

文章编号:2095-6134(2022)06-0727-05

LilrB2 蛋白与 A β (16-21) 双链的结合*

吴汶泽, 李晓毅[†]

(中国科学院大学材料科学与光电技术学院 材料科学与光电技术中心, 北京 100049)

(2020 年 4 月 9 日收稿; 2020 年 5 月 7 日收修改稿)

Wu W Z, Li X Y. Binding of lilrB2 and double-stranded A β (16-21) [J]. Journal of University of Chinese Academy of Sciences, 2022, 39(6): 727-731. DOI:10. 7523/j.ucas. 2020. 0031.

摘 要 LilrB2 蛋白与 A β (1-42)寡聚态的结合会造成阿尔茨海默症的某些症状,研究其中的结合方式对设计针对性抑制剂具有重要意义。以 lilrB2 蛋白和 A β (16-21)双分子链为研究对象,通过分子对接设定 3 个不同构象作为分子动力学模拟起点,分析 3 组体系的模拟轨迹,发现 lilrB2 蛋白上的 ASP23 残基与 A β (16-21)单支链上的 LYS 残基有较强的相互作用,对受体和配体结合起到了重要的影响。在不同结合状态下,lilrB2 蛋白的 CYS142 和 SER24 残基与 A β (16-21)支链上 VAL、PHE 和 ALA 残基的疏水作用也有利于 lilrB2 蛋白和 A β (16-21)双分子链的结合。

关键词 AD;分子对接;分子动力学;结合模式

中图分类号: O642 **文献标志码:** A **DOI:** 10. 7523/j.ucas. 2020. 0031

Binding of lilrB2 and double-stranded A β (16-21)

WU Wenze, LI Xiaoyi

(Center of Materials Science and Optoelectronics Engineering, College of Materials Science and Opto-Electronic Technology, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract LilrB2 is a kind of protein targeted by A β (1-42) oligomers. The binding of them may result in some symptoms related to Alzheimer's disease. It's important to explore the binding mechanisms for the design of inhibitors. Three different conformations were designed by molecular docking of lilrB2 and double-stranded A β (16-21), and were used as the initial conformations for molecular dynamics simulations. Three sets of data were analyzed, finding that the ASP23 residue on lilrB2 had a strong interaction with LYS residue on the chain of A β (16-21), which had an obvious effect on the binding of receptor and ligand. In different binding states, the interaction of CYS142 residue with VAL or PHE on the chain of A β (16-21) and the interaction of SER24 residue with ALA on the chain of A β (16-21) are favorable for the binding of receptor and ligand.

Keywords AD; molecular docking; molecular dynamics; binding mode

* 国家自然科学基金(21274164)资助

[†] 通信作者, E-mail:lix@ucas.ac.cn

阿尔茨海默症 (Alzheimer's disease, AD) 是一类神经退行性疾病,是威胁人类身体健康的重大隐患之一。有报告指出,全球约有 4 000 万人罹患阿尔兹海默症,而这个数字预计将每 20 年增加一倍。 $A\beta_{1-42}$ 是阿尔兹海默症患者的患病标志物之一,一方面, $A\beta_{1-42}$ 寡聚态对神经细胞具有毒性,可诱导神经细胞凋亡。另一方面, $A\beta_{1-42}$ 寡聚态可与神经细胞上的某些受体结合,导致其下游通路上突触损失,造成认知障碍^[1-2]。针对 $A\beta_{1-42}$ 寡聚态所带来的危害,目前有 2 种抑制思路:一是以 $A\beta_{1-42}$ 寡聚态为靶点,设计药物抑制 $A\beta_{1-42}$ 寡聚态的活性,降低 $A\beta_{1-42}$ 寡聚态对人体造成的影响;二是以 $A\beta_{1-42}$ 寡聚态的受体蛋白为靶点,抑制受体蛋白的活性从而达到缓解 AD 症状的效果,而後者的优势在于在 AD 发病的早期就可以看到明显的效果^[3]。

基于上述想法,寻找 $A\beta_{1-42}$ 寡聚态的靶向蛋白是一个重要问题。Taeho 等^[4]通过研究发现小鼠上 PirB 蛋白是 $A\beta_{1-42}$ 受体之一,PirB 与 $A\beta_{1-42}$ 寡聚态的结合会使得下游通路上的 cofilin (AD 另一种患病标志物) 量增大,小鼠有明显的认知水平缺失,通过比较人类与小鼠的同源基因,发现人神经细胞上 lilarB2 蛋白会与 $A\beta_{1-42}$ 寡聚态结合,且造成下游通路上的 cofilin 量增大。屏蔽 lilarB2 蛋白与 $A\beta_{1-42}$ 寡聚态的结合可作为一种药物靶向来设计针对 AD 的抑制剂。更进一步,Qin 等^[3]研究了 lilarB2 与 $A\beta_{1-42}$ 的结合,比较发现, $A\beta_{16-21}$ 双分子链可代表 $A\beta_{1-42}$ 寡聚态,作为与 lilarB2 蛋白结合的核心抗原基,研究 lilarB2 与 $A\beta_{16-21}$ 双分子链的结合机理有助于设计相应的抑制剂。而目前关于 lilarB2 蛋白抑制剂先导化合物的研究报道还较少,研究 lilarB2 与其天然配体的结合模型对寻找和设计先导化合物有重要意义。

计算机辅助药物设计 (computer-aided drug design, CADD) 是随着分子生物学,计算机技术发展而应运而生的一种研究手段,由于其快速,高效以及可程序化的特点,计算机辅助渗透到新药研发的各个方面。与传统药物设计相比,CADD 可显著提高药物研发的成功率,降低研发成本,缩短研发周期^[5-6]。基于受体结构的药物分子设计是 CADD 应用的方法之一,即在已知受体三维结构的基础上,通过分子对接以及分子动力学的方法研究受体与配体相互作用的方式和特点,从而为设计受体蛋白抑制剂提供分子层面的支持^[7-10]。

目前,关于 lilarB2 蛋白抑制剂先导化合物的研究报道较少,本文以 lilarB2 蛋白为靶点,通过分子对接和分子动力学的方法,研究 lilarB2 蛋白与其配体 $A\beta_{16-21}$ 双分子链之间结合的方式以及相互作用的热点氨基酸残基,为 lilarB2 蛋白抑制剂先导化合物的寻找和设计提供分子层面的数据支持。

1 材料和方法

1.1 模型搭建

本文所使用的 lilarB2 蛋白受体 (PDB ID 2GW5) 和 $A\beta_{16-21}$ 双分子链 (PDB ID 3OW9) 的结构均来源于蛋白质数据库 RCSB PDB。LilarB2 蛋白包含 184 个氨基酸残基,形成 2 个结构域,2 个结构域向外伸展,如图 1 所示。

$A\beta_{16-21}$ 双分子链有 12 个氨基酸残基,双链呈反平行结构,每条链上的氨基酸相同,结构如图 2 所示。

从蛋白数据库获取晶体结构后,首先利用分子动力学优化其结构。lilarB2 蛋白在溶液环境中优化 90 ns,取平衡轨迹中不同的 2 帧结构 (均方回转半径分别为 1.96 和 2.02 nm) 用于对接。 $A\beta_{16-21}$ 双分子链在溶液环境中优化 50 ns,取平衡轨迹中 1 帧结构用于对接。将 lilarB2 蛋白和 $A\beta_{16-21}$ 双分子链进行分子对接,所得结果如图 3 所示。

由 2 帧 lilarB2 结构和 1 帧 $A\beta_{16-21}$ 双分子链,得到 3 个不同结合方式的复合物结构。为探明 lilarB2 蛋白和 $A\beta_{16-21}$ 双分子链结合方式的特点以及结合时重要的氨基酸残基,分别以 3 个复合物结构为起始构象,在溶液环境下进行分子动力学

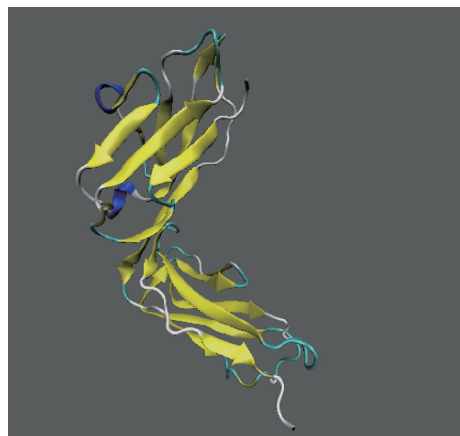


图 1 lilarB2 三维结构图 (飘带模型)

Fig. 1 Structure of lilarB2 (ribbon model)

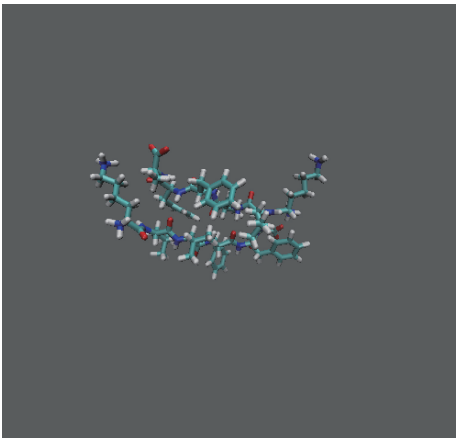


图 2 Aβ₁₆₋₂₁ 双分子链三维结构图(棍状模型)
Fig. 2 Structure of double-stranded Aβ₁₆₋₂₁(stick model)

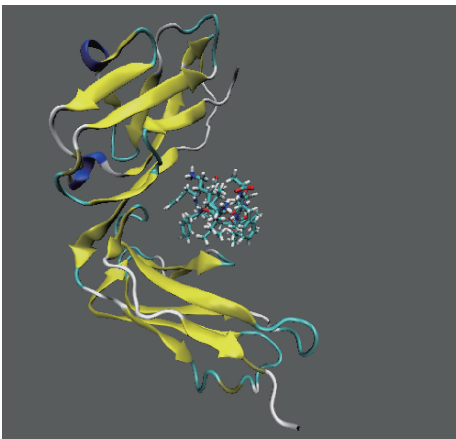


图 3 利用分子对接软件得到的对接复合物结构图
Fig. 3 Structure of docking complex by molecular docking software

模拟,分别用 P_1 , P_2 , P_3 表示。 P_1 和 P_2 进行 90 ns 的平衡模拟, P_3 进行 80 ns 的平衡模拟。

1.2 分子对接和分子动力学模拟

分子对接所使用的软件为 autodock 4.2^[11], 对接方式为刚性对接。分子动力学模型搭建使用的软件是 VMD^[12], 分子动力学运行所使用的软件是 NAMD 2.13 软件包^[13], 采用 CHARMM27^[14] 力场, 溶液环境所用水分子模型为 TIP3P^[15], 使用周期性边界条件, 体系到水盒子边界距离设定为 1.5 nm, 体系中添加 Na^+ 和 Cl^- , 浓度 0.15 mol/L。模拟是在 NPT 系综下进行的, 压强 1 atm, 温度 300 K。范德华相互作用阈值设置为 1.2 nm。采用粒子网格(PME)方法处理静电相互作用。所有模拟积分步长均为 1 fs。本文数据均使用 origin 9.1 软件作图。

1.3 氢键分析

氢键是分析复合物结合稳定性的重要指标。本文使用 VMD HBonds Plugin 1.2 进行氢键的统计和分析, 所采用的距离阈值为 0.35 nm, 角度阈值为 30°。

2 结果与讨论

2.1 均方根偏差

通过分子对接和分子动力学模拟, 得到了以不同构象为起始点的 3 组轨迹。对这 3 组轨迹进行数据整理, 首先, 计算得到这 3 组轨迹的均方根偏移(root-mean-square deviation, RMSD)值随时间变化的图像, 如图 4 所示。RMSD 数据一方面可以反映在模拟过程中复合物结构是否有大的起伏, 观察受体蛋白和配体结合方式在哪个时间段上发生了变化。另一方面, RMSD 是反映体系状态是否稳定的一个重要指标。

从图 4 可以看到, P_1 体系在 40~50 ns 的阶段 RMSD 值有一个明显的波动, P_2 在 20~30 ns 阶段 RMSD 值有一个明显的波动, 而 P_3 的 RMSD 值一直在 0.3 nm 附近变动。分析发现, 这种波动是由于 LILRB2 蛋白和 Aβ₁₆₋₂₁ 双分子链的结合方式发生了改变。也就是说, LILRB2 蛋白和 Aβ₁₆₋₂₁ 双分子链的结合倾向了一种更稳定的状态。这种状态正是我们所要探究的, 所以以 3 个不同构象作为起始点进行模拟, 以期找到 LILRB2 蛋白和 Aβ₁₆₋₂₁ 双分子链结合状态的共通点。从图 4 中还可以看到, P_1 , P_2 , P_3 这 3 组体系的 RMSD 值最后都稳定在 0.3 nm 附近, 3 组体系均已达到平衡状态。

2.2 氢键占有率

对 P_1 体系 30~40 ns 和 50~60 ns 时间段做

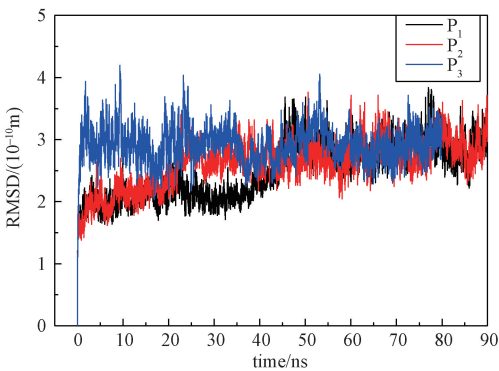


图 4 RMSD 随时间的变化曲线
Fig. 4 RMSD curve over time

氢键占有率的分析,选取了排名前 3 的数据来分析,数据见表 1。

这里的氢键是通过残基间的距离和角度来判定的,也就是依据残基间的几何特征来判定氢键是否存在,所有在设定阈值内的残基相互作用都被判定为氢键。氢键占有率是指在所截取的时间段内,该氢键出现的频率。

从表 1 数据可以看出,从 30~40 ns 阶段到 50~60 ns 阶段,ARG77-ALA12 的氢键占有率由 41.20%降到了 11.40%,在 50~60 ns 阶段,氢键占有率排第 1 的是 ASP23-LYS7,为 17.10%。残基对之间的氢键占有率变化暗示着 P_1 体系中受体和配体之间的结合方式发生了一些变化。

对 P_2 体系 10~20 ns 和 30~40 ns 时间段做氢键占有率的分析,数据见表 2。

由表 2 中数据可见,在 10~20 ns 时间段内,ARG77-ALA12 的氢键占有率排在第 1,为 69.10%,而在 30~40 ns 时间段,ASP23-LYS7 的氢键占有率居首位,为 90.70%,这暗示着 P_2 体系中受体和配体之间的结合方式也发生了变化。

结合表 1 和表 2, lilrB2 蛋白和 $\text{A}\beta_{16-21}$ 双分子链之间的结合方式发生改变,且在改变之后,ASP23 和 LYS7 的氢键占有率一直排在首位,考虑到 LYS 是碱性氨基酸,带 1 个正电荷,ASP 是酸性氨基酸,带 1 个负电荷,ASP 和 LYS 之间容

易形成较强的离子相互作用,所以推测 ASP23 和 LYS7 之间的相互作用可能是使得 lilrB2 蛋白和 $\text{A}\beta_{16-21}$ 双分子链之间结合形成更稳定状态的因素之一。

为进一步研究这一种状态的结合方式,对 3 组轨迹的最后 10 ns 数据进行氢键分析,依旧选取氢键占有率排名前三的数据,数据见表 3。

根据表 3 中数据, P_1 体系中氢键占有率最高的是 ASP23-LYS7,为 43.00%;其次是 CYS142-VAL3,为 16.40%;排第 3 的是 GLU140-PHE5,占有率为 6.50%。 P_2 体系中氢键占有率最高的是 ASP23-LYS7,为 83.70%;排第 2 的是 SER24-ALA6,为 32.20%;排第 3 的是 ASP93-LYS1,占有率是 8.90%。 P_3 体系中氢键占有率最高的是 ASP23-LYS1;排第 2 的是 CYS138-LYS1,为 33.90%; CYS142-PHE10 的氢键占有率为 22.00%,排第 3。结合来看, lilrB2 蛋白上的 ASP23 残基与 $\text{A}\beta_{16-21}$ 双分子链上的 LYS 残基之间的相互作用对 lilrB2 蛋白和 $\text{A}\beta_{16-21}$ 双分子链的结合起到了很大的稳定作用。而对于其它氨基酸残基,疏水作用也对复合物的稳定性起到了重要作用,在不同结合状态下,有 CYS142 对 $\text{A}\beta_{16-21}$ 支链上 VAL 的作用, SER24 对 $\text{A}\beta_{16-21}$ 支链上 ALA 的作用, CYS142 对 $\text{A}\beta_{16-21}$ 支链上 PHE 的作用。也就是说, lilrB2 与 $\text{A}\beta_{16-21}$ 双分子链形成的复合物具有较好的稳定性,且维持着一种动态平衡,在这种动态平衡中,ASP23 与 $\text{A}\beta_{16-21}$ 支链上 LYS 残基的离子相互作用对复合物的结合有着重要的影响,而在受体和配体不同结合状态下, lilrB2 蛋白上 CYS142 和 SER24 残基与 $\text{A}\beta_{16-21}$ 支链上 VAL、PHE、ALA 残基的疏水作用也有利于 lilrB2 蛋白和 $\text{A}\beta_{16-21}$ 双分子链结合。

表 3 3 组体系中相互作用残基的氢键占有率

Table 3 Ranking of hydrogen bond occupancy in three groups			
体系	时间/ns	相互作用残基	氢键占有率/%
P_1	80~90	ASP23-LYS7	43.00
	80~90	CYS142-VAL3	16.40
	80~90	GLU140-PHE5	6.50
P_2	80~90	ASP23-LYS7	83.70
	80~90	SER24-ALA6	32.20
	80~90	ASP93-LYS1	8.90
P_3	70~80	ASP23-LYS1	57.80
	70~80	CYS138-LYS1	33.90
	70~80	CYS142-PHE10	22.00

表 1 P_1 中相互作用残基的氢键占有率

Table 1 Hydrogen bond occupancy of interactions between residue pairs in P_1		
时间/ns	相互作用残基	氢键占有率/%
30~40	ARG77-ALA12	41.20
30~40	ARG77-PHE11	32.00
30~40	ASN144-LYS1	6.50
50~60	ASP23-LYS7	17.10
50~60	ASN144-PHE10	12.60
50~60	ARG77-ALA12	11.40

表 2 P_2 中相互作用残基的氢键占有率

Table 2 Hydrogen bond occupancy of interactions between residue pairs in P_2		
时间/ns	相互作用残基	氢键占有率/%
10~20	ARG77-ALA12	69.10
10~20	TYR181-LYS1	22.70
10~20	ASP23-LYS7	11.80
30~40	ASP23-LYS7	90.70
30~40	CYS138-LEU8	6.90
30~40	LEU137-PHE10	6.70

3 结论

本文通过分子对接和分子动力学模拟的方法研究 LILRB2 蛋白和 A β_{16-21} 双分子链的结合模型以及在结合中起重要作用的氨基酸残基。通过设置 3 个不同构象作为分子模拟的起始点, 得到 3 组不同的模拟轨迹, 分析发现在受体和配体结合过程中 LILRB2 蛋白上的 ASP23 残基与 A β_{16-21} 支链上的 LYS 残基有较强的相互作用, 对受体和配体结合起到了重要的影响。在受体和配体不同结合状态下, CYS142 和 SER24 残基与 A β_{16-21} 支链上 VAL、PHE、ALA 残基的疏水作用也有利于 LILRB2 蛋白和 A β_{16-21} 双分子链结合。

参考文献

- [1] Huang Y D, Mucke L. Alzheimer mechanisms and therapeutic strategies[J]. *Cell*, 2012, 148(6): 1204-1222. DOI: 10.1016/j.cell.2012.02.040.
- [2] Sharma P, Srivastava P, Seth A, et al. Comprehensive review of mechanisms of pathogenesis involved in Alzheimer's disease and potential therapeutic strategies[J]. *Progress in Neurobiology*, 2019, 174: 53-89. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2018.12.006.
- [3] Cao Q, Shin W S, Chan H, et al. Inhibiting amyloid- β cytotoxicity through its interaction with the cell surface receptor LILRB2 by structure-based design[J]. *Nature Chemistry*, 2018, 10(12): 1213-1221. DOI: 10.1038/s41557-018-0147-z.
- [4] Kim T, Vidal G S, Djurisic M, et al. Human LILRB2 is a β -amyloid receptor and its murine homolog PirB regulates synaptic plasticity in an Alzheimer's model[J]. *Science*, 2013, 341(6152): 1399-1404. DOI: 10.1126/science.1242077.
- [5] Cerqueira N M F S A, Gesto D, Oliveira E F, et al. Receptor-based virtual screening protocol for drug discovery[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2015, 582: 56-67. DOI: 10.1016/j.abb.2015.05.011.
- [6] Nasica-Labouze J, Nguyen P H, Sterpone F, et al. Amyloid β protein and alzheimer's disease: when computer simulations complement experimental studies[J]. *Chemical Reviews*, 2015, 115(9): 3518-3563. DOI: 10.1021/cr500638n.
- [7] Warren G L, Do T D, Kelley B P, et al. Essential considerations for using protein-ligand structures in drug discovery[J]. *Drug Discovery Today*, 2012, 17(23-24): 1270-1281. DOI: 10.1016/j.drudis.2012.06.011.
- [8] Zheng Y J, Tice C M, Singh S B. Conformational control in structure-based drug design[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2017, 27(13): 2825-2837. DOI: 10.1016/j.bmcl.2017.04.079.
- [9] 许叶春, 蒋华良. 老年痴呆相关蛋白靶标结构与功能关系的分子动力学模拟[J]. *中国科学院研究生院学报*, 2009, 26(2): 280-287. DOI: 10.7523/j.issn.2095-6134.2009.2.019.
- [10] 方磊, 计明娟. PTP1B 选择性抑制剂的分子动力学模拟及结合自由能计算[J]. *中国科学院研究生院学报*, 2009, 26(1): 58-64. DOI: 10.7523/j.issn.2095-6134.2009.1.009.
- [11] Morris G M, Huey R, Lindstrom W, et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility[J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2009, 30(16): 2785-2791. DOI: 10.1002/jcc.21256.
- [12] Humphrey W, Dalke A, Schulten K. VMD: visual molecular dynamics[J]. *Journal of Molecular Graphics*, 1996, 14(1): 33-38. DOI: 10.1016/0263-7855(96)00018-5.
- [13] Phillips J C, Braun R, Wang W, et al. Scalable molecular dynamics with NAMD[J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2005, 26(16): 1781-1802. DOI: 10.1002/jcc.20289.
- [14] MacKerell A D, Bashford D, Bellott M, et al. All atom empirical potential for molecular modeling and dynamics studies of proteins[J]. *The Journal of Physical Chemistry. B*, 1998, 102(18): 3586-3616. DOI: 10.1021/jp973084f.
- [15] Jorgensen W L, Chandrasekhar J, Madura J D, et al. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water[J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1983, 79(2): 926-935. DOI: 10.1063/1.445869.