

分子动力学模拟研究两性离子结构对生物分子 谷胱甘肽正常构象的维持

严 菡^① 朱皓淼^② 沈 健^{①②*}

(^① 南京大学江苏省表面与界面化学工程技术研究中心, 南京 210093; ^② 南京师范大学江苏省生物医药
功能材料工程研究中心, 南京 210097)

摘要 用分子动力学方法模拟了正常构象下谷胱甘肽分子(GSH)以及谷胱甘肽分子与两性离子材料表面和疏水性材料表面相互作用的过程. 均方根偏移、构象伸缩性和二面角分布结果显示, 两性离子材料表面能够较好地维持谷胱甘肽分子的正常构象.

关键词 蛋白质-材料表面相互作用 分子动力学模拟 两性离子结构 谷胱甘肽 构象变化
不凝血性

改进材料的不凝血性是发展生物材料所面临的
最大挑战之一. “维持正常构象假说”^[1,2]从理论上
预言: 两性离子结构由于不会改变与之接触的蛋白
质分子的正常构象从而应该具有较好的不凝血性.
以这一假说为指导合成出的一系列表面接枝两性离
子生物材料也已经为实验所证实具有优良的不凝血
性^[3-5]. 但是“维持正常构象假说”的正确性尚未从
两性离子材料与蛋白质分子相互作用的分子层次上
给出证明. 分子动力学模拟使用半经验力场, 是从理
论上研究复杂分子体系最直接的方法之一, 特别适
合用来模拟蛋白质分子与表面的相互作用. 然而目
前由于受到计算资源的限制, 基于原子模型的蛋白
质-表面相互作用的模拟主要针对仅含有少数几个氨
基酸残基的肽分子^[6-8], 对大的蛋白质分子的模拟尚
未得到满意的结果^[9]. 本文模拟了人体中含量丰富
的生物三肽分子谷胱甘肽 (GSH) 与两性离子表面和疏
水性表面的相互作用过程. 选择GSH不仅由于其独
特的生理解毒功能还基于以下几方面的考虑: 1, GSH

带电状态比较稳定. GSH共有 16 种带电状态, 但在生
理环境下却几乎以图 1 形式存在^[10], 整个分子净电
荷为-1; 2, 组成GSH分子的三个氨基酸残基具有代
表性. 从带电状态来看, 谷氨酸(Glu)和半胱氨酸(Cys)
为中性, 而甘氨酸(Gly)带负电; 从与水的作用来看
Cys和Gly的侧链是亲水性的, 而Glu的烷基侧链是疏
水性的; 3, 蛋白质分子变性或失去生物活性, 有时只
是由局部作用点位置的构象发生变化而引发的, GSH
分子结构被发现存在于许多蛋白质分子中, 其分子
较小所含残基数量不多, 有利于分析生物分子与材
料表面的官能团之间相互作用. 此外, 对不受材料表
面影响的GSH分子被假定为正常构象的情形亦进行
了模拟. 目的在于从分子水平上研究GSH分子与表
面相互作用的细节, 并从GSH分子的构象改变情况
比较不凝血性较好的两性离子表面和不凝血性较差
的疏水性表面对GSH分子正常构象造成的不同影响,
给“维持正常构象假说”以佐证.

收稿日期: 2006-08-10; 接受日期: 2006-09-08

高等学校博士学科点专项科研基金(批准号: 20050319010)、科技部重大基础研究前期研究专项项目(批准号: 2005CCA00400)和江苏省六大人才高峰资助项目

* 联系人, E-mail: jshen@nju.edu.cn

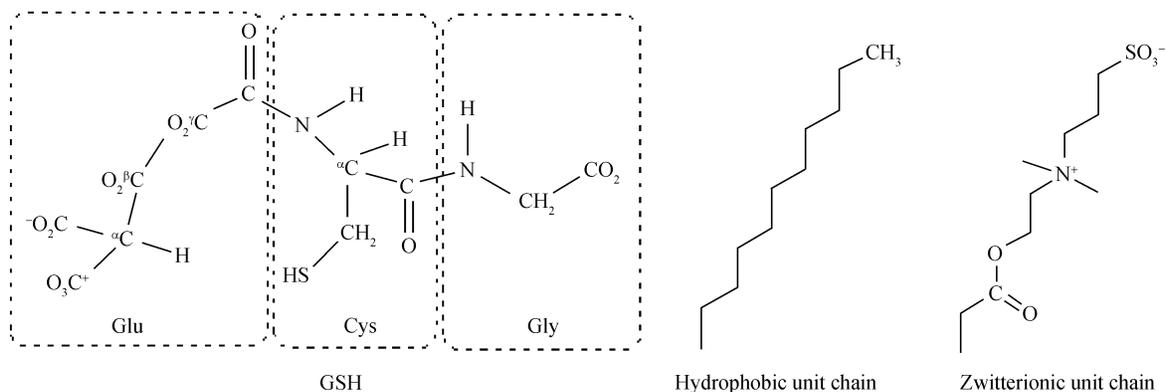


图1 GSH 和构成表面的单元链

1 模型构建

GSH 分子以及用来构建材料表面的单元链如图 1 所示. 构建 4×4 的材料表面分子层, 厚度约为 1.2 nm, 每个单元链底部的 2 个 C 原子被固定以维持稳定的取向. GSH 分子置于材料表面之上, 采用周期性边界条件, 平行于材料表面 $2.88 \text{ nm} \times 2.88 \text{ nm}$, 垂直于材料表面 4.00 nm. 溶剂采用 SPC 水分子模型, 同时加入 Na^+ 以使整个体系维持电中性, 如图 2 所示.

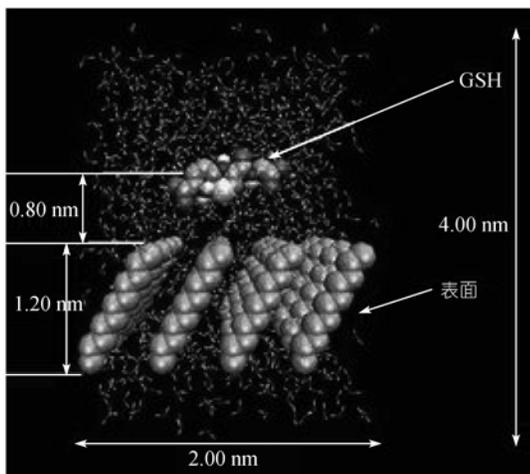


图2 GSH-甲基表面体系

典型的 GSH-表面体系, GSH 置于以甲基作为端基的表面之上. 水分子以众多个体形式显示

2 计算方法

用最速下降法对每个体系实施能量最小化. 在 NVT 系综的 Gromos 力场^[11]下, 使用蛙跳算法进行分子动力学模拟; 采用键长约束; 步长为 1 fs; 原子的

初速度根据 300 K 下的 Maxwell 分布生成; 库仑作用半径和范德华作用半径均为 1.4 nm; 模拟时间为 10 ns, 体系的构象每隔 0.1 ps 保存一次.

3 数据分析

3.1 均方根偏移

通过计算模拟过程中 GSH 分子中选定原子相对于其初始结构的均方根偏移 RMSD, 来衡量 GSH 分子初始构象的保持程度. RMSD 的定义是:

$$\text{RMSD}(t_1, t_2) = \left[\frac{\sum_{i=1}^N m_i \|\mathbf{r}_i(t_1) - \mathbf{r}_i(t_2)\|^2}{\sum_{i=1}^N m_i} \right]^{\frac{1}{2}}, \quad (1)$$

其中 m_i 是原子 i 的质量, $\mathbf{r}_i(t)$ 是原子 i 在时间 t 的位置. 图 3 和图 4 分别为全部模拟时间内 GSH 骨架和 GSH 整个分子的 RMSD 值随时间变化情况. 可见两性离子表面与正常构象的 RMSD 符合程度很好, 而疏水性表面则发生了较大偏离.

3.2 构象伸缩性

构象伸缩性一定程度上由分子中带电基团或极性基团的分布情况决定. 本文中, GSH 分子一端的 Glu 残基上由于具有一个带正电荷的氨基和一个带负电荷的羧基而成为一个偶极, 在分子另一端的 Gly 残基上有一个带负电荷的羧基, 因此两者之间的电荷-偶极相互作用, 会使得 Glu 一端的偶极中带正电荷的氨基有靠近 Gly 一端的带负电荷的羧基的趋势, 体现为分子发生了“折叠”. 图 5 显示了末端距离随时间的变化情况. 图 6 所示的是正常构象的 GSH (A) 与位

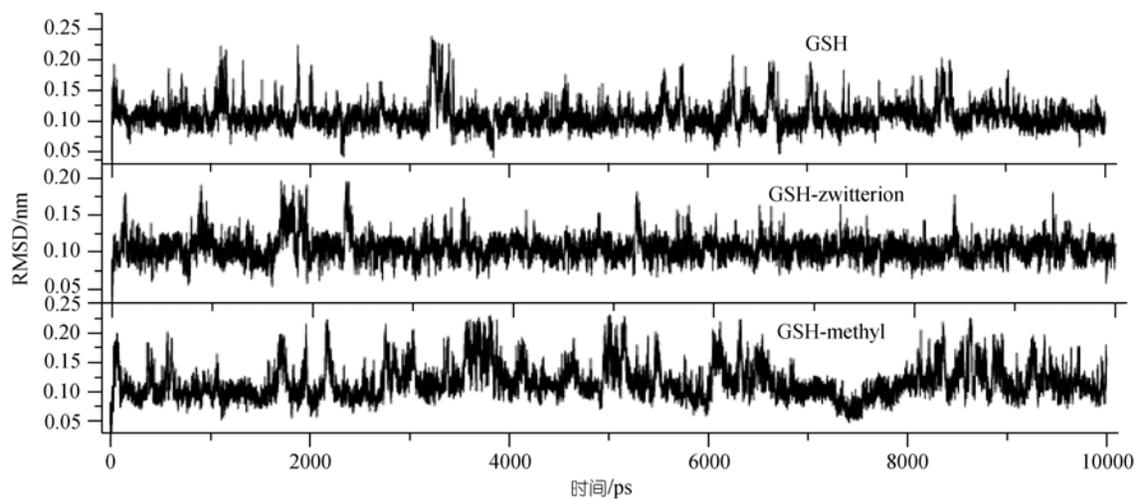


图 3 单独的 GSH 分子体系和 GSH 分子-两种不同表面体系, GSH 骨架的 RMSD 与时间的关系

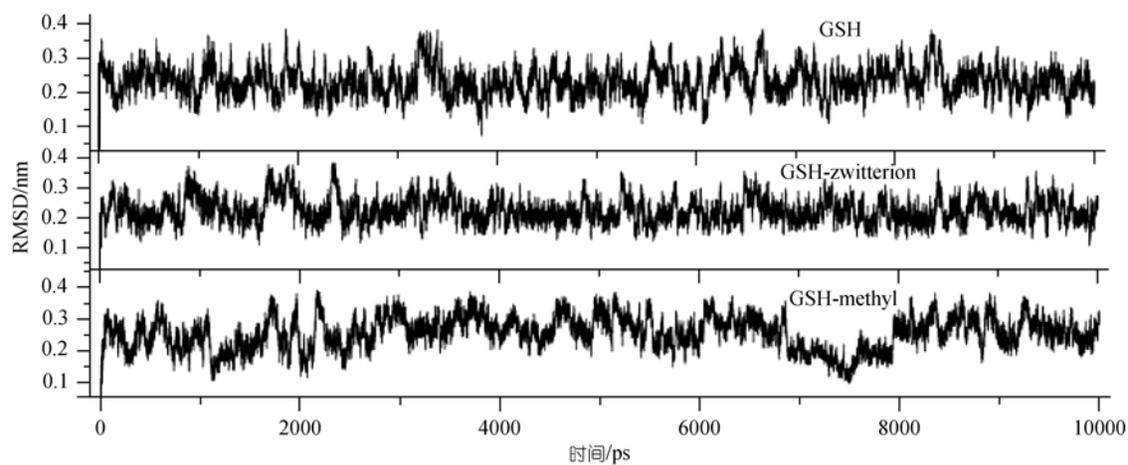


图 4 单独的 GSH 分子体系和 GSH 分子-两种不同表面体系, 整个 GSH 分子的 RMSD 与时间的关系

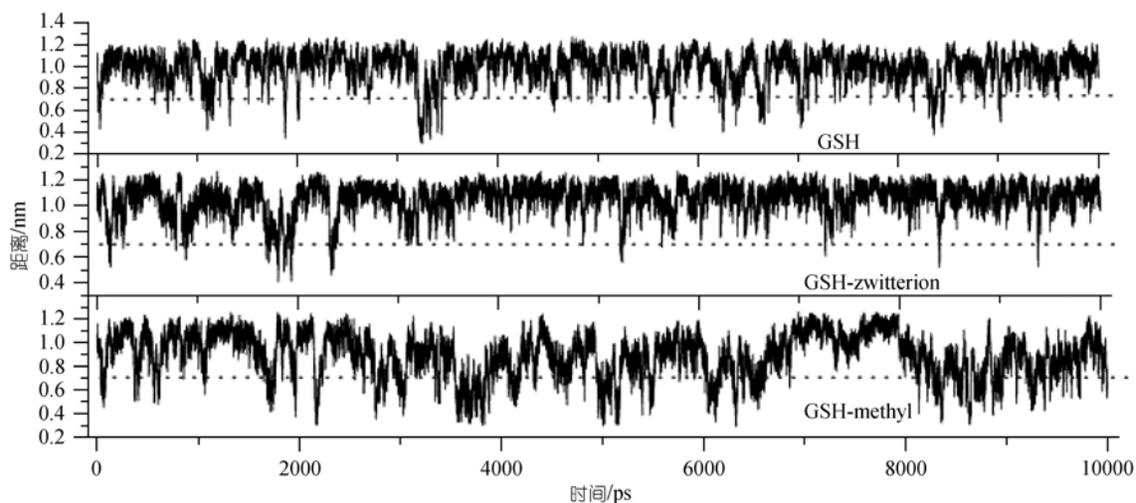
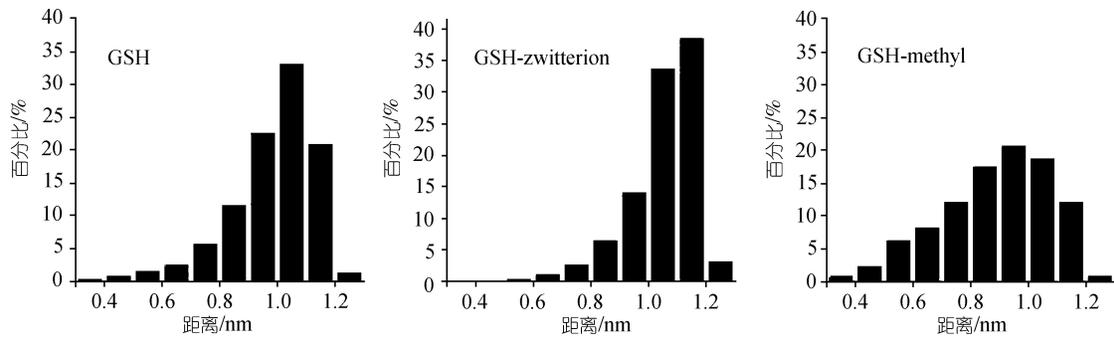


图 5 Glu-N⁺H₃ 和 Gly-COO⁻之间距离与时间的变化关系

图6 Glu-N⁺H₃和 Gly-COO⁻之间距离组成比例

于两性离子表面和疏水性表面的 GSH 分子中, Glu 残基上的 N⁺H 基团与 Gly 残基上的 COO⁻ 基团的距离在时间上的分布百分数. 当距离小于 0.7 nm 时, 可以认为两个末端基团发生了紧密的接触. 对比之后发现, 正常构象的 GSH 分子两个末端的距离主要分布在 1.0 nm 附近, 距离小于 0.7 nm, 所占的比例为 4.94%, 即两个末端基团靠近的机会很小, 分子没有明显的折叠倾向, 原因可以解释为, 作为偶极的水分子的介入, 屏蔽了两个末端之间较弱的电荷-偶极相互作用; 对于 GSH-两性离子表面体系, 两个末端基团的距离小于 0.7 nm 所占的比例为 1.56%, 情况和正常构象的 GSH 分子非常接近, 没有发生明显的折叠, 同样可以认为, 两性离子表面作为偶极, 如同水分子一样, 屏蔽了两个末端之间的电荷-偶极相互作用; 而在 GSH-疏水性表面的情况下, 两个末端基团的距离小于 0.7 nm 所占的比例达到了 17.9%, 显示出 GSH 分子发生了明显的折叠.

3.3 二面角分布

蛋白质/肽分子骨架上的 C-^αC 键和 N-^αC 键理论

上是可以自由旋转的, 分别用二面角 ψ (N-^αC-C-¹N) 和 ϕ (C-^αC-N-¹C) 代表, 而实际上处于某些特定角度时, 可能会由于空间位阻使得分子的构象势能特别大(图7). Ramachandran Plot 就是对所有的 ψ/ϕ 组合作图, 显示哪些组合是空间上倾向于选择的(点稠密), 哪些是不倾向于选择的(点稀疏).

不同体系 GSH 分子的 Ramachandran Plot 如图 8 所示, 正常构象的 GSH 分子中, ψ/ϕ 组合几乎全部分布在第一、二、三象限, 其中第二象限的几率最大, 是空间上最倾向于选择的区间, 第四象限的几率最小,

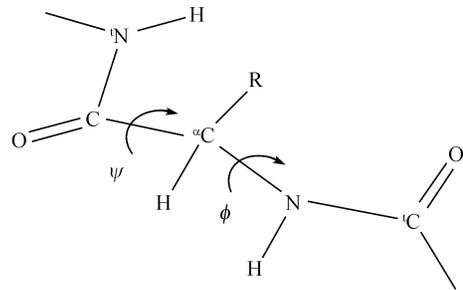
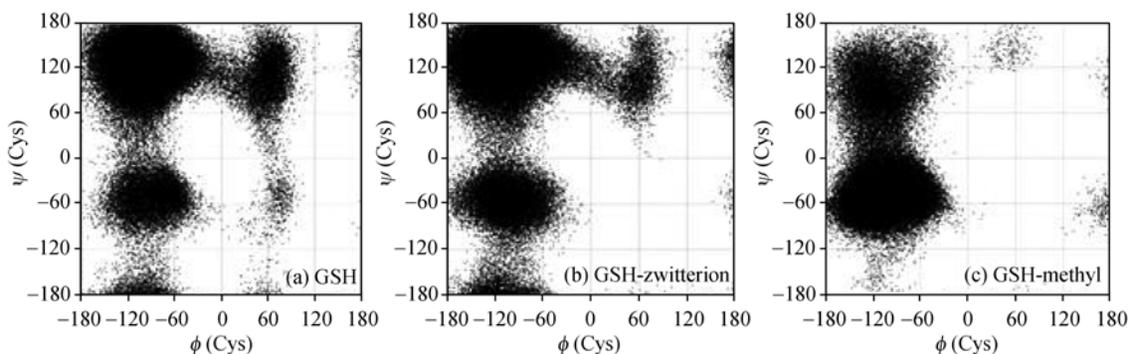
图7 蛋白质和肽键骨架上 ψ/ϕ 角的定义

图8 GSH 分子骨架上的 rama 角分布

是空间上不倾向于选择的区间. 两性离子表面与正常构象的分布情况一致, 而疏水性表面的分布情况发生了显著改变.

4 结论

基于目前的分子动力学模拟的结果, 很好地证实了两性离子结构对于维持生物小分子的正常构象是十分有利的, “维持正常构象假说”的预言, 在模拟的结果中得到了验证.

参 考 文 献

- 1 林思聪. 高分子生物材料分子工程研究进展(上). 高分子通报, 1997, 1: 1—7
- 2 林思聪. 高分子生物材料分子工程研究进展(下). 高分子通报, 1997, 2: 76—81
- 3 Zhang J, Yuan J, Yuan Y L. Platelet adhesive resistance of segmented polyurethane film surface-grafted with vinyl benzyl sulfo monomer of ammonium zwitterions. *Biomaterials*, 2003, 24(23): 4223—4231[DOI]
- 4 Yang Z M, Wang L, Yuan J. Synthetic studies on nonthrombogenic biomaterials 14: synthesis and characterization of poly (ether-urethane) bearing a Zwitterionic structure of phosphorylcholine on the surface. *Biomater Sci Polymer Ed*, 2003, 14(7): 707—718[DOI]
- 5 Yuan J, Zhang J, Zang X P. Improvement of blood compatibility on cellulose membrane surface by grafting betaines. *Colloids Surfaces*, 2003, 30(1-2): 147—155[DOI]
- 6 Raut V P, Agashe M A, Stuart S J. Molecular dynamics simulations of peptide-surface interactions. *Langmuir*, 2005, 21: 1629—1639 [DOI]
- 7 William G Pitt, Daniel R. Weaver. Calculation of Protein-Polymer Force Fields Using Molecular Dynamics. *J Colloid Interf Sci*, 185, 1997, 1: 258—264[DOI]
- 8 Carravetta V, Monti S J. Peptide-TiO₂ surface interaction in solution by *ab initio* and molecular dynamics simulations. *Phys Chem B* 2006, 110(12): 6160—6169
- 9 Agashe M, Raut V, Stuart S J. Molecular simulation to characterize the adsorption behavior of a fibrinogen gamma-chain fragment. *Langmuir*, 2005, 21: 1103—1117[DOI]
- 10 Outi Lampela, Andre H Juffer, Arvi Rauk. Conformational analysis of glutathione in aqueous solution with molecular dynamics *J. Phys Chem A*, 2003, 107: 9208—9220[DOI]
- 11 van der Spoel D, Lindahl E, Hess B. *Gromacs User Manual*, version 3.2, 2004