

# 铜离子(II)抑制A $\beta$ 多肽聚集机理的分子模拟\*

焦 勇 韩大雄 杨 频\*\*

(山西大学分子科学研究所 化学生物学与分子工程教育部重点实验室, 太原 030006)

**摘要** 大脑中淀粉样 $\beta$ 多肽(A $\beta$ )的纤维化沉积是 Alzheimer 氏症(AD)的一个关键性病理事件. 体外实验发现, 近生理浓度的锌离子即有很强的诱导 A $\beta$  聚集的能力. 铜离子在一定条件下能够强烈地抑制锌离子诱导的 A $\beta$  聚集. 铜离子作为体内锌离子的潜在抑制剂引起了人们的关注. 本文通过分子模拟法研究了铜离子抑制 A $\beta$ 聚集的可能机理. 在单环模式中发现 Y10 残基有明显的促螺旋化作用, [Cu-H13(N $\pi$ )-Y10(OH)]配合物形成了局部准 3.0<sub>10</sub> 螺旋结构. 在多环模式中发现 Q15 和 E11 残基的侧链协同配位使体系能量大幅降低, 变构效应显著. 配合物[Cu-3N-Q15(O)-E11(O1)]和[Cu-H13(N $\pi$ )-Y10(OH)]由于变构为准螺旋构象, 极可能以可溶形式存在于溶液中. 另外, 发现氢键作用是 A $\beta$ 聚集的主要驱动力. 以上结果将有助于进一步加深对铜离子与 AD 致病机制之间关系的理解并制定相应的“抗淀粉样沉积”的治疗策略.

**关键词** 铜离子(II) A $\beta$ 多肽 抑制机理 Alzheimer 氏症(AD) 分子模拟

Alzheimer 氏症(AD)是一种迄今尚无法医治的毁灭性的痴呆症. 淀粉样 $\beta$ 多肽(A $\beta$ )的纤维化沉积是 AD 的一个关键性病理事件和病理标志. 大量实验发现某些金属离子, 如锌离子、铝离子等, 是诱发或加重 AD 的一个潜在危险因素<sup>[1-3]</sup>. 在 AD 患者脑中, A $\beta$  以目前尚未完全明了的机理逐渐聚集、纤维化并沉积为斑点核, 然后与相关蛋白质及其他成分共沉淀成脑斑. 脑斑具有神经毒性, 它的扩展将导致神经退行性病变<sup>[4,5]</sup>. 体外研究表明锌离子在近生理浓度条件下急剧诱导 A $\beta$  发生纤维化聚集, 被认为与 AD 的发病密切相关<sup>[1]</sup>. 近来, 我们利用分子模拟方法在分子

水平上阐明了锌离子诱导 A $\beta$  纤维化聚集的键合模式 (即不可溶键合模式). 锌离子通过 [H13(N $\tau$ )-Zn-H14(N $\tau$ )] 锌桥键将相邻的 A $\beta$  交联起来, 在三维纤维结构的组装中发挥了诱导核的关键作用. 锌离子和 N $\tau$  的键合极大地增强了聚集体系的稳定性, 是推动 A $\beta$  聚集的重要结构因素之一<sup>[6]</sup>. 对锌离子诱导机理的研究引出了另一个重要而有趣的问题: 正常的大脑中必定存在某一天然的保护性机制来抑制锌离子强烈的诱导能力以避免形成脑斑, 那么这一机制具体是什么呢? 近来的实验研究表明铜离子可能参与了这一机制: 铜离子在一定条件下不但能够强烈抑制 A $\beta$  聚

2004-11-26 收稿, 2005-05-10 收修改稿

\* 国家自然科学基金资助项目(批准号: 30470408)

\*\* 联系人, E-mail: [yangpin@sxu.edu.cn](mailto:yangpin@sxu.edu.cn)

集, 而且能够竞争性地抑制锌离子所诱导的A $\beta$ 聚集. 铜离子作为锌离子聚集诱导效应的潜在抑制剂引起了人们的关注<sup>[7,8]</sup>. 另据报道, 与同龄对照组相比, AD 患者的若干严重退化的大脑区域诸如海马区和扁桃体结构中, 铜离子浓度显著下降, 而锌离子则维持相对较高的浓度<sup>[7,8]</sup>. 这一发现暗示可能因铜离子浓度显著下降致使其抑制功能减弱, 锌离子的聚集诱导效应失去有效抑制而导致大量A $\beta$ 聚集, 引发神经系统退行性病变.

我们以分子模拟方法通过深入探讨铜离子的A $\beta$ 聚集抑制机理发现, 与锌离子形成多肽间锌桥键形式的不溶键合模式不同, 生理 pH 条件下铜离子与A $\beta$ 以可溶键合模式为作用特征. 本文较系统地考察了铜离子与A $\beta$ 相互作用的可溶键合模式, 在单环可溶键合模式中发现 Y10 残基有明显的促螺旋化作用, [Cu-H13(N $\pi$ )-Y10(OH)]配合物形成了局部典型的准 3.0 $\text{\AA}$  螺旋结构. 在侧链协同的多环可溶键合模式中则发现 Q15 和 E11 残基的侧链协同配位使体系能量大幅降低, 变构效应显著. [Cu-3N-Q15(O)-E11(O1)]和[Cu-H13(N $\pi$ )-Y10(OH)]配合物由于变构为准螺旋构象, 极可能以可溶形式存在于溶液中. 另外, 发现氢键作用是A $\beta$ 聚集的主要驱动力. 以上结果实现了分子水平上对铜离子抑制A $\beta$ 聚集机理的认识, 对最终揭示体内金属离子代谢失衡与AD致病机理的关系将提供有益的启示.

## 1 模拟方法

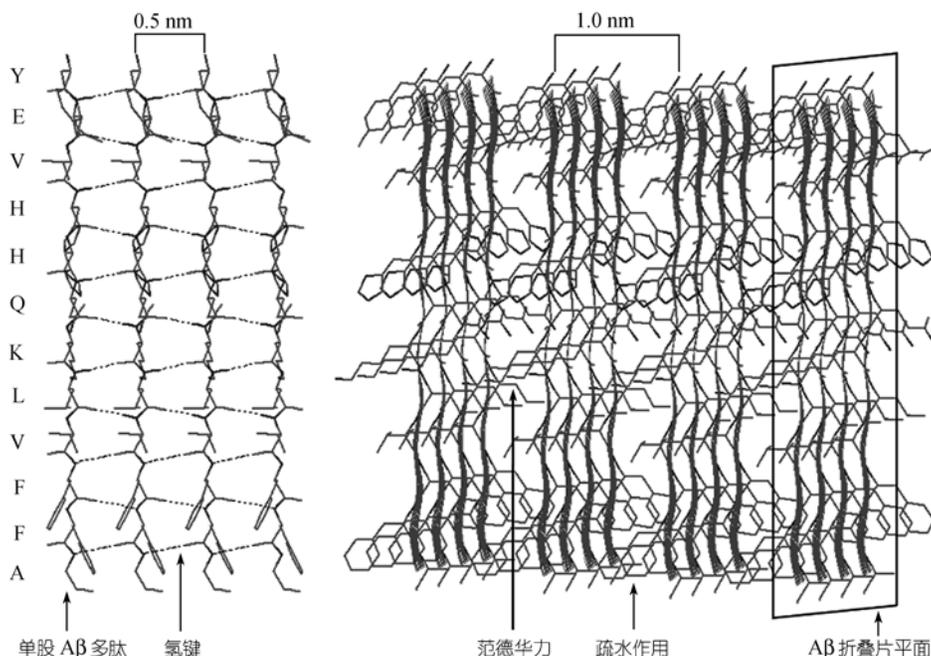
A $\beta$ 的纤维结构是研究A $\beta$ 聚集的金属离子效应的结构基础. Lynn等联合应用固态核磁、电子显微镜和小角度中子散射等手段对处于溶液和固态的A $\beta$ 纤维进行了直接研究, 建立了A $\beta$ 10-35纤维的结构模型<sup>[9]</sup>. 该模型认为A $\beta$ 纤维由6层平行式 $\beta$ 折叠片层积而成,  $\beta$ 折叠片沿着纤维轴向延伸, A $\beta$ 的取向与纤维轴向相正交, 具有Cross- $\beta$ 结构特征<sup>[10]</sup>. A $\beta$ 在纤维轴向及其正交方向上的空间周期分别是0.5 nm和1.0 nm. 另有报道, 通过拉曼显微术观测从AD患者脑中提取的A $\beta$ 纤维, 发现其由两条直径为2~4 nm的单纤维组成, 单纤维中A $\beta$ 在纤维轴向及正交方向上的空间周期分别为0.48和1.06 nm<sup>[11]</sup>. Lynn结构模型数

据与实验基本吻合, 验证了该模型的可靠性. 上述研究表明在纤维中A $\beta$ 是有序排列的, 为理论计算的模型搭建提供了实验约束.

与锌离子的A $\beta$ 聚集诱导效应的研究一样, 我们拟以A $\beta$ 10-21(<sup>10</sup>YEVHHQKLVFFA<sup>21</sup>)作为全长度A $\beta$ 的简化模型用于本文的研究<sup>[6]</sup>. A $\beta$ 10-21集中了大部分已探明的金属活性位点(如Y10, H13, H14等), 同时小角度中子散射研究表明金属离子能够诱导A $\beta$ 10-21聚集成理想的纤维<sup>[12]</sup>. 此外, A $\beta$ 10-21与A $\beta$ 10-35的理化性质及聚集行为的相似性, 使得由A $\beta$ 10-35建立的纤维结构模型可移植于A $\beta$ 10-21<sup>[12]</sup>.

大量研究显示, A $\beta$ 的 $\beta$ 构象是其纤维化的能量最有利的前体结构形式, 是维系A $\beta$ 纤维的氢键、范德华力和疏水作用等作用力的结构基础<sup>[7-12]</sup>. 一旦 $\beta$ 构象被严重扭曲或破坏, 则多肽主链间形成氢键的条件将不复存在, 同时侧链伸展方向的无序化使得范德华力、疏水作用等减弱或消失, A $\beta$ 失去聚集的驱动力, 将以可溶形式存在于溶液中. 因此, 我们以A $\beta$ 10-21的平行式 $\beta$ 构型( $\Phi=-119^\circ$ ,  $\Psi=+113^\circ$ )为Cu(II)-A $\beta$ 相互作用的初始结构, 并以之为结构单元搭建实验限制性4股、16股纤维模型的起始结构: 首先设定4条A $\beta$ 通过氢键侧向聚集在一起形成A $\beta$ 折叠片, A $\beta$ 的间隔为0.5 nm; 然后将4个拥有相同构型的A $\beta$ 折叠片相互间平行地层叠, 跨度为1.0 nm, 形成一个长方体状单纤维(图1). 本文将考察平行式 $\beta$ 构象的A $\beta$ 10-21与铜离子相互作用的可溶键合模式, 并用筛选出的优势可溶构象按Lynn模型参数搭建纤维化对照模型, 以阐明铜离子的A $\beta$ 聚集抑制效应的作用机理.

Cu(II)的溶液配位化学较为复杂, 配位数可以是4, 5或6, 相应的配位几何是平面四边形、四方锥或变形八面体. 配位场理论指出, 4配位的平面四边形构型是能量上较为有利的最常见的的基本配位结构, 而在轴向上的第5或第6位的配位作用则相对较弱, 几何构型也往往发生畸变, 键长等键参数不太确定<sup>[13-15]</sup>. 本文考虑与配位场效应相关的金属模板效应(即金属配位几何构型的相对刚性), 以平面四边形为基本模板, 首先利用金属模板的组装效应, 采用成键模式搭建计算模型, 然后以金属模板为约束进行

图1 A $\beta$  纤维结构模型(a) 4 条 A $\beta$  形成的 A $\beta$  折叠片结构; (b) 16 股纤维模型的结构

构象优化. 采用的分子力学力场是 ESFF 力场, 相关参数均采用该力场的默认参数.

本工作在 SGI 工作站上完成, 软件平台是 InsightII 2000.

## 2 结果与讨论

A $\beta$ 10-21 上含有金属离子的多处潜在结合位点, 其中组氨酸残基表现出非同一般的特异性. 含有三处氨基酸残基取代的大鼠 A $\beta$  (R5 $\rightarrow$ G, Y10 $\rightarrow$ F, H13 $\rightarrow$ R), 其与金属离子的结合能力远远低于人类 A $\beta$ . 通过用二乙基焦碳酸盐 (diethyl pyrocarbonate) 修饰 A $\beta$  肽的 6, 13, 14 位点的组氨酸残基, 发现能有效地抑制金属离子诱导的 A $\beta$  聚集<sup>[16]</sup>; 特别是通过单一突变 H13 $\rightarrow$ R, 可以大幅度降低 A $\beta$  的金属亲和性. 总之, 实验表明组氨酸残基的咪唑基团具有特异配位活性, 是金属离子与 A $\beta$  作用的锚合点.

本文以 A $\beta$  的 H13, H14 为铜离子的锚合点, 用分子模拟方法探讨铜离子与 A $\beta$  可溶键合模式的作用细节. [Cu(II)-A $\beta$ ] 链内螯合作用可出现单环、双环、三

环、四环和五环等不同螯环数的情况. 图 2 列示了两例分别以 H13, H14 为铜离子锚合点的不同螯环数的体系能量计算结果, 其中三环模式的能量最高, 单环及五环模式的能量较低, 特别是侧链协同的五环作用模式, 使体系能量显著降低. 根据计算结果, 我们提出了可溶键合模式的两类可能子模式: (1) 水分子参与配位的单环作用模式 (简称单环模式); (2) 侧链协同的多环作用模式 (简称多环模式).

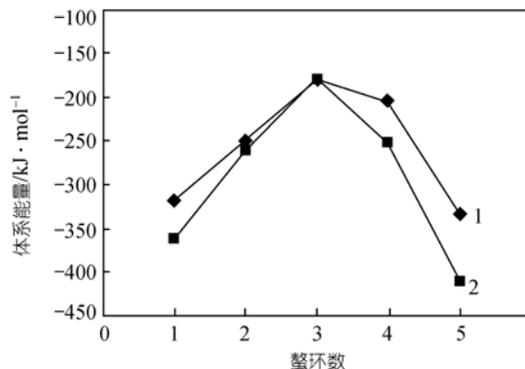


图2 不同螯环数的体系能量

1, 2 分别是以 H14, H13 为锚合点的不同螯环数的体系能量

## 2.1 水分子参与配位的单环作用模式

单环模式是最简单的链内作用模式,它以平面四边形构型为几何约束,分别以 H13, H14 残基的咪唑 N 原子为锚合点,在两个水分子参与配位的前提下,对 A $\beta$  的主链和侧链上存在的铜离子潜在作用位点分别进行搜索,以寻找优势可溶构象.

由表 1 和表 2 可知,除极个别位点能量未收敛外,绝大部分位点的体系能量都是较低的负值,表明铜离子与 A $\beta$  以单环模式作用对体系具有稳定作用;同时,构象分析表明(另文报道),在不同位点上铜离子的结合都不同程度地扭曲了 A $\beta$  的  $\beta$  构象,使之变为无规卷曲或局部准螺旋.特别地,本研究发现 Y10 残基具有特殊的变构作用,在单环模式中 90% 以上的局部准螺旋构象出现在有 Y10 残基参与配位的环境中,提示 Y10 残基的配位具有促螺旋化作用(见图 3).在 Fe(III) 与 A $\beta$  的相互作用中, Y10 残基的配位活性甚至超过了组氨酸残基 [17]. 准螺旋构象的结构特

表 1 以锚点为中心与主链原子键合作用的能量搜索  
/kJ  $\cdot$  mol $^{-1}$

主链配位 原子	锚合点			
	H13(N $\pi$ )	H13(N $\tau$ )	H14(N $\pi$ )	H14(N $\tau$ )
Y10(O)	-370.61	-337.21	-373.66	-380.52
Y10(N)	-402.35	-328.76	-370.83	-341.20
E11(O)	-443.38	-369.42	-386.02	-365.02
E11(N)	-333.24	-287.55	-376.61	-291.49
V12(O)	-379.45	-339.62	-430.11	-371.83
V12(N)	-355.55	-282.91	-344.45	-294.44
H13(O)	-348.88	-431.91	-417.54	-343.56
H13(N)	-258.46	-318.24	-354.90	-286.44
H14(O)	-425.32	-353.97	-355.99	-437.05
H14(N)	-337.52	-262.70	-265.70	-361.91
Q15(O)	-360.10	-354.13	-388.26	-363.63
Q15(N)	-364.24	-303.07	-349.72	-267.06
K16(O)	-297.69	-351.85	-407.54	-347.11
K16(N)	-257.46	-285.70	-344.38	-288.88
L17(O)	-410.33	-347.65	-418.39	-338.97
L17(N)	-318.01	-279.04	-358.30	-293.32
V18(O)	-310.90	-373.55	-435.24	-332.77
V18(N)	-335.12	-282.86	-351.57	-278.17
F19(O)	-	-370.83	-344.42	-348.41
F19(N)	-357.40	-290.17	-334.43	-296.54
F20(O)	-385.81	-369.13	-387.32	-363.47
F20(N)	-387.76	-306.65	-364.11	-282.05
A21(O)	-	-316.68	-417.98	-351.82
A21(N)	-385.85	-	-377.01	-280.91

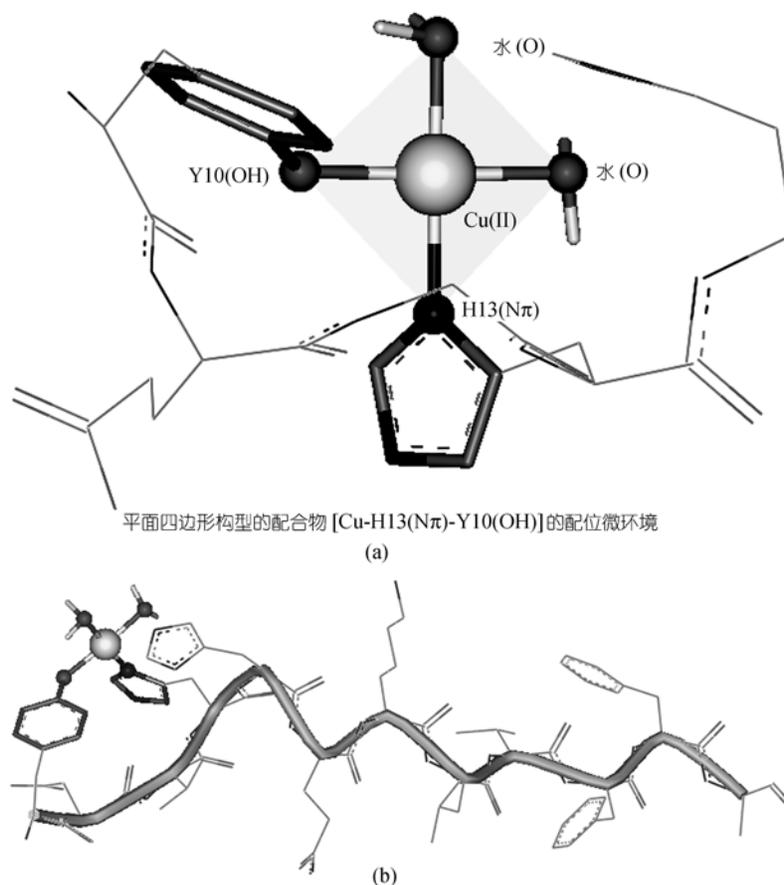
表 2 以锚点为中心与侧链原子键合作用的能量搜索  
/kJ  $\cdot$  mol $^{-1}$

侧链配位 原子	锚合点			
	H13(N $\pi$ )	H13(N $\tau$ )	H14(N $\pi$ )	H14(N $\tau$ )
Y10-OH	-410.37	-342.56	-370.11	-342.98
E11-CO	-449.73	-375.32	-415.20	-377.58
E11-OH	-426.42	-355.58	-420.79	-368.34
H13-N $\pi$	-	-	-378.27	-319.78
H13-N $\tau$	-	-	-311.96	-226.84
H14-N $\pi$	-346.30	-337.48	-	-
H14-N $\tau$	-328.20	-263.13	-	-
Q15-CO	-372.13	-385.45	-462.66	-386.16
Q15-NH	-401.52	-337.53	-376.41	-328.72
K16-NH	-401.12	-321.74	-359.97	-322.01

征是: (i) 氢键收缩效应,由于多个分子内氢键的形成使原来充分伸展的 A $\beta$  链缩短约 20%(图 4); (ii) 构象角由  $\beta$  构象特征向螺旋构象特征转变,导致准螺旋构象的形成; (iii) 螺距等结构特征符合 3.0 $_{10}$  型螺旋构象. 在 [Cu-H13(N $\pi$ )-Y10(OH)] 复合物中,形成了典型准 3.0 $_{10}$  型螺旋(结构参数见表 3).

## 2.2 侧链协同的多环作用模式

Miura 等根据拉曼光谱数据推测 [Cu(II)-A $\beta$ ] 可溶配合物可能是以多肽主链内的三环螯合模式形成的 [16]. 我们借用该三环模式计算了锌离子与 A $\beta$  的作用,发现体系能量大幅升高,因而排除了锌离子与 A $\beta$  以该模式作用的可能性 [6]. 尽管该模式不适用于锌离子,但对铜离子来说却有一定的合理性: 因为对锌离子而言,其平面四边形配位构型的相对刚性势必使多肽主链扭曲,同时由于在 3 个相邻残基间形成以公共边紧密并合的 3 个螯环,空间位阻使排斥能增大,因而体系能量大幅升高; 对于铜离子则不然,实验表明铜离子与多肽间的多环螯合模式具有一定的普遍性 [13,14]. 我们根据铜离子的配位化学性质及其在生物体系内的可能配位几何,吸收 Miura 三环螯合模式的合理成分,提出了侧链协同的多环作用模式: 以多肽主链内的三环螯合作用为基础,考虑到侧链具有一定长度和较大柔性,结构张力和空间位阻较小,引入两个侧链参与配位,使铜离子配位饱和,利用多肽-金属配合物中存在的多重、动态的弱相互作用(即产生于多肽分子环境中的各种二级作用力,包括强的远距库仑力、弱的近距偶极-偶极相互作用

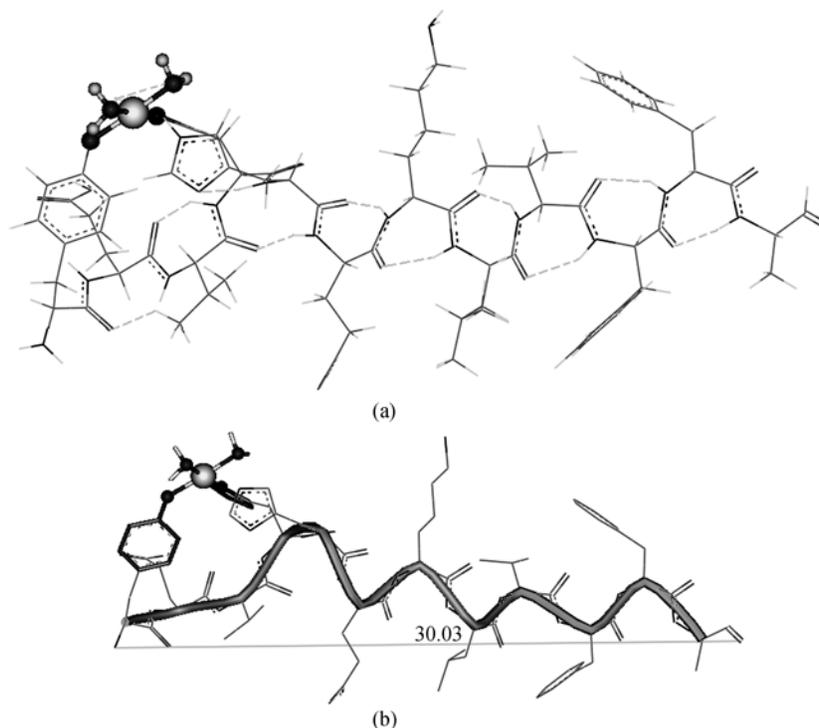
图3 [Cu-H13(N $\pi$ )-Y10(OH)]中 Cu(II)的配位微环境(a)和 Y10 的促螺旋化作用(b)表3 单环模式中典型准 3.0<sub>10</sub> 型螺旋的结构参数

	分子内氢键数	主链长度/nm	氢键环内原子数	构象角		螺距	每螺距残基数
				$\phi$	$\psi$		
[Cu-H13(N $\pi$ )-Y10(OH)]	12	3.003	10	-50.1°	-24.7°	5.9	3.0
3.0 <sub>10</sub> 型螺旋	-	-	10	-49.0°	-26.0°	6.0	3.0
A $\beta$ 10-21 肽的平行式 $\beta$ 构象	0	3.822	-	-119°	+113°	-	-

等)所表现出的协同效应,补偿了因主链扭曲而升高的能量,使体系的能量大幅度下降;同时,五环螯合带来的螯合效应使可溶构象在热力学上更稳定。

多环模式的具体模拟方法为:(i)以H13/H14残基上的咪唑N $\pi$ 为锚点。与锌离子相比,铜离子与组氨酸的亲合力更强<sup>[14]</sup>。H残基的两类咪唑N原子(N $\pi$ /N $\tau$ )都可与铜离子结合。为了阐明其相对活性,进行了单点键合作用计算,结果见表4。表中数据显示,N $\pi$ 与铜离子的结合能较低,优先与铜离子结合。拉曼光谱指出,N $\pi$ 倾向于形成分子内螯合的可溶构

象,而N $\tau$ 倾向于形成多肽链间交联<sup>[6]</sup>。(ii)平面四边形基本配位构型的搭建:在组氨酸残基充当锚点的情况下,铜离子具有促进邻近锚点的主链氨基脱质子的性质<sup>[13]</sup>。同时,以5/6员环螯合时螯合效应最显著,体系最稳定。我们分别以H13,H14的N $\pi$ 原子为锚点,将可构成5/6员螯环的主链去质子化的N原子作为螯合位点,构建铜离子的平面四边形基本配位构型。(iii)以平面四边形基本配位构型为基础,以侧链配位活性原子作为轴向配位的第5、第6个原子,使铜离子配位饱和。

图 4 [Cu-H13(N $\pi$ )-Y10(OH)]中氢键的形成及其收缩效应

(a) 12 个分子内氢键的形成; (b) 氢键收缩效应: 肽链由 3.822 nm 收缩为 3.003 nm. 图中 30.03 是软件以 Å 为单位给出的数据

表 4 H 残基的潜在锚点与铜离子结合的体系能量最小化值/ $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 

残基	配位原子	能量	备注
H13	N $\pi$	-483.6467	锚点 1
	N $\tau$	-406.8698	-
H14	N $\pi$	-486.6751	锚点 2
	N $\tau$	-408.6083	-

由表 5 可知, 对侧链协同的五环键合模式进行能量搜索, 可得到 50 个可能的能量数据. 在搜索 4 环、5 环配位环境时, 逐一改变 4 环、5 环配位点, 发现体

系最低能量分布集中在以 Q15 和 E11 残基侧链为配位点的配位环境中, 尤其是 Q15 残基的羰基, 是侧链协同配位的优选位点. 无论是以 H13(N $\pi$ )还是以 H14(N $\pi$ )为锚合点, 能量最低的协同配位侧链都是 Q15 和 E11 残基侧链. 能量最低的五环配合物 [Cu-3N-Q15(O)-E11(O1)]的二级结构及配位环境见图 5. 由图 6 可知, 该配合物形成了以铜离子为中心的局部准螺旋结构, 与单环模式相比, 同样表现出氢键收缩效应和螺旋化趋势.

表 5 以 H14(N $\pi$ )/H13(N $\pi$ )为锚点的侧链协同多环键合模式的能量搜索<sup>a)</sup>/ $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 

协同侧链	Y10(O)	E11(O1)	E11(O2)	H13(N $\pi$ )	H13(N $\tau$ )	H14(N $\pi$ )	H14(N $\tau$ )	Q15(O)	Q15(N)	K16(N)
Y10(O)		-303.5	-250.0			-274.3	-225.7	-316.7	-282.8	-287.4
E11(O1)	-326.7					-296.6	-219.7	-335.1	-351.7	-291.6
E11(O2)	-341.1					-306.6	-232.9	-382.1	-334.3	-302.2
H13(N $\pi$ )	-312.9	-325.2	-335.9							
H13(N $\tau$ )	-242.1	-252.6	-236.4							
H14(N $\pi$ )								-338.3	-296.3	-282.0
H14(N $\tau$ )								-273.4	-341.4	-239.9
Q15(O)	-293.6	-410.7	-401.6	-338.4	-267.5					-318.8
Q15(N)	-292.4	-307.2	-335.1	-304.9	-196.4					-299.9
K16(N)	-317.4	-333.2	-333.1	-306.8	-217.7			-290.6	-233.9	

a) 对角线右上方为以 H13(N $\pi$ )为锚点的数据, 左下方为以 H14(N $\pi$ )为锚点的数据

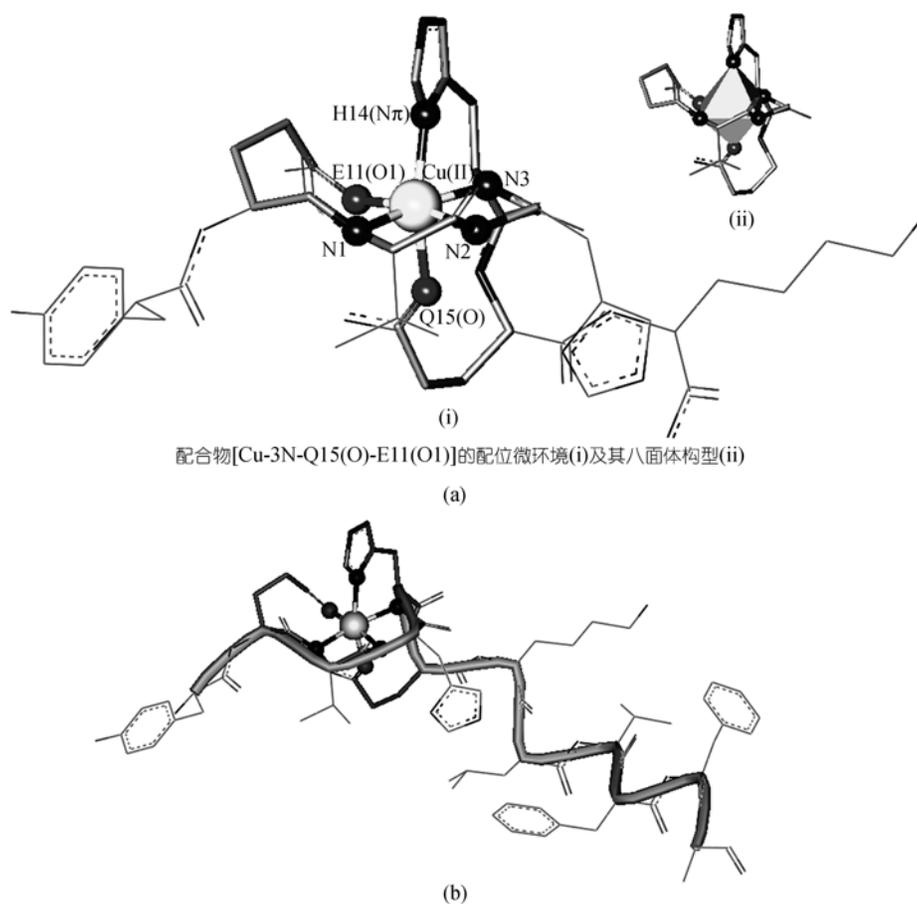


图5 [Cu-3N-Q15(O)-E11(O1)]配位微环境及准螺旋结构  
(a) 配位微环境; (b) 局部准螺旋结构

总之,研究发现:以 H13(N $\pi$ )或 H14(N $\pi$ )为锚合点,铜离子与多肽主链去质子化 N 原子形成了由 3 个稳定的 5/6 员螯环构成的平面四边形基本配位构型,同时 Q15 和 E11 残基侧链协同配位,形成了稳定的可溶构象。

## 2.3 A $\beta$ 纤维化驱动力及聚集体系稳定性比较研究

### 2.3.1 A $\beta$ 纤维化驱动力的研究

根据结构模型的结构参数,分别计算了双股标准 A $\beta$  和双股畸变的五环多肽配合物[Cu-3N-Q15(O)-E11(O1)]的主链间相距 0.5 nm 以氢键作用聚集和侧链间相距 1.0 nm 以范德华作用聚集的体系能量(表 6),考察比较了驱动 A $\beta$  纤维化的这两种主要作用力对聚集作用的能量贡献和多肽构象对聚集作用的影响。

表 6 不同作用对双股聚集体系能量的贡献<sup>a)</sup>/kJ·mol<sup>-1</sup>

	主链间氢键作用	侧链间范德华作用
标准 A $\beta$	-72.6695	-26.5154
畸变 A $\beta$	+2.4607	+17.7552
能量升高值	+75.1302	+44.2706

a) 分别以单股标准 $\beta$ 构象和单股可溶构象多肽能量最小化值为参比值

由表 6 可知, (i) 主链间氢键作用是驱动正常 A $\beta$  纤维化的主要作用力,其对聚集体系稳定性的贡献约是范德华作用的 3 倍; (ii) 结构畸变对氢键的影响大于对范德华作用的影响,因氢键损失而升高的能量约是范德华作用的 2 倍,即结构畸变主要地破坏了氢键作用; (iii) 五环配合物[Cu-3N-Q15(O)-E11(O1)]作为畸变的 A $\beta$ , 其结构扭曲破坏了氢键和范德华作用等作用力的形成条件,导致聚集体系能量升高稳定性下降,不利于甚至不能形成聚集体系。

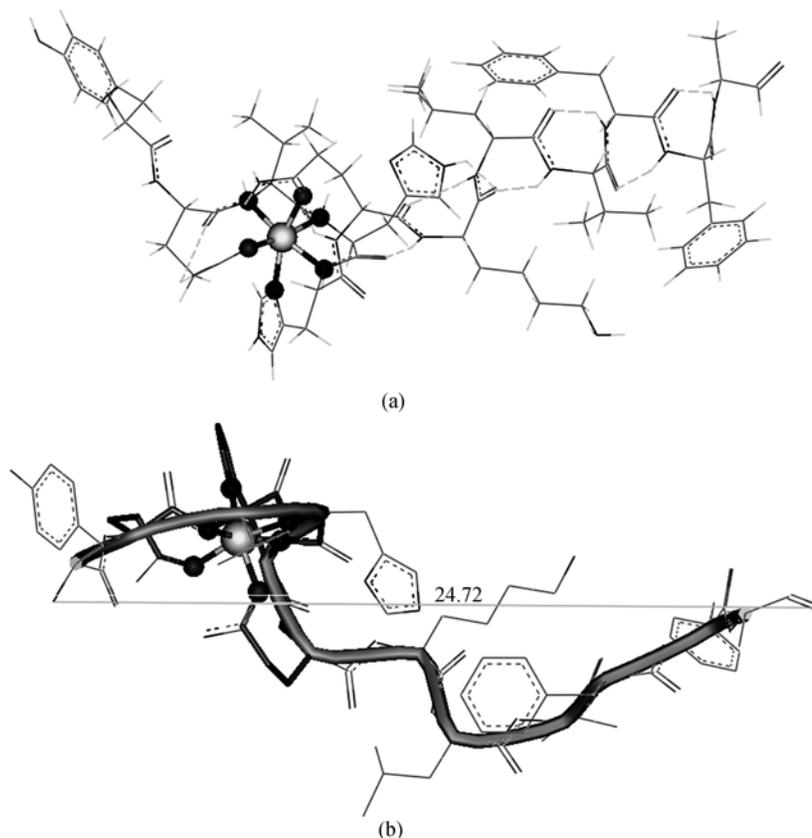


图 6 [Cu-3N-Q15(O)-E11(O1)]中氢键的形成及其收缩效应

(a) 分子内氢键的形成; (b) 氢键收缩效应: 主链由 3.822 nm 收缩到 2.472 nm. 图中 24.72 是软件以 Å 为单位给出的数据

### 2.3.2 聚集体系稳定性比较研究

按图 1 的结构参数, 分别搭建标准平行式 $\beta$ 构象的 4 聚体、16 聚体以及畸变 $\beta$ 构象的典型五环配合物 [Cu-3N-Q15(O)-E11(O1)]和局部准  $3.0_{10}$  螺旋构象的单环配合物 [Cu-H13(N $\pi$ )-Y10(OH)]的 4 聚体、16 聚体, 并进行体系能量的优化计算(表 7 和 8).

表 7 聚集体系稳定性比较<sup>a)</sup>/kJ·mol<sup>-1</sup>

	标准 $\beta$ 构象	畸变 $\beta$ 构象	畸变 $\beta$ 构象能量升高值
4 聚体	-177.9997	+46.5264	+224.5261
16 聚体	-1206.1342	+278.7467	+1484.8809

a) 分别以单股标准 $\beta$ 构象和单股可溶构象多肽能量最小化值为参比值

表 8 聚集体系稳定性比较<sup>a)</sup>/kJ·mol<sup>-1</sup>

	标准 $\beta$ 构象	准 $3.0_{10}$ 螺旋构象	准 $3.0_{10}$ 螺旋能量升高值
4 聚体	-177.9997	+39.5474	+217.5471
16 聚体	-1206.1342	+230.2448	+1436.3790

a) 分别以单股标准 $\beta$ 构象和单股可溶构象多肽能量最小化值为参比值

表 7 和 8 的计算结果表明, 随着纤维化 A $\beta$  股数的增加, 正常 A $\beta$  与畸变 A $\beta$  纤维的能量变化趋势发生相反的变化: 正常 A $\beta$  纤维能量趋于越来越低, 而畸变 A $\beta$  纤维的能量却趋于越来越高. 畸变  $\beta$  构象的典型五环配合物 [Cu-3N-Q15(O)-E11(O1)] 聚集体与标准  $\beta$  构象聚集体的能量差由 +224.5261 kJ/mol 升高至 +1484.8809 kJ/mol, 而准  $3.0_{10}$  螺旋构象的单环配合物 [Cu-H13(N $\pi$ )-Y10(OH)] 聚集体与标准  $\beta$  构象聚集体的能量差由 +217.5471 kJ/mol 升高至 +1436.3790 kJ/mol. 上述计算结果说明, 铜离子作用下 A $\beta$  由正常  $\beta$  构象变构为“可溶构象”. 可溶构象的 16 聚体以较少数量的氢键和削弱了的范德华作用相结合, 因而其聚集体系的能量显著升高而稳定性大幅下降. 总之, 可溶构象不利于聚集.

## 3 结论

A $\beta$  聚集过程中的金属离子效应与 AD 致病机理

密切相关,是个令人鼓舞又充满挑战的研究领域<sup>[18]</sup>。锌离子的A $\beta$ 聚集诱导效应的研究表明,锌离子能够诱导和增强A $\beta$ 的 $\beta$ 型构象。锌离子和N $\tau$ 原子的键合是致使聚集体系稳定存在的普遍模式之一,打破Zn(II)-N $\tau$ 配位键将可能导致A $\beta$ 聚集体的重新溶解<sup>[6]</sup>。与锌离子不同,铜离子作为体内锌离子的潜在抑制剂,在一定条件下与A $\beta$ 以链内螯合模式作用,诱导局部螺旋或无规卷曲构象,并形成稳定的可溶配合物。本文用分子模拟方法探讨了铜离子抑制A $\beta$ 10-21聚集的可能机理,阐明了铜离子与A $\beta$ 相互作用的溶解键合模式、典型可溶配合物的具体配位微环境、变构效应及其对聚集体系稳定性的影响等目前体外实验尚未明确的一些问题,所得出的结论将有助于理解金属离子与A $\beta$ 的作用机理和揭示AD致病机制并由此研究制定相应的治疗策略。

### 参 考 文 献

- 1 Bush A I, Pettingell W H, Multhaup G, et al. Rapid induction of Alzheimer A $\beta$  amyloid formation by zinc. *Science*, 1994, 265: 1464~1467
- 2 Frederickson C J, Klitenick M A, Manton W I, et al. Cytoarchitectonic distribution of zinc in the hippocampus of man and the rat. *Brain Res*, 1983, 273: 335~339[DOI]
- 3 Waggoner D J, Drisaldi B, Bartnikas T B, et al. Brain copper content and cuproenzyme activity do not vary with prion protein expression level. *J Biol Chem*, 2000, 275: 7455~7458[DOI]
- 4 Selkoe D J, Abraham C R, Podlisny M B, et al. Isolation of low-molecular-weight proteins from amyloid plaque fibers in Alzheimer's disease. *J Neurochem*, 1986, 46: 1820~1834
- 5 Storey E, Cappai R. The amyloid precursor protein of Alzheimer's disease and the A $\beta$  peptide. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 1999, 25: 81~97[DOI]
- 6 韩大雄, 杨 频. 分子模拟法研究锌离子在A $\beta$ 多肽聚合过程中的键合模式. *中国科学, B辑*, 2004, 34(1): 61~67[摘要][PDF]
- 7 Zou J, Kajita K, Sugimoto N. Cu<sup>2+</sup> inhibits the aggregation of amyloid  $\beta$ -peptide(1-42) *in vitro*. *Angew Chem Int Ed*, 2001, 40: 2274~2277[DOI]
- 8 Suzuki K, Miura T, Takeuchi H. Inhibitory effect of copper(II) on zinc-induced aggregation of amyloid  $\beta$ -peptide. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 285: 991~996[DOI]
- 9 Burkoth T S, Benzinger T L S, Urban V, et al. Structure of the  $\beta$ -amyloid<sub>(10-35)</sub> fibril. *J Am Chem Soc*, 2000, 122: 7883~7889[DOI]
- 10 Sunde M, Blake C C F. From the globular to the fibrous state: protein structure and structural conversion in amyloid formation. *Q Rev Biophys*, 1998, 31: 1~39[DOI]
- 11 Jian Dong, Atwood C S, Anderson V E, et al. Metal binding and oxidation of amyloid  $\beta$  within isolated senile plaque cores: raman microscopic evidence. *Biochemistry*, 2003, 42: 2768~2773[DOI]
- 12 Morgan D M, Jijun Dong, Lynn D G. Metal switch for amyloid formation: insight into the structure of the nucleus. *J Am Chem Soc*, 2002, 124: 12644~12645[DOI]
- 13 Sigel H, Martin R B. Coordinating properties of the amide bond: Stability and structure of metal ion complexes of peptide and related ligands. *Chem Rev*, 1982, 82: 385~426[DOI]
- 14 Sundberg R J, Martin R B. Interactions of histidine and other imidazole derivatives with transition metal ions in chemical and biological systems. *Chem Rev*, 1974, 74: 471~517
- 15 Ciardelli F, Tsuchida E, Woehle D. *Macromolecule-metal Complexes*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1996. 130~151
- 16 Miura T, Suzuki K, Kohata N, et al. Metal binding mode of Alzheimer's amyloid  $\beta$ -peptide in insoluble aggregates and soluble complexes. *Biochemistry*, 2000, 39: 7024~7031[DOI]
- 17 Miura T, Suzuki K, Takeuchi H. Binding of iron(III) to the single tyrosine residue of amyloid  $\beta$ -peptide probed by Raman spectroscopy. *J Molecular Structure*, 2001, 598: 79~84[DOI]
- 18 Bush A I. Metals and neuroscience. *Cur Opin Chem Biol*, 2000, 4: 184~191[DOI]