مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۵، شماره ۳، پاییز ۹۴، صفحات ۱۹۸ تا ۲۰۵

Original Article

مطالعه برهمکنش بین پروتئین آمیلوئید بتا با یون فلزی روی و نقش آن در بیماری آلزایمر

الهام تازیکه لمسکی

استادیار ، گروه شیمی، واحد گرگان ، دانشگاه آزاد اسلامی ، گرگان ، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *در این مطالعه به اثر اتصال یون فلزی روی بر تغییرات ساختاری و پایداری پروتئین آمیلوئید بتا، موثر در بروز بیماری آلزایمر در سطوح مولکولی پرداختیم.*

روش بررسی: *این بررسی با کمک محاسبات شبیه سازی دینامیکی مولکولی و با استفاده از نرم افزار گرومکس نسخه ۴,۶,۵ و میدان نیروی Amber ۰۳ و مدل حلال آب SPC216 انجام گرفت.*

یافته‌ها: *به کمک انحراف جذر مربع میانگین، صحت انجام شبیه سازی بررسی و با کمک آنالیزهای مختلف دیگر (اعم از تحلیل ساختار دوم پروتئین، تعداد پیوندهای هیدروژنی و شعاع ژیراسیون) مشاهده کردیم که در حضور یون‌های فلزی روی، قبل و بعد از اتصال، ساختار پروتئین تفاوت چشم‌گیری خواهد کرد.*

نتیجه‌گیری: *آنالیز داده‌های حاصل از تحلیل ساختار دوم پروتئین نشان می‌دهد که آمیلوئید بتا پپتید در اثر اتصال با یون‌های روی، درصد بالایی از ساختار مارپیچی خود را از دست می‌دهد. با افزایش شعاع ژیراسیون بعد اتصال یون فلزی، پروتئین ساختار کروی خود را از دست داده و باز می شود. همچنین تعداد پیوندهای هیدروژنی در آمیلویید بتا پپتید، در حضور یون فلزی کمتر از در غیاب آن می باشد که تمامی این یافته‌ها دلیل محکمی بر پایداری کمتر ساختار پروتئین در حضور یون فلزی روی و تجزیه آن در مغز و ممانعت از رسوبدهی آمیلویید بتا پپتید و در نتیجه به تاخیر افتادن بیماری آلزایمر خواهد شد.*

واژگان کلیدی: *آمیلوئید بتا پپتید، بیماری آلزایمر، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، انحراف جذر مربع میانگین، تحلیل ساختار دوم پروتئین، شعاع ژیراسیون.*

مقدمه

بیماری آلزایمر (AD: Alzheimer Disease)، متداول‌ترین و پیش‌رونده‌ترین بیماری تحلیل برنده عصب می‌باشد که در حال حاضر هیچ‌گونه درمان دارویی برای آن وجود ندارد. از جمله نشانه‌های مورفولوژی این بیماری وجود پلاک‌های آمیلوییدی خارج سلولی و رشته‌های عصبی درهم پیچیده درون سلولی است (۱). پلاک‌ها همان پروتئین تجمع پیدا کرده‌اند که اساسا از پپتیدی به نام آمیلویید بتا (Aβ) تشکیل شده‌اند (۲،۳). از نظر بیوشیمی، پروتئین آمیلویید بتا در حالت عادی محلول و با وزن مولکولی ۴/۳ کیلو دالتون در مغز انسان یافت می‌شود(۳،۴). این پروتئین حاوی ۴۳-۳۹ آمینواسید است که به فرم دو ایزومر (۴۰-۱) Aβ و (۴۲-۱) Aβ وجود دارد. فرم (۴۰-۱) Aβ قابلیت انحلال بیشتری دارد، درحالی که فرم (۴۲-۱)Aβ سمی‌تر است و بیشتر در پلاک-های آمیلوییدی تجمع یافته در مغز افراد مبتلا به این بیماری یافت می‌شود (۵،۶). در غلظت‌های بالا (بالاتر از میلی مولار)، در این پروتئین یون‌های فلزی مس، روی و آهن یافت می‌شود (۹-۷). از بین یون‌های فلزی مختلف، یون روی بیشترین

آدرس نویسنده مسئول: گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، گروه شیمی، دکتر الهام تازیکه لمسکی (**email**: elham_tazike@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۳/۱۱/۲۹
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۴/۲/۷

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-20]

مقدار (بالای یک میلی مولار) را در این پلاک‌ها به خود اختصاص داده است (۷). یون روی در سیناپس‌های مغز در طی انتقال سیگنال عصبی به مقدار حدودا ۲۰۰ تا ۳۰۰ میکرومولار آزاد می‌شود (۱۰). محل اتصال یون‌های فلزی اعم از مس و روی در ۱۶ رزیدجوی اول (۴۰-۱) Aβ دیده شده است. به همین دلیل، مطالعات طیف سنجی بیشتر بر روی ساختار (۱۶-۱) Aβ که ساختار کریستالوگرافی آن با کمک طیف سنجی NMR و پرتو ایکس مورد تایید بوده، انجام گرفته است (۱۱،۱۲). همچنین اتصال یون‌های روی و مس (II) و آهن (II) بر آمیلوئید بتاپپتید به کمک تکنیک فلوئورسانس بررسی شد و به این نتیجه رسیدند که میل ترکیبی یون فلزی مس با پپتید مذکور بیش تر از یون‌های فلزی روی و آهن است (۱۳). ساختار محتمل کمپلکس یون روی به آمیلویید بتا پپتید، در سایت پیوندی شامل هیستیدین ۶، هیستیدین ۱۳، هیستیدین ۱۴ و گلوتامیک اسید ۱۱ که فایل pdb آن توسط NMR تایید شده است، در فایل (1ZE9) قابل دسترسی است (۱۴). امروزه تکنیک‌های فراوانی بر اساس ترکیبی از روش‌های مکانیک کوانتومی و مکانیک مولکولی (QM/MM) (۱۵) و همچنین استفاده روزافزون از میادین نیرو (۱۶) برای بررسی میزان گرایش و تاثیر یون‌های فلزی و لیگاندهای مختلف بر پروتئین آمیلویید بتا در حال انجام است. اولین شبیه سازی دینامیک مولکولی ماکرومولکول‌ها بر روی پروتئینی به نام (BPTI: Bovine Pancreatic Trypsin Inhibitor) انجام شد (۱۷). شبیه‌سازی دینامیک مولکولی ساختارهای اولیه و ثانویه آمیلوئید بتا (۴۲-۱) در بیماری آلزایمر بررسی و ۳ منطقه اصلی آمیلوئید بتا محلول یافت شد (۱۸). مطالعات شبیه‌سازی دینامیک مولکولی بر روی دیمریزاسیون پروتئین آمیلوئید بتا مورد بررسی قرار گرفت. در این روش از متد Coarse-grained استفاده شد. در این مطالعه، انرژی‌های آزاد برای تمامی صورت بندی‌های آمیلوئید بتا مورد ارزیابی قرار گرفت و همچنین تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین انرژی‌های آزاد آمیلوئید بتا (۴۲-۱) و آمیلوئید بتا (۴۰-۱) دیده نشد (۱۹).

چندین فرضیه در حال رقابت وجود دارند که در حال تلاش برای بیان علت بیماری آلزایمر هستند. از قدیمی‌ترین فرضیه، که پیشنهاد می‌کند بیماری آلزایمر به علت کاهش ساخت استیل کولین انتقال دهنده یا پیام رسان عصبی ایجاد می‌شود تا فرضیه آمیلوئیدی که نتیجه‌گیری می‌کند رسوبات آمیلوئید بتا علت اساسی این بیماری می‌باشند و سپس این تئوری که یکی از هم خانواده‌های نزدیک پروتئین آمیلوئید بتا، و نه لزوما خود آمیلوئید بتا، ممکن است عامل اصلی در این بیماری باشد، همگی ما را بر آن می دارد که مطالعه بیوشیمی دقیق‌تری بر ساختار آمیلوییید بتا پپتید و عوامل موثر بر (نا)پایداری آن، موثر در بروز بیماری آلزایمر داشته باشیم.

مطالعه بر همکنش آمیلوئید بتا پپتید با فلزات و کی‌لیت شدن آن‌ها نشان می‌دهد که فلزاتی نظیر مس، روی و آهن که در سیناپس‌های مغزی به وفور یافت می‌شوند در رسوب‌گذاری آمیلوئید بتا ایفای نقش می‌کنند و داروهای با مشخصه کی‌لیت‌ساز فلزی می‌توانند نقش چشم‌گیری در رسوب‌گذاری پلاک‌های آمیلوئیدی در مغز انسان داشته باشند (۲۰). برهمکنش یون‌های روی (+۲) و مس (+۲) با آمیلوئید بتا پپتید در بروز بیماری آلزایمر و سهم آن‌ها در رشته‌ای شدن و سمی بودن پروتئین مذکور در سال ۲۰۱۱ ارائه گردید و شواهد نشان می‌دهد که اتصال این فلزات زیستی با آمیلوئید بتاپپتید در رشته‌ای شدن و در نتیجه رسوب‌دهی آن اثر می‌گذارند (۲۱). به عبارت بهتر، حضور این یون‌های فلزی، پروتئین را از حالت فولدینگ خود خارج می‌کنند. همان طور که می‌دانیم فولدینگ پروتئین‌ها، فرایندی است که طی آن ترادف خطی اسیدهای آمینه یک زنجیره پلی‌پپتیدی، ویژگی‌های ساختاری جهت تبدیل شدن به یک پروتئین فعال را کسب می‌کند، رسیدن به ساختار فعال سبب می‌شود که پروتئین‌ها از نظر سطح انرژی به حالت پایدار برسند (۲۲). همان طور که از مطالعات پیشین بر می‌آید، اتصال مس (+۲) به آمیلویید بتا پپتید به ناپایداری کمپلکس تشکیل شده انجامیده و پروتئین مذکور در مغز آزاد می‌شود، به طوری که در حضور غلظت‌های کمی از یون فلزی مس (در حدود میکرومولار) پروتئین ناپایدار و در غلظت‌های بالاتر (در حدود میلی مولار) به طور چشم‌گیری ناپایدارتر شده و در مغز رسوب کرده که این به نفع مبتلایان به این بیماری نخواهد بود (۲۳). در این مطالعه، ما از شبیه سازی دینامیک مولکولی (MD) برای فراهم آوردن دیدگاه جدید دیگری در بررسی برهمکنش یون فلزی با پپتید مذکور استفاده خواهیم کرد.

مواد و روشها

شبیه‌سازی دینامیک مولکولی کمپلکس مورد مطالعه با استفاده از نرم افزار Gromacs 4.6.1 و میدان نیروی Amber03 و برای حلال آب، از مدل SPC216 استفاده شد.

برای انجام شبیه سازی در مراحل خنثی سازی سیستم و حداقل رسانی انرژی از الگوریتم تندترین کاهش (steep = steepest

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-20]

decsent minization) برای انتگرال‌گیری در ۵۰،۰۰۰ مرحله استفاده شد. سپس مراحل تعادل رسانی با کمک هنگردهای NVT و NPT با کمک الگوریتم leap – frog جهت انتگرال‌گیری به اندازه ۵۰۰،۰۰۰ مرحله انجام گرفت. پیکربندی سیستم هر ۰/۲ پیکو ثانیه ذخیره شد. مقیدسازی بر روی تمام پیوندها صورت گرفت. مرحله نمونه برداری اصلی با کمک هنگرد NPT به مدت ۳۰ نانو ثانیه انجام گرفت. برای ثابت نگه داشتن دما و فشار سیستم به ترتیب در ۳۰۰کلوین و ۱ بار از ترموستات V-rescale و باروستات پارنیلو – رحمان استفاده شد. مقید کردن طول پیوندهای شامل اتم هیدروژن با استفاده از الگوریتم lincs انجام گرفت. برای برهم‌کنش‌های بلند- برد الکترواستاتیکی به ترتیب از شعاع قطع یک نانومتر (1nm) و روش PME (Particle Mesh Ewald) استفاده شد. انتگرال‌گیری از معادلات حرکت نیوتنی با استفاده از روش نیم گام جهشی و با گام زمانی ۲ فمتو ثانیه (fs) انجام شد. مسیرهای ذخیره شده در شبیه سازی برای تجزیه و تحلیل پارامترهای ساختاری کمپلکس ها مورد استفاده قرار گرفت.

برای تهیه ساختار اولیه از سایت RCSB (www.RCSB.org)، فایل مورد تأیید با کمک NMR و اشعه X به نام 1ZE9 به صورت pdb (Protein Data Bank) استفاده شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، با کمک آنالیزهای صورت گرفته توسط نرم افزار محاسبات دینامیک مولکولی اعم از بررسی تغییرات شعاع ژیراسیون، محاسبه تعداد پیوندهای تشکیل شده و از همه مهم‌تر بررسی تغییرات محتوی ساختار دوم پروتئین قبل و بعد از اتصال یون فلزی روی، شاهد تغییرات قابل ملاحظه‌ای در ساختار پروتئین مذکور و در نتیجه در نوع عملکرد آن بودیم که در ادامه به توضیح بیشتر خواهیم پرداخت.

بحث

الف. تجزیه و تحلیل ساختاری و پایداری شبیه سازی

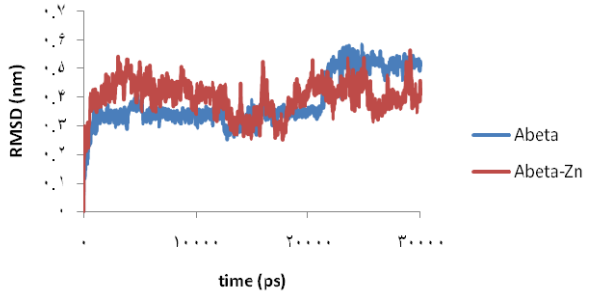
۱. انحراف جذر مربع میانگین (RMSD=Root mean (square deviation

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}\left(x_i - y_i\right)^2}$$

رابطه (۱)

مختصات همان اتم در ساخت مرجع (فایل pdb) Y_i =
مختصات هر یک از اتم ها x_i=

در RMSD، میانگین‌گیری بر روی کل ذرات به ازای هر لحظه (زمان) انجام می‌گردد. برای مقایسه پایداری کمپلکس در حضور (RMSD=۰/۴) و عدم حضور (RMSD=۰/۳۸) یون فلزی روی، مقادیر RMSD در برابر زمان برای اتم های کربن آلفای پروتئین، محاسبه و در نمودار ۱ رسم شده است. هر چه مقدار عددی آن کم‌تر باشد یعنی سیستم شبیه سازی شده، پایداری بیشتری دارد (برای پروتئین‌ها میزان افت و خیز ۰/۳ تا ۰/۶ قابل قبول است). مطابق نمودار ۱، یون فلزی روی باعث تغییرات ساختاری در آمیلوئید بتا پپتید شده و همان طور که می‌بینیم، به‌خصوص در ابتدای شبیه سازی، با افزایش انحراف از ساختار اولیه، شاهد ناپایداری ساختار پپتید مذکور در حضور این یون فلزی خواهیم بود.



نمودار ۱. نمودار RMSD برای کربن‌های آلفای پروتئین در حضور (Abeta-Zn) و در عدم حضور(Abeta) یون فلزی روی

۲. جذر مربع میانگین افت و خیزها (RMSF=Root mean (square flactuation

$$RMSF = \sqrt{\frac{1}{T}\sum_{t_j=1}^{T}\left(\alpha_i(t_j) - \tilde{X}_i\right)^2}$$

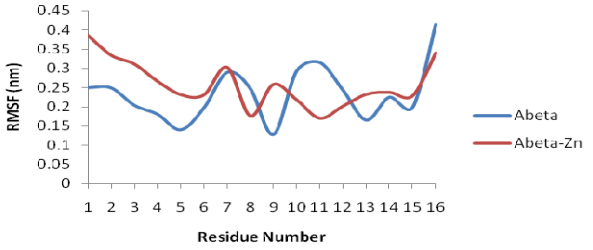
رابطه (۲)

متوسط زمانی موقعیت ذره i= $\tilde{X}_i$ و موقعیت ذره i = α_i

از آنجایی که RMSD پارامتر مناسبی برای انعکاس میزان تحرک عناصر ساختاری نیست، از اُفت و خیز جذر میانگین مربع افت و خیزها (RMSF) برای بررسی میزان انعطاف پذیری ساختار استفاده می‌شود. درنمودار RMSF، میانگین گیری بر روی کل زمان به ازای هر ذره (رزید جو) انجام می‌گیرد. همان طور که از نمودار ۲ پیداست، میزان افت و خیزها در انتهای پپتید (N-terminal) و (C-terminal) بیش‌تر است که این مساله طبق انتظار ما است، ولی در قسمت میانی میزان انعطاف پذیری پپتید کم خواهد شد (در اثر اتصال با یون فلزی روی). در مجموع، با اتصال یون فلزی روی به پپتید

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-20]

مذکور، میزان متوسط انعطاف پذیری پروتئین افزایش می‌یابد (۰/۲۳ در برابر ۰/۲۵).



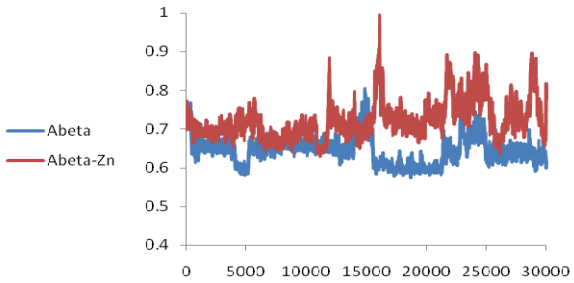
نمودار ۲. نمودارRMSF برای backbone پروتئین در حضور (Abeta-Zn) ودر عدم حضور (Abeta) یون فلزی روی

۳. شعاع ژیراسیون (Rg = Radius of gyration)

رابطه (۳): فاصله هر اتم نسبت به مرکز جرم آن = r_i

$$Rg = \sqrt{\frac{\sum m_i r_i}{\sum m_i}}$$

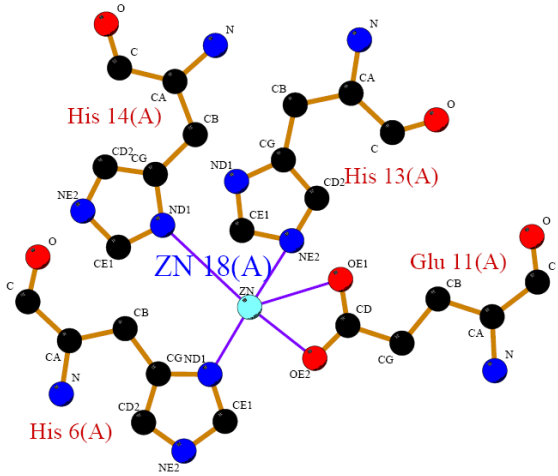
از آنجایی که در پروتئین‌ها تعیین فاصله نسبی هر اتم تا مرکز جرم پروتئین به راحتی امکان‌پذیر نیست، از فاکتور شعاع ژیراسیون برای این منظور استفاده می‌شود که معیار مناسبی برای folding یا unfolding پروتئین‌هاست، به طوری که هرچه میزان این r_i کوچک‌تر باشد، سیستم کروی‌تر و fold‌تر است و هر چه r_i بزرگ‌تر باشد، سیستم بازتر و از حالت fold به unfold تبدیل می‌شود. همان طور که از نمودار ۳ پیداست با اتصال یون فلزی روی به پپتید مذکور، شعاع ژیراسیون روند افزایشی‌تر (۰/۷۲ در برابر ۰/۶۴) و از آنجا سیستم بازتر خواهد شد و از حالت کروی در می‌آید (unfold) که خود دلیل دیگری بر ناپایدارتر شدن ساختار آمیلوییدبتا پپتید در حضور غلظت مشخصی از یون فلزی روی است.



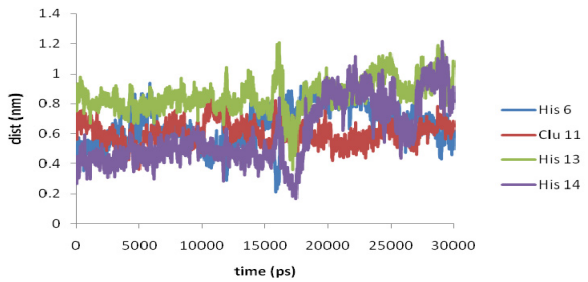
نمودار ۳. نمودارشعاع ژیراسیون در دو حالت، در حضور (Abeta-Zn) ودر عدم حضور (Abeta) یون فلزی روی

۴. آنالیز فاصله (Dist)

طبق شکل ۱، در طول شبیه سازی نحوه اتصال یون فلزی روی با سایت پیوندی در آمیلوییدبتا پپتید مورد بررسی قرار گرفت. همان طور که از نمودار ۴ پیداست، مطابق با نتایج تجربی، در این مطالعه نیز نزدیک شدن یون فلزی روی به رزیدجوهای (His6،Glu11،His13 و His14) قابل مشاهده بود و در طول شبیه سازی فاصله یون فلزی روی از هرکدام از رزیدجوهای تشکیل دهنده سایت فعال پیوندی (Active Site) مورد بررسی قرار گرفتند و دیده شد که در بهترین حالت ممکن در ساختار هندسی تتراهدرال، فاصله یون فلزی روی از هر کدام از رزیدجوهای هیستیدین۶ (۰/۶۵ نانومتر)، گلوتامیک اسید ۱۱ (۰/۶۰ نانومتر)، هیستیدین ۱۳ (۰/۸۶ نانومتر) و هیستیدین ۱۴ (۰/۶۰ نانومتر) شده و با آنها اتصال برقرار می‌کند.



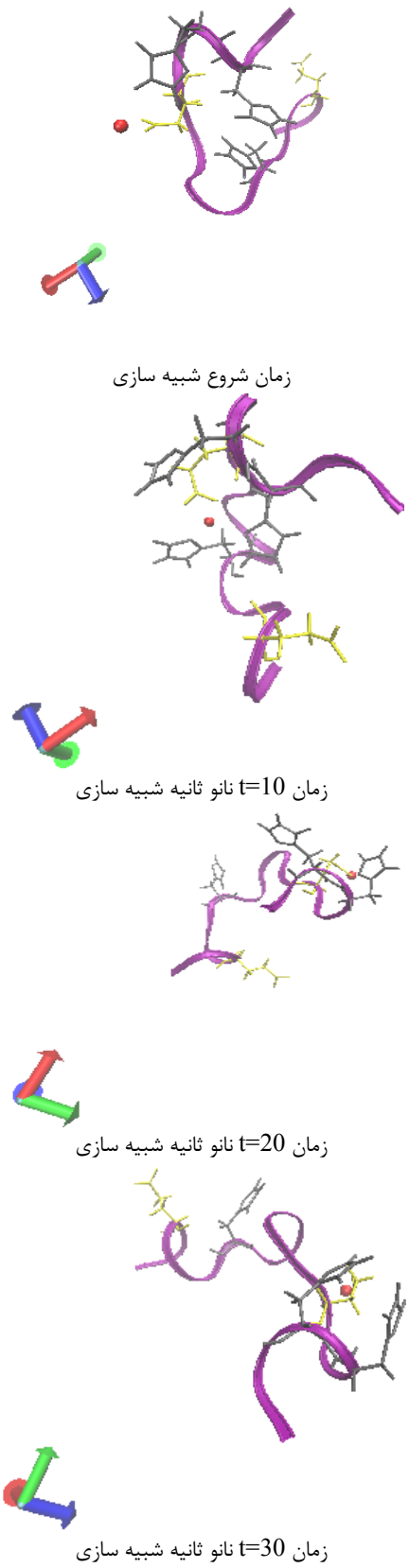
شکل ۱. نمایش سایت فعال پیوندی در آمیلوییدبتا پپتید در اتصال با یون فلزی روی (http://www.ebi.ac.uk)



نمودار ۴.: نمودار فاصله متوسط رزیدجوهای متصل به یون فلزی روی در محل سایت پیوندی موجود در پروتیین آمیلوییدبتا در طول زمان شبیه سازی

در طول زمان شبیه سازی، هر یک از مراحل با استفاده از نرم افزار VMD (Visual Molecular Dynamics) قابل مشاهده خواهد بود (شکل ۲).

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-20]



شکل ۲. تصاویر گرفته شده در چهار زمان منتخب از کل شبیه سازی با کمک برنامه VMD

ب. آنالیز پیوند های هیدروژنی

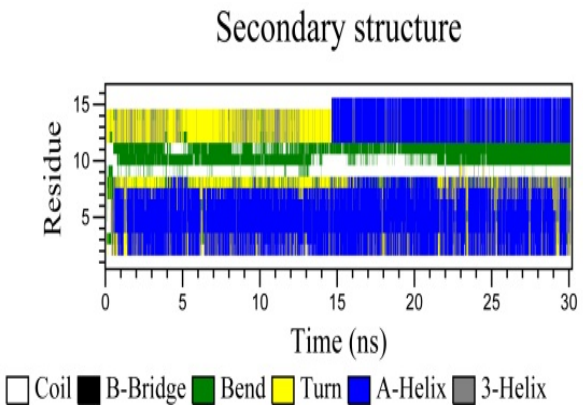
مطابق جدول ۱، تعداد پیوندهای هیدروژنی تشکیل شده در غیاب یون فلزی روی و در حضور آن تخمین زده شد و این کاهش تعداد (۷ در برابر ۱۰)، نشان دهنده ناپایدارتر شدن پروتئین در اثر اتصال با یون فلزی روی می‌باشد، زیرا واضح است که تشکیل پیوند هیدروژنی یکی از نشانه های تقویت پیوند و پایدارشدن هر ساختارشیمیایی است.

جدول ۱. تعداد پیوندهای هیدروژنی موجود در ساختار آمیلویید بتاپپتید در حضور/ غیاب یون فلزی روی

		Amyloid Beta	Amyloid Beta -Zn^{2+}
Hydrogen-Bond	Numbers	10	7

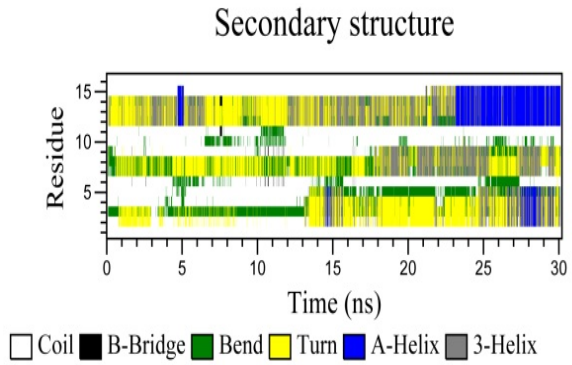
ج. تحلیل ساختار دوم پروتئین

یکی دیگر از قابلیت‌های مهم نرم افزار گرومکس، تحلیل ساختار دوم پروتئین با استفاده از الگوریتم DSSP (Dictionary of the secondary structure of protein) است (۲۴). در واقع، پیش‌گویی ساختار دوم پروتئین، پیش‌گویی موقعیت ساختاری هر باقیمانده در توالی پروتئینی در سه فرم ممکن مارپیچ، رشته و پیچ است. پیش‌گویی براساس این واقعیت استوار است که ساختارهای دوم دارای آرایش منظمی از اسیدهای آمینه می‌باشند که با الگوهای پیوند هیدروژنی پایدار می‌شوند. منظم و مرتب بودن ساختار، اساس اصلی الگوریتم های پیش‌گویی کننده است. شکل برای دو حالت، در غیاب یون فلزی روی (شکل ۳) و در حضور یون فلزی روی (شکل ۴) قابل مشاهده است. با آنالیز داده‌ها، شاهد بودیم که محتوای مارپیچ آلفای پپتید مذکور (جزء اصلی سازنده ساختار دوم پروتئین) در حضور یون فلزی روی، کاهش چشم‌گیری پیدا می‌کند که این خود دلیل محکم دیگری بر ناپایدارتر شدن ساختار پروتئین و عدم تجمع یا رسوب‌دهی آن در مغز بعد از اتصال با یون فلزی روی می‌باشد.



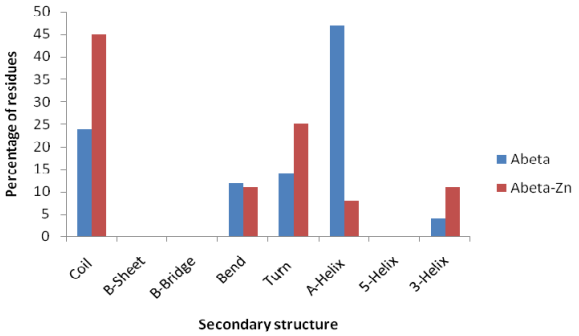
شکل ۳. آمیلوئید بتا پپتید درعدم حضور (Abeta) یون فلزی روی

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-20]



شکل ۴. آمیلوئید بتا پپتید در حضور (Abeta-Zn) یون فلزی روی

با کمک الگوریتم DSSP می‌توان درصد احتمال حضور و یا عدم حضور ساختارهای مختلف موجود در پروتئین را در طول زمان کل شبیه سازی محاسبه نمود (جدول ۱). متناظر آن در نمودار ۵، محور افقی، محتوی انواع ساختارهای محتمل پروتئین را نشان می‌دهد که شامل ساختارهای Coil و β-sheet و β-Bridge است. همان طور که مشاهده می‌شود درصد ساختار Coil در حضور یون فلزی بیشتر شده و درصد احتمال تشکیل β-sheet و β-Bridge و Helix- ۵ در هر دو حالت وجود ندارد و ساختار α- هلیکس که جزء بسیار مهمی در ساختار دوم پروتئین است، در حضور یون فلزی روی بسیارکمتر شده است که خود دلیلی واضح بر ناپایدارتر شدن یا ازهم پاشیدگی ساختار پروتئین آمیلویید بتا در حضور یون فلزی روی خواهد بود.



نمودار ۵. درصد احتمال تشکیل ساختارهای مختلف پروتئینی در آمیلویید بتا پپتید در حضور (Abeta-Zn) ودر عدم حضور (Abeta) یون فلزی روی

از آنجایی که طبق الگوریتم DSSP مجموع (Alpha-Helix + Beta-Bridge + Turn) به عنوان Structure تعریف می‌شود، بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که آمیلویید بتا پپتید در حضور یون فلزی روی، بی ساختار (Structureless) شده است (۳۳٪ در حضور یون فلزی در برابر ۶۱٪ در عدم حضور یون فلزی).

جدول ۲. مقادیر عددی درصد احتمال حضور ساختارهای مختلف پروتئینی در آمیلویید بتا پپتید در حضور (Abeta-Zn) ودر عدم حضور (Abeta) یون فلزی روی

Percentage of secondary structure	Amyloid Beta	Amyloid Beta -Zn^{2+}
Coil	24	45
Bend	12	11
Turn	14	25
A-Helix	47	8
3-Helix	4	11
Structure= A-Helix+B-Bridge+Turn	61	33

جمع‌بندی کلی بعد ازانجام آنالیزهای فوق و همچنین با مقایسه نمودارهای حاصله، از جمله افزایش انحراف جذر مربع میانگین از ساختار اولیه (PDB) و متعاقب آن افزایش در میزان شعاع ژیراسیون، قابل مشاهده به ترتیب در نمودارهای ۱و ۳، با نزدیک ترشدن هرچه بیشتر یون فلزی در جایگاه اتصال خود بر روی پروتئین در طول شبیه سازی شاهد ناپایداری هرچه بیشتر و از حالت کروی خارج شدن (unfold) ساختار پروتئین در حضور یون فلزی خواهیم بود و به موازات آن، در تایید هرچه بیشتر این موضوع طبق شکل‌های ۳ و ۴ و همین طور برآورد عددی آن شکل‌ها در نمودار ۵ و جدول ۲ شاهد کاهش چشم‌گیری در محتوای ساختار مارپیچ آلفا (یکی از اجزای اصلی تشکیل دهنده ساختار دوم پروتئین‌ها و افزایش در محتوای ساختارهای دیگر بودیم که همگی حاکی از ناپایدارترشدن و بی ساختارترشدن پپتید مذکور در حضور غلظت‌های کم این فلز زیستی بوده است. در مجموع تمامی آنالیزها و نمودارهای حاصله به موازات هم و در تایید هم به یک نتیجه رسیدند. قابل ذکر است نمودارهایی چون آنالیز فاصله (نمودار ۴) و همینطور شکل‌های به دست آمده با کمک نرم افزار VMD (شکل ۲) صرفا برای نشان دادن نزدیک‌تر شدن هرچه بیشتر یون فلزی روی به جایگاه اتصال خود و برقراری پیوند با رزیدوهای تشکیل دهنده جایگاه اتصال در طول شبیه سازی و صحت انجام شبیه‌سازی می‌باشد.

در ادامه بحث می‌توان با علم به پدیده فولدینگ در پروتئینها، به تفسیر هرچه بهتر نقش یون فلزی روی بر ساختار و عملکرد آمیلویید بتاپپتید و در نتیجه نقش آن در بروز و یا به تاخیر انداختن بیماری آلزایمر پرداخت. طبق پدیده فولدینگ در پروتئین‌ها می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که یون فلزی روی، آمیلویید بتا پپتید را از حالت فولدینگ خود خارج کرده و به صورت رشته‌ای در می‌آورد که در این بیماری، هر عاملی

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-20]

که پروتئین مذکور را از حالت فولد به میس‌فولد در آورد، به نفع بیمار مبتلا خواهد بود. بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که اتصال یون فلزی روی (Zn^{+2}) به آمیلویید بتا پپتید، مانع از پدیده تجمع یا رسوب دهی پروتئین در مغز انسان خواهد شد. پرواضح است، هر عاملی که مانع از رسوب دهی آمیلوئید بتا در مغز انسان شود، احتمالا بیماری آلزایمر را به تاخیر خواهد انداخت. نتایج حاضر همگی در توافق با نتایج قبلی می‌باشد که بیان می‌کنند، یون فلزی روی نقش دوجانبه‌ای در اتصال با آمیلویید بتا پپتید بازی می‌کند. بدین صورت که این فلز زیستی هم نقش تضعیف کننده اعصاب و هم تقویت کننده اعصاب را خواهد داشت. در بررسی‌های مختلف نشان داده شده است که در غلظت‌های پایین از این فلز زیستی، یون فلزی روی نقش محافظ رشته‌های عصبی و در غلظت‌های بالایی از آن، نقش تضعیف و تخریب رشته‌های عصبی را خواهد داشت که این نتایج در توافق با نتایج حاضر است که نشان داده است که در غلظت‌های پایین یون فلزی روی، پدیده تجمع و یا رسوب‌دهی آمیلویید بتا در مغز وجود ندارد و مانع از بروز بیماری خواهد شد. همین‌طوردر مطالعات پیشین، درحضور غلظت‌های بالایی از این یون فلزی، پدیده تجمع آمیلویید بتا در مغز وجود داشته و منجر به بروز بیماری خواهد شد (۲۵). چنین نتیجه‌ای از اینجا نشات می‌گیرد که در غلظت‌های بالایی از یون فلزی روی، این یون به علت شکل هندسی خاصی (تتراهدرال) که با آمیلویید بتا پپتید برقرار می‌کند، پدیده دیمریزاسیون را در این پروتئین تقویت می‌کند و از آنجایی که تشکیل دیمر اولین گام تشکیل رسوب در پروتئین‌هاست (۲۶)، بنابراین در حضور غلظت‌های بالایی از این فلز زیستی، پروتئین در مغز رسوب کرده که به نفع مبتلایان به این بیماری نخواهد بود.

در این مطالعه به نقش یون فلزی روی (در حدود غلظتی یک میلی مولار) بر ساختار و عملکرد آمیلویید بتا پپتید در سطح مولکولی و در شرایط شبیه سازی ذکر شده (دمای ۳۰۰ درجه کلوین و فشار یک بار و pH=۷) پرداخته شد. با توجه به آنالیزهای انجام گرفته، همچون بررسی و تایید صحت انجام شبیه سازی (RMSD,RMSF) و همچنین افزایش شعاع ژیراسیون (Rg) و از طرفی کاهش تعداد پیوندهای هیدروژنی در ساختار کمپلکس پروتئین- یون فلزی و از همه مهم‌تر، بی‌ساختار شدن (Structureless) شدن پپتید مذکور در نتیجه کاهش محتوی ساختار آلفا هلیکس و افزایش ساختارهایی چون Coil, Bend, Turn، در حضور غلظت‌های پایینی از این یون فلزی، شاهد متلاشی شدن ساختار پلاک‌های آمیلوییدی در مغز و در نتیجه به تاخیر افتادن بیماری آلزایمر بودیم.

چنین نتایجی می‌توانند در اختیار صنعت داروسازی و سایر محققین در رشته‌های مرتبط علم پزشکی جهت چگونگی قراردادن این فلز زیستی در رژیم غذایی بشر به بهترین نحو ممکن قرار بگیرد. امید است با انجام بررسی‌های بیشتر در آینده‌ای نزدیک بتوان به طراحی مناسبی برای بهینه‌سازی مصرف دوز مناسب این فلز زیستی در رژیم غذایی و یا مکمل‌های دارویی دست یافت.

تشکروقدردانی

این بررسی با حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان و همچنین مشاوره علمی ریاست مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه تهران، جناب آقای دکتر علی اکبر صبوری به انجام رسید.

REFERENCES

1.Selkoe DJ. Alzheimer's disease is a synaptic failure. Science 2002; 298: 289-91.

2.Glenner GG, Wong CW. Alzheimer s disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. Biochem Biophys Res Commun 1984; 120: 885-90.

3.Masters CL, Simms G, Weinman NA, Multhaup G, McDonald K, Beyreuther BL. Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. Proc Acad Sci U. S. A. 1985; 82: 4245-49.

4.Roher AE, Chaney MO, Kuo YM, Webster SD, Stine WB, Haverkamp LJ, et al. Morphology and toxicity of Abeta-(1-42) dimer derived from neuritic and vascular amyloid deposits of Alzheimer's disease. J Biol Chem 1996; 271: 20631-35.

5. Shoji M, Golde TE, Ghiso J, Cheung TT, Estus S, Shaffer LM, et al. Production of the Alzheimer amyloid beta protein by normal proteolytic processing. Science 1992; 258: 126-29.

6.Vigo-Pelfrey C, Lee D, Keim P, Lieberburg I, Schenk DB. Characterization of beta-amyloid peptide from human cerebrospinal fluid. Neurochem 1993; 61: 1965-68.

7. Lovell MA, Robertson JD, Teesdale WJ, Campbell JL, Markesbery WR. Copper, iron and zinc in Alzheimer s disease senile plaques. Neurol Sci 1998; 158: 47-52.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-20]

8. Li F, Calingasan NY, Yu F, Mauck WM, Toidze M, Almeida CG, et al. Increased plaque burden in brains of APP mutant MnSOD heterozygous knockout mice. Neurochem 2004; 89: 1308-12.

9.Miller LM, Wang Q,Telivala TP, Smith RJ, Lanzirotti A, Miklossy J. Synchroton-based infrared and x-ray imaging shows focalized accumulation of Cu and Zn co-localized with Beta-amyloid deposites in Alzheimer s disease. J Struct Biol 2006; 155: 30-37.

10.Frederickson CJ. Neurobiology of zinc and zinc-containing neurons. Int Rev Neurobiol 1989;31145-238.

11.Danielsson J, Pierattelli R, Banci L, Graslund A. High-resolution NMR studies of the zinc-binding site of the Alzheimer's amyloid β-peptide. FEBS J 2007; 274: 46-59.

12.Minicozzi V, Stellato F, Comai M, Dalla Serra M, Potrich C, Meyer-Klaucke W, Morante S. Identifying the minimal copper- and zinc-binding site sequence in amyloid-β peptides. J Biol Chem 2008; 283: 10784-92.

13.Garzon-Rodriguez W, Yatsimirsky AK, Glabe CG. Binding of Zn(II), Cu(II), and Fe(II) ions to Alzheimer's A beta peptide studied by fluorescence. Bioorg Med Chem Lett 1999; 29: 2243-48.

14.Zirah S, Kozin SA, Mazur AK, Blond A,Cheminant M, Segalas-Milazzo I, et al. Structural changes of region 1-16 of the Alzheimer disease amyloid beta-peptide upon zinc binding and in vitro aging. J Biol Chem 2006; 281: 2151-61.

15.Senn HM, Thiel W. QM/MM methods for biomolecular systems. Angew Chem 2009; 48: 1198-29.

16.Gresh N, Cisneros A, Darden TA, Piquemal JP. Anisotropic, polarizable molecular mechanics studies of inter-and intramolecular interactions, and ligand-macromolecule complexes. A bottom-up strategy. J Chem Theory Comput 2007; 3:1960-86.

17.McClarin J A, Frederick C A, Wang BC, Greene P, Boyer HW, Grable J, Rosenberg JM. Structure of the DNA-Eco RI endonuclease recognition complex at 3. A resolution. Science 1986; 234: 1526.

18.Mager PP. Molecular simulation of the primary and secondary structures of the Abeta(1-42)-peptide of Alzheimer's disease. Med Res Rev 1998; 18: 403-30.

19.Kowalik-Jankowska T, Ruta M · Wiśniewska K· Lankiewicz L. Coordination abilities of the 1–16 and 1–28 fragments of beta-amyloid peptide towards copper(II) ions: a combined potentiometric and spectroscopic study. Biophysical Journal 2004;87: 2310-32.

20.Cuajungco MP, Cuajungco MP, Frederickson CJ, Bush AL. Amyloid-beta metal interaction and metal chelation. Subcell Biochem 2005; 38: 235-54.

21. Tougu V, Rauk A. Interactions of Zn(II) and Cu(II) ions with Alzheimer's amyloid-beta peptide. Metal ion binding, contribution to fibrillization and toxicity. Metallomics 2011; 3: 250-61.

22. Walter S, Buchner J. Molecular chaperones— cellular machines for protein folding. Angew Chem 2002; 41: 1098-113.

23. Rezaei Behbehani G, Barzegar L, Mohebbian M, Saboury AA. A comparative interaction between copper ions with Alzheimer's β-amyloid peptide and human serum albumin. Bioinorganic Chemistry and Application 2012;2012.

24. Kabsch W, Sander C. Dictionary of protein secondary structure: pattern recognition of hydrogen-bonded and geometrical features. Biopolymers 1983;22: 2577-637.

25. Francis H, Leonenko Z. Effect of metals on kinetic pathways of amyloid-β aggregation. Biomolecules 2014: 4: 101-16.

26. Kozin SA, Mezentsev YV, Kulikova AA, Indeykina MI, Golovin AV, Ivanov AS, et al. Zinc-induced dimerization of the amyloid-β metal-binding domain 1-16 is mediated by residues 11-14. Mol Biosys 2011:7:1053-55.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-20]