بررسی تأثیر مولکول‌های کوچک بر فرآیند تشکیل آمیلوئیدها در پروتئین‌های مختلف

مجری: دکتر آزاده ابراهیم حبیبی
نوع طرح: متعارف بلند مدت
سال شروع: ۱۳۸۶
سال پایان: ۱۳۸۹

چکیده

مقدمه

در مطالعات سال‌های اخیر، بیماری‌های رو به گسترش متعددی در انسان شناسایی شده است که رابطه مستقیمی با تجمعات غیرطبیعی و گسترش‌یافته به‌صورت فیبریل‌های منظم دارند. قابلیت ایجاد ساختارهای آمیلوئیدی یکی از مشخصه‌های عمومی پروتئین‌ها است. بنابراین، ایجاد و بررسی ساختارهای آمیلوئید در پروتئین‌های مدل و مقایسه تأثیر ترکیبات یکسان بر جلوگیری از تشکیل این ساختارها می‌تواند در طراحی ترکیبات دارویی بالقوه مؤثر بر آمیلوئیدهای مرتبط با بیماری مفید واقع گردد. مطالعه حاضر جهت بررسی تأثیر ترکیبات ایندولی بر تشکیل ساختارهای آمیلوئیدی در پروتئین مدل انسولین طراحی گردید و در این روند، توجه خاص به پارامترهای مشترک معطوف بود.

روش‌شناسی

جهت ایجاد آمیلوئید انسولین (در مجاورت یا غیاب EDTA) با غلظت ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در بافر گلیسین با pH= ۲/۵ در مدت زمان‌های ذکرشده به ترتیب در دمای ۵۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده و با سرعت ثابت با همزن مغناطیسی به‌آرامی هم زده شد. جهت بررسی تشکیل آمیلوئید از روش‌های کنگو رد، فلورسانس تیوفلاوین T، CD (دو رنگ نمایی دورانی) و میکروسکوپ الکترونی استفاده شد. در مطالعات مدل‌سازی مولکولی جهت بررسی جایگیری لیگاند از نرم‌افزارهای moe و Autodock استفاده شد. AGGRESCAN برای بررسی نقاط مستعد به تجمع مورداستفاده قرار گرفت. مطالعات شبیه‌سازی با استفاده از GROMACS انجام شد.

یافته‌ها

آمیلوئیدی شدن انسولین در درجه حرارت‌های مختلف با موفقیت انجام شد. این موضوع با استفاده از تکنیک‌های ذکرشده فوق (به‌خصوص فلورسانس و میکروسکوپ الکترونی) تائید گردید. در مرحله بعد تأثیر لیگاندهای فنلی و ایندولی بررسی‌شده، فارماکوفوری از ایندول‌ها تهیه شد که برای پیشنهاد تعدادی ترکیب بالقوه مهارکننده آمیلوئید به کار رفت. آزمون شبیه‌سازی تبدیل ساختار مارپیچ آلفای انسولین را به مارپیچ بتا در زمان‌های مختلف نشان داد به‌طوری‌که پس از ۱۲۰۰ پیکوثانیه، ساختار بتا کاملاً مشخص بود. با توجه به ساختار ایندول‌های استفاده‌شده، ترکیبات بنزوفورانونی به‌عنوان مهارکننده‌های احتمالی آمیلوئیدی شدن مطرح شده و موردبررسی قرار گرفتند. چهار ترکیب از بین پنج ترکیب قابلیت کاهش تشکیل آمیلوئیدی شدن را نشان دادند. در مرحله آخر، ترکیب پلی فنلی کورکومین نیز موردبررسی قرار گرفت و مشخص شد که این ترکیب در غلظت‌های پایین (۸ میکرومول) قابلیت مهار آمیلوئیدی شدن انسولین را دارا است. با توجه به مطالعات جایگیری اولیه، احتمال دارد کورکومین به‌عنوان beta-sheet breaker عمل کند.

بحث و نتیجه‌گیری

انواع مشخصی از ایندول‌ها، ازجمله ایندول-۳-استیک اسید و کربینول تأثیر عمومی مهارکننده بر ساختارهای آمیلوئیدی دارند. در مورد انسولین و تعدادی پروتئین دیگر، کورکومین احتمالاً به‌صورت beta-sheet breaker عمل می‌کند. در مورد ساختارهای بنزوفورانونی، مشخص شد بنزوفورانون‌های واجد یک گروه متوکسی تأثیر مهارکنندگی عمومی بهتر از سایر لیگاندها را دارند. با توجه به این نتایج، ساختارهای ایندولی و کورکومین به‌طورقطع به‌عنوان مهارکننده‌های عمومی آمیلوئید مطرح هستند. در مورد بنزوفورانون، انجام آزمون بر پروتئین‌های دیگر و استفاده از دوزهای مختلف این ترکیبات می‌تواند وجود یا عدم این خصوصیت را روشن نماید. بررسی تأثیر کورکومین بر تعداد دیگری پروتئین و انجام شبیه‌سازی در مورد همه این پروتئین‌ها می‌تواند به‌طورقطع خصوصیت beta-sheet breaker بودن کورکومین را ثابت کند. انجام آزمون مشابهی در مورد ترکیبات ایندولی نیز می‌تواند اطلاعات بیشتری در مورد مکانیسم عمل آن‌ها به دست دهد.

کلیدواژه: آمیلوئید، مولکول‌های کوچک، پروتئین، انسولین، مهار.