

行政院國家科學委員會專題研究計畫 期中進度報告

類澱粉質纖維分子結構之固態核磁共振研究--纖維超分子 結構成長動力學之模擬(子計畫三)(2/3) 期中進度報告(精簡版)

計畫類別：整合型

計畫編號：NSC 95-2627-M-002-001-

執行期間：95年08月01日至96年07月31日

執行單位：國立臺灣大學化學系暨研究所

計畫主持人：陸駿逸

處理方式：期中報告不提供公開查詢

中 華 民 國 96年05月04日

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫
期中進度報告

纖維超分子結構成長動力學之模擬(子計畫三)(2/3)

計畫類別： 個別型計畫(跨領域研究計畫)

計畫編號：NSC 95-2627-M-002-001-

執行期間： 95 年 8 月 1 日至 96 年 7 月 31 日

計畫主持人：陸駿逸

共同主持人：

計畫參與人員：

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)：精簡報告

處理方式： 得立即公開查詢

執行單位：台大化學系

中 華 民 國 96 年 5 月 4 日

在本計劃的第一期，我們就 PrP 蛋白質的單體構形，其不同構形之特徵時間，以及其一維的週期結構進行模擬。在本期計畫中，我們就一維的週期結構進行更仔細的模擬，加入固態核磁共振所得到的一部份距離的數據為模擬的限制，希望能到較為準確的結構。模擬的序列和先前的序列不同，主要原因是要配合已有的固態核磁共振實驗所使用的序列。

目前對於狂牛症病症演進一班的猜測是生物體內本來就含有 native state 的 PrP 蛋白質稱為 PrP^C，PrP^C 在生物體內的功能尚不清楚，但在腦內以 isomer 的形式大量存在。然而基於某種不明原因，PrP^C 可以在構形上作轉變並且進一步彼此堆疊成為纖維狀的固態堆積稱為 PrP^{Sc}。本研究的對象是狂牛症蛋白質(Syrian hamster prion protein)中的一段關鍵多肽鏈稱為 PrP109-122。此段多肽鏈被認為是 PrP^C 轉變為 PrP^{Sc} 的關鍵，本身也可以在 in vitro 的條件下成長為長數微米寬數奈米的纖維。

本研究的研究工具主要是依靠電腦分子動力模擬(Molecular Dynamics Simulation)佐以固態核磁共振(Solid-State NMR)的實驗數據，試圖為 PrP109-122 建立出一個合理的分子模型，並且希望從中得到一些物理性質如：彈性係數。

關於分子模型，其中最重要的兩個問題是：beta-sheet 的堆疊屬於平行(parallel)或反平行(anti-parallel)；每一條纖維是由幾個 sheet(幾層)堆疊而成。關於第一個問題，文獻上有一個小組(Sean M. Decatur group)利用 Isotope-labeling IR 的技術證明 PrP109-122 是屬於反平行排列，並且每條 monomer 是以 Alanine117 這個位置對齊成長的；台大化學系陳振中教授小組也利用固態核磁共振的技術佐證了這一點。我們也嘗試利用電腦模擬來判斷 parallel 跟 anti-parallel 何者較為穩定，Fig. 1) 為兩種模型進行 energy minimization 的結果，分別為 a) parallel；b) anti-parallel。兩個模型皆放入兩條 PrP109-122 monomer。由於在陳振中實驗室中培養纖維的條件為 pH value=7.4，在這樣的條件下，Lysine110 以及 Histidine111 的 side chain 上應該都會帶一個正電，因此我們電腦模型中的 monomer 也是如此設定。Monomer 的初始構形為標準的 beta-sheet。Parallel 的排列為 in register；anti-parallel 的排列是以 alanine117 作對齊。MD 所使用的 force field 為 amber99，solvation model 為 GB/SA。Energy minimization 的結果是 anti-parallel model 比 parallel model 能量低 2.67Kcal/mol (5.34 Kcal/two monomers)，差不多是多了一對氫鍵的差距。從圖中也可以看出 anti-parallel model 的排列較為整齊，strand 間可以有較多的氫鍵形成。而 parallel model 由於頭部的 side chain 龐大並且帶電，傾向於彼此錯開，所以形成的氫鍵較少。

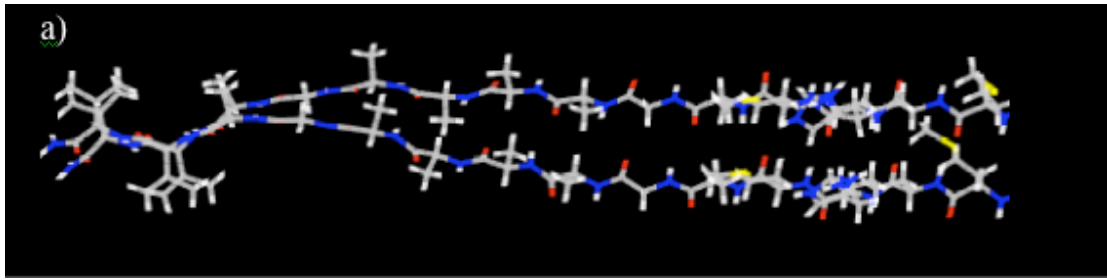


Fig.1a

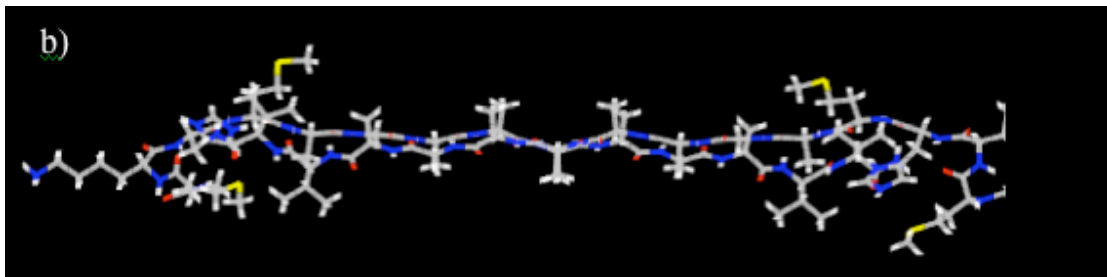


Fig. 1 比較 parallel 與 anti-parallel 模型。a)爲 parallel in register b)爲 anti -parallel 以 alanine117 對齊。

關於第二個問題，陳振中實驗室藉由 AFM image 及固態核磁共振實驗提供了重要的訊息。AFM image 中判斷 fibril 的厚度大概容許一到兩層的 sheet 堆疊。而固態核磁共振實驗判斷 monomer 之前有類似 in register 的近距離排列(約 0.6nm)。因此我們判斷兩層 anti-parallel 的 sheet 可能以 parallel in register 的方式進一步堆疊成纖維。關於這個模型可以利用電腦模擬的方式來測定其穩定度。在與 Fig. 1b)相同的條件下，我們嘗試在垂直於 beta-sheet 面的方向再加一層 in register 平行的 beta-sheet，經過 energy minimization 後發現總能量又下降了 10.64Kcal/mol。分析能量下降的來源主要是來自 inter-molecular 的作用力(主要來自凡得瓦力與水合力)，兩層 beta-sheet 靠中間的距離大約是 0.5nm 靠兩邊的距離則大約 0.7nm(見 Fig. 2)，兩層 beta-sheet 之間的距離大致符合固態核磁共振的測量。

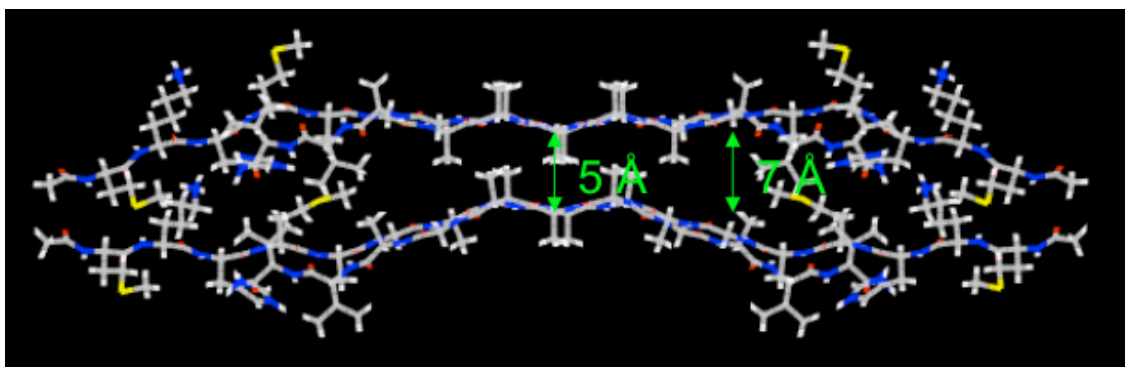


Fig. 2 四條 monomer 以兩兩一組形成 anti-parallel beta-sheet(以 alanine117 對齊)，兩片 beta-sheet 之間又以 in register 的方式平行排列，能量最低化的結果。

關於 Fig. 2 的模型我們想更進一步利用週期性邊界條件(periodic boundary condition)來模擬一條無限長的纖維並測定其在室溫下的穩定性。初始模型中每個 Unit Cell 給予八條 monomer，四四一組形成 anti-parallel beta-sheet(以 alanine117 對齊)，兩片 beta-sheet 之間又以 in register 的方式平行排列。Periodic box 的大小為(10, 6, 2.2)(nm)，其中 z 方向為纖維長度的方向，x,y 方向設定一個很大的值為了讓每條纖維間彼此不受作用力(non-bonded interaction cut off = 0.9 nm)。在週期性邊界條件下，為了不讓電荷過分累積，我們額外加入氫離子來中和電性(在 amber99 force field 的設定下，每條 monomer 帶正二價，因此加入兩個氫離子作中和)。分子動力模擬的條件為 NVT ensemble，T = 300 K，每一個 time step = 1 fs，coupling time with temperature bath = 0.1 ps。經過 x ns 後的分子動力模擬，此雙層 beta-sheet packing 的結構依然穩定，並不會分離。分子運動的過程可以很明顯看出 residue 109~112 呈現非常快速不規律的運動，113~122 則呈現穩定的 beta-sheet 結構，此現象與 Sean M. Decatur group isotope-labeling IR 的觀察符合也與陳振中實驗室固態核磁共振中觀察到的線寬相符合。

目前的模擬仍有一些技術上的問題尚待解決。其中一個問題是週期性邊界條件所引起的力矩問題。這個部分我們使用封閉邊界模擬出來的略微彎曲結構來比對週期邊界的結果是否有合理的結構。我們發現結構基本相像。但是所算出的能量仍沒有一個完整的辦法來修正。另一個問題則是經典的溶劑問題。我們預計將已有的結構加入水分子進行進一步的結構微調。由於計算量的限制，帶水的模擬將只在最小的兩條 monomer 的系統進行。我們希望能藉由這樣的模擬結果來澄清無水模擬的親水端結構是否合理。