论文

自组装小肽 RADA16-1 的构象研究

邹常玲^{①②}, 赵亚伟^{①②}, 刘金珂^②, 赵宏康^①, 赵丽娜^{②*}^① 北京理工大学物理学院, 北京 100081^② 纳米生物效应与安全性重点实验室; 中国科学院高能物理研究所, 北京 100049

*通讯作者, E-mail: linazhao@ihep.ac.cn

收稿日期: 2015-09-14; 接受日期: 2015-10-30; 网络版发表日期: 2016-03-18

国家自然科学基金(编号: 11404333 和 31571026)和国家重点基础研究发展计划(编号: 2013CB933704)资助项目

摘要 研究自组装小肽 RADA16-1 的稳定构象具有一定挑战性, 为了解决这个问题, 分别利用经典分子动力学(MD)模拟方法和温度副本交换分子动力学(REMD)模拟方法进行对比研究. 采用 CHARMM 力场参数, 研究小肽 RADA16-1 在生理温度 310 K 左右的稳定构象. 其中利用 REMD 完成 26 ns 时长水溶性小肽 RADA16-1 的模拟, 利用 MD 完成 3 次 160 ns 时长小肽的模拟. 之后, 对比分析了 RADA16-1 小肽能量、氢键、回转半径(RGYR)和溶剂可及表面积(SASA)的变化特征. 通过模拟结果的对比, 发现 REMD 计算较 MD 计算能够使用更少的计算量搜索到相对明确的稳定构象信息, 从而通过对能量、氢键、RGYR 和 SASA 的结果分析, 确定疏水作用和氢键相互作用共同稳定小肽的空间构象.

关键词 自组装小肽, RADA16-1, 副本交换, 分子动力学, 构象稳定性

1 引言

近年研究发现, 自组装材料在环境安全及与其密切相关的纳米生物效应、医药学方面具有重要的应用价值^[1]. 典型的生物分子自组装系统包括脂质双分子层、DNA 双螺旋、折叠多肽、蛋白质等^[2]. 大量研究表明, 由自组装小肽构成的生物材料在组织再生^[3,4]、药物和基因的纳米载药等方面有着巨大的发展前景, 所以自组装小肽已成为生物医药学领域的研究重点^[5-7]. 一般的自组装小肽由重复的氨基酸构成, 这些氨基酸分别带正电荷和负电荷, 并且亲水氨基酸和疏水氨基酸交替排布, 所以易于形成 β 折叠结构^[8]. 为了再现细胞外基质的环境, 这些仿生物的小

肽自组装结构需要具备生物降解、对组织无免疫反应、适当多孔性、渗透性好等一系列特性^[9].

构成自组装小肽的氨基酸通过排列组合能够生成上万种具有不同功能的自组装小肽. 目前发现的自组装小肽的种类也很多, 如最初发现于酵母蛋白的一组自组装小肽 EAK16, 它可以作为特殊材料应用于医药学. 同时, EAK16 的种类繁多, 如 EAK16-II 和 EAK16-IV 等均具有广泛应用^[10-12]. Yang 等^[13]还根据氨基酸配对原则设计了新型自组装小肽 APP8, 它可以稳定运载疏水性抗癌药玫瑰树碱. RADA-16-1^[14]是一类重要的自组装功能性小肽, 研究发现, 它在水环境中可以形成 β 折叠结构和纳米纤维状结构, 并且在特定的条件下它还会自组装成 3D 的水凝胶支

引用格式: 邹常玲, 赵亚伟, 刘金珂, 赵宏康, 赵丽娜. 自组装小肽 RADA16-1 的构象研究. 中国科学: 化学, 2016, 46: 707-713
Zou CL, Zhao YW, Liu JK, Zhao HK, Zhao LN. A numerical study of the conformation of self-assembling peptide RADA16-1. *Sci Sin Chim*, 2016, 46: 707-713, doi: 10.1360/N032015-00175

架来培养细胞. 基于自组装小肽的特殊性能, 很多研究者在 RADA16-1 末端连接其他功能性的小分子来研究其整体在医药学中的应用. 研究发现, 将 GRGDS 和 YIGSR 连接到 RADA16-1 上可以直接起到止血的作用, 并能加速肝脏组织再生. Cheng 等^[15]和 Li 等^[16]也研究了小肽 RADA16-1 自组装纤维长度与止血的关系. 而且将层粘连蛋白衍生的 IKVAV 连接到 RADA16-1 的 C 端, 其整体就可以成为功能性的支架, 神经干细胞被封装进功能化自组装多肽水凝胶中可以提高受伤脑组织的再生^[17]. 另外, Liu 等^[18]研究认为, RADA16-1 对中枢神经系统的再生也起到重要的作用.

RADA16-1 自组装小肽作为水凝胶支架的特性研究已吸引广泛关注^[19]. 同时, RADA16-1 的稳定构象也成为研究重点, Aramvash 等^[20]通过经典分子动力学(MD)方法研究了 RADA16-1 在不同的 NaCl 和 CaCl₂ 溶剂中小肽构象的变化情况. 通常, MD 模拟^[21,22]可以给出研究体系构象演化的分子细节. 在 MD 模拟方法的基础上, 温度副本交换分子动力学(REMD)^[23]可以在不同的温度下同时进行 MD 模拟, 通过不同温度间交换本来获得更充分的采样. 因为高温系统能够使整个体系采样到更大的相空间, 所以高温体系的模拟可以扩大温度较低体系的采样空间并且得到更多的样本. 本文同时利用 MD 和 REMD 模拟方法研究了自组装小肽 RADA16-1 的稳定构象, 并对结果进行了对比分析. MD 和 REMD 模拟都计算 RADA16-1 在生理温度下的结构特征. 文中分析了 RADA16-1 小肽的能量、回转半径(RGYR)、溶剂可及表面积(SASA)、氢键和均方根偏差(RMSD). 通过对比两种模拟方法的结果, 更合理地确定了 RADA16-1 小肽的稳定构象. 正确认识 RADA16-1 的氢键和亲疏水作用对其特征结构和稳定性的贡献, 能够更好地理解其稳定构象的机理, 并且利于进一步研究 RADA16-1 小肽的生物特性和功能特性.

2 模拟方法与细节

2.1 MD 模拟

RADA16-1 小肽是通过软件模拟合成的 16 氨基酸小肽, 其序列为: RADARADARADA. 本文利用了 NAMD 软件包, 采用了 CHARMM 力场^[24], 在 NVT 系统下进行 MD 模拟研究. 选用了 TIP3P 水模型^[25], 整个周期性水盒子大小为 61 Å×60 Å×66 Å, 并向模

拟体系加入了 0.15 mol/L NaCl 溶液使整个体系保持电中性. MD 模拟的温度设定为 310 K, 模拟步长设为 2 fs, 每 10 ps 记录坐标, 一共进行了 3 次 MD 模拟计算, 每次模拟时长为 160 ns.

2.2 REMD 模拟

REMD 模拟利用 NAMD 软件包, 采用 CHARMM 力场, 并在 NVT 系统下进行模拟. RADA-16-1 小肽的周期性水盒子大小与 MD 模拟一致, 为 61 Å×60 Å×66 Å. 为了对 RADA16-1 小肽的构象空间进行充分采样, 我们采用了 16 个副本来进行计算, 温度范围为 300~400 K, 温度分布为 300.00、305.81、311.73、317.77、323.92、330.19、336.59、343.10、349.75、356.52、363.42、370.46、377.64、384.95、392.40 和 400.00 K. 文中选取经典 MD 模拟 15 ns 时的小肽构象作为 RADA16-1 初始构象, 对体系进行 26 ns 的动力学模拟, 模拟的步长为 2 fs, 每 1.2 ps 进行一次副本交换, 每 6 ps 记录构象的坐标. 有效的温度副本交换分子动力学模拟的交换概率大于 0.1, RADA16-1 小肽在本模拟中的交换频率为 0.2~0.25, 这也表明副本的个数是充足的. 图 1 为体系在 311 K 下副本随时间的交换情况, 可以观察到副本在空间中随机游走^[23], 这也体现了 REMD 模拟采样的充分性.

3 结果与分析

3.1 RADA16-1 小肽初始构象

RADA16-1 小肽的初始构象如图 2 所示. 其中,

图 1 体系在 311 K 副本随时间的交换情况

图2 RADA16-1 小肽模拟的初始构象. (a) 骨架结构; (b) 分子结构(蓝色: 氨基酸 R (Arg); 绿色: 氨基酸 D (Asp); 红色: 氨基酸 A (Ala)); (c) 亲疏水分布(蓝色: 亲水氨基酸(R、D); 红色: 疏水氨基酸(A)) (网络版彩图)

图 2(a)显示 RADA16-1 小肽的骨架结构, 图 2(b)按照氨基酸种类显示其排布情况, 图 2(c)显示 RADA16-1 亲水氨基酸(蓝色)和疏水氨基酸(红色)的分布, 可以看出 RADA16-1 小肽是亲、疏水氨基酸相间排布.

3.2 MD 模拟数据分析

RMSD 用来表征不同时刻被研究体系结构相对于参照结构的变化程度, RMSD 越小, 越接近设定的参照结构. 本文考察了 RADA16-1 小肽相对于初始时刻构象的骨架 RMSD, 如图 3 所示. 图 3 是 3 次 MD 模拟的 RMSD 随时间变化的情况, 可以发现 RMSD 在 140~160 ns 呈逐渐稳定的趋势, 即小肽构象也逐渐趋于稳定状态. 在 3 次 MD 模拟的最后, 体系 RMSD 基本稳定在 5.7~7.6 Å 之间, 说明最后的稳定构象相对于初始构象差异比较大, 并且 3 次模拟的稳定构象相互之间也存在结构差异.

图3 MD 模拟中 RADA16-1 小肽的 RMSD (网络版彩图)

蛋白质趋向于最低自由能的状态, 能量越低, 蛋白质的构象越趋于稳定^[26]. 图 4(a)描述了 3 次 MD 模拟的能量随时间的变化, 可以发现, 3 次模拟的能量整体变化存在差异, 并且能量分别稳定在不同的能量值附近, 即 -800~-1130 kcal/mol (1 cal=4.186 J). 这也进一步表明, RADA16-1 柔性比较大, 有限次数的经典 MD 模拟不易搜索到其稳定构象.

氢键在稳定多肽构象方面也起着重要的作用, 文中分析了 RADA16-1 小肽自身形成氢键的情况, 如图 4(b)所示. 形成氢键的条件为: 同时满足 $r \leq r_{HB} = 0.35$ nm 和 $\alpha \leq \alpha_{HB} = 30^\circ$, 其中 r 为供体和受体间的距离, α 为氢原子-供体-受体的张角^[27]. 图 4(b)中, 从氢键个数随时间变化的情况可以看出, 氢键数整体呈震荡增大的趋势, 最后稳定在 8~12 个之间. 第三次模拟的氢键数较多, 能到 12 个左右, 形成相对较稳定构象.

RGYR 和 SASA 可以侧面体现多肽链的柔性和伸展程度. 图 5(a)显示 MD 模拟小肽构象的 RGYR

图4 MD 模拟的能量(a)和氢键(b) (网络版彩图)

图5 MD模拟的 RGYR (a)和 SASA (b) (网络版彩图)

随时间变化情况, 3 次模拟整体都是呈下降趋势, 并在模拟的最后 20 ns 左右, 稳定在 6.8~7.5 Å 之间. 图 5(b)中 SASA 随时间变化情况与图 5(a)中 RGYR 相似, 都是整体呈下降趋势, 最后稳定在 1600 Å² 左右. 从图 5 中可以发现, 3 次模拟最后的 RGYR 和 SASA 稳定数值比初始数值小很多, 即模拟过程中随着能量的降低, 小肽也由开始的伸展状态慢慢蜷缩, 最后达到相对稳定状态. 但是 3 次模拟最后的稳定数值都不相同, 而是稳定在一定范围内, 这也说明演化得到的稳定构象具有不同的伸展程度.

3.3 REMD 模拟数据分析

首先, 图 6(a)中显示 311 K 情况下 REMD 模拟 RADA16-1 小肽总能量随时间的变化, 其中体系总能量呈震荡下降趋势. 此处 REMD 模拟中的总能量较

MD 模拟的总能量上下波动幅度大, 体现出 REMD 的能量波动特征^[23]. 与 MD 模拟相比, REMD 模拟能够在有限的计算量时, 通过不同温度间交换完整的构型来获得更充分的采样, 并且能够跳出能量势垒到达能量更低的状态. 与图 4(a)相比, REMD 模拟的最低能量为 -1130 kcal/mol 左右, 远远小于 MD-1 和 MD-2, 虽然与 MD-3 模拟的最低能量相差甚少, 但是 MD 模拟不易充分搜索到最低能量构象, 而且得到同样结果所需耗费的计算量也更大.

图 6(b)显示 REMD 模拟过程中氢键个数的变化, 整体趋于增大趋势, 最多能达到 11~14 个. 与图 6(a)中能量对比发现, 能量越低的构象所成氢键个数也越多, 即说明小肽能量越低, 氢键个数越多, 构象也越稳定. 与图 4(b)相比, REMD 搜索到的低能量 RADA16-1 小肽构象的氢键个数也明显多于 MD-1 和 MD-2 模拟的稳定构象的氢键个数.

图6 REMD 模拟的能量(a)和氢键(b)

其次, 考察 RGYR 和 SASA 情况. 图 7(a)显示 311 K 时 REMD 模拟采样中 RGYR 的变化情况. 观察发现, RGYR 也呈下降趋势, 低能量构象对应的 RGYR 能小于 7 Å 达到 6.6 Å 左右. 与图 5(a)相比, REMD 模拟的低能量状态的 RGYR 较 MD 结果更小, 这也说明小肽的构象要相对紧凑和稳定.

图 7(b)显示的是 311 K 时 REMD 模拟的 SASA 随时间变化情况. 其整体呈下降趋势, 低能量构象对应的 SASA 能达到 1400 Å² 左右. 而图 5(b)中 MD 模拟的 SASA 最后稳定在 1600 Å² 左右, 远大于 1400 Å², 这说明 REMD 模拟得到的小肽构象更稳定, 这正是 REMD 较 MD 模拟有更充分采样的优势所在.

最后, 我们对两种算法的稳定构象加以对比. 图 8 将 REMD 模拟的低能量小肽构象与 3 次 MD 模拟

的稳定小肽构象进行了对比, 结果发现, REMD 模拟的小肽构象倾向于紧缩, 其中疏水氨基酸向内部蜷缩, 极性氨基酸包覆在外面, 这使得小肽构象更加稳定. 而 MD 模拟的稳定小肽构象比较散乱, 亲疏水氨基酸的排布也没有特别规律.

通过以上对比, 不难发现, REMD 模拟所用计算量较小, 所得能量较低, RGYR 和 SASA 的数值较小, 氢键个数也较多, 最后稳定构象的亲疏水情况也要优于 MD 模拟, 因此在搜索能量低且稳定的 RADA16-1 小肽稳定构象方面, REMD 模拟展示了优于 MD 模拟能够充分采样的优势. 目前, 许多研究者通过副本交换研究小肽的结构和折叠以及不同温度下小肽的结构特征, 加速采样效率并得到具有代表性的样本, 所以副本交换分子模拟方法也被认为是

图 7 REMD 模拟的 RGYR (a)和 SASA (b)

图 8 模拟计算得到的 RADA16-1 小肽的稳定构象. (a) REMD 模拟; (b) MD-1 模拟; (c) MD-2 模拟; (d) MD-3 模拟. 红色为疏水氨基酸, 蓝色为亲水氨基酸(网络版彩图)

目前加速采样的强大有效的计算方法^[27,28]。

4 结论

本文在 CHARMM 力场下分别采用 MD 和 REMD 模拟对 RADA16-1 小肽溶液中稳定构象开展研究。通过对比 REMD 和 MD 模拟的结果, 在小肽构象空间中存在较大能垒的情况下, REMD 比 MD 表现出更优越的抽样效率, 即使使用更少的计算量, 也可以找到能量更低、构象更稳定的样本。生理温度为

311 K 时, RADA16-1 小肽的能量在 REMD 模拟中呈下降趋势并且能够到达低能量点, RGYR 和 SASA 也呈下降趋势, 氢键的个数逐渐增多, 疏水作用和氢键共同维持小肽结构的稳定, 稳定性分析要优于 MD 模拟。对比 REMD 和 MD 模拟的稳定构象, REMD 模拟的小肽构象较紧缩, 亲水氨基酸包裹着疏水氨基酸, 比 MD 模拟得到的构象更稳定。由于 REMD 模拟方法能够在有限计算量时, 有效采样到能量极小的样本, 所以在小肽的稳定构象的搜索方面具有更大的优势, 这也将对蛋白质折叠等研究提供有益的借鉴。

参考文献

- Jiang J, Cao DP. *Sci China Chem*, 2013, 56: 249–255
- Zhang JH, Zhao YR, Han SY, Chen CX, Xu H. *Sci China Chem*, 2014, 57: 1634–1645
- Zhao XJ, Zhang SG. *Adv Polym Sci*, 2006, 203: 145–170
- Zhang SG. *Biotechnol Adv*, 2002, 20: 321–339
- Kumada Y, Hammond NA, Zhang SG. *Soft Matter*, 2010, 6: 5073–5079
- Sadatmousavi P, Mamo T, Chen P. *Acta Biomater*, 2012, 8: 3241–3250
- 唐丽丽, 何道航, 观富宜. *化工学报*, 2012, 63: 3383–3392
- Brack A, Orgel LE. *Nature*, 1975, 256: 383–387
- Cunha C, Panseri S, Villa O, Silva D, Gelain F. *Int J Nanomed*, 2011, 6: 943–955
- Hong Y, Legge RL, Zhang S, Chen P. *Biomacromolecules*, 2003, 4: 1433–1442
- Fung SY, Yang H, Chen P. *Plos One*, 2008, doi: 10.1371/journal.pone.0001956
- Keyes-Baig C, Duhamel J, Fung SY, Bezaire J, Chen P. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 7522–7532
- Fung SY, Yang H, Sadatmousavi P, Sheng YB, Mamo T, Nazarian R, Chen P. *Adv Funct Mater*, 2011, 21: 2456–2464
- Yokoi H, Kinoshita T, Zhang SG. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 8414–8419
- Cheng TY, Wu HC, Huang MY, Chang WH, Lee CH, Wang TW. *Nanoscale*, 2013, 5: 2734–2744
- 李佳楠, 钟小忠, 王婷. *江汉大学学报*, 2013, 41: 76–80
- Cheng TY, Chen MH, Chang WH, Huang MY, Wang TW. *Biomaterials*, 2013, 34: 2005–2016
- Liu X, Pi B, Wang H, Wang XM. *Front Mater Sci*, 2015, 9: 1–13
- Gelain F, Bottai D, Vescovi A, Zhang SG. *Plos One*, 2006, 1: e119
- Aramvash A, Seyedkarimi MS. *J Clust Sci*, 2015, 26: 631–643
- 杨萍, 孙益民. *安徽师范大学学报*, 2009, 32: 51–54
- 文玉华, 朱如曾, 周富信. *力学进展*, 2003, 33: 65–73
- Sugita Y, Okamoto Y. *Chem Phys Lett*, 1999, 314: 141–151
- Brooks RB, Brucoleri RE, Olafson BD, States DJ, Swaminathan S, Karplus M. *J Comput Chem*, 1982, 4: 187–217
- 谈荣日, 邵建群. *现代机械*, 2011: 92–94
- Dill KA, MacCallum JL. *Science*, 2012, 338: 1042–1046
- 廖晨伊, 周健. *Acta Chim Sinica*, 2013, 71: 593–601
- 曹赞霞, 王吉华. *生物化学与生物物理进展*, 2010, 37: 319–325

A numerical study of the conformation of self-assembling peptide RADA16-1

Changling Zou^{1,2}, Yawei Zhao^{1,2}, Jinke Liu², Hongkang Zhao¹, Lina Zhao^{2*}

¹ School of Physics, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China

² Key Laboratory for Biomedical Effects of Nanomaterials and Nanosafety; Institute of High Energy Physics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

*Corresponding author (email: linazhao@ihep.ac.cn)

Abstract: It is a challenge to study the stable conformation of RADA16-1, an important self-assembling peptide. Here, we utilized classical molecular dynamics (MD) and temperature replica exchange molecular dynamics (REMD) simulation methods to investigate its stable conformation and compare the results of these two theoretical approaches. The stable conformation of RADA16-1 peptide was explored at the physiological temperature around 310 K with CHARMM force field. The REMD simulation ran for 26 ns, and the MD simulation completed three independent runs which were 160 ns respectively for the water-soluble RADA16-1 peptide. Then we compared the differences in energy, the number of hydrogen bonds, radius of gyration (RGYR) and solvent accessible surface area (SASA) of RADA16-1 peptide from MD and REMD calculations. From the comparison, we found the REMD calculation could search and achieve the relatively stable conformation information with less amount of computation cost than the MD calculation. Additionally, by the analysis of energy, hydrogen bonds, RGYR and SASA, the stable spatial conformation of RADA16-1 peptide could be determined under the combined effects from the hydrophobic and hydrogen bond interactions.

Keywords: self-assembly of peptide, RADA16-1, replica exchange, molecular dynamics, conformational stability

doi: 10.1360/N032015-00175