 سال است که علت اصلی و روش درمان قطعی آن تاکنون به درستی مشخص نشده است. مطالعات آسیب شناختی، تشکیل پلاک‌های فیبری و توده‌های تجمع یافته پروتئین آمیلوئید بتا در سیستم اعصاب مرکزی را به عنوان یکی از دلایل بیماری آلزایمر پیشنهاد و مهار این فرایند را به عنوان روش درمان مؤثر برای این نوع بیماری معرفی کرده‌اند. ناحیه والین 10-اسیدگلوتامیک 22 از پروتئین آمیلوئید بتا، در فرایند تجمع منومرها، تشکیل توده‌های محلول و پلاک‌های فیبری نامحلول نقش اساسی را ایفا می‌کند. از این جهت، مهار این ناحیه می‌تواند فرایند آمیلوئید شدن را متوقف و از پیشرفت آن جلوگیری کند. دارو استفاده شده در این پژوهش، پنتا-پپتاید جدا شده از پایانه کربوکسیل پروتئین آمیلوئید بتا با توالی گلیسین 33-گلیسین 37 می‌باشد و نحوه اتصال آن به ناحیه والین 10-اسیدگلوتامیک 22 از پروتئین آمیلوئید بتا 42 به روش شبیه‌سازی ترکیبی داکینگ و دینامیک مولکولی مورد بررسی قرار گرفته است. در نتیجه این شبیه‌سازی، سه محل پیوند پایدار برای اثر پنتا-پپتاید بر گیرنده مشخص شد و تحلیل‌های ساختاری بر روی این محل‌های پیوند نشان دادند که پنتا-پپتاید استفاده شده با مهار ناحیه والین 10-اسیدگلوتامیک 22، می‌تواند از تجمع و تشکیل توده‌های پروتئینی آمیلوئید بتا 42 جلوگیری کند. پژوهش حاضر توالی پنتایدی گلیسین 33-گلیسین 37 را به عنوان داروی مؤثر در درمان بیماری آلزایمر به دیگر مطالعات پیش کلینیکی در این زمینه، معرفی می‌کند.

Study of inhibition of A β 42 aggregation and oligomer forming with Docking and MD simulation

Vahid Khandan, Bahar Firoozabadi Dehghan*, Mohammad Said Saidi

Department of Mechanical Engineering, Sharif University of Technology, Tehran, Iran

* P.O.B. 11365-9567, Tehran, Iran, firoozabadi@sharif.edu

ARTICLE INFORMATION

Original Research Paper

Received 17 August 2014

Accepted 03 October 2014

Available Online 22 November 2014

Keywords:

Alzheimer's Disease (AD)

Amyloid Beta (A β)

Docking

Molecular Dynamics (MD) Simulation

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is the most common type of dementia in the elderly. The neuropathology and treatment of AD is not precisely determined yet, but according to the pathological studies, AD is associated with presence of toxic soluble oligomers and insoluble senile plaques formed by amyloidosis of Amyloid Beta (A β) in neocortical region of brain. The V₁₀HHQKLVFFAE₂₂ is a critical region of A β 42 which facilitates aggregation process. An attractive therapeutic approach to treat AD is to identify small ligands that are capable of binding to critical residues in order to inhibit or reverse A β amyloidosis process as source of neurotoxicity. In this area, therapeutic efforts designed various organic agents and most of them focused on the N-terminal sequence of A β . Here, a peptide inhibitor derived from the C-terminal of A β (G₃₃LMVG₃₇) is utilized as inhibitor and combined Docking and Molecular dynamics simulation used to find the binding sights in the critical region (V₁₀HHQKLVFFAE₂₂). The simulation identified tree stable sites for process of penta peptide binding to A β 42 as an inhibitor. This result indicate that this penta-peptide is capable to inhibit aggregation process and can be consider as an AD drug for preclinical studies.

1- مقدمه

بروز آلزایمر به شکل هشداردهنده‌ای در حال افزایش بوده و در بسیاری از کشورها در حال تبدیل شدن به یک دغدغه اجتماعی است. بر اساس آمار، در سال 2013 حدود 5/2 میلیون نفر در ایالات متحده، مبتلا به این بیماری گزارش شده‌اند که 5 میلیون نفر از آن‌ها بالای 65 سال سن دارند [2,1].

آلزایمر که با اختلالات پیش‌رونده قوای ذهنی و ناهنجاری‌های رفتاری مشخص می‌شود، شایع‌ترین نوع بیماری دمانس یا زوال عقل¹ است. میزان

1- Dementia

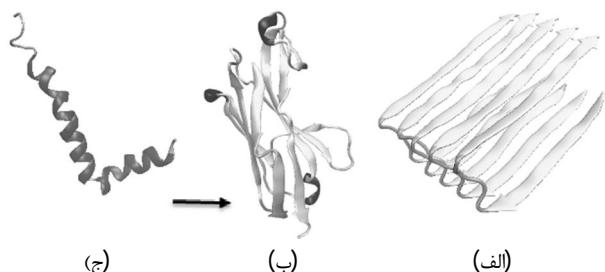
ریفامپسین¹² [17] و ملاتونین¹³ [19,18] مطابق همین ایده برای درمان آلزایمر طراحی شده‌اند. رویکرد مشابه در این روش درمان، استفاده از داروهای مهارکننده آمینواسیدی است که توالی آن‌ها مشابه با پروتئین آمیلوئیدی هدف است. به این نوع داروها، مهارکننده‌های پپتایدی گفته می‌شود. مطابق همین ایده، نخستین بار در سال 1996، با استفاده از توالی لیزین-16-فنیل‌آلانین-22 به عنوان داروی مهارکننده، از تجمع پروتئین آمیلوئید بتا جلوگیری شد [21,20]. در پژوهشی دیگر، هسته آب‌گریز لوسین-17-آلانین²¹، در نقش داروی مهارکننده پپتایدی، رشد صفحات بتا و تشکیل ساختارهای فیبری را متوقف کرد [23,22] و برای نخستین بار اصطلاح شکننده صفحات بتا¹⁴ به این مهارکننده اطلاق شد. تاکنون داروهای پپتایدی که برای درمان بیماری آلزایمر بکار برده شده‌اند، بیشتر به مهار پایانه آمین پروتئین آمیلوئید بتا متمرکز بوده و همواره نیاز به طراحی دارو پپتایدی که توانایی مهار کامل آمیلوئید بتا، از تجمع و تشکیل صفحات بتا تا نفوذ و ایجاد حفره در سطح غشا احساس شده است [24].

پژوهش‌های مربوط به شبیه‌سازی اثر دارو، جایگاه ویژه‌ای در فرایندهای نوین طراحی دارو دارند و اطلاعات بدست آمده از آن‌ها هزینه‌های مربوط به مراحل آزمایش و طراحی دارو را بسیار کاهش می‌دهد. نمونه این پژوهش‌ها، شبیه‌سازی‌های داکینگ¹⁵، دینامیک مولکولی¹⁶ و مکانیک کوانتم¹⁷ هستند که می‌توانند فضای خالی موجود بین انتخاب ساختار دارو و بررسی نحوه عملکرد آن‌را پر کنند [25-27].

گزینه دارویی که در این پژوهش برای مهار پروتئین آمیلوئید بتا⁴² معرفی می‌شود، پنتا-پپتاید گلیسین³³-گلیسین³⁷، جدا شده از پایانه کربوکسیل پروتئین آمیلوئید بتا⁴² است. در این مقاله، نحوه اثر و محل اتصال این پنتا-پپتاید به ناحیه بحرانی والین¹⁰-اسیدگلوتامیک²² از پروتئین آمیلوئید بتا⁴² به روش ترکیبی شبیه‌سازی داکینگ و دینامیک مولکولی به منظور معرفی روشی مؤثر در درمان بیماری آلزایمر مورد مطالعه قرار خواهد گرفت. استفاده از داروهای پپتایدی برای درمان انواع سرطان‌ها، بیماری دیابت و دیگر بیماری‌های عصبی نیز می‌تواند مفید واقع شوند [24].

2- ابزارها و روش‌ها

مدل سه بعدی ساختار گیرنده دارو (پروتئین آمیلوئید بتا⁴²) در سال 2002 در محلول غیرقطبی به روش کریستالوگرافی تهیه شده است [30]. مدل سه بعدی پنتا-پپتاید استفاده شده در این پژوهش نیز با توالی گلیسین³³-



شکل 1 نمودار (ج) و توده‌های تجمع یافته محلول (ب) و فیبری نامحلول (الف) پروتئین آمیلوئید بتا⁴² [28-30].

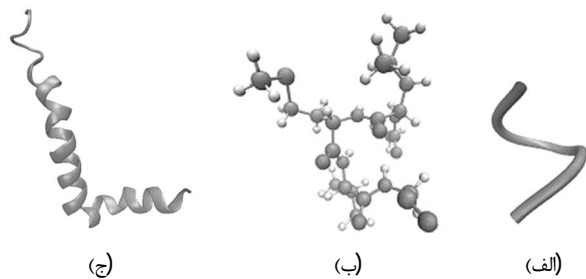
- 12- Rifampicin
13- Melatonin
14- Beta Sheet Breaker (BSB)
15- Docking
16- Molecular Dynamics Simulation
17- Quantum Mechanics (QM)

متاسفانه داروهایی که در حال حاضر برای درمان آلزایمر استفاده می‌شود، فقط به منظور درمان اختلالات شناختی و علاج ناهنجاری‌های رفتاری در این بیماری بکار می‌رود و توانایی مهار عامل اصلی بیماری را ندارند [3].

تاکنون مطالعات زیادی در این زمینه انجام شده است، بطوری که در سال 2010 حدود 9000 مقاله در مورد بیماری آلزایمر در مجله‌های مختلف به چاپ رسیده ولی کماکان علت اصلی این بیماری و روش درمان قطعی آن ناشناخته باقی مانده است. با این حال بر اساس مطالعات آسیب شناختی گسترده‌ای که بر روی مبتلایان به آلزایمر در مراحل مختلف پیشرفت این بیماری انجام شده، در بافت مغز تمامی این بیماران پلاک‌های تجمع یافته پروتئین آمیلوئید بتا¹ و پیچ‌خوردگی‌های فیبری پروتئین تاپو² مشاهده شده است [4]. نظریه آمیلوئید، یکی از نظریاتی است که در مورد بیماری آلزایمر بر اساس همین مشاهدات ارائه شده است [5]. مطابق این نظریه، آمیلوئید به دسته‌ای از پروتئین‌ها گفته می‌شود که متمایل به اتصال به یکدیگر³ هستند و با ایجاد ساختارهای توده‌ای، زمینه‌ساز بیماری‌های آمیلوئیدی⁴ متفاوتی نظیر آلزایمر می‌شوند [6].

آمیلوئید بتا، یکی از پروتئین‌هایی است که از تجزیه پروتئین پیش‌ساز آن، توسط آنزیم‌های بتا-ساکراتیز⁵ و گاما-ساکراتیز⁶ بدست می‌آید. تاکنون نقش بیولوژیکی مشخصی برای این پروتئین و بیماری خاصی مرتبط با عدم حضور آن گزارش نشده است [4]. مطابق نظریه آمیلوئید، این پروتئین با تشکیل توده‌های فیبری نامحلول⁷ و توده‌های تجمع یافته محلول⁸ که با تغییر ساختار ثانویه⁹ مارپیچ آلفا به صفحات بتا همراه است، به سلول‌های عصبی، پایانه‌های سیناپسی و دیواره عروق خونی آسیب وارد می‌کند [7]. شکل 1، ساختارهای ثانویه مارپیچ آلفا و صفحات بتا را برای این پروتئین نشان می‌دهد. توده‌های فیبری نامحلول با تنه‌شین شدن در محیط برون سلولی سیستم اعصاب مرکزی، ارتباط سیناپسی سلول‌های عصبی را قطع کرده و از تشکیل و یا انتقال پتانسیل عمل¹⁰ جلوگیری می‌کند، که در نهایت باعث مرگ سلول عصبی¹¹ می‌شود [8]. توده‌های محلول نیز علاوه بر اینکه همانند توده‌های نامحلول با حمله به پایانه‌های سیناپسی و قطع ارتباط نرون‌ها، باعث آسیب رساندن به سیستم اعصاب مرکزی می‌شوند [8]، با حمله به غشای نرون و ایجاد حفره در سطح غشا، تعادل یونی داخل و خارج سلول عصبی را برهم می‌زنند و با تأخیر در ایجاد پتانسیل عمل، از شکل‌گیری و انتقال پتانسیل عمل مناسب جلوگیری می‌کنند [9-11]. پروتئین آمیلوئید بتا در توالی‌های مختلف 39 تا 43 واحد اسید آمینه‌ای وجود دارد که مهم‌ترین آن‌ها توالی‌های 40 و 42 هستند. به دلیل مشاهده آسیب‌رسانی بیشتر توالی 42 واحدی آمیلوئید بتا، مطالعات درمانی بیشتر بر روی این توالی متمرکز شده است [12]. تاکنون نقش نواحی خاصی از آمیلوئید بتا، مانند ناحیه والین¹⁰-اسیدگلوتامیک²² و آلانین³⁰-متیونین³⁵ در تجمع منومرهای آمیلوئید بتا [14,13] و توالی گلیسین²⁵-گلیسین³⁵ در نفوذ به سطح غشای سلول عصبی [16,15] مشخص شده است. مهار این نواحی به عنوان یک روش درمانی مؤثر برای بیماری آلزایمر پیشنهاد شده است و مهارکننده‌هایی مانند

- 1- Amyloid Beta (A β)
2- Tau
3- Self-Aggregation Propensity
4- Amyloid Disease
5- β -Secretases
6- γ -Secretases
7- Insoluble Fibers
8- Soluble Oligomers
9- Secondary Structure
10- Action Potential
11- Neuronal Loss



شکل 2 نمایش مدل سه بعدی ساختار پنتا-پپتاید بر اساس ساختار ثانویه (الف) و مدل گوی و میله (ب) به همراه مدل سه بعدی ساختار گیرنده آمیلوئید بتا (ج)

پارامترها و ضرایب نیرویی¹⁰ چارم¹¹ 36¹¹ [37] انجام شده است. تمامی شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی در دسته جواب‌های ترمودینامیکی¹² فشار ثابت-دما ثابت-تعداد ثابت با گام زمانی 1 فمتوثانیه، همراه با کمیته‌سازی اولیه 2 پیکوثانیه انجام شده است. محیط شبیه‌سازی شامل تعداد 40000 اتم با در نظر گرفتن شرط مرزی پریودیک برای مکعبی به ابعاد $90 \times 65 \times 75$ آنگسترم می‌باشد. پنتا-پپتاید و آمیلوئید بتا⁴² به صورت محلول در محیط آبی با لایه‌گذاری¹³ 20 آنگسترم از طرفین قرار گرفته‌اند و یون‌های نمک سدیم کلراید نیز برای خنثی کردن محیط شبیه‌سازی اضافه شده است. محیط شبیه‌سازی در دمای بیولوژیک 310°K ، توسط ترموستات دمایی لانجورین¹⁴ با ضریب 1ps^{-1} ثابت نگه داشته شده است. فشار ثابت اتمسفر نیز توسط ترموستات فشار لانجورین با دوره نوسانی 100 فمتوثانیه و مقیاس دمایی دمینگ 50 فمتوثانیه برای سیستم در نظر گرفته شده است.

3- نتایج

در این پژوهش چنان که گفته شد، برای بررسی نحوه تأثیر پنتا-پپتاید گلیسین-33-گلیسین-37 در جلوگیری از تشکیل صفحات بتا و توده‌ای شدن منومرهای آمیلوئید بتا⁴²، ابتدا شبیه‌سازی داکینگ بر روی پنتا-پپتاید و گیرنده آمیلوئید بتا توسط سرور کلاسپرو دانشگاه بوستن انجام شده و خروجی آن که همان محل‌های احتمالی پیوند هستند، به عنوان ورودی وارد شبیه‌سازی دینامیک مولکولی شده است که شامل دو بخش کمیته‌سازی ابتدایی و شبیه‌سازی تعادلی است. حالت تعادل سیستم پس از پایان کمیته‌سازی اولیه و شروع شبیه‌سازی تعادلی، با همگرایی پارامترهای ترمودینامیکی مانند دما، فشار، انرژی غیر پیوندی و انرژی کل سیستم بررسی شده است.

شبیه‌سازی داکینگ، اثر پنتا-پپتاید گلیسین-33-گلیسین-37 را بر روی توالی والین-10-اسیدگلوتامیک-22 از پروتئین آمیلوئید بتا⁴² را چهار محل محتمل تشکیل پیوند معرفی کرده است. این محل‌های محتمل در ستون آغاز شبیه‌سازی (صفر نانوثانیه) از شکل 3 نشان داده شده و به ترتیب احتمال تشکیل پیوند، از الف تا د نامگذاری شده‌اند (مد پیوند الف محتمل‌ترین محل تشکیل). در شبیه‌سازی دینامیک مولکولی روند واکنش اتصال پنتا-پپتاید به صورت کیفی در شکل 3 نمایش داده شده است. پایداری پنتا-پپتاید در محل پیوند و قدرت پیوند تشکیل شده با نمودارهای خطای جذر میانگین مربعات بررسی می‌شود و ماهیت مدهای پیوند شناسایی شده نیز با تحلیل نوع پتانسیل نیروهای بین مولکولی تعیین می‌شود.

گلیسین-37 توسط نرم‌افزار کیمرا¹ [31] طراحی شده که کمیته کردن انرژی پتانسیل آن در همین نرم‌افزار بر پایه ضرایب نیرویی امبر² [32] انجام شده است. پس از این کمیته‌سازی³ برای یافتن ساختار تعادلی و طبیعی پنتا-پپتاید، شبیه‌سازی تعادلی⁴ به مدت 5 نانوثانیه با کمیته‌سازی ابتدایی 2 پیکوثانیه در محلول آبی خنثی شده با یون‌های نمک سدیم کلراید انجام شده است. مدل سه بعدی پنتا-پپتاید پس از رسیدن به حالت طبیعی بیولوژیک به همراه مدل سه بعدی گیرنده آن به عنوان ورودی در شبیه‌سازی داکینگ و دینامیک مولکولی مورد استفاده قرار گرفته است. در شکل 2 ساختار هندسی پنتا-پپتاید و گیرنده آمیلوئید بتا نشان داده شده است.

در این پژوهش واحدهای آمینواسیدی که شماره توالی آن‌ها یک تا پنج می‌باشند (مانند والین⁴) به ساختار پنتا-پپتاید و دیگر واحدها (مانند هیستیدین¹³) به ساختار گیرنده مربوط می‌شوند.

2-1- شبیه‌سازی داکینگ

پیش‌بینی برهم‌کنش ساختار 5های پروتئینی از نظر محاسبات شبیه‌سازی بسیار حائز اهمیت است؛ چراکه می‌تواند شبیه‌سازی بسیاری از فرایندهای بیولوژیک مانند اثر هورمون‌ها و داروهای پپتایدی بر گیرنده‌های پروتئینی و یا برهم‌کنش بین آنتی‌ژن‌ها و آنتی‌بادی‌های مختلف را ساده‌تر کرده و بر بسیاری از محدودیت‌های محاسباتی غلبه کرد. شبیه‌سازی داکینگ در ابتدا با همین هدف و انگیزه بر اساس روش‌های بهینه‌سازی⁶ و تبدیلات بر پایه شبکه⁷ شکل گرفت و با کمک الگوریتم تبدیلات سریع فوریه جایگاه ویژه‌ای پیدا کرد. در این شبیه‌سازی برهم‌کنش دو ساختار پروتئینی در شبکه‌ای شامل میلیاردها ساختار پیوندی مختلف گسسته‌سازی می‌شود و به روش‌های مختلف، انرژی پتانسیل نیروهای بین مولکولی ذرات برای هر حالت محاسبه می‌شود. در مرحله بعد، ساختارهایی که از نظر بیولوژیکی غیرطبیعی می‌باشند حذف می‌شوند و حالت‌های باقی‌مانده بر اساس توابع هدفی مانند انرژی پتانسیل غیر پیوندی و یا خطای جذر میانگین مربعات با روش‌های بهینه‌سازی رتبه‌بندی می‌شوند. این شبیه‌سازی ساختارهای که دارای بهترین رتبه هستند را به عنوان محتمل‌ترین حالت‌های تشکیل پیوند بین دو ساختار پروتئینی معرفی می‌کند [33].

شبیه‌سازی‌های داکینگ در این پژوهش توسط سرور دانشگاه بوستن⁸ [33-35] صورت گرفته است. این سرور اینترنتی توسط گروه بیوانفورماتیک دانشگاه بوستن برای انجام شبیه‌سازی داکینگ طراحی شده است. ساختارها در این سرور بصورت صلب در نظر گرفته می‌شوند و تابع هدف آن برهم‌کنش‌های آب‌گریزی، الکتروستاتیک و واندوالس را در نظر می‌گیرد. محل اتصال پنتا-پپتاید به پروتئین آمیلوئید بتا⁴² به توالی‌های آمینواسیدی والین-10-اسیدگلوتامیک-22 محدود شده تا محل‌های اتصال به این قسمت با دقت بیشتری مورد بررسی قرار گیرند.

2-2- شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

شبیه‌سازی بر روی حالت‌های محتمل تشکیل پیوند که از شبیه‌سازی داکینگ بدست آمده‌اند، توسط نرم‌افزار دینامیک مولکولی⁹ [36] با استفاده از

1- UCSF Chimera
2- Amber Forcefield
3- Minimization
4- Relaxation
5- Conformation
6- Optimization Methods
7- Grid-Base Transformation
8- Cluspro Boston University (BU)
9- NAMD

10- Forcefields
11- CHARMM36
12- Ensemble
13- Padding
14- Langevin

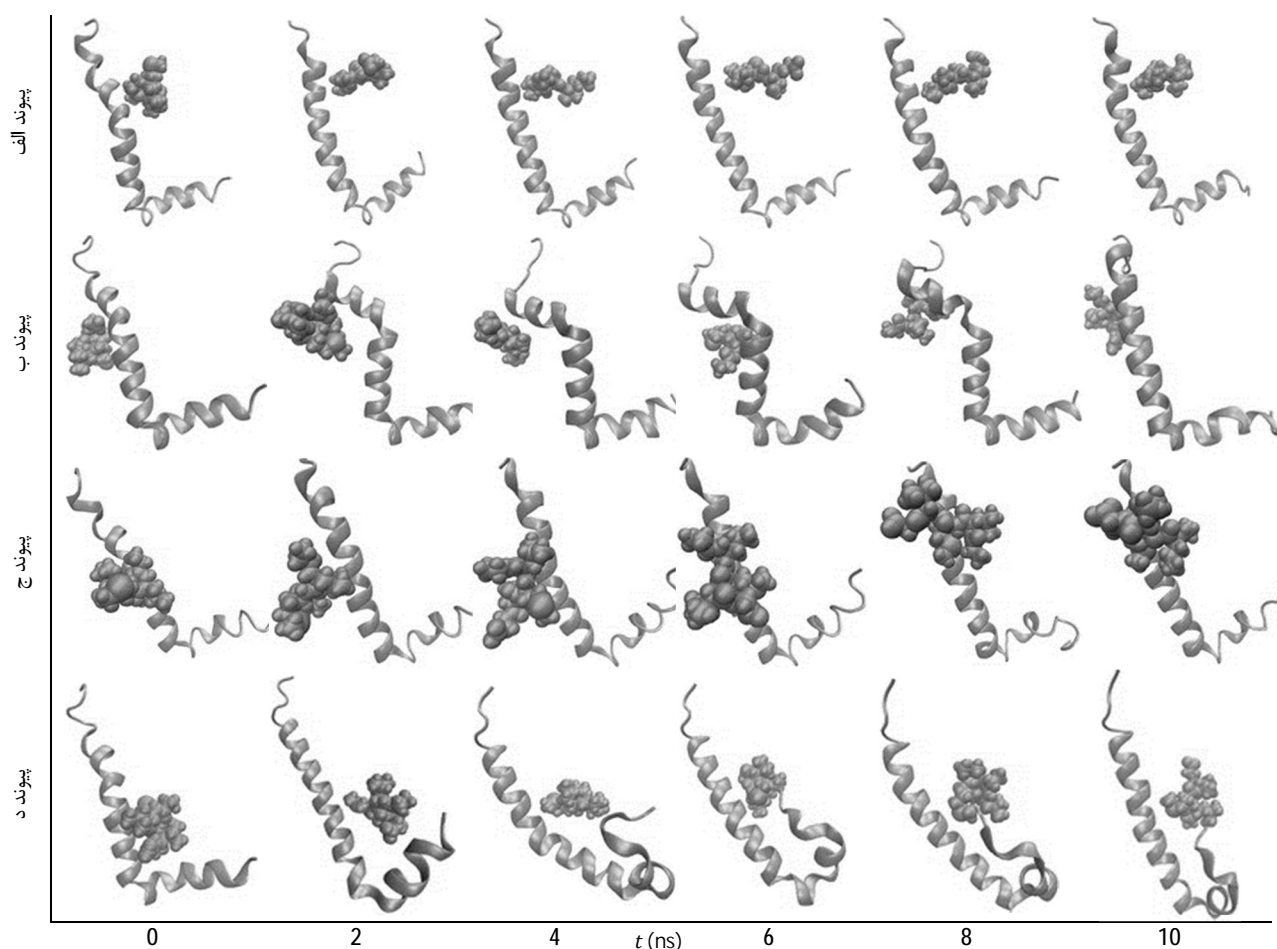
قسمت‌های مختلف مدل پروتئینی در طول شبیه‌سازی هستند و به عنوان معیاری از پایداری اتصال پنتا-پپتاید به گیرنده استفاده می‌شوند. هرچه که مقدار خطای جذر میانگین مربعات در طول شبیه‌سازی تغییرات کمتری داشته باشد پایداری محل پیوند بیشتر خواهد بود. کانتورهای خطای جذر میانگین مربعات برای پنج واحد اسید آمینه‌ای پنتا-پپتاید مهارکننده در محل پیوندهای الف تا د در شکل 4 نشان داده شده‌اند. قسمت‌های تیره این کانتورها در هر لحظه نشان‌دهنده درگیر بودن واحد مورد نظر از پنتا-پپتاید در ایجاد پیوند با گیرنده می‌باشد. تمامی این مقادیر برای هر مد پیوند در طول مدت شبیه‌سازی، نسبت به حالت ابتدایی شروع شبیه‌سازی و فقط با در نظر گرفتن اتم‌های بدنه اصلی واحدهای آمینواسیدی برای هر مد محاسبه شده‌اند.

در بین کانتورهای بدست آمده برای مدهای پیوند پیش‌بینی شده توسط شبیه‌سازی داکینگ، مد پیوند الف، با داشتن حداکثر مقدار $16/2$ در بین مدهای دیگر از پایداری بیشتری برخوردار است. در شکل 4- الف مشاهده می‌شود، واحدهای گلیسین 1 و لوسین 2 از مد پیوند الف، به دلیل داشتن کمترین مقدار خطای جذر میانگین مربعات (تیره‌تر بودن) نسبت به واحدهای متیونین 3، والین 4 و گلیسین 5 پایدارتر بوده و این واقعیت را بیان می‌کند که تنها واحدهای گلیسین 1 و لوسین 2 از ساختار پنتا-پپتاید در تشکیل پیوند الف، دخالت دارند.

شکل 3، نتیجه 10 نانوآنیبه شبیه‌سازی دینامیک مولکولی بر روی چهار مد پیوند الف تا د را بصورت کیفی در بازه‌های زمانی 2 نانوآنیبه نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، پنتا-پپتاید گلیسین 33-گلیسین 37 در تمام طول مدت 10 نانوآنیبه، در محل پیوند الف، قرار گرفته و محل پیوند تشکیل داده شده را ترک نمی‌کند. نتایج شبیه‌سازی مد پیوند ب، نیز نشان می‌دهد، پنتا-پپتاید در ابتدای شبیه‌سازی از محل پیوند ب، از گیرنده جدا شده و با جابجا شدن و تغییر دادن ساختار سه بعدی گیرنده، محل پیوند جدیدی را پیدا نمی‌کند. مد پیوند ج، نیز در ابتدا پیوند مناسبی را نشان می‌دهد، اما پس از گذشت زمان حدود 6 نانوآنیبه از لحظه شروع شبیه‌سازی، پنتا-پپتاید ارتباط پیوندی خود را با تعدادی از واحدهای درگیر پیوند از دست می‌دهد و با جابجا شدن در محل پیوند جدید ج* قرار گرفته و در مدت 4 نانوآنیبه تا پایان شبیه‌سازی در محل پیوند جدید، ثابت باقی می‌ماند. پنتا-پپتاید گلیسین 33-گلیسین 37 در مد پیوند د، نیز همانند مد پیوند ج، با شروع شبیه‌سازی از محل پیوند جدا شده و با جابجا شدن و ایجاد تغییرات در ساختار سه بعدی گیرنده پس از گذشت حدود 6 نانوآنیبه، در محل پیوند جدید د* قرار می‌گیرد و تا پایان شبیه‌سازی به مدت 4 نانوآنیبه ثابت باقی می‌ماند.

3-1- تحلیل پایداری پیوندهای محتمل

نمودارهای خطای جذر میانگین مربعات نشان‌دهنده جابجایی فضایی

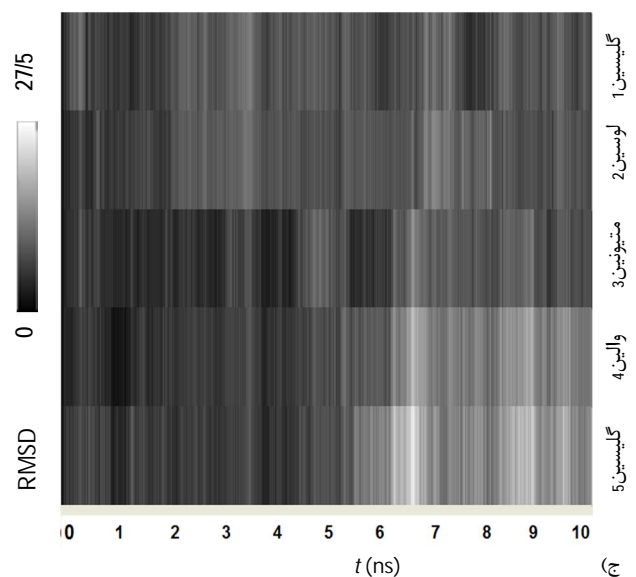
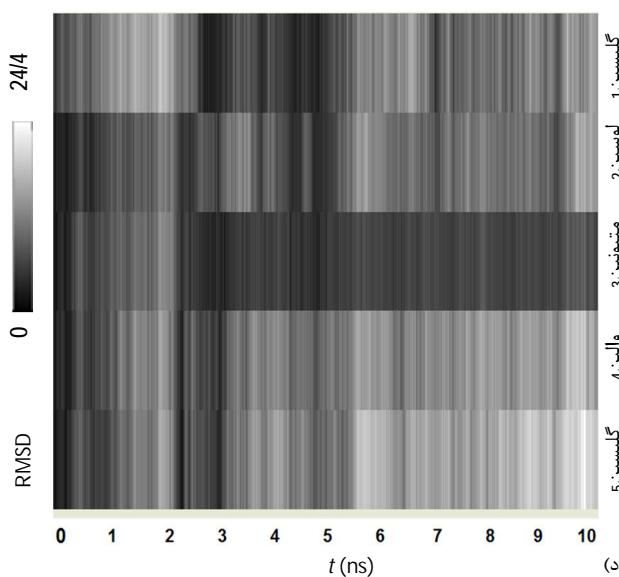
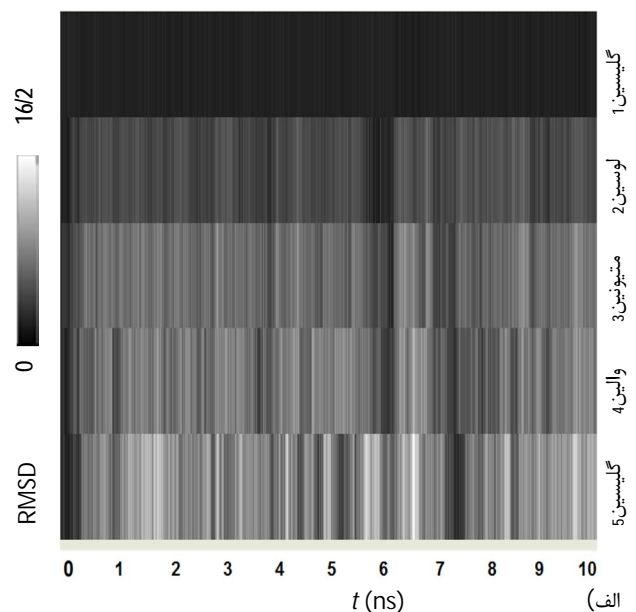
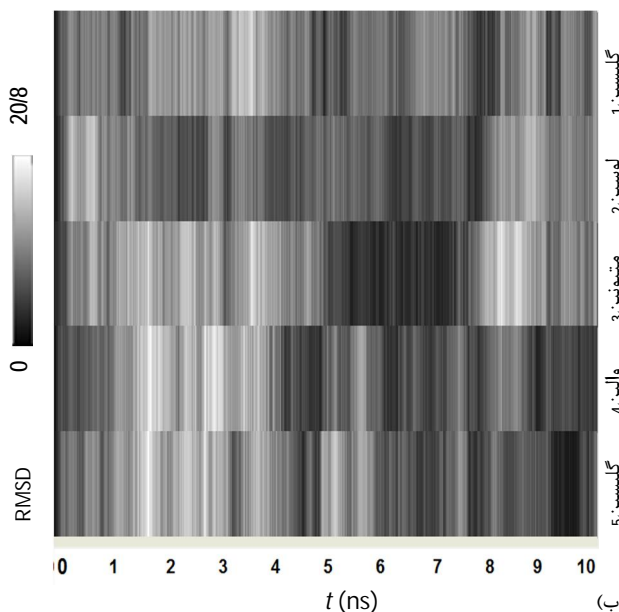


شکل 3 نتیجه شبیه‌سازی دینامیک مولکولی برای چهار مد پیوند پیش‌بینی شده الف تا د. شکل‌های موجود در هر ردیف موقعیت پنتا-پپتاید و گیرنده را در بازه‌های زمانی 2 نانوآنیبه‌ای برای هر مد پیوند نشان می‌دهد.

ساختار پیوندها توضیح داده خواهند شد.

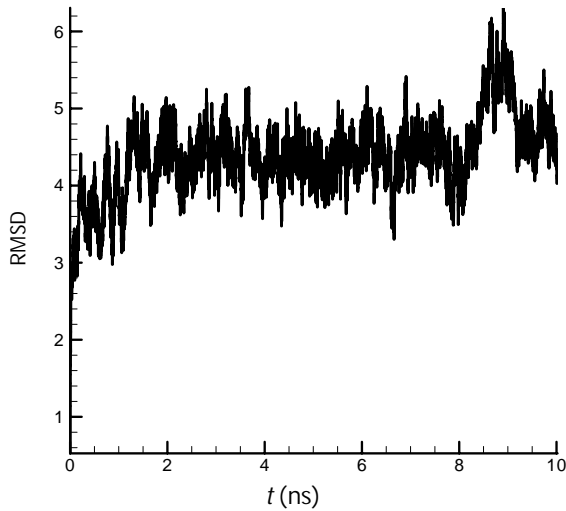
مطابق نتایج شبیه‌سازی داکینگ، پیوند د، کمترین احتمال تشکیل را در بین پیوندهای دیگر دارد. شکل 4-د، در ابتدای شبیه‌سازی دینامیک مولکولی واحدهای درگیر در تشکیل این پیوند را اسیدهای آمینه لوسین²، متیونین³، والین⁴ و گلیسین⁵ نشان می‌دهد. اما پس از گذشت حدود 1/5 نانوثانیه از شروع شبیه‌سازی، اتصال واحدهای متیونین³، والین⁴ و گلیسین⁵ از مهارکننده پپتایدی با گیرنده آمیلوئید بتا شکسته شده و پنتا-پپتاید از محل پیوند د، جدا می‌شود. سرانجام پس از گذشت حدود 2/5 نانوثانیه از شروع شبیه‌سازی، پنتا-پپتاید محل پیوند جدیدی را با دخالت اسیدهای آمینه گلیسین¹ و متیونین³ تشکیل می‌دهد. این پیوند جدید نیز ناپایدار بوده و 2/5 نانوثانیه پس از تشکیل (سپری شدن 5 نانوثانیه از ابتدای شبیه‌سازی)، واحد درگیر گلیسین¹ از محل پیوند جدید جدا شده و پیوند جدید د*، تنها با دخالت متیونین³ تا پایان شبیه‌سازی پایدار باقی می‌ماند.

پیوند ب، از ابتدای شبیه‌سازی به دلیل ناپایداری بالا، پیوند ضعیفی را نشان می‌دهد. پنتا-پپتاید در این مد پیوند بعد از جدا شدن از گیرنده با جابجا شدن در محدوده اتصال قبلی، پیوندهای جدید دیگری را تشکیل می‌دهد که تمامی این پیوندها ناپایدار بوده و مجدداً پنتا-پپتاید از گیرنده جدا می‌شود و پیوند پایدار جدیدی شکل نمی‌گیرد (شکل 4-ب). با توجه به شکل 4-ج، مشخص می‌شود که پیوند ج، در ابتدا پیوند نسبتاً پایداری است، بطوری که تمامی واحدهای پنتا-پپتاید در این پیوند درگیر هستند. اما پس از گذشت حدود 6 نانوثانیه از شروع شبیه‌سازی با جدا شدن واحدهای والین⁴ و گلیسین⁵ از محل پیوند، مهارکننده پپتایدی گلیسین³³-گلیسین³⁷ با جابجا شدن و چرخش در محدوده پیوند ج، پیوند جدید ج*، را تشکیل می‌دهد. همانطور که در شکل 4-ج، مشاهده می‌شود، فقط واحدهای گلیسین¹، لوسین² و متیونین³ پس از شکل‌گیری پیوند ج*، (6 تا 10 نانوثانیه) پایدار (تیره‌تر) بوده و بنابراین به عنوان واحدهای آمینواسیدی درگیر در این پیوند معرفی می‌شوند. جزئیات این پیوند جدید و دیگر پیوندها در بخش تحلیل

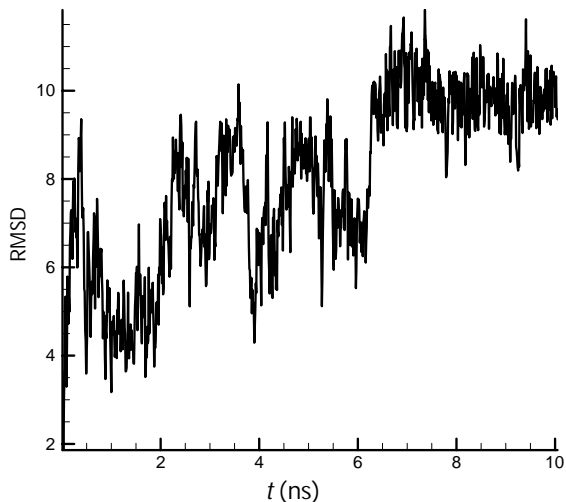


شکل 4 نمایش کانتور مقادیر خطای جذر میانگین مربعات برای واحدهای سازنده مهارکننده پپتایدی (گلیسین¹، لوسین²، متیونین³، والین⁴ و گلیسین⁵) در طول مدت 10 نانوثانیه شبیه‌سازی دینامیک مولکولی برای چهار مد الف تا د

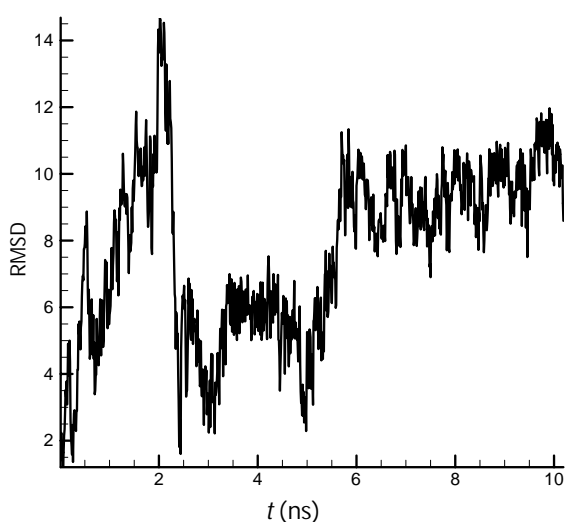
نسبت به اجزای دیگر، طول پیوند کمتر و قدرت بیشتری را دارد که جزء اصلی تشکیل دهندهٔ مد پیوند ج*، را تشکیل می‌دهد.



شکل 5 نمودار مقادیر خطای جذر میانگین مربعات برای واحدهای گلیسین 1 و لوسین 2 از ساختار مهارکننده در طول مدت شبیه‌سازی مد پیوند الف



شکل 6 نمودار مقادیر خطای جذر میانگین مربعات برای واحدهای گلیسین 1، لوسین 2 و متیونین 3 از ساختار مهارکننده در طول مدت شبیه‌سازی مد پیوند ج*



شکل 7 نمودار مقادیر خطای جذر میانگین مربعات برای واحد متیونین 3 از ساختار مهارکننده در طول مدت شبیه‌سازی مد پیوند د*

پس از مشخص شدن اسید آمینه‌های درگیر در تمامی مدهای پیوند، می‌توان مقادیر خطای جذر میانگین مربعات را برای مجموعه واحدهای مهارکنندهٔ پپتایدی که در تشکیل پیوند دخالت دارند را محاسبه کرد. شکل 5 مقادیر خطای جذر میانگین مربعات را برای واحدهای گلیسین 1 و لوسین 2 در طول مدت شبیه‌سازی برای مد پیوند الف، نشان می‌دهد. همگرا بودن این مقادیر از ابتدای شبیه‌سازی، پایداری این مد پیوند را در طول مدت 10 نانوثانیه با دخالت واحدهای گلیسین 1 و لوسین 2 نشان می‌دهد. شکل 6 نیز مقادیر خطای جذر میانگین مربعات را برای واحدهای گلیسین 1، لوسین 2 و متیونین 3 از مهارکننده پپتایدی را برای مدت 10 نانوثانیه نمایش می‌دهد. همگرا شدن این نمودار پس از گذشت حدود 6 نانوثانیه از ابتدای شبیه‌سازی نشان دهندهٔ تشکیل پیوند جدید ج*، در این لحظه می‌باشد که تا پایان شبیه‌سازی پیوند پایداری را معرفی می‌کند. شکل 7 نیز مقادیر خطای جذر میانگین مربعات را برای تنها واحد درگیر در پیوند د*، در طول مدت شبیه‌سازی 10 نانوثانیه نمایش می‌دهد. این نمودار نیز پس از گذشت حدود 6 نانوثانیه همگرا شده که بیان کننده لحظهٔ پایدار شدن آمینواسید متیونین 3 و تشکیل پیوند جدید د*، است.

3-2- تحلیل ساختار پیوند

تحلیل ساختار پیوند به معنای مشخص کردن جزئیات برهم‌کنش بین واحدهای دخیل در تشکیل مد پیوند است. پس از گذشت زمان 10 نانوثانیه و به تعادل رسیدن پیوندهای جدید، ساختارهای نهایی پنتا-پپتاید و گیرنده پروتئینی آمیلوئید بتا 42 به منظور تحلیل ساختار پیوند بررسی شده‌اند.

پیوندهای هیدروژنی بین اسیدهای آمینهٔ گلیسین 1 و لوسین 2 از ساختار پنتا-پپتاید با واحدهای تیروزین 10 و هیستیدین 13 از گیرنده پروتئینی آمیلوئید بتا 42، محتوای پیوند الف، را تشکیل می‌دهند. مشخصه‌های اصلی این برهم‌کنش‌ها در جدول 1 و شکل 9 مشاهده می‌شود. پیوند هیدروژنی میان گلیسین 1 (هدا کننده) و تیروزین 10 (پذیرنده) در بردارنده چهار پیوند هیدروژنی میان اتم هیدروژن متصل به کربن 2 از بدنه اصلی واحد گلیسین 1 (هیدروژن 2-1) و حلقه کربنی اسید آمینهٔ تیروزین 10 است. همانطور که در شکل 9- الف مشاهده می‌شود، پیوندهای هیدروژنی بین اتم‌های دو واحد گلیسین 1 و تیروزین 10 از پیوند واحدهای دیگر به دلیل دارا بودن طول پیوند کمتر، قدرتمندتر است و جزء اصلی پیوند الف، را تشکیل می‌دهد. اجزای دیگر مد پیوند الف، را پیوندهای هیدروژنی میان واحدهای لوسین 2 با تیروزین 10 (شکل 9- ب) و هیستیدین 13 (شکل 9- ج) می‌باشد.

پیوند جدید ج*، پس از گذشت 6 نانوثانیه از شروع شبیه‌سازی با جدا شدن اسیدهای آمینهٔ والین 4 و گلیسین 5 از محل پیوند ج، و با تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین واحدهای گلیسین 1، لوسین 2 و متیونین 3 از ساختار پنتا-پپتاید با واحدهای تیروزین 10، هیستیدین 13 و هیستیدین 14 از پروتئین گیرنده آمیلوئید بتا، ایجاد شده است (شکل 10). این پیوند از چهار جزء پیوندی تشکیل شده است که عبارتند از:

- جزء اول: واحد گلیسین 1 از مهارکننده (دریافت کننده) و واحد هیستیدین 13 (هدا کننده) از پروتئین آمیلوئید بتا 42 (شکل 10- الف).
- جزء دوم: واحد لوسین 2 (دریافت کننده) از ساختار پنتا-پپتاید و اسید آمینهٔ هیستیدین 14 (هدا کننده) از گیرنده آمیلوئید بتا (شکل 10- ب). همان‌طور که در جدول 2 مشاهده می‌شود، این جزء از مد پیوند ج*،

جدول 2 جزئیات اجزاء تشکیل دهنده محل پیوند جدید ج*

واحد دریافت کننده	واحد اهداء کننده	اتم واحد گیرنده	اتم واحد اهداکننده	طول پیوند A
گلیسین 1	هیستیدین 13	کربن 0	هیدروژن 1-3	3/28
گلیسین 1	هیستیدین 13	اکسیژن 0	هیدروژن 1-3	2/24
گلیسین 1	هیستیدین 13	هیدروژن 3-4	کربن 5	3/98
لوسین 2	هیستیدین 14	کربن 1-4	هیدروژن 2-1	2/28
لوسین 2	هیستیدین 14	هیدروژن 11-3	کربن 3	2/83
لوسین 2	هیستیدین 14	هیدروژن 11-3	کربن 5	3/07
لوسین 2	هیستیدین 14	هیدروژن 11-3	کربن 2-4	3/16
متیونین 3	تیروزین 10	کربن 2	هیدروژن 2-3	3/39
متیونین 3	تیروزین 10	کربن 3	هیدروژن 2-3	3/49
متیونین 3	تیروزین 10	هیدروژن 2-1	کربن 5	3/84
متیونین 3	تیروزین 10	هیدروژن 2-1	کربن 3	3/04
تیروزین 10	گلیسین 1	کربن 1-6	هیدروژن 1-2	2/95
تیروزین 10	گلیسین 1	کربن 1	هیدروژن 1-2	3/34
تیروزین 10	گلیسین 1	اکسیژن 1	هیدروژن 1-2	3/49

جدول 3 جزئیات ساختار مد پیوند د*

واحد دریافت کننده	واحد اهداء کننده	اتم واحد گیرنده	اتم واحد اهداکننده	طول پیوند A
هیستیدین 13	متیونین 3	کربن 1-6	هیدروژن 2-1	3/65
هیستیدین 13	متیونین 3	نیتروژن 2-1	هیدروژن 2-1	3/08
هیستیدین 13	متیونین 3	کربن 1-6	هیدروژن 1-5	2/62
هیستیدین 13	متیونین 3	نیتروژن 2-1	هیدروژن 1-5	2/53

در جدول 4 پتانسیل نیروهای بین مولکولی اسید آمینه درگیر در مد پیوند الف، در طول مدت پایداری آن نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، هر دو نیرو واندروالس² و الکتروستاتیک در تشکیل این پیوند نقش دارند ولی نیروی غالب در این پیوند، پتانسیل الکتروستاتیک ذرات است و نیروی مربوط به پتانسیل بین مولکولی واندروالس نقش کمتری دارد. برای مد پیوند جدید ج*، نیز همان‌طور که در جدول 5 مشاهده می‌شود، تنها نیروی جاذبه بین واحدهای درگیر در این پیوند از زمان شکل‌گیری پیوند (6 نانوثانیه) تا پایان شبیه‌سازی (10 نانوثانیه)، پتانسیل الکتروستاتیک می‌باشد. در این مد پیوند، نیروهای مربوط به پتانسیل بین مولکولی واندروالس با وارد کردن نیروی دافعه اثر منفی در شکل‌گیری پیوند دارند و قسمتی از نیروی جاذبه الکتروستاتیک صرف غلبه بر این نیرو دافعه می‌شود. پتانسیل مجموع پیوندی در این مد پیوند (حدود 6 kcal mol^{-1}) کمتر از مد پیوند الف (حدود 10 kcal mol^{-1}) می‌باشد که نشان دهنده ضعیف‌تر بودن این پیوند نسبت به مد پیوند الف است. همان‌طور که در جدول 6 مشاهده می‌شود، نیروهای تشکیل دهنده مد پیوند د*، در بازه زمانی 6 نانوثانیه (لحظه تشکیل پیوند) تا پایان شبیه‌سازی (10 نانوثانیه)، هر دو نیرو بین مولکولی واندروالس و الکتروستاتیک می‌باشد و نیرو غالب در این پیوند، نیروهای بین مولکولی واندروالس است.

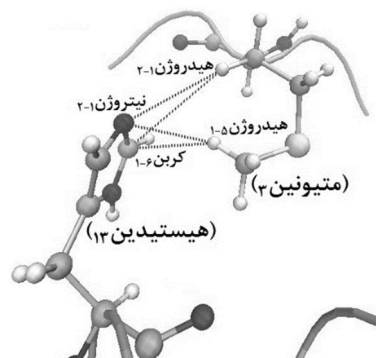
4- نتیجه‌گیری

بیماری آلزایمر همانند بسیاری از آسیب‌ها و بیماری‌های سیستم اعصاب

- جزء سوم: اتصال اسید آمینه متیونین 3 (دریافت کننده) از مهارکننده گلیسین 33-گلیسین 37 با تیروزین 10 (هدا کننده) از گیرنده پروتئینی آمیلوئید بتا (شکل 10-ج).
 - جزء چهارم: واحد تیروزین 10 (دریافت کننده) از آمیلوئید بتا 42 و گلیسین 1 (هدا کننده) از ساختار مهارکننده پپتایدی (شکل 10-د).
- پیوند د*، نیز با جدا شدن اسیدهای آمینه متیونین 3، والین 4 و گلیسین 5 از مد پیوند د و ایجاد پیوند هیدروژنی بین واحدهای متیونین 3 و هیستیدین 13، پس از حدود گذشت 6 نانوثانیه تشکیل شده است. تنها جزء تشکیل دهنده این مد پیوند، اتصال واحد متیونین 3 (هدا کننده) با هیستیدین 13 (دریافت کننده) می‌باشد. اطلاعات مربوط به این پیوند را می‌توان در جدول 3 و شکل 8 مشاهده کرد.

3-3- تحلیل برهمکنش‌های پیوند

در ایجاد پیوند غیرکوالانسی بین دو واحد آمینواسیدی، نیروهای بین مولکولی واندروالس¹ و الکتروستاتیک نقش اساسی را ایفا می‌کنند. مطالعه چگونگی اثر این نیروها در تشکیل پیوند ماهیت پیوند تشکیل شده را مشخص می‌کند و از اهمیت بالایی برخوردار است.



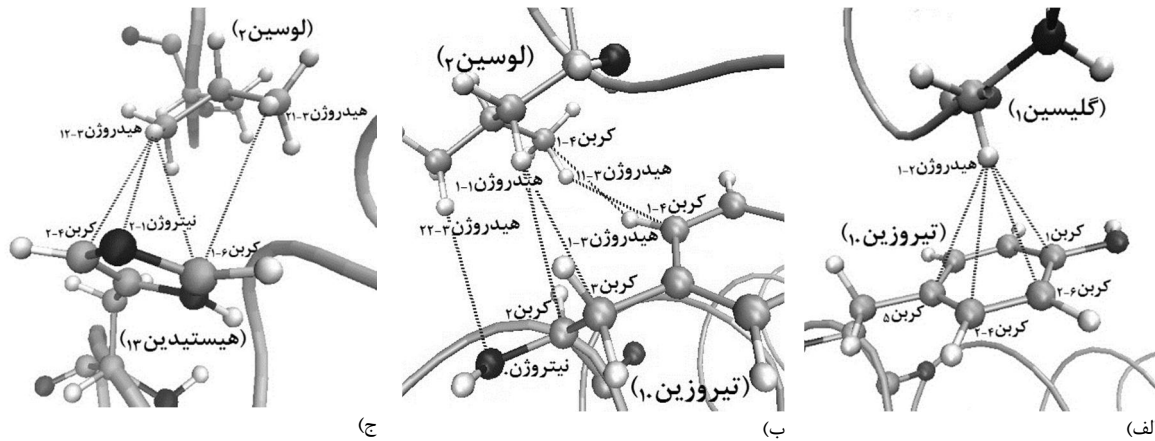
شکل 8 ساختار تشکیل دهنده مد پیوند د*. اطلاعات مربوط به پیوندهایی که در این شکل نشان داده شده، در جدول 3 موجود است.

جدول 1 معرفی اجزای تشکیل دهنده مد پیوند الف. هر جزء از یک واحد دریافت کننده و یک واحد اهداء کننده تشکیل شده است.

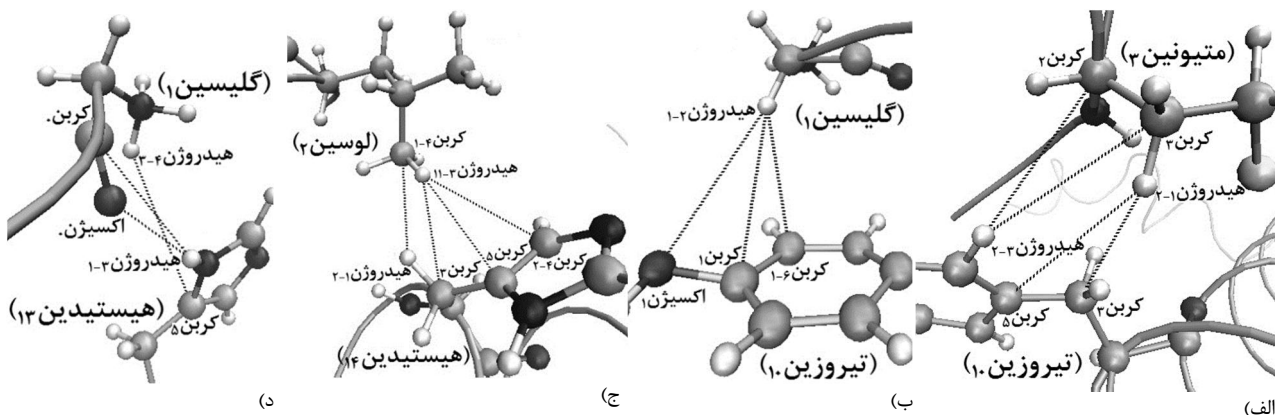
واحد دریافت کننده	واحد اهدا کننده	اتم واحد گیرنده	اتم واحد اهدا کننده	طول پیوند A
تیروزین 10	گلیسین 1	کربن 5	هیدروژن 1-2	3/23
تیروزین 10	گلیسین 1	کربن 2-4	هیدروژن 1-2	2/94
تیروزین 10	گلیسین 1	کربن 2-6	هیدروژن 1-2	2/79
تیروزین 10	گلیسین 1	کربن 1	هیدروژن 1-2	2/84
لوسین 2	تیروزین 10	کربن 1-4	هیدروژن 1-3	3/10
لوسین 2	تیروزین 10	هیدروژن 11-3	کربن 1-4	3/14
لوسین 2	تیروزین 10	هیدروژن 1-1	کربن 3	3/12
لوسین 2	تیروزین 10	هیدروژن 1-1	کربن 2	3/47
لوسین 2	تیروزین 10	هیدروژن 22-3	نیتروژن 0	3/32
هیستیدین 13	لوسین 2	کربن 2-4	هیدروژن 12-3	3/22
هیستیدین 13	لوسین 2	نیتروژن 2-1	هیدروژن 12-3	3/58
هیستیدین 13	لوسین 2	کربن 1-6	هیدروژن 12-3	3/71
هیستیدین 13	لوسین 2	کربن 1-6	هیدروژن 21-3	3/75

1- VDW Force

2- VDW Forces



شکل 9 نمایش جزئیات ساختار مد پیوند الف. اتصال مهارکننده گلیسین 33-گلیسین 37 به گیرنده آمیلوئید بتا در محل پیوند الف، از سه جزء تشکیل شده است که در قسمت‌های (الف) تا (ج) نمایش داده شده‌اند. اطلاعات مربوط به پیوندهایی که در این شکل نشان داده شده، در جدول 1 موجود است.



شکل 10 نمایش چهار جزء تشکیل‌دهنده ساختار پیوند ج* (قسمت‌های الف تا د). اطلاعات مربوط به پیوندهایی که در این شکل نشان داده شده، در جدول 2 موجود است.

10 نانوثانیه نشان دادند، اتصال واحدهای گلیسین 1 و لوسین 2 از مهارکننده به

جدول 4 برهم‌کنش پنتا-پپتاید و گیرنده آمیلوئید بتا 42 در مد پیوند الف، پتانسیل-های بین مولکولی در طول مدت پایداری پیوند، بر حسب kcalmol^{-1} محاسبه شده‌اند.

زمان شبیه‌سازی (نانوثانیه)	پتانسیل واندروالس	پتانسیل الکتروستاتیک	پتانسیل غیرپیوندی
2	-1/4131	-6/3576	-7/7707
4	-2/1348	-8/0413	-10/1761
6	-2/5449	-6/8096	-9/3545
8	-3/4655	-6/2796	-9/7451
10	-4/0761	-7/747	-11/8231

جدول 5 برهم‌کنش پنتا-پپتاید و گیرنده آمیلوئید بتا 42 در مد پیوند ج*، پتانسیل-های بین مولکولی در طول مدت پایداری پیوند، بر حسب kcalmol^{-1} محاسبه شده‌اند.

زمان شبیه‌سازی (نانوثانیه)	پتانسیل واندروالس	پتانسیل الکتروستاتیک	پتانسیل غیرپیوندی
6	1/7186	-7/0511	-5/3325
7	1/1213	-7/8619	-6/7406
8	1/9032	-8/8229	-6/9197
9	1/4071	-8/3656	-6/9585
10	1/9265	-9/0267	-7/1002

مرکزی (مانند پارکینسون¹ و اسکلیروزیس جانبی²) با تجمع یک یا چند پروتئین خاص در اطراف سلول‌های عصبی همراه می‌باشد [38]. آمیلوئید بتا یک پروتئین 39 تا 43 واحدی است که توده‌های تجمع یافته آن به عنوان عامل اصلی آسیب دیدن سلول‌های عصبی در بیماران آلزایمری پیشنهاد شده و استفاده از داروهای مهارکننده این پروتئین به عنوان یک روش درمانی مؤثر برای بیماری آلزایمر معرفی شده است [39].

در این پژوهش توالی آمینواسیدی گلیسین 33-گلیسین 37 از پایانه کربوکسیل خود عامل بیماری (آمیلوئید بتا)، به عنوان مهارکننده ناحیه والین 10-اسیدگلوتامیک 22 از پایانه آمین پروتئین آمیلوئید بتا 42 استفاده و نحوه اثر این مهارکننده پپتایدی به روش شبیه‌سازی ترکیبی داکینگ و دینامیک مولکولی بررسی شد. ناحیه والین 10-اسیدگلوتامیک 22 در فرایند تجمع و ایجاد توده‌های آمیلوئیدی نقش اساسی را ایفا می‌کند و مهار آن می‌تواند از تجمع و تشکیل توده‌های آمیلوئیدی جلوگیری کند [13].

چهار مد پیوند الف تا د، برای اتصال این مهار کننده به ناحیه والین 10-اسیدگلوتامیک 22 از گیرنده آمیلوئید بتا 42 توسط شبیه‌سازی داکینگ پیش‌بینی شد. شبیه‌سازی دینامیک مولکولی انجام شده بر روی این چهار مد پیوندی محتمل، به دلیل شکسته شدن پیوندهای ضعیف و ناپایدار بتا در همان ابتدای شبیه‌سازی، مد پیوند الف را تنها پیوند پیش‌بینی شده پایدار در مدت 10 نانوثانیه معرفی کرد. تحلیل‌های انجام شده پس از پایان شبیه‌سازی

1- Parkinson
2- Lateral Sclerosis

جدول 6 برهمکنش پنتا-پپتاید و گیرنده آمیلوئید بتا 42 در مد پیوند د*. پتانسیل- های بین مولکولی در طول مدت پایداری پیوند، بر حسب kcalmol⁻¹ محاسبه شده‌اند.

زمان شبیه‌سازی (نانوثانیه)	پتانسیل واندروالس	پتانسیل الکتروستاتیک	پتانسیل غیرپیوندی
6	-3/0115	-2/8409	-5/8524
7	-2/7256	-2/2493	-5/9749
8	-3/1479	-2/4557	-5/6036
9	-3/8349	-1/7967	-5/6316
10	-2/0583	-2/3465	-4/4048

واحدهای تیروزین 10 و هیستیدین 13 از گیرنده آمیلوئید بتا، سه جزء تشکیل دهنده مد پیوند الف، را ایجاد کرده‌اند. نیروهای بین مولکولی واندروالس و الکتروستاتیک برهمکنش بین واحدهای درگیر در این مد پیوند را تشکیل داده‌اند که سهم نیرو الکتروستاتیک در پایدار نگه‌داشتن این پیوند بیشتر است.

پس از شکسته شدن مد پیوند ج، مهارکننده در محل پیوند جدید ج*، به گیرنده آمیلوئید بتا متصل شده و تا انتهای شبیه‌سازی پایدار باقی ماند. در این مد پیوند واحدهای گلیسین 1، لوسین 2 و متیونین 3 و واحدهای تیروزین 10، هیستیدین 13 و هیستیدین 14 دخالت دارند. نیرو بین مولکولی الکتروستاتیک تنها نیرو نگه‌دارنده این پیوند معرفی شد. توجه شود که این محل پیوند جدید، به دلیل برهم‌کنش بین مولکولی ضعیف‌تر و نوسانی‌تر بودن مقدار خطای جذر میانگین مربعات، نسبت به مد پیوند الف، از پایداری و استحکام کمتری برخوردار می‌باشد. محل پیوند د*، نیز با شکسته شدن مد پیوند ضعیف د، با اتصال اسیدهای آمینه متیونین 3 از پنتا-پپتاید مهارکننده و آمینواسید هیستیدین 13 از آمیلوئید بتا تشکیل شده است. برهم‌کنش‌های بین مولکولی در این مد پیوند، شامل هر دو نیرو واندروالس و الکتروستاتیک می‌باشد که سهم نیرو واندروالس در پایدار نگه‌داشتن این پیوند بیشتر است.

آمیلوئید بتا 42 ساختار هندسی ساده‌ای دارد و در طول فرایند اتصال پنتا-پپتاید به آن در چهار مد پیوند الف تا د، تغییر اساسی بر ساختار ثانویه در ناحیه والین 10-اسیدگلوتامیک 22 ایجاد نمی‌کند. این عامل نشان می‌دهد که محدودیت صلب در نظر گرفتن ساختارها در شبیه‌سازی داکینگ تأثیر مهمی در حل مسأله نداشته و محل‌های تشکیل پیوند که با تغییر در ساختار ثانویه پنتا-پپتاید و گیرنده آشکار می‌شوند و توسط شبیه‌سازی داکینگ قابل پیش‌بینی نبوده‌اند نیز توسط شبیه‌سازی دینامیک مولکولی بررسی شده‌اند. مدهای پیوند ج* و د* تنها مدهای پیوندی پایدار بوده‌اند که توسط شبیه‌سازی داکینگ قابل پیش‌بینی نبوده‌اند و دینامیک مولکولی آن‌ها را شناسایی کرده است.

بر اساس مطالعه‌ای که در سال 2013 انجام شد، توانایی اتصال پنتا-پپتاید گلیسین 33-گلیسین 37 به پروتئین آمیلوئید بتا و مهار تجمع پروتئین آمیلوئید بتا به روش تجربی به کمک تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونیکی تایید شده است [24]. نتایجی که در این پژوهش به روش شبیه‌سازی ترکیبی انجام شد، بطور کیفی با تایید نتایج پژوهش مذکور، نشان می‌دهد که پنتا-پپتاید با توالی گلیسین 33-گلیسین 37 از طریق ایجاد پیوند با ناحیه والین 10-اسیدگلوتامیک 22، توانایی مهار تجمع و تشکیل توده‌های پروتئینی آمیلوئید بتا 42 را دارد و می‌توان این پنتا-پپتاید را در پژوهش‌های پیش‌کلینیکی به منظور پیشگیری و درمان بیماری آلزایمر مورد بررسی‌های بیشتر قرار داد.

5- فهرست علایم

RMSD	خطای جذر میانگین مربعات
t	زمان شبیه‌سازی (ns)
U	انرژی پتانسیل (kcalmol ⁻¹)
نام‌گذاری اتم‌ها: نام‌گذاری مختلف در ساختار شیمیایی اسیدهای آمینه مطابق استاندارد چارم 36	
O	اکسیژن 0
OH	اکسیژن 1
C	کربن 0
CZ	کربن 1
CA	کربن 2
CB	کربن 3
CD	کربن 4
CG	کربن 5
CE	کربن 6
N	نیتروژن 0
NE	نیتروژن 1
HE	هیدروژن 0
HB	هیدروژن 1
HA	هیدروژن 2
HD	هیدروژن 3
HT	هیدروژن 4
HE	هیدروژن 5

6- مراجع

- [1] 2013 Alzheimer's disease facts and figures, *Alzheimer's & dementia: the Journal of the Alzheimer's Association*, Vol. 9, No. 2, pp. 208-245, 2013.
- [2] N. Parsa, Alzheimer's Disease: A medical challenge of 21st century, *Arak Medical University Journal*, Vol. 14, No. 2, pp. 100-108, 2011. (In Persian).
- [3] S. Musardo, C. Saraceno, S. Pelucchi, E. Marcello, Trafficking in neurons: Searching for new targets for Alzheimer's disease future therapies, *European Journal of Pharmacology*, Vol. 719, No. 1-3, pp. 84-106, 2013.
- [4] C. R. Harrington, The Molecular Pathology of Alzheimer's Disease, *Neuroimaging Clinics of North America*, Vol. 22, No. 1, pp. 11-22, 2012.
- [5] J. Hardy, D. J. Selkoe, The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics, *Science*, Vol. 297, No. 5580, pp. 353-356, 2002.
- [6] A. L. F. Vladimir N. Uversky, *Protein Misfolding, Aggregation, and Conformational Diseases*: Springer US, 2007.
- [7] W. M. Tay, D. Huang, T. L. Rosenberry, A. K. Paravastu, The Alzheimer's Amyloid-β(1-42) Peptide Forms Off-Pathway Oligomers and Fibrils That Are Distinguished Structurally by Intermolecular Organization, *Journal of Molecular Biology*, Vol. 425, No. 14, pp. 2494-2508, 2013.
- [8] J. Pozueta, R. Lefort, M. L. Shelanski, Synaptic changes in Alzheimer's disease and its models, *Neuroscience*, Vol. 251, No. 0, pp. 51-65, 2013.
- [9] K. S. Vetrivel, G. Thinakaran, Membrane rafts in Alzheimer's disease beta-amyloid production, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, Vol. 1801, No. 8, pp. 860-867, 2010.
- [10] R. Lal, H. Lin, A. P. Quist, Amyloid beta ion channel: 3D structure and relevance to amyloid channel paradigm, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, Vol. 1768, No. 8, pp. 1966-1975, 2007.
- [11] S. Grösgen, M. O. W. Grimm, P. Frieß, T. Hartmann, Role of amyloid beta in lipid homeostasis, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, Vol. 1801, No. 8, pp. 966-974, 2010.
- [12] B. Urbanc, L. Cruz, S. Yun, S. V. Buldyrev, G. Bitan, D. B. Teplow, H. E. Stanley, In silico study of amyloid β-protein folding and oligomerization, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 101, No. 50, pp. 17354-17359, 2004.
- [13] M. Cecchini, R. Curcio, M. Pappalardo, R. Melki, A. Caflich, A Molecular Dynamics Approach to the Structural Characterization of Amyloid Aggregation, *Journal of Molecular Biology*, Vol. 357, No. 4, pp. 1306-1321, 2006.

- [27] H. Alonso, A. A. Bližnyuk, J. E. Gready, Combining docking and molecular dynamic simulations in drug design, *Medicinal Research Reviews*, Vol. 26, No. 5, pp. 531-568, 2006.
- [28] V. A. Streltsov, J. N. Varghese, C. L. Masters, S. D. Nuttall, Crystal structure of the amyloid-beta p3 fragment provides a model for oligomer formation in Alzheimer's disease, *J Neurosci*, Vol. 31, No. 4, pp. 1419-26, 2011. eng
- [29] T. Lührs, C. Ritter, M. Adrian, D. Riek-Loher, B. Bohrmann, H. Döbeli, D. Schubert, R. Riek, 3D structure of Alzheimer's amyloid- β (1-42) fibrils, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 102, No. 48, pp. 17342-17347, 2005.
- [30] O. Crescenzi, S. Tomaselli, R. Guerrini, S. Salvadori, A. M. D'Ursi, P. A. Temussi, D. Picone, Solution structure of the Alzheimer amyloid beta-peptide (1-42) in an apolar microenvironment. Similarity with a virus fusion domain, *Eur J Biochem*, Vol. 269, No. 22, pp. 5642-8, 2002. eng
- [31] G. T. Pettersen EF, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE, UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis, 2004.
- [32] V. B. D.A. Case, J.T. Berryman, R.M. Betz, Q. Cai, D.S. Cerutti, T.E. Cheatham, III, T.A. Darden, R.E. Duke, H. Gohlke, A.W. Goetz, S. Gusarov, N. Homeyer, P. Janowski, J. Kaus, I. Kolossváry, A. Kovalenko, T.S. Lee, S. LeGrand, T. Luchko, R. Luo, B. Madej, K.M. Merz, F. Paesani, D.R. Roe, A. Roitberg, C. Sagui, R. Salomon-Ferrer, G. Seabra, C.L. Simmerling, W. Smith, J. Swails, R.C. Walker, J. Wang, R.M. Wolf, X. Wu and P.A. Kollman, AMBER 14, University of California, San Francisco, 2014.
- [33] D. Kozakov, R. Brenke, S. R. Comeau, S. Vajda, PIPER: An FFT-based protein docking program with pairwise potentials, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, Vol. 65, No. 2, pp. 392-406, 2006.
- [34] D. Kozakov, D. Beglov, T. Bohnuud, S. E. Mottarella, B. Xia, D. R. Hall, S. Vajda, How good is automated protein docking?, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, Vol. 81, No. 12, pp. 2159-2166, 2013.
- [35] S. R. Comeau, D. W. Gatchell, S. Vajda, C. J. Camacho, ClusPro: a fully automated algorithm for protein-protein docking, *Nucleic Acids Research*, Vol. 32, No. suppl 2, pp. W96-W99, 2004.
- [36] J. C. Phillips, R. Braun, W. Wang, J. Gumbart, E. Tajkhorshid, E. Villa, C. Chipot, R. D. Skeel, L. Kalé, K. Schulten, Scalable molecular dynamics with NAMD, *Journal of Computational Chemistry*, Vol. 26, No. 16, pp. 1781-1802, 2005.
- [37] *Computational Biochemistry and Biophysics*, pp. 512: CRC Press, Bahman 21, 1379.
- [38] D. R. Demartini, L. P. Schilling, J. C. da Costa, C. R. Carlini, Alzheimer's and Parkinson's diseases: An environmental proteomic point of view, *Journal of Proteomics*, Vol. 104, No. 0, pp. 24-36, 2014.
- [39] T. Hård, C. Lendel, Inhibition of Amyloid Formation, *Journal of Molecular Biology*, Vol. 421, No. 4-5, pp. 441-465, 2012.
- [14] R. Liu, C. McAllister, Y. Lyubchenko, M. R. Sierks, Residues 17-20 and 30-35 of beta-amyloid play critical roles in aggregation, *Journal of Neuroscience Research*, Vol. 75, No. 2, pp. 162-171, 2004.
- [15] S. Dante, T. Hauss, N. A. Dencher, Insertion of Externally Administered Amyloid β Peptide 25-35 and Perturbation of Lipid Bilayers, *Biochemistry*, Vol. 42, No. 46, pp. 13667-13672, 2003.
- [16] S. Dante, T. Hauß, N. Dencher, Cholesterol inhibits the insertion of the Alzheimer's peptide A β (25-35) in lipid bilayers, *European Biophysics Journal*, Vol. 35, No. 6, pp. 523-531, 2006. English
- [17] T. Tomiyama, A. Shoji, K. Kataoka, Y. Suwa, S. Asano, H. Kaneko, N. Endo, Inhibition of amyloid beta protein aggregation and neurotoxicity by rifampicin. Its possible function as a hydroxyl radical scavenger, *J Biol Chem*, Vol. 271, No. 12, pp. 6839-44, 1996. eng
- [18] J. E. Kim, M. Lee, Fullerene inhibits β -amyloid peptide aggregation, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 303, No. 2, pp. 576-579, 2003.
- [19] M. Pappolla, P. Bozner, C. Soto, H. Shao, N. K. Robakis, M. Zagorski, B. Frangione, J. Ghiso, Inhibition of Alzheimer beta-fibrillogenesis by melatonin, *J Biol Chem*, Vol. 273, No. 13, pp. 7185-8, 1998. eng
- [20] L. O. Tjernberg, C. Lilliehook, D. J. Callaway, J. Naslund, S. Hahne, J. Thyberg, L. Terenius, C. Nordstedt, Controlling amyloid beta-peptide fibril formation with protease-stable ligands, *J Biol Chem*, Vol. 272, No. 19, pp. 12601-5, 1997. eng
- [21] L. O. Tjernberg, J. Naslund, F. Lindqvist, J. Johansson, A. R. Karlstrom, J. Thyberg, L. Terenius, C. Nordstedt, Arrest of beta-amyloid fibril formation by a pentapeptide ligand, *J Biol Chem*, Vol. 271, No. 15, pp. 8545-8, 1996. eng
- [22] C. Soto, Alzheimer's and prion disease as disorders of protein conformation: implications for the design of novel therapeutic approaches, *Journal of Molecular Medicine*, Vol. 77, No. 5, pp. 412-418, 1999. English
- [23] C. Soto, M. S. Kindy, M. Baumann, B. Frangione, Inhibition of Alzheimer's amyloidosis by peptides that prevent beta-sheet conformation, *Biochem Biophys Res Commun*, Vol. 226, No. 3, pp. 672-80, 1996. eng
- [24] C. Peters, E. J. Fernandez-Perez, C. F. Burgos, M. P. Espinoza, C. Castillo, J. C. Urrutia, V. A. Streltsov, C. Opazo, L. G. Aguayo, Inhibition of amyloid beta-induced synaptotoxicity by a pentapeptide derived from the glycine zipper region of the neurotoxic peptide, *Neurobiology of aging*, Vol. 34, No. 12, pp. 2805-2814, 2013.
- [25] S. Kalyaanamoorthy, Y.-P. P. Chen, Modelling and enhanced molecular dynamics to steer structure-based drug discovery, *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, No. 0, 2013.
- [26] J. Durrant, J. McCammon, Molecular dynamics simulations and drug discovery, *BMC Biology*, Vol. 9, No. 1, pp. 1-9, 2011. English