

## مطالعه برهمکنش نانولوله کربنی دو دیواره با هورمون محرکه فولیکولی (FSH) به کمک

## شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

یاسمن محمودی<sup>۱</sup>، فرامرز مهرنژاد<sup>۱\*</sup> و خسرو خلیفه<sup>۲</sup><sup>۱</sup> ایران، تهران، دانشگاه تهران، دانشکده علوم و فنون نوین<sup>۲</sup> ایران، زنجان، دانشگاه زنجان، دانشکده علوم

تاریخ دریافت: ۹۶/۸/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۶

## چکیده

برهمکنش نانوذراتی همچون نانولوله‌های کربنی با درشت‌مولکولهای زیستی به علت کاربرد گسترده آنها در حوزه‌های مختلف از جمله شناسایی و از بین بردن سلولهای سرطانی، مهندسی بافت، بلوری کردن پروتئینها، ساخت راکتورها و همچنین حس‌گرهای زیستی اهمیت زیادی پیدا کرده است. باور بر این است که نانولوله‌های کربنی از طریق برهمکنش با پروتئینها (نانوذرات-پروتئین کرونا) می‌توانند اثرات زیستی مهمی در بدن داشته باشند. نانولوله‌های کربنی در حالت طبیعی و دست نخورده بسیار آبریز هستند، بنابراین امکان اتصال نانولوله‌های کربنی طبیعی و دست‌نخورده به هسته آبریز پروتئین با استفاده از میل ترکیبی قوی بین نانولوله‌های کربنی و اسیدآمینه‌های آبریز وجود دارد. با این وجود، چنین اتصالی می‌تواند منجر به از دست دادن عملکرد اصلی پروتئین نیز شود. هورمون محرکه فولیکولی (FSH) گلیکوپروتئینی است که از بخش قدامی غده هیپوفیز آزاد می‌شود. این هورمون در رشد و بلوغ اندامهای جنسی و صفات ثانویه جنسی موثر است. با توجه به اینکه FSH، هورمون بسیار ناپایداری است و تحقیقات کمی در آزمایشگاه بر روی آن صورت گرفته است، در این مقاله سعی شده است که برهمکنش نانولوله کربنی دودیواره با کاپرلیته (۹ و ۱۴) و طول تقریباً ۲۵ آنگستروم با FSH از طریق شبیه‌سازی دینامیک مولکولی بررسی شود. نتایج حاکی از آن است که زنجیره‌های آبریز بیشترین تمایل را جهت برهمکنش با سطح خارجی نانولوله کربنی دودیواره از خود نشان می‌دهند و نیروهای غالب در برهمکنش میان نانولوله‌های کربنی و هورمون مورد نظر، می‌توانند نیروهای  $\pi - \pi$  و آبریز باشند.

واژه‌های کلیدی: نانولوله کربنی دودیواره، FSH، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، نیروهای آبریز

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۶۱۱۱۲۴۸۶، پست الکترونیکی: mehrnejad@ut.ac.ir

## مقدمه

دلیل اندازه کوچک و ویژگیهای منحصر به فرد آنها، می‌توان در کاربردهای زیستی مهمی مانند شناسایی و از بین بردن سلولهای سرطانی، مهندسی بافت و بلوری کردن پروتئینها، ساخت راکتورها و حس‌گرهای زیستی استفاده کرد (۳). تحقیقات اخیر نشان داده است که ویژگیهای نانولوله‌های کربنی همراه با ساختار شیمیایی منحصر به فرد آنها می‌تواند باعث توسعه سیستمهای انتقالی جدید بر پایه

نانولوله‌های کربنی، لوله‌ای توخالی با دیواره‌ای از جنس اتمهای کربن می‌باشند که در آنها اتمهای کربن در ساختاری استوانه‌ای آرایش یافته‌اند. خواص ویژه نانولوله‌های کربنی و مکانیسمهای احتمالی حاکم بر میانکنش آنها با درشت‌مولکولهای زیستی توجه بسیاری از محققان را به خود جلب کرده است (۱۳). مطالعات صورت گرفته نشان می‌دهد که از نانولوله‌های کربنی به

احتمالی برای سمیت نانولوله‌های کربنی می‌توان پیش‌بینی کرد (۲۱). روش‌های مختلفی از جمله طیف‌سنجی مادون قرمز، دورنگ‌نمایی دورانی، پلاسمون سطحی مبتنی بر رزونانس، کالریتری تیتراسیون هم‌دم، طیف‌سنجی جرمی، فلورسانس و همچنین کروماتوگرافی مبتنی بر اندازه ذرات را می‌توان برای مطالعه و بررسی برهمکنش پروتئین‌ها با نانوذرات مورد استفاده قرار داد (۱۲) که البته با وجود این روش‌های آزمایشگاهی متنوع، مطالعه اثر برهمکنش نانولوله کربنی با پروتئین‌ها، هنوز به عنوان یک موضوع چالش برانگیز مطرح است.

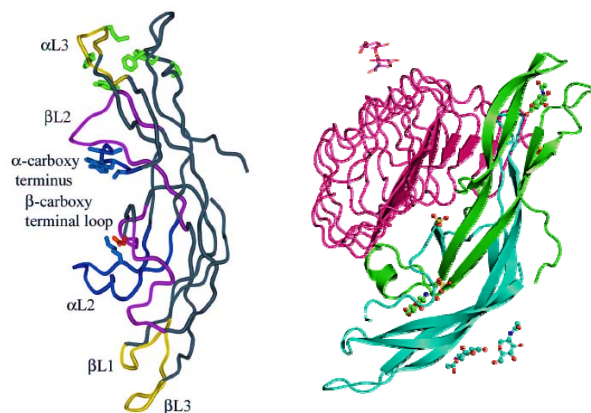
گلیکوپروتئین‌ها، پروتئین‌هایی حاوی یک یا تعداد بیشتری واحد اولیگوساکاریدی غیرتکراری (گلیکان) هستند که محل اصلی حضور آنها در بدن، فضای خارج سلولی و غشای سلول‌هاست. گلیکوپروتئین‌ها، نقش‌های مهمی در انجام اعمال صحیح سلول‌ها و همچنین بروز بیماری‌ها دارند (۱۱). هورمون‌های گلیکوپروتئینی، شامل هورمون محرکه فولیکولی (FSH)، هورمون لوتئینه‌کننده (LH) و هورمون گنادوتروپین جفتی انسان (HCG) می‌باشند، که از بخش قدامی هیپوفیز ترشح می‌شوند. گیرنده‌های این هورمون‌ها، در سطح سلول قرار داشته و این هورمون‌ها پس از اتصال به گیرنده‌های خاص خودشان، از طریق القای تغییر در کنفورماسیون‌شان، باعث فعال‌سازی سیستم cAMP می‌شوند.

هورمون FSH (Follicle-stimulating hormone)، گلیکوپروتئینی است که از بخش قدامی غده هیپوفیز ترشح می‌شود و ترشح این هورمون توسط هورمون آزادکننده گنادوتروپین‌ها (Gonadotropins)، که از هیپوتالاموس آزاد می‌شود، تنظیم می‌گردد. FSH، هتروداپمیری با وزن مولکولی ۳۵٫۵ کیلوالتون است. این گلیکوپروتئین غنی از باندهای دی‌سولفیدی و دارای دو زنجیره پلی‌پپتیدی  $\alpha$  و  $\beta$  بوده، که از طریق اتصالات غیرکوالان به یکدیگر اتصال یافته‌اند (شکل ۱). زنجیره  $\alpha$  در تمامی گونه‌ها حفاظت

نانولوله‌های کربنی گردد. همچنین مطالعات تجربی صورت گرفته حاکی از آن است که مولکول‌های دارویی قادرند به صورت کووالان از طریق پیوندهای قابل شکست زیستی و به صورت غیرکوالان از طریق سورفکتانت‌ها و یا به صورت مستقیم روی سطح نانولوله‌های کربنی جذب شوند و آزاد شدن دارو از نانولوله کربنی می‌تواند با تخریب پیوند شیمیایی بین دارو و نانولوله کربنی توسط آنزیم‌های درون سلولی صورت گیرد (۸). علی‌رغم کاربرد وسیع نانولوله‌های کربنی، اطلاعات بسیار اندکی در رابطه با تأثیر نانولوله‌های کربنی بر روی سلامت انسان و محیط وجود دارد (۶). یکی از موارد مهمی که در استفاده از نانوذرات باید به آن توجه کرد، اتصال پروتئین به نانوذرات و اثرات آن در محیط‌های زیستی است. در این راستا تحقیقات فراوانی در مورد عوامل مؤثر بر اتصال پروتئین‌ها به نانوذرات انجام گرفته است و مشخص شده است که مهم‌ترین و تأثیرگذارترین این عوامل، ترکیب شیمیایی نانوذره، بار سطحی نانو ذره و خاصیت آگریزی آن است. تحقیقات نشان می‌دهند که ذراتی که بار سطحی ندارند و به صورت خنثی می‌باشند، قابلیت جذب پروتئین کمتری دارند. همچنین مطالعه بر روی نانوذرات پلیمری با بار سطحی منفی، نشان داده است که افزایش چگالی بار سطحی نانوذرات، باعث افزایش جذب و اتصال پروتئین‌ها می‌گردد. از طرف دیگر خاصیت آگریزی سطح نانو ذره، نه تنها بر میزان اتصال پروتئین‌ها مؤثر است، بلکه در تعیین نوع پروتئین‌های اتصالی به نانو ذره نیز، نقش تعیین‌کننده دارد و به طور کلی، ذراتی که خاصیت آگریزی بیشتری دارند، پروتئین‌های بیشتری را جذب می‌کنند (۱۷). نانولوله‌های کربنی طبیعی و دست‌نخورده بسیار آگریزند، بنابراین امکان اتصال نانولوله‌های کربنی طبیعی و دست‌نخورده به هسته آگریز پروتئین، به دلیل میل ترکیبی قوی بین نانولوله‌های کربنی و اسیدآمین‌های آگریز در هسته پروتئین وجود دارد. این اتصال می‌تواند منجر به از دست رفتن عملکرد اصلی پروتئین شود و در نتیجه یک مکانیسم

می‌افتد (۱۰). یوهانگ بای و همکارانش، طی یک دوره ۱۳ روزه، ۵ دز از نانولوله‌های کربنی چندجداره قابل‌حل در آب را به درون بدن موشها تزریق کرده و اثرات سمیت نانولوله‌های کربنی را روی سیستم تناسلی موش بررسی کردند و گزارش کردند که این نانولوله‌ها بعد از ۱۵ روز، سبب آسیب بافتی و فشار اکسایشی می‌شوند، اما بعد از ۶۰ و ۹۰ روز، این صدمات بدون مشاهده هرگونه اثرات روی هورمون‌ها از جمله FSH، ترمیم شدند. این پژوهش نشان می‌دهد که نانولوله‌های کربنی، روی عملکرد اندامهای سیستم تناسلی از قبیل تولید نرمال هورمون‌ها و اسپرم تأثیر چندانی ندارند (۴). این نتایج، در مورد اثرات سمیت نانولوله‌های کربنی و توان بالقوه‌شان برای کاربردهای زیست‌پزشکی جهت استفاده از آنها در داروسازی، تأثیر به سزایی خواهد گذاشت. با توجه به اینکه FSH، هورمون بسیار ناپایداری است و تحقیقات کمی در آزمایشگاه بر روی آن صورت گرفته است، در نتیجه می‌توان با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، مکانیسمهای احتمالی حاکم بر برهمکنش آن با نانوذرات مختلف از جمله نانولوله‌های کربنی را مطالعه کرده و از نتایج آن جهت کاربردهای داروسازی و یا بررسی تأثیر نانولوله کربنی بر روی FSH بهره برد.

شده می‌باشد و حاوی ۹۲ اسیدآمینه است. این زنجیره علاوه بر حفاظت بین گونه‌ای، بین سایر هورمونهای گلیکوپروتئینی، نظیر LH، TSH و HCG نیز حفاظت شده می‌باشد. زنجیره  $\beta$  حاوی ۱۱۱ اسیدآمینه می‌باشد که برخلاف زنجیره آلفا با سایر هورمونهای گلیکوپروتئینی متفاوت می‌باشد. عملکرد اختصاصی زیستی FSH نیز به زیر واحد بتای آن مربوط می‌شود. بخش قندی هورمون، به صورت کوالان به اسیدآمینه اسپاراژین متصل است. هر زنجیره دو جایگاه گلیکوزیله شونده (در زنجیره آلفا، اسپاراژینهای شماره ۵۲ و ۷۸، و در زنجیره بتا اسپاراژینهای شماره ۷ و ۲۴) دارد (۹). این هورمون، سه لوپ در زنجیره آلفا ( $\alpha L_1$ ) شامل اسید آمینه‌های ۱۴ الی ۲۰،  $\alpha L_2$  شامل اسید آمینه‌های ۳۸ الی ۵۰،  $\alpha L_3$  شامل اسید آمینه‌های ۶۲ الی ۷۴ و سه لوپ در زنجیره بتا ( $\beta L_1$ ) شامل اسید آمینه‌های ۱۱ الی ۱۸،  $\beta L_2$  شامل اسید آمینه‌های ۳۶ الی ۴۶  $\beta L_3$  شامل اسید آمینه‌های ۶۳ الی ۷۲) دارد و هسته مرکزی هر زنجیره دارای موتیفی بنام سیستمین نات (Cysteine-knot) می‌باشد. در مردان، FSH در بیضه‌ها رشد سلولهای سرتولی را تحریک کرده و در تبدیل اسپرماتیدها به اسپرم (روند اسپرمیوژنز) نقش مهمی دارد. در زنان، FSH به رسپتور خود در سطح سلولهای گرانولوزا متصل می‌شود که بعد از این اتصال، رشد فولیکول اتفاق



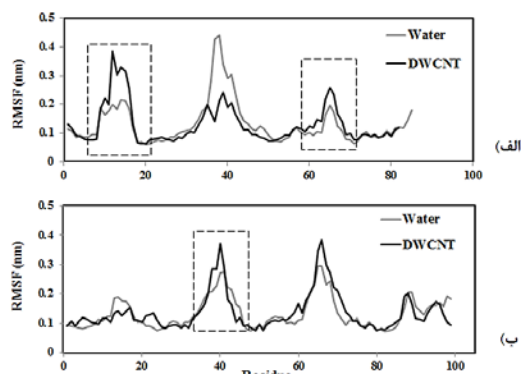
شکل ۱- الف) ساختار سه بعدی هورمون محرکه فولیکولی شامل دو زنجیره آلفا (رنگ سبز) و زنجیره بتا (رنگ آبی) به همراه رسپتور آن (رنگ بنفش)، مولکولهای کوچک که توسط مدل stick نمایش داده شده‌اند، بخشهای قندی (NAGs) گلیکوپروتئین می‌باشند. ب) تصویر ریون از هورمون FSH که لوپها در آن مشخص شده‌اند.

## مواد و روشها

شبیه‌سازیهای دینامیک مولکولی با استفاده از نرم‌افزار شبیه‌سازی GROMACS (version 4.5.7) به انجام رسیدند (۱۴). در ابتدا ساختار pdb (Protein Data Bank) پروتئین FSH (1xwd) از سایت [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org) به دست آمد (۹) و سپس نانولوله کربنی دودیواره با کایرالیته (۹ و ۱۴) و طول تقریباً ۲۵ آنگستروم، توسط نرم‌افزار VMD (Visual Molecular Dynamics) به دست آمد. بر اساس اطلاعات موجود در فایل pdb و مشاهده آن توسط نرم‌افزارهای گرافیکی VMD و PYMOL، عدم وجود نقص در ساختار pdb ثابت شد. در تمام شبیه‌سازیها از میدان نیروی گروموس 54a7 استفاده گردید (۱۸). کمپلکس نانولوله-گلیکوپروتئین، از طریق قرار دادن گلیکوپروتئین در فاصله مناسب از سطح نانولوله کربنی به دست آمد. گلیکوپروتئین به تنهایی نیز در وسط جعبه‌ای با ابعاد ۹ نانومتر قرار داده شد. از مدل spc برای مولکولهای آب در این پروژه استفاده شده است. برای خنثی‌سازی سیستم و ایجاد تعادل بار، یونهای سدیم و کلر به سیستم اضافه گردیدند. برای حذف نیروهای بزرگ، ناشی از دور بودن احتمالی از ساختار تعادلی، حذف پیوندهای خطا و رسیدن به یک سیستم پایدار، یک مرحله کمینه‌سازی انرژی نیز انجام گرفت. گام زمانی به کار رفته در انتگرال‌گیری از معادله حرکت، دو فمتوثانیه در نظر گرفته شد و برای ۵۰۰ بار تکرار شد و مختصات سیستم در هر ۱۰ گام ثبت شد. برهمکنشهای لنارد جونز و الکتروستاتیک کوتاه برد تا شعاع ۱,۴ نانومتر محاسبه شدند و برهمکنشهای الکتروستاتیک دور برد با روش cutoff به دست آمدند. شبیه‌سازیها نیز در دمای ثابت ۳۰۰ درجه کلوین و فشار یک بار، براساس روش برندنس انجام شدند (۵). طول زمان شبیه‌سازی برای هر دو سیستم هورمون در آب خالص و سیستم هورمون در حضور نانولوله‌های کربنی، ۲۰۰ نانوثانیه در نظر گرفته شد.

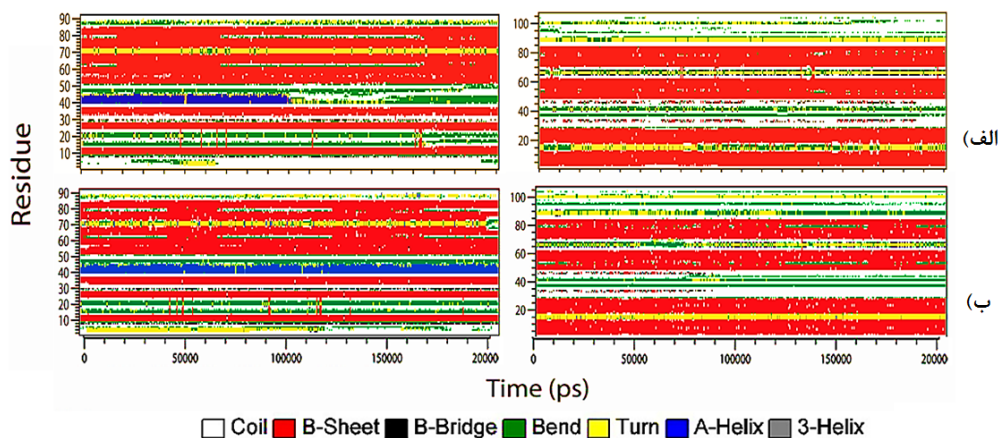
## نتایج و بحث

در ابتدا، دینامیک ساختاری و پایداری پروتئین FSH مورد آنالیز قرار گرفت. از آنجا که هورمون مورد نظر در این تحقیق، دارای دو زنجیره با توالی نسبتاً طولی است، هر زنجیره به طور جداگانه آنالیز شد. در شکل ۲، جذر میانگین مربع نوسانات (RMSF) (Root Mean Square Fluctuations) کربن آلفا به ازای هر آمینواسید نشان داده شده است.



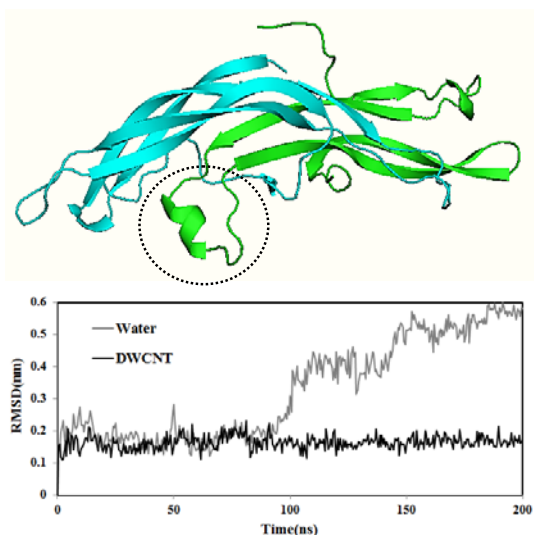
شکل ۲- جذر میانگین مربع نوسانات (RMSF) کربن آلفا به ازای هر آمینواسید: الف) زنجیره آلفا ب) زنجیره بتا / در هر دو زنجیره، میزان نوسانات FSH در پیکهای  $\alpha L_1$ ،  $\alpha L_3$  و  $\beta L_2$  در حضور نانولوله کربنی دودیواره (DWCNT)، افزایش یافته است، که با کادر مشخص شده‌اند.

در این آنالیز سه پیک در زنجیره آلفا در نواحی  $\alpha L_1$ ،  $\alpha L_2$  و  $\alpha L_3$  و همچنین سه پیک در زنجیره بتا در نواحی  $\beta L_1$ ،  $\beta L_2$  و  $\beta L_3$  مشاهده می‌شود؛ که با توجه به شکل، افزایش نوسانات FSH را در حضور نانولوله کربنی دودیواره، در پیکهای  $\alpha L_1$ ،  $\alpha L_3$  و  $\beta L_2$ ، می‌توان دید، ولی در ناحیه  $\alpha L_2$ ، میزان نوسانات کمتر از آب خالص است. با توجه به اینکه نواحی  $\alpha L_1$ ،  $\alpha L_3$  و  $\beta L_2$  در گلیکوپروتئین تشکیل یک حفره آبگریز را می‌دهند (۱۰)، افزایش نوسانات در این سه لوپ توجه پذیر است. تحقیقات قبلی نیز نشان داده‌اند که اسیدآمینوهای آبگریز بیشترین تمایل را جهت برهمکنش با سطح خارجی نانولوله دارند (۷، ۱۵ و ۱۹). به منظور درک میزان تغییرات ساختار دوم پروتئین طی ۲۰۰ نانوثانیه شبیه‌سازی، نمودار DSSP به دست آمد (شکل ۳).



شکل ۳- نمودار DSSP هورمون FSH (الف) در آب خالص (ب) در حضور نانولوله کربنی دودیواره

کربنی دودیواره نزدیک شده‌اند و در برهمکنش با آن نقش داشته‌اند.



شکل ۴- RMSD ناحیه مربوط به لوپ  $\alpha L$  و شکل سمت راست محل قرارگیری این لوپ را در ساختار FSH نشان می‌دهد.

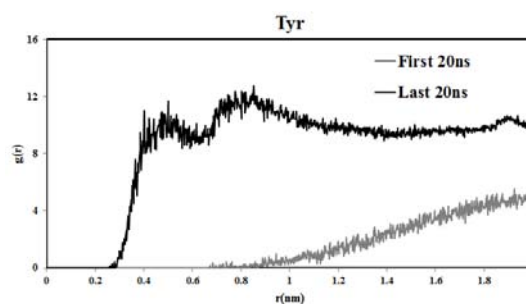
همان‌طور که از نمودار مشخص است (شکل ۵)، رزیدوی تیروزین در ۲۰ نانوثانیه آخر شبیه‌سازی نسبت به ۲۰ نانوثانیه اول، به نانولوله کربنی خیلی نزدیک شده است. در واقع در ۲۰ نانوثانیه آخر شبیه‌سازی، دو پیک، یکی در فاصله ۰/۵ نانومتر و دیگری در فاصله ۰/۷ نانومتر مشاهده می‌شود؛ که بیان‌گر بیشترین احتمال حضور رزیدوی تیروزین در این فاصله‌ها از نانولوله کربنی است. بر اساس نتایج به دست آمده از مطالعات آزمایشگاهی، مشخص

در آنالیز RMSF مشاهده شد که نوسانات ناحیه مربوط به  $\alpha L_2$  زنجیره آلفا در حضور نانولوله کربنی دودیواره کاهش یافته است. ساختار این ناحیه لویی، حاوی یک مارپیچ ۳۱۰ می‌باشد. در نمودار DSSP مشاهده می‌شود که کنفورماسیون مارپیچ ۳۱۰ در حضور نانولوله کربنی دودیواره تا زمان ۱۵۰ نانوثانیه حفظ شده است؛ در صورتی که مارپیچ ۳۱۰ در سیستم آب خالص بعد از ۱۰۰ نانوثانیه کاملاً از بین می‌رود. کاهش مقدار RMSF نیز در این ناحیه در حضور نانولوله کربنی دودیواره، می‌تواند به علت پایدار ماندن مارپیچ ۳۱۰ باشد. (RMSD (Root-mean-square deviation) این ناحیه نیز به طور جداگانه به دست آمد تا بتوان جا به جایی رزیدوهای مارپیچ ۳۱۰ را در طول زمان شبیه‌سازی بهتر مشاهده کرد (شکل ۴). به طور کلی بر اساس نتایج نمودار DSSP (Define Secondary Structure of Proteins)، می‌توان گفت که با وجود تغییرات ساختاری گفته شده، بسیاری از رزیدوهای هر دو زنجیره تا انتهای شبیه‌سازی خود را حفظ کرده‌اند، و تنها لوپها از ساختار خود خارج شده‌اند.

همچنین، توسط آنالیز RDF (Radial distribution function) مشخص شد که رزیدوهای تیروزین که در سطح هورمون قرار دارند؛ به طور قابل توجهی به نانولوله

از جمله آلبومین، آلفاکیموتریپسین، سیتوکروم C، فیبرینوژن و ... در مطالعات مختلف، مورد بررسی قرار گرفته است (۱۷). با این وجود، مکانیسم این برهمکنشها تا حد زیادی پوشیده باقی مانده است و در مورد استفاده از نانوذرات نیاز به تحقیقات بیشتری است (۲، ۱۲ و ۱۷). نتایج این مطالعات، حاکی از آن است که زنجیره‌های جانبی آبگریز پروتئین، بیشترین تمایل را جهت برهمکنش با سطح خارجی نانولوله از خود نشان می‌دهند. در یک مطالعه انجام شده توسط یک گروه تحقیقاتی، برهمکنش یک پپتید طراحی شده؛ دارای ۲۹ آمینواسید تحت عنوان nano-1 را با سطح خارجی نانولوله کربنی، مورد مطالعه قرار داده‌اند؛ این گروه تحقیقاتی نشان داده‌اند که زنجیره‌های آبگریز بیشترین تمایل را جهت برهمکنش با سطح خارجی نانولوله از خود نشان می‌دهند (۱۹). کالوارسی و همکارانش نیز، برهمکنش لیزوزیم با نانولوله کربنی را مورد بررسی قرار داده و نتیجه گرفتند که در طی این پروسه، آمینواسیدهای آبگریز بیشترین تمایل را جهت برهمکنش با نانولوله کربنی نشان می‌دهند. نتایج این تحقیق نیز نشان می‌دهد که اسیدآمینه‌های آبگریز، برهمکنش بیشتری با سطح نانولوله‌های کربنی دودپواره داشته‌اند. همچنین در مورد نحوه برهمکنش سایر نانوذرات با پروتئینها بررسیها نتایج مشابهی را در مورد نقش اسیدآمینه‌های آبگریز نشان داده‌اند (۱). به علاوه، در کنار برهمکنشهای آبگریز، اسیدآمینه‌های آروماتیک با ساختار مسطح  $\pi-\pi$  می‌توانند بر روی سطح نانولوله‌های کربنی جذب شوند، که در این مطالعه با انجام آنالیز RDF، مشخص شد که رزیدوهای تیروزین به طور قابل توجهی به نانولوله کربنی دودپواره نزدیک و وارد برهمکنش شده‌اند. بنابراین نیروهای غالب، در برهمکنش میان نانولوله کربنی دودپواره و هورمون مورد نظر، می‌توانند نیروهای  $\pi-\pi$  و آبگریز باشند. در مورد تغییرات ساختار دوم نیز، با وجود پایدار ماندن ساختارهای مارپیچ و تا حدی صفحات بتا، لوپها در ساختار هورمون تغییر کرده‌اند و در

شده است که پپتیدهای حاوی حلقه‌های آروماتیک، می‌توانند از طریق پیوندهای  $\pi-\pi$  بر سطح نانولوله کربنی جذب شوند (۱ و ۲) و مشاهده شده است که پیوندهای  $\pi$  در برهمکنش نانولوله‌های کربنی و اسیدآمینه‌های آروماتیک شامل تریپتوفان، تیروزین و فنیل آلانین، نقش مهمی را در جذب پروتئینها بر روی دیواره نانوذره بازی می‌کنند. در واقع، همبستگی معناداری میان بازده کینتیکی و مقدار اسیدآمینه‌های آروماتیک در ساختار پروتئین مشاهده شده است. برای مثال، پروتئین BFG آهسته‌ترین کینتیک را میان سایر پروتئینهای خونی آزمایش شده دارد و بیشتر اسیدآمینه‌های آروماتیک آن در هسته قرار دارند، در حالی که BSA با داشتن ۵۴ اسید آمینه آروماتیک و تعداد ۱۰ اسید آمینه آروماتیک سطحی، ثابت سرعت سریع‌تری دارد؛ به همین علت BSA در سطح نانولوله‌های کربنی، سریع‌تر به تعادل ترمودینامیکی می‌رسد (۱۲). در واقع هرچقدر اسیدآمینه‌های آروماتیک جذب شده بر روی سطح نانولوله کربنی بیشتر باشد، پیوند میان پروتئین و نانولوله کربنی محکم‌تر خواهد بود (۲). در مورد FSH نیز با توجه به نمودار RDF، می‌توان اظهار داشت که تیروزین، جذب سطح دیواره نانولوله کربنی شده است و بنابراین از طریق پیوندهای  $\pi-\pi$ ، با نانولوله‌های کربنی برهمکنش داشته است.



شکل ۵- نمودار توزیع شعاعی رزیدوی تیروزین

### نتیجه‌گیری

همان طور که پیش از این گفته شد، تأثیر نانولوله‌های کربنی بر روی ساختار و کنفورماسیون پروتئینهای مختلف

مربوط به زمان در نظر گرفته شده برای انجام شبیه‌سازی می‌باشد، چرا که زمانهای طولانی‌تر در شبیه‌سازی، می‌توانند رفتار سیستم را بهتر نشان دهند؛ و سرانجام اینکه نتایج به دست آمده بر اساس پارامترهای میدان نیرو گروموس 54a7 است و میدان نیروهای دیگر ممکن است رفتارهای دیگری را از سیستم نشان دهند. بنابراین، با در نظر گرفتن نتایج حاصل از این مطالعه و در نظر گرفتن محدودیتهای مورد اشاره، مطالعات بیشتری برای اثبات دقت نتایج به دست آمده نیاز است.

طول شبیه‌سازی به کویل تبدیل شده‌اند. اگر چه شبیه‌سازی در این تحقیق، نتایج قابل تفسیری را به دست آورده است، با این وجود محدودیتهایی در این‌گونه شبیه‌سازیها وجود دارد که از موانع مهم، در درک بهتر چگونگی جذب پروتئین و دینامیک آنها بر روی سطوح نانوذرات محسوب می‌شوند. اولین محدودیت، این است که این محاسبات با جهت‌گیری خاصی از پروتئین شروع شده‌اند، در حالی که، جهت‌گیریهایی احتمالی دیگر، می‌توانند منجر به بروز رفتارهای متفاوتی از پروتئین شده و نتایج نهایی را تحت تأثیر قرار دهند. دومین محدودیت،

### منابع

- ۱- بهزاد شارق، کلثوم شهداد نژاد، هما محمدی. ۱۳۹۴. مطالعه پایداری ساختاری آنزیم پپسین در حضور نانوذرات اکسیدروی و اکسید آهن. مجله پژوهش‌های سلولی مولکولی (زیست‌شناسی ایران). دوره ۲۸، شماره ۳، ص ۳۴۴-۳۵۱.
- ۲- فریبا امجدی، بهرام گلستانی ایمانی، فرخ کریمی. ۱۳۹۴. بررسی اثر نانوذرات اکسید مس روی ژنوم باکتری اشریشیاکلی با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD. پژوهش‌های سلولی مولکولی (زیست‌شناسی ایران). دوره ۲۸، شماره ۴، ص ۴۷۵-۴۸۷.
- 3- Amenta, V & Aschberger, K. 2015. Carbon nanotubes: potential medical applications and safety concerns. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 7, 371-386.
- 4- Bai, Y., Zhang, Y., Zhang, J., Mu, Q., Zhang, W., Butch, E. R., et al. 2010. Repeated administrations of carbon nanotubes in male mice cause reversible testis damage without affecting fertility. *Nature nanotechnology*, 5, 683-689.
- 5- Berendsen, H. J., van der Spoel, D., & van Drunen, R. 1995. GROMACS: a message-passing parallel molecular dynamics implementation. *Computer Physics Communications*, 91, 43-56.
- 6- Buzea, C, Pacheco, I. I., & Robbie, K. 2007. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases*, 2, MR17-MR71.
- 7- Calvaresi, M., Hoefinger, S., & Zerbetto, F. 2012. Probing the Structure of Lysozyme-Carbon-Nanotube Hybrids with Molecular Dynamics. *Chemistry-A European Journal*, 18, 4308-4313.
- 9- Fan, Q. R., & Hendrickson, W. A. 2005. Structure of human follicle-stimulating hormone in complex with its receptor. *Nature*, 433, 269-277.
- 10- Fox, K. M., Dias, J. A., & Van Roey, p. 2001. Three-dimensional structure of human follicle-stimulating hormone. *Molecular endocrinology*, 15, 378-389.
- 11- Funakoshi, Y., & Suzuki, T. 2009. Glycobiology in the cytosol: the bitter side of a sweet world," *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 1790, 81-94.
- 12- Ge, C., Du, J., Zhao, L., Wang, L., Liu, Y., Li, D., et al. 2011. Binding of blood proteins to carbon nanotubes reduces cytotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 108, 16968-16973.
- 13- He, H., Pham-Huy, L. A., Dramou, P., Xiao, D, Zuo, P. & Pham-Huy, C. 2013. Carbon nanotubes: applications in pharmacy and medicine. *BioMed research internationa*, 2013,2314-6133.
- 14- Hess, B., Kutzner, C., Van Der Spoel, D., & Lindahl, E. 2008. GROMACS 4: algorithms for highly efficient, load-balanced, and scalable molecular simulation. *Journal of chemical theory and computation*, 4, 435-447.

- 15- Liu, Z., Tabakman, S., Welsher, K., & Dai, H. 2009. Carbon nanotubes in biology and medicine: in vitro and in vivo detection, imaging and drug delivery. *Nano research*, 2, 85-120.
- 16- Rajesh, C., Majumder, C., Mizuseki, H., & Kawazoe, Y. 2009. A theoretical study on the interaction of aromatic amino acids with graphene and single walled carbon nanotube. *The Journal of chemical physics*, 130, 124911.
- 17- Saptarshi, S. R., Duschl, A., & Lopata, A. L. 2013. Interaction of nanoparticles with proteins: relation to bio-reactivity of the nanoparticle. *J Nanobiotechnol*, 11, 26.
- 18- Schmid, N., Eichenberger, A. p., Choutko, A., Riniker, S., Winger, M., Mark, A. E., et al. 2011. Definition and testing of the GROMOS force-field versions 54A7 and 54B7. *European biophysics journal*, 40, 843-856.
- 19- Wallace, E. J., D'Rozario, R. S., Sanchez, B. M., & Sansom, M. S. 2010. A multiscale simulation study of carbon nanotube interactions with designed amphiphilic peptide helices. *Nanoscale*, 2, 967-975.
- 20- Wang, C., Li, S., Zhang, R., & Lin, Z. 2012. Adsorption and properties of aromatic amino acids on single-walled carbon nanotubes. *Nanoscale*, 4, 1146-1153.
- 21- Zuo, G., Fang, H., & Zhou, R. 2011. *Nanotoxicity: exploring the interactions between carbon nanotubes and proteins*: INTECH Open Access Publisher.

## Study of the Interaction of Double-Walled Carbon Nanotubes with Follicle-Stimulating Hormone: A Molecular Dynamics Simulation

Mahmoudi Y.<sup>1</sup>, Mehrnejad F.<sup>1</sup> and Khalifeh Kh.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Faculty of New Sciences and Technologies, University of Tehran, Tehran, I.R. of Iran

<sup>2</sup> Dept. of Biology, Faculty of Sciences, University of Zanjan, I.R. of Iran

### Abstract

The interaction between nano particles such as carbon nanotubes (CNTs) and macromolecules are receiving much attention because of their wide range of applications in cancer therapy, tissue engineering, protein crystallization and biological sensors. It is believed that carbon nanotubes through interaction with proteins (nanoparticle-protein corona) can have biological effects. Carbon nanotubes are highly hydrophobic in pristine condition, so there is the possibility of interaction of natural and pristine carbon nanotubes to the hydrophobic core of protein due to the strong affinity between carbon nanotubes and hydrophobic amino acids. However, such interaction can lead to loss of main function of the protein. Follicle-stimulating hormone (FSH) is a glycoprotein hormone that is release from the pituitary gland. This hormone is regulates the development and growth of pubertal maturation, and reproductive processes of the body. FSH is a very unstable hormone in vitro and there has been very little research on it, so in this paper, we study the interaction of double-walled carbon nanotube of chirality (11, 14) and approximately 25 Å in length with FSH by molecular dynamics simulation. The results revealed that the hydrophobic chains tend to interact with the outer surface of double-walled carbon nanotube, and the  $\pi$ - $\pi$  and hydrophobic interaction is revealed to be main driving force to the adsorption between carbon nanotubes and the hormone.

**Key words:** Double-walled carbon nanotube, FSH, molecular dynamics simulation, hydrophobic interaction