

Badanie wpływu czynników na mechanizm agregacji białek za pomocą symulacji komputerowej

ABSTRAKT


W ciągu ostatnich kilku dekad, pomimo wielu wysiłków, naukowcy nie znaleźli lekarstwa na choroby neurodegeneracyjne, takie jak choroba Alzheimera i Parkinsona. Prawdopodobnie przyczyną tych niepowodzeń jest niepełne poznanie natury tych chorób. Zgodnie z hipotezą amyloidową choroby neurodegeneracyjne są związane z gromadzeniem się białek lub peptydów w mózgu prowadzących do śmierci neuronów. Na przykład choroba Alzheimera może być spowodowana agregacją amyloidu beta ($A\beta$) między komórkami, podczas gdy choroba Parkinsona spowodowana jest agregacją alfa-synukleiny. Jeśli hipoteza amyloidowa jest prawidłowa, ważne jest znalezienie czynników wpływających na akumulację nierozpuszczalnych fibryli. Ponadto zrozumienie mechanizmów rozpadu fibryli może pomóc znaleźć sposoby leczenia tych chorób. W tej rozprawie badana była rola zawartości struktury typu beta monomeru i chropowatości powierzchni w tworzeniu fibryli przez białka. Aby zbadać kinetykę degradacji fibryli pod wpływem temperatury, opracowano nową teorię fenomenologiczną i potwierdzono ją symulacjami.

Wcześniejsze badania wykazały, że właściwości środowiska (stężenie pH, stężenie soli, temperatura...) oraz właściwości białek (hydrofobowość, ładunek elektryczny, skłonność do fibrylacji w formie monomerycznej itp.) są czynnikami kontrolującymi szybkość tworzenia fibryli. Eksperymentalnie wyznaczona struktura fibrylarna białka składa się z krzyżowych β -kartek, co sugeruje, że monomery o wysokiej zawartości struktury typu β szybciej ulegają rozpadowi niż monomery o niższej zawartości struktury typu β . Dlatego badanie struktury monomeru może pomóc w wywnioskowaniu informacji na temat kinetyki procesu filamentacji, ale związek ten nie został jasno wykazany. W tej pracy zestawiliśmy szybkość tworzenia włókien z dotychczasowych badań eksperymentalnych i obliczyliśmy zawartość struktury typu β w monomerycznej formie $A\beta_{42}$ i w jej 19 mutacjach za pomocą symulacji wymiany replik (REMD) z ciągłym modelem wody. Wysoka korelacja pomiędzy szybkością agregacji doświadczalnej a zawartością struktury typu β pozwala potwierdzić, że struktura β w stanie monomeru jest ważnym czynnikiem kontrolującym procesy $A\beta_{42}$. Im wyższa zawartość struktury typu β , tym szybszy proces powstawania fibryli i zależność szybkości fibrylizacji od zawartości struktury typu β można opisać za pomocą funkcji wykładniczej. Ze względu na duże różnice między czasem rzeczywistym (dni), a czasem symulacji (ms), obliczanie czasu tworzenia fibryli białek za pomocą pełno-atomowych pól siłowych jest niemożliwe. Nasze wyniki są bardzo użyteczne, ponieważ otwierają nowy sposób szacowania szybkości tworzenia fibryli przy użyciu zawartości typu β , które można łatwo uzyskać za pomocą symulacji REMD.

Agregacja białek może wystąpić zarówno w roztworze, jak i na granicy faz, tak jak w przypadku błon komórkowych. Samoorganizacja białek na różnych powierzchniach była przedmiotem wielu badań eksperymentalnych i teoretycznych, ale wpływ chropowatości powierzchni na kinetykę tego procesu nie była badana teoretycznie. Opracowaliśmy prosty model sieciowy, który pozwala na dogłębnie zbadanie problemu, ze względu na niski koszt obliczeniowy. Zarówno dla hydrofobowych, jak i hydrofilowych gładkich powierzchni nasz model przewiduje, że czas agregacji wzrasta wraz z interakcjami białko-powierzchnia w słabych (napędzanych entropią) i silnych (napędzanych energią) układach oddziaływań.

Jednak w pośrednim trybie oddziaływań agregacja przyspiesza wraz ze wzrostem interakcji białko-powierzchnia ze względu na konkurencję entropii i czynników energetycznych. Wykazano, że zgodnie z eksperymentem szorstka powierzchnia opóźnia tworzenie się fibryli łańcuchów polipeptydowych, a przy wysokiej chropowatości proces ten jest hamowany. Jedną z najciekawszych prognoz wynikających z naszego modelu jest to, że słabo chropowata powierzchnia wzmacnia powstawanie fibryli, a nie opóźnia je. Efekt ten jest możliwy, gdy interakcja białko-powierzchnia jest umiarkowana i wynika z kompromisu entropii i energii.

Agregaty białkowe lub fibryle mogą ulegać degradacji z różnych powodów, takich jak wiązanie innych cząsteczek, obecność chemicznych czynników denaturujących, wzrost temperatury itp. Ponieważ degradacja tych kompleksów jest jednym z możliwych sposobów leczenia chorób neurodegeneracyjnych, zrozumienie mechanizmów molekularnych leżących u podstaw tego procesu ma ogromne znaczenie. Tradycyjnie wykorzystywano test fluorescencji ThT do badania degradacji wywołanej ciepłem, gdzie rozpad zawartości fibryli, proporcjonalny do sygnału fluorescencyjnego, można opisać za pomocą dwuwykładniczej funkcji czasu. Ostatnio fluorescencja tryptofanu została wykorzystana do kontroli ilości monomerów należących do dominującego klastra. Co więcej, zmodyfikowane białko ZA β 3W zostało wykorzystane do sekwestracji monomeru A β , tj. zapobiegania jego ponownemu połączeniu z klastrem macierzystym. Ten scenariusz można nazwać degradacją bez odtwarzania, która różni się od standardowego scenariusza, gdzie monomer uwolniony z klastra nadrzędnego może być z nim ponownie połączony. Eksperymentalnie wykazano, że do opisu degradacji bez odtwarzania można zastosować funkcję wykładniczą, aby dopasować zależność czasową liczby monomerów dominującego klastra, pod warunkiem, że proporcja związanych monomerów stanie się mniejsza niż pewien próg. Opracowaliśmy teorię fenomenologiczną i wykazaliśmy, że zależność liczby monomerów dominującego klastra spełnia funkcję zarówno w przypadku degradacji bez odtwarzania jak i w klasycznym modelu. Powyżej pewnej wartości funkcja ta staje się funkcją wykładniczą, co zgadza się z eksperymentem. Przeprowadziliśmy symulacje sieciowe 10 zmodyfikowanych peptydów A β 37-42, co potwierdziło naszą teorię.


Nguyen Trong Co
19/04/2022.