پایداری ساختار پروتئین در مخلوط مایع یونی–آب: مطالعه ی شبیه سازی دینامیک مولکولی

Institute for Advanced Studies in Basic Sciences
Gava Zang, Zanjan, Iran

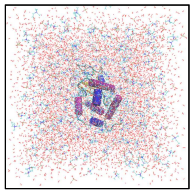
ترابی، سیدمحمد؛ کوثری، محمدحسین
گروه شیمی فیزیک، دانشکده شیمی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه زنجان

مقدمه

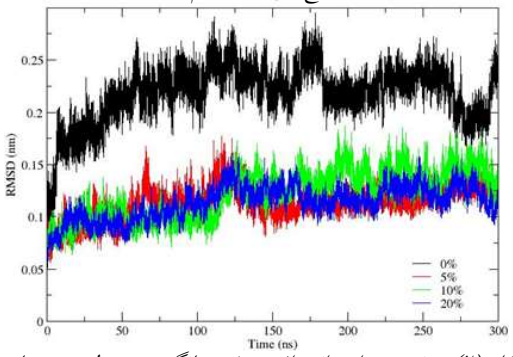
درک افزایش پایداری و فعالیت آنزیم ها و پروتئین ها در حضور حلال های آلی مناسب مورد توجه جامعه علمی بوده و توسعه حلال های سبز جایگزین مورد نظر است. اخیراً مایعات یونی (IL) به دلیل خواص فیزیکی–شیمیایی منحصربفردشان به عنوان جایگزینی برای حلال های آلی معمولی جهت نگه داری زیست مولکول ها مورد توجه قرار گرفته اند [۱]. بررسی ها نشان داده است که فعالیت بسیاری از باکتری ها و آنزیم ها در حضور مایعات یونی نه تنها حفظ، بلکه تقویت نیز می شود [۲]. با این حال هنوز مطالعات نظامند برای بررسی اثر مایعات یونی بر روی ساختارهای پروتئینی کافی نیست. در این کار ما اثر محلول آبی مایع یونی بر پایه کاتیون کولینیوم و آنیون دی هیدروژن فسفات بر روی ساختار و پایداری پروتئین لیزوزیم را بررسی کرده ایم. لیزوزیم یک پروتئین کروی با ۱۲۹ اسید آمینه است و از زمان کشف لیزوزیم توسط فلمینگ در سال ۱۹۲۲، این پروتئین به عنوان الگویی برای تحقیق در مورد ساختار و عملکرد پروتئین ها استفاده شده است.

روش

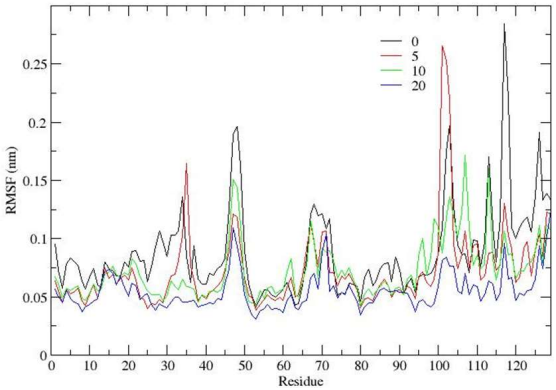
تمام شبیه سازی های دینامیک مولکولی با استفاده از نرم افزار Gromacs 5.0.4 انجام شده است. مختصات اولیه لیزوزیم از بانک اطلاعات پروتئین RCSB با نام PDB1AKI گرفته شده است. پارامترهای میدان نیرو برای پروتئین از داده های OPLS-AA بدست آمده است. یون های تشکیل دهنده مایعات یونی با استفاده از میدان نیروی CL&P توسعه داده شده توسط لوپز و پادوا و آب بر مبنای پتانسیل SPC/E، مدل سازی شدند. جعبه شبیه سازی مکعبی شامل یک پروتئین لیزوزیم در حلال آب ساخته شد و به ترتیب ۰ ، ۵ ، ۱۰ و ۲۰٪ مایع یونی نیز در این جعبه قرار گرفت. تصویر کلی از جعبه در شکل (۱) مشخص است. کمینه سازی انرژی برای مختصات اولیه جعبه های طراحی شده، انجام شد. پس از کمینه سازی انرژی، سامانه برای مدت ۲۰ نانوثانیه برای تمام غلظت ها در فشار ثابت ۱ اتمسفر و دمای ۳۰۰ کلوین به تعادل رسید. برای تجزیه و تحلیل داده ها از یک اجرای نهایی ۳۰۰ نانوثانیه ای کمک گرفته شد.



شکل (۱) تصویر کلی از جعبه شبیه سازی اولیه شامل پروتئین لیزوزیم در محلول آبی ۲۰٪ مایع یونی کولینیوم دی هیدروژن فسفات



شکل (۲) روند تغییرات انحراف ریشه میانگین مربع لیزوزیم با زمان در محلول های آبی با درصدهای مولی ۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ از مایع یونی کولینیوم دی هیدروژن فسفات



شکل (۳) روند افت و خیز ریشه میانگین مربع دنباله های آمینواسیدی لیزوزیم در محلول های آبی با درصدهای مولی ۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ از مایع یونی کولینیوم دی هیدروژن فسفات

نتایج

به منظور درک تغییرات ساختاری لیزوزیم در حضور مایعات یونی تغییرات انحراف ریشه میانگین مربع (RMSD) اتم های کربن آلفا (Cα) لیزوزیم را با در نظر گرفتن ساختار بلوری آن به عنوان مرجع محاسبه کردیم. شکل ۲ تغییر در RMSD اتم های Cα پروتئین در محیط آبی با گذشت زمان شبیه سازی را نشان می دهد. در آب خالص، مقادیر RMSD به طور قابل توجهی بیشتر از محلول آبی مایع یونی است. این نشان می دهد که ساختار پروتئین در آب خالص تمایل به بی ثباتی بیشتری نسبت به محلول آبی مایع یونی دارد. افزایش مایعات یونی منجر به پایداری بالاتر ساختار پروتئین می شود. همانطور که از مقادیر کم RMSD مشهود است، ساختار لیزوزیم در محلول ۲۰٪ مایع یونی به ساختار طبیعی پروتئین نزدیکتر است. وجود مایع یونی تأثیر بسزایی بر میزان انعطاف پذیری ساختار لیزوزیم دارد. شکل ۳ روند افت و خیز ریشه میانگین مربع (RMSF) اتم های Cα را برای دنباله های آمینواسیدی جداگانه لیزوزیم در آب خالص و در محلول شامل مایع یونی نشان می دهد. افت و خیز ساختاری لیزوزیم در آب خالص در مقایسه با محلول مایع یونی بسیار بیشتر است که نشان دهنده انعطاف پذیری بالاتر پروتئین در آب خالص نسبت به محلول آبی مایع یونی است، بنابراین، می توان پایداری آنزیم را در محلول آبی شامل مایع یونی نسبت به آب خالص بهبود داد.

تحلیل نتایج

با توجه به نتایج حاصل شده و پایداری ساختاری پروتئین، مایع یونی کولینیوم دی هیدروژن فسفات نشان داد که می تواند داوطلب مناسبی به عنوان محیط نگهداری پروتئین لیزوزیم باشد.

مراجع

[1] R. D. Rogers and K. R. Seddon; Ionic liquids - solvents of the future? *Science*, **302**, 5646 (2003) 792–793.

[2] L. Bui-Le, C. J. Clarke, A. Bröhl, A. P. S. Brogan, J. A. J. Arpino, K. M. Polizzi and J. P. Hallett; “Revealing the complexity of ionic liquid–protein interactions through a multi-technique investigation”; Commun. Chem. **3**, 55 (2020) 1-9.