

شبیه‌سازی دینامیک مولکولی آنزیم استیل کولین استراز در حضور نانوذرات طلا

حنانه اکبرنژاد^۱، محمد برشان تشنیزی^۱، رضا حسن ساجدی^۲ و فرامرز مهرنژاد^{۱*}

^۱ ایران، تهران، دانشگاه تهران، دانشکده علوم و فنون نوین، گروه مهندسی علوم زیستی

^۲ ایران، تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی، گروه بیوشیمی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۵/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۰۷

چکیده

خواص ویژه نانوذرات و برهمکنش آنها با مولکول‌های زیستی توجه بسیاری از محققان را به خود جلب کرده است. هنگامی که نانوذرات طلا به بدن وارد می‌شوند، با مولکول‌های زیستی مختلف مانند پروتئین‌ها، لیپیدها، پلی‌ساکاریدها، و اسیدهای نوکلئیک مواجه می‌شوند. پروتئین‌ها می‌توانند به راحتی به سطح نانوذرات طلا متصل شده و در اطراف نانوذرات طلا تشکیل یک پروتئین کرنا دهند. شکل‌گیری کرنا می‌تواند ساختار پروتئین‌های جذب شده را تغییر دهد و در عملکرد فیزیولوژیک آنها اختلال ایجاد کند. بنابراین مطالعه برهمکنش‌های نانوذرات طلا و پروتئین‌ها می‌تواند نقطه آغاز مطالعات اثرات زیستی این نانوذرات محسوب شود. در این تحقیق، نظر به نقش‌های کلیدی آنزیم استیل کولین استراز در سیستم عصبی و کاربردهای متعدد نانوذرات طلا در حوزه‌های مختلف، نحوه برهمکنش نانوذرات طلا با آنزیم استیل کولین استراز با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی مطالعه شده است. نتایج حاصل از بررسی ساختار دوم، RMSD و شعاع ژیراسیون نشان‌دهنده‌ی القای فشردگی در ساختار پروتئین به واسطه‌ی حضور نانوذرات طلا می‌باشد. همچنین، نتایج حاصل از آنالیزهای DSSP، نشان‌گر پایداری ساختار دوم آنزیم طی برهمکنش است. با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت نانوذرات طلا در مجاورت با آنزیم استیل کولین استراز، تغییرات کنفورماسیونی قابل توجهی در این پروتئین ایجاد نمی‌کنند.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات طلا، استیل کولین استراز، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۸۶۰۹۳۲۸۵، پست الکترونیکی: mehrnejad@ut.ac.ir

مقدمه

پوشش این نانوذرات است؛ بطوریکه خود پوشش می‌تواند از نانوذرات سمی تر باشد. مواجهه‌ی انسان با نانوذرات طلا می‌تواند تعمدی و کنترل شده باشد؛ مانند مقاصد پزشکی و سایر مقاصد ذکر شده. در این حالت نانوذرات باید بسته به نوع استفاده (تزریق وریدی، استنشاق، پوستی و...) از سدهای مختلفی عبور کنند و سمیت احتمالی که از خود بر جای می‌گذارند در اندام‌های مختلف به مورفولوژی و فیزیولوژی آن اندام و ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی نانوذرات وابسته است. نوع دیگر مواجهه با نانوذرات به‌صورت ناخواسته و از طریق آلودگی‌های محیطی، هنگام کار با این نانوذرات می‌باشد (۸ و ۲۱).

کلوئیدهای طلا سال‌هاست که جهت مقاصد درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرند و این استفاده‌ی بی‌خطر می‌تواند نشان‌دهنده‌ی عدم سمیت نانوذرات طلا باشد (۹ و ۱۲). با این وجود، از آنجائیکه ویژگی‌های مواد در مقیاس نانو بسیار با حالت توده‌ای متفاوت است، بازنگری اثرات سمیت و سمیت زیست محیطی این ذرات منطقی به نظر می‌رسد (۶ و ۱۰). طی دهه‌ی گذشته مطالعات فراوانی نشان داده‌اند که نانوذرات طلا روی سلول‌های یوکاریوتی، مدل‌های حیوانی و ارگانیزم‌های متعدد که نماینده‌ی سطوح مختلف جانداران محیط‌زیست می‌باشند، اثر سمی اندکی دارند (۱۴). این اثرات شدیداً تحت تأثیر اندازه و

جانوری انجام شد (۲۳). جایگاه فعال آنزیم استیل کولین استراز، همانند کل ساختار آن، طی تکامل حفظ شده است و دارای نواحی مشابه سایر سرین هیدرولازهاست. کولین استرازاها هیدرولازهایی از نوع α/β هستند که دارای یک ماریچ α می‌باشند که به صفحه‌ای β و دارای دومین کاتالیتیک، متصل است (۱۸). این دومین دارای مجموعه‌ی سه تایی کاتالیتیک Ser - His - Glu می‌باشد که در استیل کولین استراز، بوتیریل کولین استراز و لپازها مشترک است (۳ و ۷).

به علت رفتارهای گاهاً پیچیده‌ی پروتئین‌ها در کنار نانوذرات و با هدف پیش‌بینی، تفسیر و تکمیل نتایج به‌دست آمده در آزمایشگاه، علاوه بر روش‌های *in vivo* و *in vitro* روش‌های محاسباتی جهت مطالعه‌ی رفتار و ساختارهای پروتئینی ارائه شده اند که از این میان، روش شبیه‌سازی دینامیک مولکولی مورد توجه بیشتری قرار گرفته است (۲). این تحقیق، نظر به نقش‌های کلیدی آنزیم استیل کولین استراز و کاربردهای متعدد نانوذرات طلا در حوزه‌های مختلف، به مطالعه‌ی نحوه برهمکنش نانوذرات طلا با آنزیم استیل کولین استراز با استفاده از روش شبیه‌سازی دینامیک مولکولی پرداخته است.

مواد و روشها

شبیه‌سازی دینامیک مولکولی: در این مطالعه، از نسخه‌ی ۵,۱,۲ نرم‌افزار گرومکس به‌منظور شبیه‌سازی استفاده شده است (۲۴). میدان نیروی استفاده شده برای همه‌ی شبیه‌سازی‌ها، GROMOS96 بوده (۲۲) و از مدل آب (۴) SPC برای حل کردن اجزای شبیه‌سازی استفاده شد. ساختار اولیه مولکول سیترات از پایگاه *atb builder* دریافت شده و *pdb* اولیه‌ی استیل کولین استراز (IDX4) از بانک پروتئین بارگزاری شد (۱۳ و ۱۹). از آنجائیکه نانوذرات مورد استفاده در بخش آزمایشگاهی سیتراته بوده‌اند، در بخش شبیه‌سازی نیز ابتدا هسته‌ی نانوذره‌ی طلا که متشکل از ۱۴۴ اتم طلا می‌باشد به مدت ۱۰۰ نانوثانیه در مجاورت

هنگامی که نانوذرات طلا به بدن وارد می‌شوند، با مولکول‌های زیستی مختلف مانند پروتئین‌ها، لیپیدها، پلی‌ساکاریدها، و اسیدهای نوکلئیک مواجه می‌شوند. پروتئین‌ها می‌توانند به راحتی به سطح نانوذرات طلا متصل شده و در اطراف نانوذرات طلا تشکیل یک پروتئین کرنا دهند که انرژی سطحی آزاد نانوذرات طلا را کاهش داده و در توزیع این ذرات در بافت‌ها و اندام‌های مختلف نقش مهمی ایفا می‌کند (۵ و ۱۵). شکل‌گیری کرنا می‌تواند ساختار پروتئین‌های جذب شده را تغییر داده و در عملکرد فیزیولوژیک آن‌ها اختلال ایجاد کند. بنابراین درک برهمکنش‌های نانوذرات طلا و پروتئین‌ها می‌تواند به عنوان نقطه‌ی آغاز مطالعات اثرات زیستی این نانوذرات محسوب می‌شود

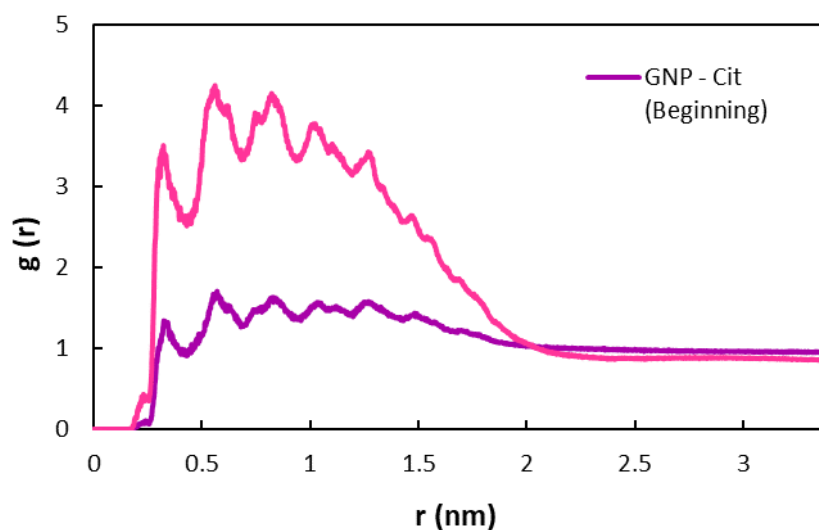
کولین استرازاها خانواده‌ای از آنزیم‌ها هستند که هیدرولیز استیل کولین و تبدیل آن به کولین و استات را کاتالیز می‌کنند. این فرآیند برای بازیابی نورون‌های کولینرژیک ضروری می‌باشد. کولین استرازاها شامل استیل کولین استراز (AChE; EC 3.1.1.7) و بوتیریل کولین استراز (BuChE; EC 3.1.1.8) می‌باشند (۱ و ۱۶ و ۲۰). شباهت این دو آنزیم بالاست (بیش از ۵۰٪) اما از نظر اهمیت و محل قرارگیری آنها در بدن، بسیار متفاوت هستند. استیل کولین استراز در نورون‌های کولینرژیک بیان می‌شود و در سلول‌های خونی نیز فعالیت نسبتاً بالای این آنزیم مسئول تجزیه‌ی استیل کولین پلاسما می‌باشد (۱۱ و ۱۷). این آنزیم با هیدرولیز استیل کولین، در انتقالات عصبی کولینرژیک ایفای نقش می‌کند و نام این آنزیم نیز از همین سوبسترای طبیعی (استیل کولین) گرفته شده است. استیل کولین انتقال دهنده‌ی عصبی عمومی است و سیستم عصبی کولینرژیک بر پایه‌ی این انتقال دهنده‌ی عصبی استوار است. ساختار استیل کولین استراز از دهه‌ی ۱۹۹۰ به طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته است. با توجه به در دسترس بودن استیل کولین استراز در گونه‌ی *electric eel* (Torpedo *californica*)، آزمایشات اولیه بر روی آنزیم این گونه‌ی

شبییه‌سازی پروتئین محیا شد. این شبیه‌سازی با قرار دادن آنزیم در کنار نانوذرات طلا، مرجع خوبی جهت مقایسه بدست می‌دهد. در مرحله بعد، نانوذره‌ی طلایی را که در بخش اول شبیه‌سازی آماده شده بود، به همراه آنزیم در باکس شبیه‌سازی قرار داده و به مدت ۶۰ نانوثانیه امکان شبیه‌سازی و برهکنش به سیستم داده شد. سپس نتایج حاصل از این مرحله در کنار نتایج حاصل از مرحله‌ی قبل قرار داده شده و آنالیزهای زیر در مورد این سیستم‌ها صورت گرفت.

نتایج و بحث

تجمع سیترات در اطراف نانوذرات: به منظور حصول اطمینان از تجمع مولکول‌های سیترات در اطراف نانوذره، از آنالیز RDF یا تابع توزیع شعاعی استفاده شد. بدین منظور در بهش شبیه‌سازی سیترات و نانوذره، RDF این مولکول‌ها نسبت به یکدیگر در ۵ نانوثانیه‌ی ابتدایی و انتهایی از شبیه‌سازی تهیه شد و مورد مقایسه قرار گرفت. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، نزدیک شدن و حضور سیترات در اطراف نانوذره‌ی طلا در انتهای شبیه‌سازی به خوبی محسوس است.

تعداد ۱۰۰ مولکول سیترات قرار داده شد تا طی مدت شبیه‌سازی تعداد مطلوبی از مولکول‌ها به‌طریق فیزیکی در اطراف این هسته جمع شوند. آخرین تصویر لحظه‌ای شبیه‌سازی هسته نانوذره در کنار سیترات، پس از حذف سیترات‌های جذب نشده به نانوذره، به عنوان فایل pdb ورودی برای شبیه‌سازی پروتئین در کنار نانوذره استفاده شد. برای خنثی کردن بار محیط از نظر الکترواستاتیکی مقدار مناسبی از یون‌های Na, Cl به محیط اضافه شد. 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 فمتو ثانیه در نظر گرفته شده و برای ۱۰۰۰ 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 استفاده از الگوریتم PME به دست آمدند. شبیه‌سازیها نیز در دمای ثابت ۳۰۰ درجه کلوین و فشار یک بار، براساس روش Parrinello - Rahman انجام شد (۱۹). برای مشاهده‌ی رفتار طبیعی آنزیم استیل‌کولین‌استراز، پس از قرار دادن آنزیم در آب به مدت ۱۰۰ نانوثانیه امکان

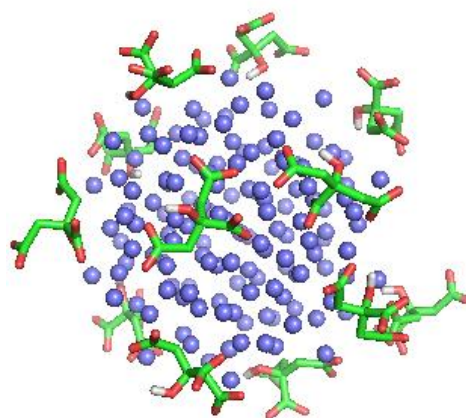


شکل ۱- آنالیز RDF سیترات نسبت به نانوذره طلا در ۵ نانوثانیه ابتدایی و انتهایی شبیه‌سازی

شود. همانطور که در شکل (۳B) نشان داده شده است، در برخی ریشه‌ها نوسانات ساختار افزایش یافته و در برخی دیگر کاهش نوسانات ساختار مشاهده می‌شود. پس از دقت در این باقیمانده‌ها مشاهده شد که در اغلب نواحی که دارای صفحات بتا و یا مارپیچ‌های آلفای بلند هستند، میزان fluctuation افزایش داشته است. اما در نواحی که فاقد ساختار هستند و بیشتر bend و یا random coil هستند این نوسانات کاهش یافته است. یعنی نواحی از پروتئین که ساختار rigid نداشتند در حضور نانوذرات کمی پایدارتر شده‌اند.

شعاع ژیراسیون (Rg): شعاع ژیراسیون هر جسم، پراکنش اجزای آن را در اطراف محور اصلی نشان می‌دهد و با محاسبه شعاع ژیراسیون می‌توان در شرایط مختلف اطلاعاتی کلی در رابطه با میزان فشردگی پروتئین بدست آورد. نتایج این آنالیز در شکل (۳C) نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود آنزیم استیل‌کولین‌استراز در حالت آزاد در آب شعاع ژیراسیون میانگین باثباتی دارد که نشان می‌دهد خود پروتئین طی مدت زمان شبیه‌سازی پایدار بوده و دناتوره یا فشرده نشده است. از طرفی مشاهده می‌شود که پس از قرار گرفتن نانوذره در مجاورت آنزیم، این شعاع در برخی بازه‌های زمانی طی شبیه‌سازی قدری کاهش یافته است که می‌تواند نشان دهد پروتئین در حضور نانوذره‌ی طلا در برخی لحظات قدری فشرده‌تر شده است. در مناطقی نیز میانگین این دو حالت نسبتاً یکسان است که نشانی از دینامیک پروتئین می‌باشد. در نانوثانیه‌های پایانی شبیه‌سازی این دو مقدار در حال نزدیک شدن به هم هستند و ممکن است در زمان‌های طولانی‌تر شبیه‌سازی کاملاً برهم منطبق شده و در همان حالت باقی بمانند و یا ممکن است این سیر دینامیک در زمان‌های طولانی‌تر نیز ادامه یابد.

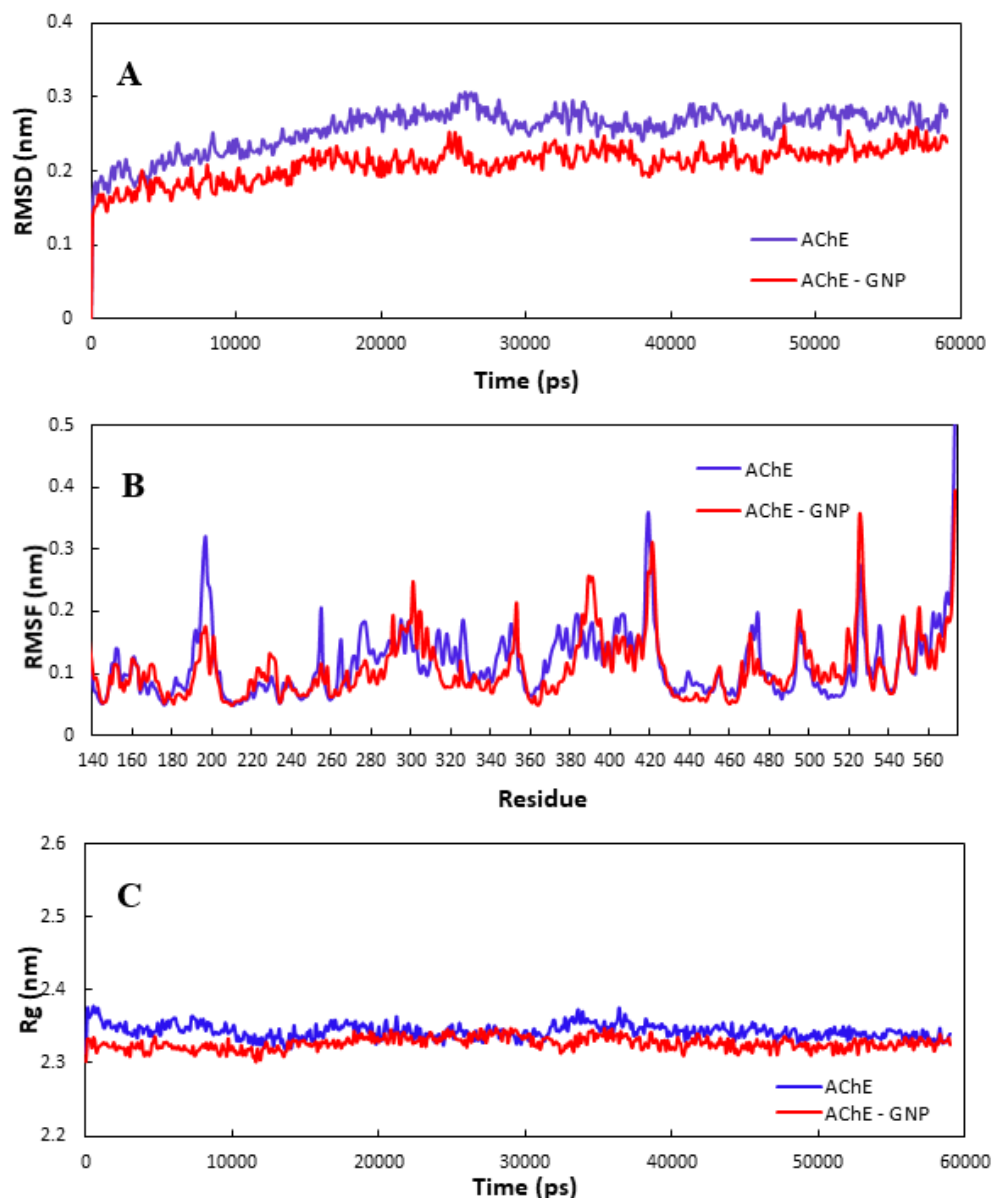
تصاویر لحظه‌ای بدست آمده در طول شبیه‌سازی نشان دادند که تعداد سیترات‌های جذب شده به نانوذره تا ۵۰ نانوثانیه رو به افزایش بود و در نانوثانیه‌های ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ ثابت باقی مانده (۱۸ عدد). فایل نهایی بدست آمده برای شبیه‌سازی در کنار آنزیم استیل‌کولین‌استراز مورد استفاده قرار گرفت. تصویر بدست آمده از یکی از این تصاویر لحظه‌ای با استفاده از نرم افزار PyMol تهیه شده و در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲- جذب فیزیکی یون‌های سیترات به نانوذره‌ی طلا در طول شبیه‌سازی

جذر میانگین مربع انحرافات (RMSD): یکی از شاخص‌های مناسب برای تعیین ساختار پروتئین و تشخیص اینکه آیا پروتئین قادر به حفظ ساختار خود در محیط‌های مختلف است، پارامتر جذر میانگین مربع انحرافات (RMSD) می‌باشد. در شکل (۳A) RMSD زنجیره آلفای پروتئین (C alpha) نسبت به ساختار اولیه در آب و در حضور نانوذرات طلا در طول زمان شبیه‌سازی نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، حضور نانوذرات در کنار آنزیم موجب شده‌اند که میزان نوسانات در backbone کربنی آنزیم کاهش یابد و آزادی ساختار آنزیم کمی محدودتر شود.

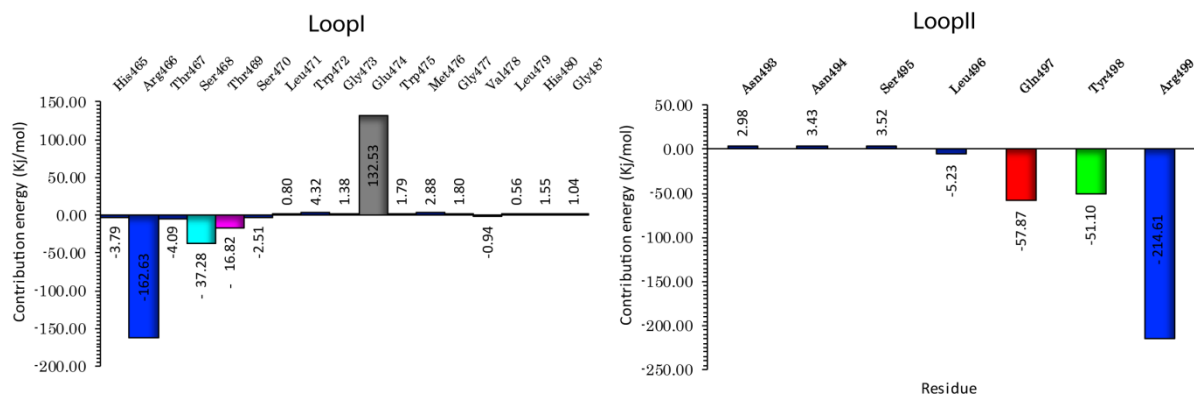
جذر میانگین نوسانات (RMSF): در آنالیز RMSF می‌توانیم میزان fluctuation ها به تفکیک residue‌های آمینواسیدی و در نواحی مختلفی از پروتئین مشاهده می‌



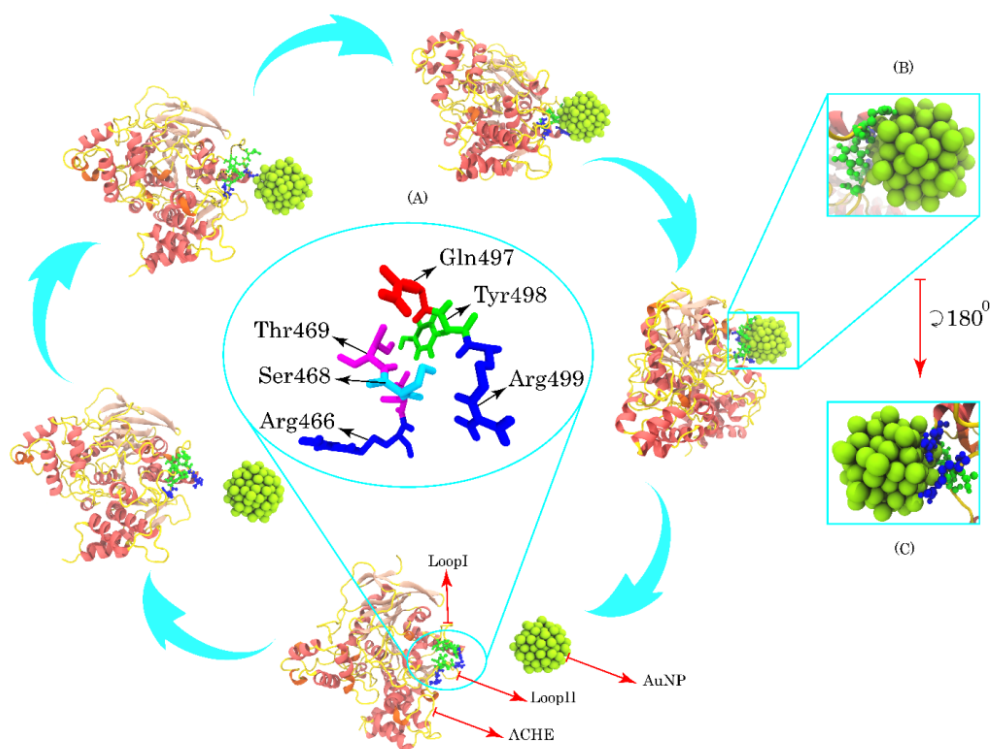
شکل ۳- (A) جذر میانگین مربع انحرافات (RMSD) پروتئین در حضور آب و نانوذرات طلا، (B) جذر میانگین نوسانات (RMSF) آنزیم در حضور آب و نانوذرات طلا، (C) مقایسه‌ی شعاع ژیراسیون آنزیم در آب و در حضور نانوذره‌ی طلا

که در این شکل پیداست طی این برهمکنش دو لوپ از ساختار آنزیم درگیر شده‌اند. آمینواسیدهایی که در حلقه‌ی اول تماس بیشتری با پروتئین داشتند، آمینواسیدهای ۴۶۶، ۴۶۸، ۴۶۹ بودند (که در آنالیزها از این ناحیه با عنوان LoopI مشخص شده است). و ناحیه‌ی دوم، لوپی بود که آمینواسیدهای ۴۹۷، ۴۹۸، ۴۹۹ آن بیشتر با نانوذره ما درگیر شده‌اند (LoopII).

ناحیه‌ی برهمکنش نانوذره طلا و آنزیم: به منظور دستیابی به فهم بهتر از برهمکنش نانوذره با استیل‌کولین‌استراز، محدوده‌ی برهمکنش نانوذره با آنزیم، با استفاده از نرم‌افزار PyMol مشخص شد. سپس این ناحیه با آنالیزهای انرژی مورد بررسی دقیق‌تر قرار گرفت و ریشه‌های دخیل در اتصال با استفاده از این آنالیز مشخص شدند (شکل ۴). تصاویر لحظه‌ای این میانکنش‌ها و ریشه‌های درگیر در شکل ۵ قابل مشاهده است. همان‌طور



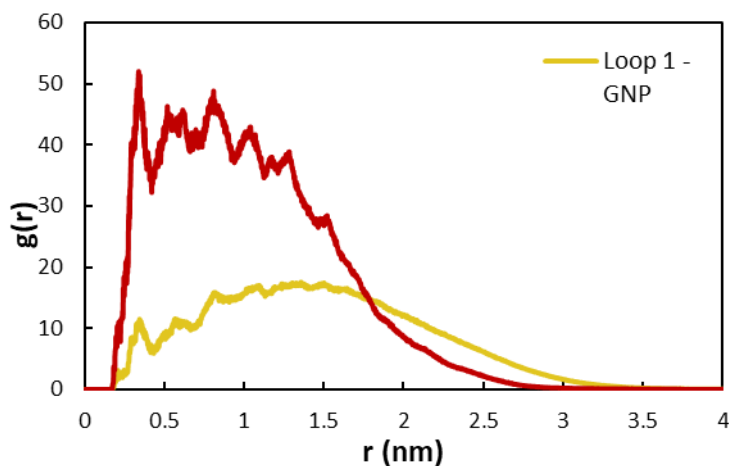
شکل ۴- آنالیز انرژی اتصالی کل در لوپ‌های ۱ و ۲ (مناطق از آنزیم که با نانوذره در ارتباط هستند)



شکل ۵- مناطق ۱ و ۲ درگیر در برهمکنش با نانوذره‌ی طلا. A: آمینواسیدهای درگیر برهمکنش B: نانوذره متصل به استیل‌کولین‌استراز (آمینواسیدهای قطبی با رنگ سبز و آمینواسیدهای بازی با رنگ آبی مشخص شده‌اند). C: چرخش ۱۸۰ درجه‌ای شکل برای مشخص شدن آمینواسیدهای پشتی

فاصله‌ی ۱ نانومتری بیشترین حضور را در اطراف این حلقه دارد در صورتیکه در فاصله در مورد حلقه‌ی ۱ بیشتر و در حدود ۱/۵ نانومتر بوده است. از داده‌های این نمودار می‌توان نتیجه گرفت که نانوذره به حلقه‌ی ۲ نزدیک‌تر بوده و زمان بیشتری را با برهمکنش‌های غیرقطبی محکم‌تری با این حلقه درگیر بوده است.

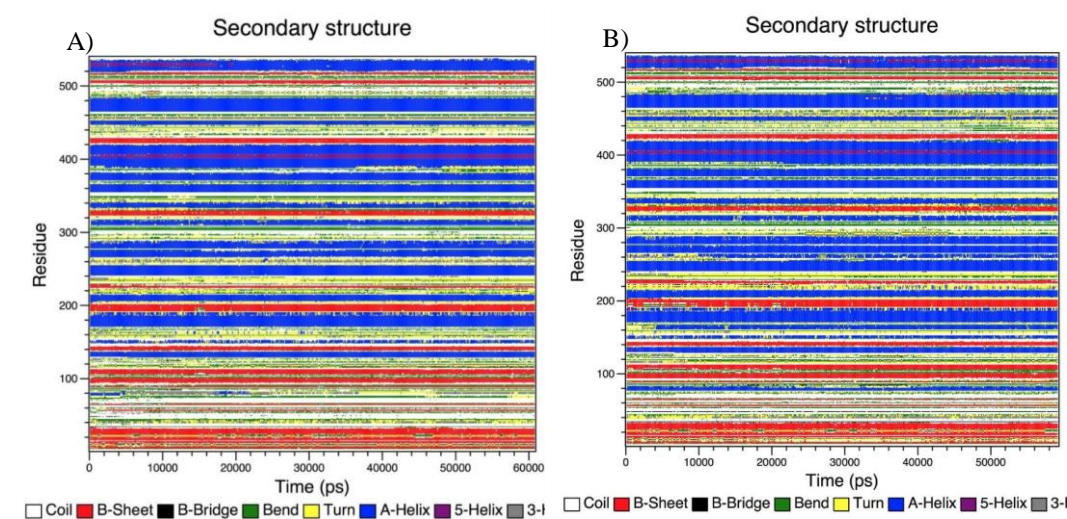
آنالیز RDF لوپ‌های ۱ و ۲ نیز حاکی از میانگین‌های این نواحی با نانوذره می‌باشد. همین‌طور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود، یک پیک واضح در دو نمودار وجود دارد که مربوط به برهمکنش‌های غیرقطبی است. مشاهده می‌شود که فراوانی حضور نانوذره در مجاورت حلقه‌ی ۲ طی مدت زمان شبیه‌سازی بسیار بالا بوده و این نانوذره در



شکل ۶- آنالیز RDF نواحی برهمکنش‌دهنده از آنزیم با نانوذره طلا

در شکل ۷ مشاهده می‌شود، تغییراتی که مشاهده می‌شوند بسیار جزئی و در حد باقیمانده‌مانده‌های آمینواسیدی هستند و تغییرات چشمگیر و قابل توجهی در ساختارهای ثانویه آنزیم در دو حالت آزاد و متصل به نانوذره نمی‌بینیم.

بررسی ساختار ثانویه (DSSP): برای بررسی تغییرات احتمالی در ساختار دوم از روش DSSP استفاده شد. داده‌های حاصل از این روش، محور عمودی نمودار، ساختمان دومی که هر یک از اسیدآمینوها در طول زمان شبیه‌سازی به خود می‌گیرند و محور افقی آن مدت زمان شبیه‌سازی را بر حسب پیکوثانیه نشان می‌دهد. همانطور که



شکل ۷- (A) نمودار DSSP آنزیم در حضور آب، (B) نمودار DSSP آنزیم در حضور نانوذره طلا

آنزیم، در دو حالت آزاد و متصل به نانوذره، بررسی شد. نتیجه در جدول ۱ نمایش داده شده‌است.

در ادامه برای کسب فهم بهتر و واضح‌تری از نمودارهای بالا، درصد هریک از ساختارهای ثانویه (s-count) در

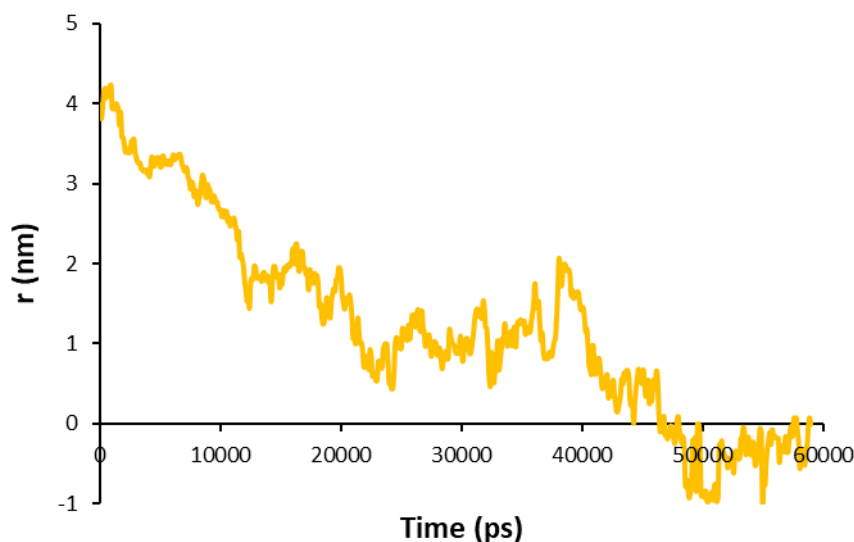
جدول ۱- درصد ساختارهای ثانویه استیل‌کولین استراز در حضور و غیاب نانوذره طلا

مولکول	مارپیچ آلفا (%)	صفحات بتا (%)	بقیه (%)
استیل کولین استراز	۳۲	۱۴	۵۴
استیل کولین استراز در حضور نانوذرات طلا	۳۴	۱۴	۵۲

فاصله‌ی این دو جزء از شبیه‌سازی مورد سنجش قرار گرفت. همین‌طور که در شکل ۸ نشان داده شده است، فاصله‌ی نانوذره از پروتئین طی شبیه‌سازی کم و کم‌تر شده که نشان‌دهنده‌ی جذب شدن نانوذره به سطح پروتئین می‌باشد.

همان‌طور که مشاهده می‌شود، اتصال نانوذره موجب تغییرات چشم‌گیری در ساختار ثانویه‌ی استیل‌کولین‌استراز و درصد ساختارهای ثانویه‌ی اصلی (α و β) نشده است و پروتئین در حضور نانوذره نیز قادر به حفظ ساختار ثانویه‌ی خود بوده است.

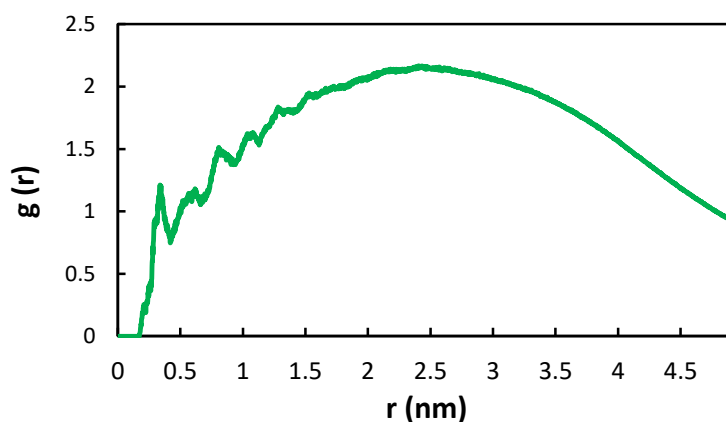
ارزیابی فاصله (Distance): جهت درک موقعیت نانوذره نسبت به پروتئین و جذب شدن آن به سطح پروتئین،



شکل ۸- فاصله‌ی نانوذره‌ی طلا از آنزیم استیل‌کولین‌استراز طی مدت شبیه‌سازی

فاصله‌ی مشخصی از یک ذره‌ی دیگر اطلاعاتی بدست آورد. بنابراین، تابع توزیع شعاعی (RDF) نانوذره نسبت به پروتئین سنجیده شد (شکل ۹).

تابع توزیع شعاعی (RDF): همین‌طور که اشاره شد، با به‌دست آوردن تابع توزیع شعاعی، می‌توان از فراوانی و احتمال حضور یک ذره طی کل مدت شبیه‌سازی در



شکل ۹- نمودار تابع توزیع شعاعی نانوذره نسبت به آنزیم

کولین استراز با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی مورد بررسی قرار گرفت. طی آنالیز DSSP مشاهده شد که طی برهمکنش نانوذرات طلا با استیل‌کولین استراز، تغییرات ساختار ثانویه‌ی بارزی در پروتئین رخ نمی‌دهد. از طرفی نتایج حاصل از آنالیزهای RMSD و شعاع ژیراسیون، بیان‌گر فشردگی کم ساختار سوم پروتئین می‌باشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ساختار پروتئین در حضور نانوذرات طلا دستخوش دگرگونی و یا بازشدن (unfolding) نشده است. در کل می‌توان نتیجه گرفت که نانوذرات طلا در آنزیم استیل‌کولین‌استراز تغییرات کنفورماسیونی شایعی ایجاد نکرده‌اند.

این نمودار به ما نشان می‌دهد که در طول مدت شبیه‌سازی (۶۰ نانوثانیه)، محتمل‌ترین و فراوان‌ترین فاصله‌ی بین مرکز جرم نانوذره و مرکز جرم پروتئین ۲/۵ نانومتر بوده است که با توجه به قطر نانوذره و این امر که نانوذره در بیشتر طول شبیه‌سازی به پروتئین متصل می‌باشد، منطقی به نظر می‌رسد. همچنین در نمودار در فاصله‌ی ۰/۴ نانومتری پیک مشخصی مشاهده می‌شود که مربوط به پیوند اندروالیسی می‌باشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که پیوند بین نانوذره و پروتئین از نوع برهمکنش‌های غیرقطبی می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه برهمکنش نانوذرات طلا و آنزیم استیل

منابع

- ۱- پریچر زمانی؛ رضا حسن ساجدی؛ محمد قدمیاری؛ نرگس معماری زاده، ۱۳۹۴، بررسی ویژگی‌های بیوشیمیایی و سم‌شناسی آنزیم استیل‌کولین استراز در کنه‌های دو لکه‌ای مقاوم و حساس به کلرپایریفوس، مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲۸--۶۵-۷۵.
- ۲- یاسمن محمودی؛ فرامرز مهرنژاد؛ خسرو خلیفه، ۱۳۹۸، مطالعه برهمکنش نانولوله کربنی دودیواره با هورمون محرکه فولیکولی (FSH) به کمک شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، ۳۲ - ۳ - ۳۴۷-۳۶۱
- 3- Barshan-Tashnizi, M., Ahmadian, S., Niknam, K., Torabi, S. F., & Ranaci-Siadat, S. O. (2009). Covalent immobilization of Drosophila acetylcholinesterase for biosensor applications. *Biotechnology and applied biochemistry*, 52(4), 257-264.
- 4- Berendsen, H., Grigera, J., & Straatsma, T. (1987). The missing term in effective pair potentials. *Journal of Physical Chemistry*, 91(24), 6269-6271.
- 5- Casals, E., Pfaller, T., Duschl, A., Oostingh, G. J., & Punter, V. F. (2011). Hardening of the nanoparticle-protein corona in metal (Au, Ag) and oxide (Fe₃O₄, CoO, and CeO₂) nanoparticles. *Small*, 7(24), 3479-3486.
- 6- Crumbliss, A., Perine, S., Stonehuerner, J., Tubergen, K., Zhao, J., Henkens, R., & O'Daly, J. (1992). Colloidal gold as a biocompatible immobilization matrix suitable for the fabrication of enzyme electrodes by electrodeposition. *Biotechnology and bioengineering*, 40(4), 483-490.
- 7- Cygler, M., Schrag, J. D., Sussman, J. L., Harel, M., Silman, I., Gentry, M. K., & Doctor, B. P. (1993). Relationship between sequence conservation and three-dimensional structure in a large family of esterases, lipases, and related proteins. *Protein Science*, 2(3), 366-382.
- 8- Dhar, S., Mali, V., Bodhankar, S., Shiras, A., Prasad, B., & Pokharkar, V. (2011). Biocompatible gellan gum-reduced gold nanoparticles: cellular uptake and subacute oral toxicity studies. *Journal of Applied Toxicology*, 31(5), 411-420.
- 9- Dou, X., Jung, Y. M., Cao, Z.-Q., & Ozaki, Y. (1999). Surface-enhanced Raman scattering of biological molecules on metal colloid II: effects of aggregation of gold colloid and comparison of effects of pH of glycine solutions between gold and silver colloids. *Applied spectroscopy*, 53(11), 1440-1447.
- 10- Du, Y., Jin, J., Liang, H., & Jiang, W. (2019). Structural and Physicochemical Properties and Biocompatibility of Linear and Looped

- Polymer-Capped Gold Nanoparticles. *Langmuir*, 35(25), 8316-8324.
- 11- Fujii, T., Mori, Y., Tominaga, T., Hayasaka, I., & Kawashima, K. (1997). Maintenance of constant blood acetylcholine content before and after feeding in young chimpanzees. *Neuroscience letters*, 227(1), 21-24.
 - 12- Gole, A., Dash, C., Ramakrishnan, V., Sainkar, S., Mandale, A., Rao, M., & Sastry, M. (2001). Pepsin-gold colloid conjugates: preparation, characterization, and enzymatic activity. *Langmuir*, 17(5), 1674-1679.
 - 13- Harel, M., Kryger, G., Rosenberry, T. L., Mallender, W. D., Lewis, T., Fletcher, R. J., . . . Sussman, J. L. (2000). Three-dimensional structures of *Drosophila melanogaster* acetylcholinesterase and of its complexes with two potent inhibitors. *Protein Science*, 9(6), 1063-1072.
 - 14- Jeyarani, S., Vinita, N. M., Puja, P., Senthamilselvi, S., Devan, U., Velangani, A. J., . . . Kumar, P. (2020). Biomimetic gold nanoparticles for its cytotoxicity and biocompatibility evidenced by fluorescence-based assays in cancer (MDA-MB-231) and non-cancerous (HEK-293) cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 202, 111715.
 - 15- Mahmoudi, M., Lynch, I., Ejtehadi, M. R., Monopoli, M. P., Bombelli, F. B., & Laurent, S. (2011). Protein-nanoparticle interactions: opportunities and challenges. *Chemical reviews*, 111(9), 5610-5637.
 - 16- Massoulié, J., Pezzementi, L., Bon, S., Krejci, E., & Vallette, F.-M. (1993). Molecular and cellular biology of cholinesterases. *Progress in neurobiology*, 41(1), 31-91.
 - 17- McGarry, K. G., Schill, K. E., Winters, T. P., Lemmon, E. E., Sabourin, C. L., Harvilchuck, J. A., & Moyer, R. A. (2020). Characterization of cholinesterases from multiple large animal species for medical countermeasure development against chemical warfare nerve agents. *Toxicological Sciences*, 174(1), 124-132.
 - 18- Ollis, D. L., Cheah, E., Cygler, M., Dijkstra, B., Frolow, F., Franken, S. M., . . . Schrag, J. (1992). The α/β hydrolase fold. *Protein Engineering, Design and Selection*, 5(3), 197-211.
 - 19- Parrinello, M., & Rahman, A. (1980). Crystal structure and pair potentials: A molecular-dynamics study. *Physical review letters*, 45(14), 1196.
 - 20- Pohanka, M. (2011). Cholinesterases, a target of pharmacology and toxicology. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of Palacky University in Olomouc*, 155(3).
 - 21- Pooja, D., & Sistla, R. (2019). Design of eco-friendly gold nanoparticles for cancer treatment *RNA Interference and Cancer Therapy* (pp. 215-221): Springer.
 - 22- Schmid, N., Eichenberger, A. P., Choutko, A., Riniker, S., Winger, M., Mark, A. E., & van Gunsteren, W. F. (2011). Definition and testing of the GROMOS force-field versions 54A7 and 54B7. *European biophysics journal*, 40(7), 843-856.
 - 23- Sussman, J. L., Harel, M., Frolow, F., Oefner, C., Goldman, A., Tokar, L., & Silman, I. (1991). Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein. *Science*, 253(5022), 872-879.
 - 24- Van Der Spoel, D., Lindahl, E., Hess, B., Groenhof, G., Mark, A. E., & Berendsen, H. J. (2005). GROMACS: fast, flexible, and free. *Journal of computational chemistry*, 26(16), 1701-1718.

Molecular Dynamics Simulation of Acetylcholinesterase in the Presence of Gold Nanoparticles

Akbarnejad H.¹, Barshan-tashnizi M.¹, Sajedi R. H.² and Mehrnejad F.^{1*}

¹ Dept. of Life Science Engineering, Faculty of New Sciences and Technology, University of Tehran, Tehran, I.R. of Iran.

² Dept. of Biochemistry, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. of Iran.

Abstract

The particular properties of nanoparticles and their interactions with biomolecules have attracted the attention of many scientists. Nanoparticles may affect the structure and function of biomolecules within the body. Proteins can easily attach to the surface of gold nanoparticles and form a protein corona around the nanoparticles. The formation of corona can affect the conformation of absorbed proteins and disrupt their physiological function. Therefore, understanding the interactions of gold nanoparticles and proteins can be considered as a starting point for studying the biological effects of nanoparticles. Considering the broad applications of gold nanoparticles and also the crucial role of acetylcholinesterase in the nervous system, this research used molecular dynamics simulations to study the effects of the gold nanoparticles on the structure of acetylcholinesterase. The results of RMSD, DSSP, and the radius of gyration indicate that the structure of AChE is stable in the presence of gold nanoparticles. Also, the results showed that gold nanoparticles do not cause any significant conformational changes in the protein structure.

Key words: Gold nanoparticles; Acetylcholinesterase; Molecular dynamics simulations