

# 2021 年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號 030020  
參展科別 化學  
作品名稱 以分子動力學模擬探討有機分子影響胰島類澱粉蛋白(IAPP)的聚集行為  
得獎獎項 大會獎 三等獎

就讀學校 臺北市立第一女子高級中學

指導教師 江慧玉、蔡明剛

作者姓名 蕭睿萱、高珮瑜

關鍵詞 分子模擬、胰島類澱粉蛋白、有機分子

## 作者簡介



大家好，我們是北一女中數理資優班的蕭睿萱、高珮瑜，從小嚮往科學研究的我們，有幸在高中階段就進入實驗室學習。因想為人類盡一份心力，致力於研究引發第二型糖尿病的胰島類澱粉蛋白。至誠感謝教導我們的指導教授、一路上不斷給予協助的實驗室學長，及辛勤照顧的老師，讓我們能順利完成實驗、體會到科學研究的酸甜苦辣，留下豐富美好的回憶。

## 摘要

近年來的研究指出：第二型糖尿病病徵與胰島類澱粉蛋白(islet amyloid polypeptide，簡稱 IAPP)之聚集有關。如欲探討 IAPP 聚集機制以治療病症，需經多樣、多元的實驗條件進行試驗，這無疑是件耗時、耗費資源的大工程！本研究是以電腦軟體進行理論計算分析，採用分子動力學模擬系統，探討不同種類或官能基的有機分子對於 IAPP 作用之影響，再進一步觀察分子動態、統計系統能量，歸納出分子間的交互作用，釐清可能影響實驗結果的重要變因，期能達到提昇實驗設計、減少耗材浪費的綠色化學願景。本研究結果發現：在純水或稀薄食鹽水中，IAPP 構形皆傾向摺疊結構；且具較高極性基團或易產生立障效應的有機分子會拉伸 IAPP 結構，使其分子間相互靠近聚集，形成  $\beta$ -sheet 纖維；具較低極性基團的有機分子，易進入 IAPP turn 內，破壞引發聚集現象的疏水核心，進而抑制 IAPP 分子的積聚。

## Abstract

Several scientific studies, published in recent years, have suggested that the symptoms of type II diabetes are related to the aggregation of islet amyloid polypeptide (IAPP). In order to control IAPP aggregation and use it as potential disease treatment, it is expected that one would have to carry out various diverse experiments to clarify the underlying science. Undoubtedly, this would be a time-consuming and resource-intensive project. In this research project, we propose a resource-effective approach using computer software for the theoretical calculations and analysis. We set up a molecular dynamic simulation system to explore the impact of organic compounds on IAPP aggregation. Subsequently, we monitor the molecular dynamics, statistical system energetics, and induce the interactions between molecules and proteins to find out the optimal experimental-important factors. This approach is consistent with the vision of green chemistry. Our results indicate that the folding phenomenon occurs similarly when either a pure water or a diluted saline solution is used as the solvent. Organic compounds with more polar functional groups or larger structures, will straighten IAPP structure, so that IAPP may aggregate effectively to each other to form  $\beta$ -sheet fibers. In contrast, those with lower polar functional groups can easily enter the hydrophobic substituents in the turn-region of IAPP, and inhibit the hydrophobic core of IAPP therefore preventing the stacking.

# 壹、前言

## 一、研究動機

在書報討論課程中，我們從文獻得知類澱粉蛋白與阿茲海默症、帕金森氏症及第二型糖尿病等疾病間的關聯。然而此類的研究耗時、耗費資源，且需要探討的面向太過多元；「如何爭取時效性及提高實驗成功機率」，成為我們好奇、欲解答的課題！當老師介紹『綠色化學』友善環境的理念時，我們不禁想到：在既有的文獻基礎上，採用電腦進行模擬，以建構模組、理論計算並歸納分析等流程，是否就可用來縮短尋求實驗條件的時間，並減少嘗試過程中的資源耗費呢？因此我們選擇素有國人文明病之稱的第二型糖尿病，探討特定類型的天然物有機分子對於胰島類澱粉蛋白(後續以 IAPP 簡稱)聚集產生的調控機制，進一步歸納有機物種類對於 IAPP 積聚化的生物化學影響。希望這樣的研究能為生物、化學及資訊在藥物開發方面提供參考及應用的價值，並達到有效、節能、減廢的友善環境願景。

## 二、研究目的

- (一) 探討不同環境模組(純水、食鹽水)中，IAPP 的運動行為及構形變化
- (二) 在測定環境模組中，探討單個 IAPP 與有機分子之交互作用
- (三) 在雙蛋白(兩個 IAPP)系統下，探討有機分子對於 IAPP 構形之影響
- (四) 探討並歸納有機物的化學結構特徵與 IAPP 之關係

# 貳、研究方法或過程

## 一、研究方法

### (一) 分子力學(Molecular Mechanics, MM)

描述原子和化學鍵之間的關係，其中利用一系列的位能函數(potential energy functions)計算描繪出分子的特徵、能量，但不考慮量子力學中的電子雲分布等細節，力場即為分子的總位能；描述分子在位能面上的運動狀態時，其總能可由鍵長、鍵角、鄰面角、靜電力、凡德瓦作用力等相關能量的總和表示：

$$E = E_{\text{bond}} + E_{\text{angle}} + E_{\text{tor}} + E_{\text{electrostatic}} + E_{\text{vdw}}$$

$E$  為力場(force field)計算的能量， $E_{\text{bond}}$  代表鍵的伸縮(Bond Stretching)， $E_{\text{angle}}$  代表鍵的彎曲(Angle Bending)， $E_{\text{tor}}$  代表扭曲力(torsion)， $E_{\text{electrostatic}}$  代表靜電作用力， $E_{\text{vdw}}$  則為凡德瓦力(van der waals force)或氫鍵(Hydrogen Bonding)。

### (二) 分子動力學(Molecular Dynamic, MD)

在古典力學中，分子是由原子以及彈簧組成，其運動模式可由牛頓運動定律來表示。在古典力學中，分子是由原子以及彈簧組成，其運動模式可由牛頓運動定律來表示原子間的位能關係。

1.  $E_{bond}$ 代表鍵的伸縮(Bond Stretching)

$$E_{bond} = \sum_{bonds} K_r (r - r_0)^2$$

其中 $K_r$ 為鍵的力常數， $r$ 表示計算中的分子間距離， $r_0$ 代表該鍵最穩定的距離。

2.  $E_{angle}$ 代表鍵的彎曲(Angle bending)，其中 $k_\theta$ 表示鍵角的力常數， $\theta$ 代表計算中的鍵角大小， $\theta_0$ 表示最穩定的鍵角角度。

$$E_{angle} = \sum_{angles} k_\theta (\theta - \theta_0)^2$$

3.  $E_{tor}$ 代表扭曲力(torsion)，其中 $K_\phi$ 表示該扭力的力常數， $\phi$ 表示扭角角度， $d$ 及 $n$ 為常數。

$$E_{tor} = \sum_{tor} (1 + d \cos(n\phi)) \quad d = \pm 1, n \geq 0$$

4.  $E_{electrostatic}$ 代表靜電作用力

$$E_{electrostatic} = \sum_{i>j} \left( \frac{C q_i q_j}{\epsilon_0 r_{ij}} \right) \quad \epsilon_0 = 1.0, C = 1/4\pi\epsilon_0$$

$C$ 為電荷常數， $q_i$ 為 $i$ 類原子的電荷， $q_j$ 為 $j$ 類原子的電荷， $\epsilon_0$ 為相對電容率。

5.  $E_{vdw}$ 表示凡德瓦力的力常數

$$E_{vdw} = \sum_{i>j} 4\epsilon \left( (\sigma/r_{ij})^{12} - (\sigma/r_{ij})^6 \right)$$

其中 $\sigma$ 是作用力為0的距離， $r_{ij}$ 為 $i$ 原子與 $j$ 原子間的距離。

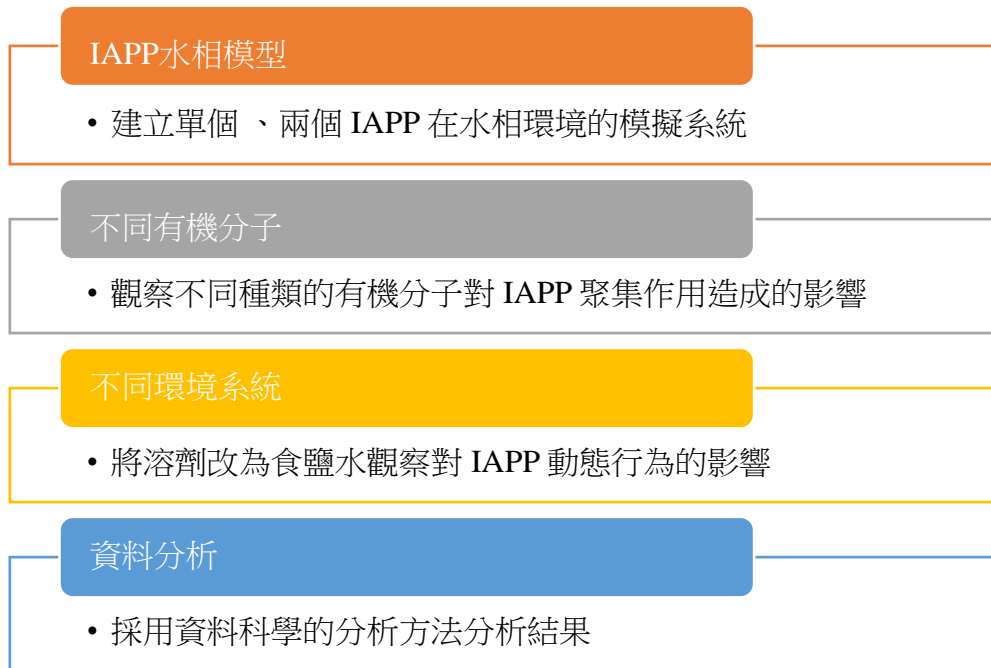
各原子在定溫定壓下移動一段時間後的位移可透過牛頓運動定律由位能函數和合適的力場得到。藉由計算短且不連續的時間間隔使物體移動，經由依次計算的速率可得下一步的加速度，初始速度是隨意值，亦可由原子間作用力得到。

(三) 採用超級電腦模擬微觀分子的運動行為，進而計算該系統的結構和性質。我們從微觀的角度選出由不同狀態所構成的系綜樣本結構，再計算該系統的構形並積分，以積分的結果為基礎，進一步推算該系統的熱力學和其他巨觀性質。

(四) 使用 Tinker 這套分子動力學模擬軟體(Joshua A. Rackers et al., 2018)<sup>1</sup>

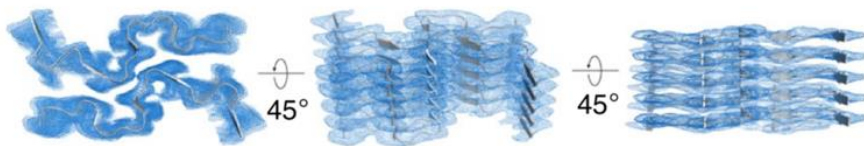
其具有非常多種的計算功能，包含建立分子模型、分析結構和能量變化、優化結構能量和分子動態模擬等，也可使用於不同的化學領域，如：各種溶劑與溶質的交互作用、無機材料的吸附反應和蛋白質的運動過程等。

## 二、研究過程



### (一) 文獻探討

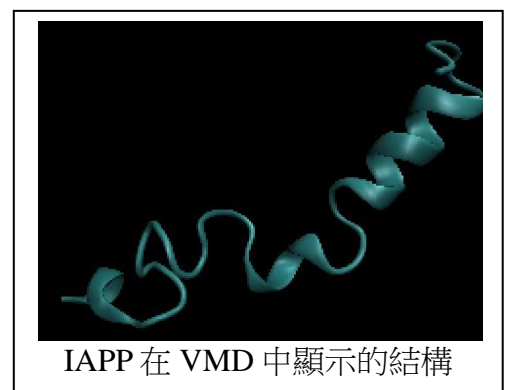
1. 由文獻(Qin Cao, David R. Boyer, Michael R. Sawaya, Peng Ge, & David S. Eisenberg, 2020)<sup>2</sup>得知，構形較伸展（長鏈狀）的 IAPP 分子容易於甘胺酸 Gly 處（第24號胺基酸）聚集，形成  $\beta$ -sheet 結構（如下圖）。後續將探討此兩胺基酸中心原子距離，以了解 IAPP 間靠近、聚集行為。



2. 為方便後續探論，我們將 IAPP 形成較彎曲的構形稱為「摺疊」，此時 IAPP 較難聚集；而 IAPP 相互靠近的行為稱為「層狀聚集」。

### (二) 建立單個在水相環境的模擬系統

1. 使用 Tinker 程式，將 IAPP (莫耳質量3903，結構示意如右圖)放入邊長為37.345 Å 的正方體系統中，且加入1529個水分子。
2. 為維持模擬系統的穩定，固定溫度、粒子數及體積的控制系統，進行動態模擬。利用優化後結果，選用 amber99建立分子力場，且以定溫器進行溫度修正以達到目標溫度的平衡系統。



3. 擷取出步驟2反應後所產生的最後一組 xyz 座標。依此座標進行固定粒子數，且壓力為1 atm、溫度35°C下的動態模擬控制系統，同樣選用 amber99建立分子力場，且以定溫器進行溫度修正，以探討 IAPP 結構會有如何改變。

4. 使用 VMD 軟體，分析單個及多個 IAPP 分子動力學模擬實驗，建立資料標準。

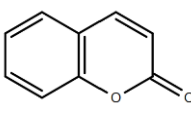
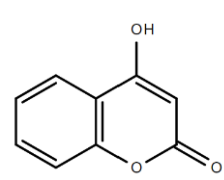
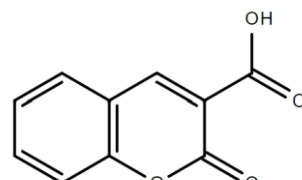
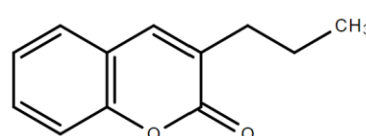
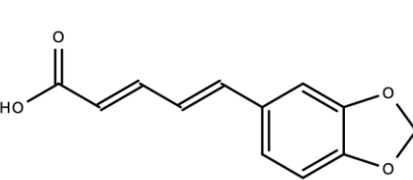
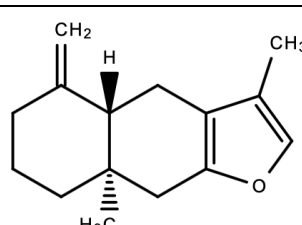
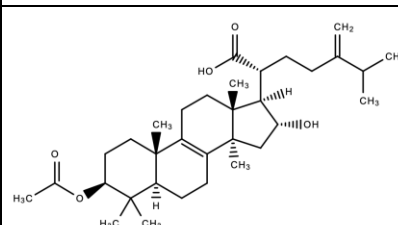
### (三) 建立單個 IAPP 在食鹽水相環境的模擬系統

依循之前設定的系統條件，在原本的水相環境置入不同顆數的 NaCl，模擬各種濃度的食鹽水，重複上述步驟(一)，同樣再進行動力學模擬實驗，探討此變因如何影響 IAPP 的構形與性質。

### (四) 探討天然物有機分子對 IAPP 聚集之影響

1. 依據文獻，選擇天然有機分子，如下表：香豆素及其衍生物、胡椒酸、蒼術酮及茯苓酸等，模擬探討以瞭解有機分子對於 IAPP 積聚作用之影響。我們預期有機分子會與 IAPP 之間交互作用，觀察兩者的運動行為和能量變化。

表2-1 天然有機分子之結構圖

香豆素 Coumarin (C)	香豆素衍生物 Coumarin-OH (C-OH)	香豆素衍生物 Coumarin-COOH (C-COOH)	香豆素衍生物 Coumarin-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> (C-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> )
			
胡椒酸 Piperic acid (Pi)		蒼術酮 Atractylon (A)	
			
茯苓酸 Pachymic acid (Pa)			
			

2. 我們採用兩種方式探討單個 IAPP 與有機分子間的交互作用。首先會將其「個別」放入系統中，但此時所需克服的能量障礙較高，有機分子若無法和 IAPP 靠近，接下來會將其以香豆素(C)與 IAPP 接近的位置為基準，與 IAPP「堆疊」在相同胺基酸處後置入系統中。

3. 採用資料科學的分析方法：使用超級電腦(HP BL685G7)，模擬計算並儲存結果，再擷取所需的資料於 Excel 中作圖，進一步分析 IAPP 與有機分子結構之動力學關係。

#### (五) 建立兩個 IAPP 的模擬系統

1. 使用 Tinker 程式，將兩個 IAPP 置入47.052 Å 的正方體系統的對角線上，其此體積恰為單個 IAPP 模型的2倍，且加入3046個水分子，即完成內含兩個 IAPP 的水相環境。再依循步驟(一)中2~3，建構出穩定的模擬系統，並探討兩個 IAPP 的動態行為。
2. 依據步驟(四)-2的分析探討結果，選擇出模擬系統能量較為穩定，且作用行為具獨特性，可能抑制或加速 IAPP 產生聚集現象的有機分子，依循上述系統建立與分析方法，進一步探討兩個有機分子與兩個 IAPP 共存的系統模擬現象。
3. 藉由利用 VMD 1.9.3 找到有機分子與 IAPP 最接近的胺基酸區段，分別計算此區段間每個胺基酸與有機分子間的系統能量，以推論出有機分子與 IAPP 作用之活性位點。

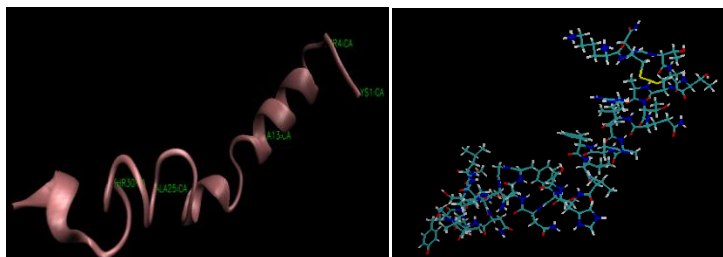


## 參、 研究結果與討論

我們從 Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>) 中尋得結晶態 IAPP 的二級結構，如下圖。依此建構出單個 IAPP 結構的標準模型，後續即以此系統作為模組，進行模擬過程中的探討。

1-6	Lys Cys Asn Thr Ala Thr
7-12	Cys Ala Thr Gln Arg Leu
13-18	Ala Asn Phe Leu Val His
19-24	Ser Ser Asn Asn Phe Gly
25-30	Ala Ile Leu Ser Ser Thr
31-37	Asn Val Gly Ser Asn Thr Tyr

IAPP 的胺基酸序列



IAPP 分子結構示意圖

一、建構單個與兩個 IAPP 在純水中的模型：

在模擬系統中，圖中的 IAPP 分子會呈現動態行為（請參見圖說內網址）；觀察其運動及構形變化，以了解粒子間的作用行為。

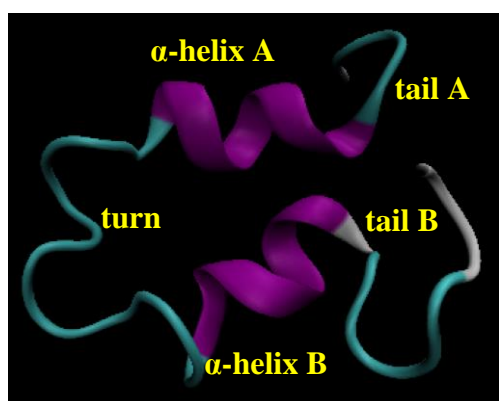


圖 3-1.1 單個 IAPP 在溶劑(純水)的模型  
[https://www.youtube.com/watch?v=n\\_bdsuliASY](https://www.youtube.com/watch?v=n_bdsuliASY)

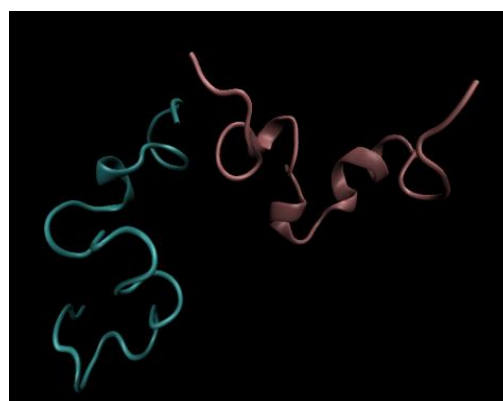


圖 3-1.2 兩個 IAPP 在溶劑(純水)的模型  
<https://www.youtube.com/watch?v=MwpsNcJdlIc>

(一) 單個 IAPP 在純水中：

經由觀察比對，我們將圖3-1.1 之 IAPP 結構依據胺基酸序列位置，劃分為 tail A、 $\alpha$ -helix A、turn、 $\alpha$ -helix B 以及 tail B(如表3-1)，以利後續的比對探究。

表 3-1 IAPP 結構分段

IAPP 分段	tail A	$\alpha$ -helix A	turn	$\alpha$ -helix B	tail B
胺基酸序列	1-3	4-12	13-24	25-29	30-37

(二) 兩個 IAPP 分子在純水中

如圖3-1.2，兩個 IAPP 各自的端點，因其一的-N(+)端與另一個 IAPP 的-C(-)端產生庫侖引力，因此 tail A 與另一個的 tail B 會有相互靠近的現象；當兩者以鏈狀相互吸引靠近時，易形成  $\beta$ -sheet 之二級結構。

## 二、建構單個 IAPP 在食鹽水中的模型：

設定系統環境為不同濃度的食鹽水，探討 IAPP 在此系統中的運動行為，如圖 3-2.1。我們在系統中置入 1~4 個 NaCl 粒子，並量測 IAPP 結構中兩段  $\alpha$ -helix 中心原子(圖 3-2.1 中綠色標記處)的平均距離，並將量測數據整理如表 3-2。

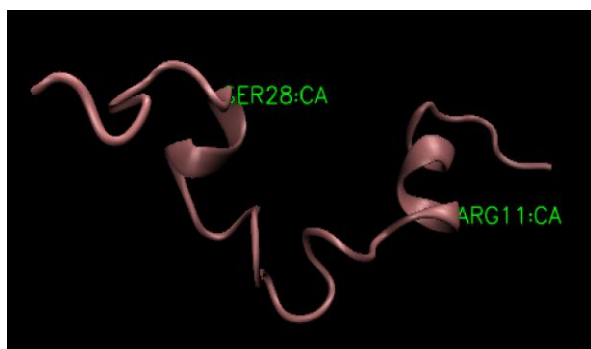


圖3-2.1 單個 IAPP 在食鹽水中的模型

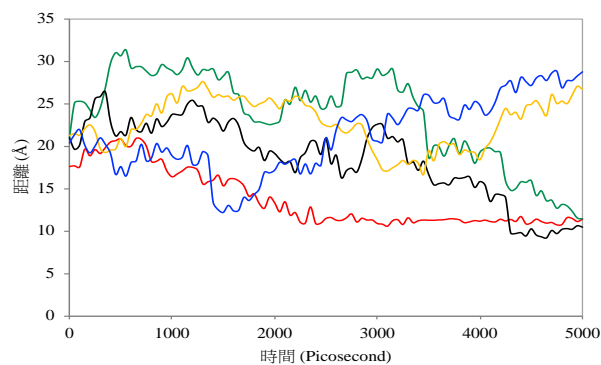


圖3-2.2 IAPP 兩段  $\alpha$ -helix 中心原子距離變化圖

表 3-2 兩段  $\alpha$ -helix 中心之平均距離(Å)

NaCl 個數	1	2	3	4
距離(Å)	12.63	15.52	22.35	25.05

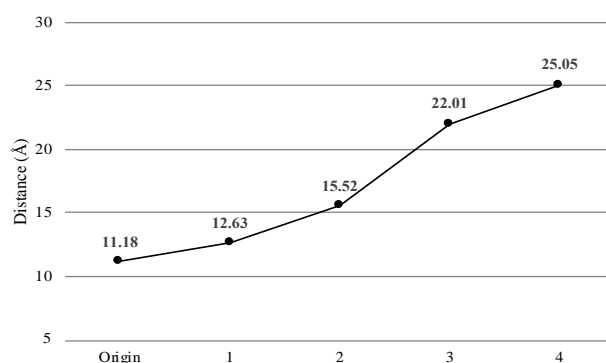


圖 3-2.3 不同濃度食鹽水， $\alpha$ -helix 中心原子平均距離

- (一) 從實驗結果得知：當 NaCl 粒子數越多，IAPP 結構中兩段  $\alpha$ -helix 間的距離增大，顯示 IAPP 分子結構伸長開展、較不呈摺疊。當 NaCl 為1、2個時，此距離與環境為純水之平均距離(11.18Å)相差不多；我們認為在稀薄食鹽水的狀況下，水分子遠多於食鹽粒子，因此可推論 IAPP 的結構型態主要是受水分子所影響。
- (二) 濃度較高的食鹽水環境中  $\text{Na}^+$ 與  $\text{Cl}^-$ 較多，這些荷電粒子與 IAPP 上較高極性的基團(如-NH 或-C=O)相互吸引，使 IAPP 失去自然屬性。
- (三) 綜合(一)、(二)的結果發現，稀薄食鹽水中的實驗結果，純水環境差異不大，因此後續探討有機分子影響 IAPP 構形或其聚集現象，將以純水作為環境系統。

### 三、單系統中，有機分子對 IAPP 的影響

在模擬系統中，IAPP 與有機分子間呈現動態行為；我們逐步觀察兩者間的動態交互作用，以了解有機分子如何影響 IAPP 之構形。

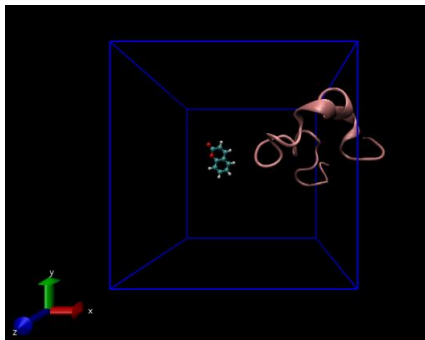


圖 3-3.1 純水系統中的 IAPP 與有機分子  
左圖中，藍色框為設定的系統空間，左上方表示 IAPP 分子，右下方結構代表所添加的有機分子。

(一) 將有機分子與 IAPP 個別放入系統中：

我們刻意將有機分子與 IAPP 分別置入系統中，發現香豆素(C)、胡椒酸(Pi)及香豆素衍生物(C-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)會與 IAPP 分子相互吸引靠近，整理如下表3-3。

表3-3 有機分子與 IAPP 靠近前、作用後的模型

	靠近前	作用後
IAPP 與香豆素(C)		
IAPP 與胡椒酸(Pi)		
IAPP 與(C-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> )		

1. 如圖3-3.2，在僅有 IAPP 分子的系統 (origin)中，兩段  $\alpha$ -helix 中心原子距離隨著時間有逐漸縮短的趨勢，顯示在純水環境中，原本較呈鏈狀構形的 IAPP 會傾向成為摺疊結構，其結構如圖3-1.1。
2. 從表3-3觀察，香豆素(C)與 IAPP 作用後會使其摺疊現象更加顯著。從系統動態模擬過程發現，香豆素(C)會以1、2號位置的 O 原子靠近 IAPP 之 tail A，並以環狀結構電子流與 tail B 處的氫原子相互吸引，這使得 IAPP 兩端點被吸引拉近，此時結構中 turn 處受到擠壓、摺疊程度增大。
3. 當胡椒酸(Pi)靠近 IAPP 時，同樣以 O 原子端基團靠近 IAPP，並拉伸 IAPP 結構；但在控制的模擬時間內，兩段  $\alpha$ -helix 中心原子距離並沒有太多變化，見圖3-3.2。
4. 從動態模擬觀察，香豆素衍生物(C-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)多停留在 IAPP 的 turn 內，但後續此有機分子會移出且靠近 IAPP 之 tail A，因此造成兩段  $\alpha$ -helix 中心原子距離增加，如圖3-3.2 (約3200 ps 時兩中心距離增大)。

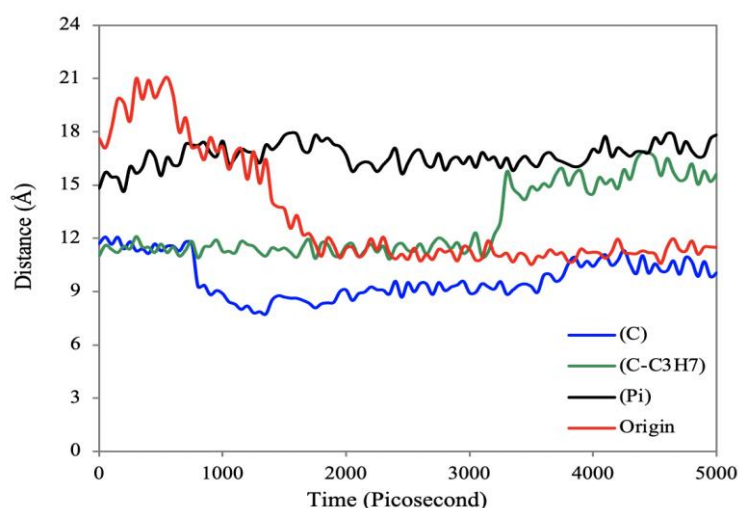


表 3-4 IAPP 兩段  $\alpha$ -helix 中心原子平衡距離(Å)

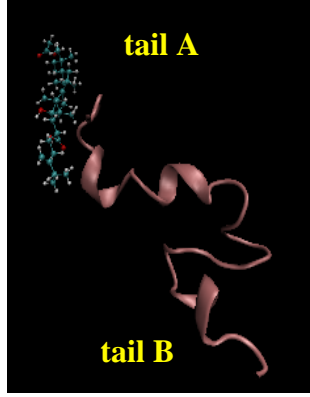
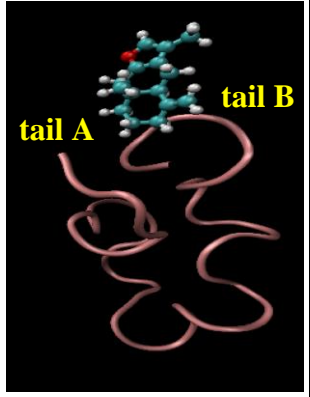
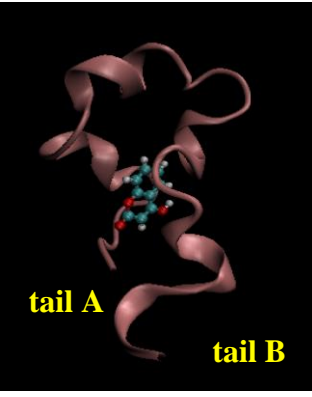

有機分子	距離(Å)
origin	11.18
香豆素(C)	10.06
香豆素衍生物(C-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> )	14.91

圖 3-3.2 IAPP 兩段  $\alpha$ -helix 中心原子距離變化圖

(二) 將有機分子與 IAPP 堆疊放入系統中：

我們參考三-(一)動態模擬的結果，將有機分子與 IAPP 相互堆疊在作用後最靠近的位置，再置入模擬系統中，觀察兩者的作用變化。從動態過程中發現：茯苓酸(Pa)、蒼術酮(A)、香豆素衍生物(C-OH)及衍生物(C-COOH)會影響 IAPP 的構形，且其相對位置會發生變化。

表3-5 IAPP 與有機分子堆疊，在系統中作用後的結果

			
IAPP 與茯苓酸(Pa)	IAPP 與蒼術酮(A)	IAPP 與香豆素衍生物 (C-OH)	IAPP 與香豆素衍生物 (C-COOH)

1. 在動態過程中，原本堆疊在一起的茯苓酸分子(Pa)會逐漸遠離 IAPP，移動至 IAPP 端點處相互吸引。比較兩段  $\alpha$ -helix 中心原子距離(圖 3-3.3)，茯苓酸分子使兩端中心距離增大，顯示其可將摺疊狀 IAPP 結構進行拉展。

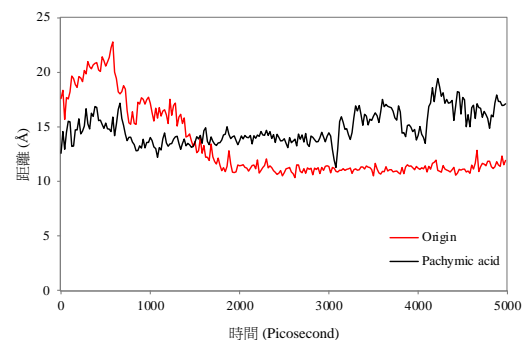


圖 3-3.3 茯苓酸(Pa)與 IAPP

2. 觀察 IAPP 結構發現：蒼術酮(A)分子會破壞

IAPP 原本的  $\alpha$ -helix 結構，使得兩段

$\alpha$ -helix 皆變形消失，因無法討論其作用前後的構形

變化，因此無法了解此小分子是否影響 IAPP 聚集。

3. 當模擬系統達平衡時，香豆素衍生物(C-OH)分子會停留在 IAPP 兩段  $\alpha$ -helix 之間，此處為摺疊狀 IAPP 分子結構中最为狹窄之處。我們認為有機分子上的羥基(-OH)與 IAPP 之胺基酸殘基藉由氫鍵作用力相互吸引，且其大小恰好穩定於此窄口處。

4. 香豆素衍生物(C-COOH)會拉伸 IAPP 結構，使其更為開展。觀察動態過程發現，此有機分子是以較具極性之羧基(-COOH)，以庫侖引力拉扯 IAPP 上帶正電荷之 tail A 端。

(三) 模擬系統的穩定性：

我們計算模擬系統的位能函數來瞭解分子物質間相互作用的能量變化。單個 IAPP 與有機分子作用的系統能量變化(以  $\Delta E$  表之) 整理如表3-6；當  $\Delta E$  為負值，表示該系統能量降低、較為穩定； $\Delta E$  為正值，表示系統內能增加、較不穩定。

表 3-6 單個 IAPP 與有機分子之系統內能(kcal/mol)

	IAPP 與有機分子		$\Delta E = E_1 - E_2$
	最靠近時的能量( $E_1$ )	相距最遠時的能量( $E_2$ )	
香豆素(C)	-14934.81	-14884.69	<b><u>-50.12</u></b>
茯苓酸(Pa)	-14500.51	-14508.85	8.34
蒼術酮(A)	-14929.06	-14943.94	14.88
胡椒酸(Pi)	-14931.43	-14888.76	-42.67
香豆素衍生物 (C-COOH)	-14991.80	-14976.14	-15.66
香豆素衍生物 (C-OH)	-14946.62	-14951.77	5.15
香豆素衍生物 (C-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> )	-14856.86	-14874.89	<b><u>18.03</u></b>

註： $E = E_{\text{bond}} + E_{\text{angle}} + E_{\text{tor}} + E_{\text{electrostatic}} + E_{\text{vdw}}$

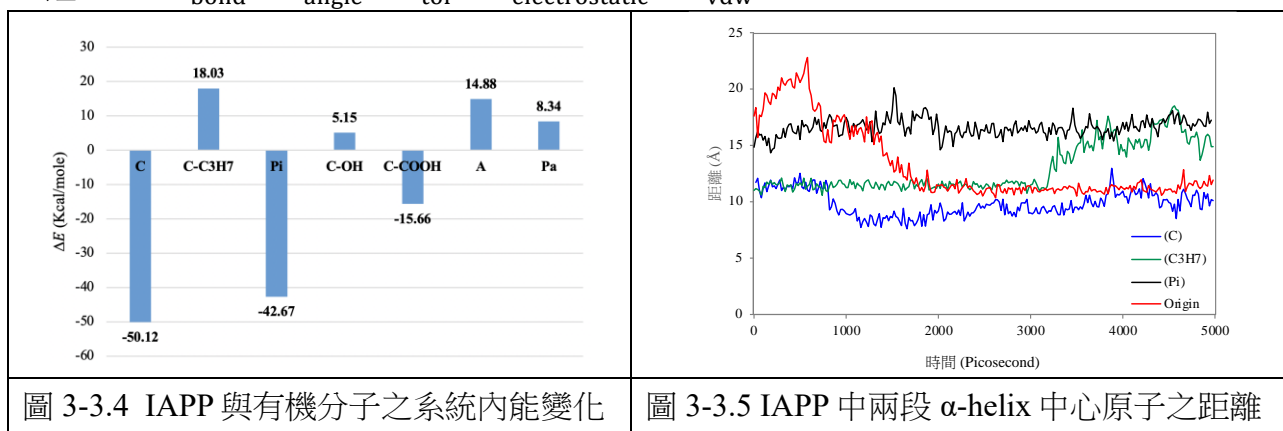


圖 3-3.4 IAPP 與有機分子之系統內能變化

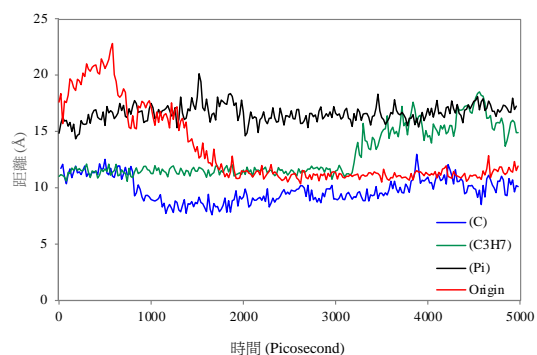


圖 3-3.5 IAPP 中兩段  $\alpha$ -helix 中心原子之距離

1. 由實驗結果，香豆素(C)與 IAPP 分子作用的系統最為穩定；而香豆素衍生物(C-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)與 IAPP 系統內能增高最多，此系統最不穩定，如圖3-3.4。
2. 在表3-6中，香豆素(C)、胡椒酸(Pi)以及香豆素衍生物(C-COOH)三者使系統能量降低。由於極性基團與 IAPP 結構產生氫鍵或偶極力等強作用力，使系統能量大幅下降。比較三者對 IAPP 兩段  $\alpha$ -helix 中心原子距離之影響(圖3-3.5)，胡椒酸(Pi)及香豆素衍生物(C-COOH)使其距離增大，而香豆素(C)使其縮短，因此我們選擇香豆素(C)與作用較顯著之香豆素衍生物(C-COOH)，進行後續研究探討。
3. 蒼術酮(A)與香豆素衍生物(C-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)，兩者皆是較低極性的分子；以其疏水性質與 IAPP 間的作用力較小，故其模擬系統之能量較高。

#### 四、雙系統中，有機分子對 IAPP 的影響

依據前述結果三，為進一步探討有機分子對於 IAPP 聚集的影響，我們選擇系統能量趨於穩定的香豆素(C)、香豆素衍生物(C-COOH)及系統能量增高的衍生物(C-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)，進行雙分子系統交互作用之模擬。

##### (一) 香豆素(C)與 IAPP

在系統中放入兩個香豆素(C)及兩個 IAPP 分子。設計原 IAPP 分子構形：一組為初始結構為直鏈形(標示為 A、B)，另一組則為摺疊構形，以 A'、B'表之。

1. 觀察兩組系統的動態模擬過程，我們發現香豆素(C)僅對直鏈狀系統中的 B 分子有作用產生，並明顯使其摺疊，見圖3-4.1；而對於摺疊系統中，兩個香豆素(C)皆與 B'作用，見圖3-4.2。我們量測 IAPP 分子兩段  $\alpha$ -helix 中心原子之距離，A 與 A'幾乎沒有變化；以 A 為基準，B 分子之距離顯著降低，顯示香豆素(C)僅與此一 IAPP 分子(B)有所影響，並將 B 分子摺疊；此量測距離之變化，其最終平衡距離小於原本即為摺疊構形的 B'分子(如圖3-4.2中紅色與綠色)，此結果與單分子系統之探討觀察相呼應。而原本已為摺疊構形的 B'，在香豆素(C)的作用下，摺疊現象又更加明顯，見圖3-4.1。

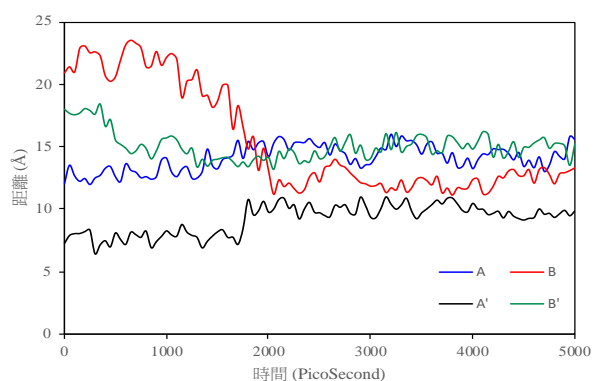


圖 3-4.1 兩種構形 IAPP 的  $\alpha$ -helix 距離

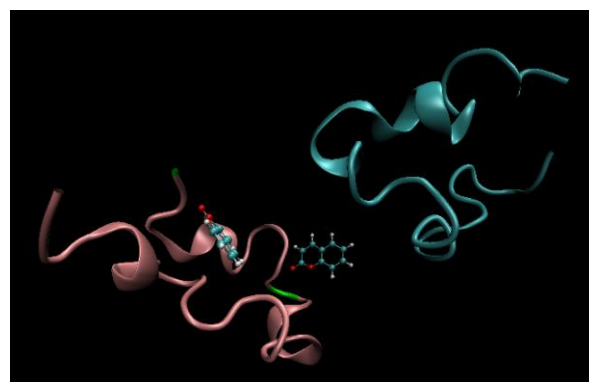


圖 3-4.2 兩個香豆素(C)皆作用在 IAPP(B)

##### 2. 反應系統能量

- (1)比較 IAPP 為直鏈狀( $E_L$ )與摺疊狀( $E_U$ )的系統能量，

我們發現 IAPP 構形為摺疊狀的系統能量較直鏈狀為低，見表3-7。此結果表示：IAPP 分子形成摺疊構形會更加穩定，這結論與單系統探討一致，因此後續將探討此構形作為模擬系統。

$E_L$	-27070.37
$E_U$	-29849.76
$\Delta E = E_U - E_L$	-2779.38

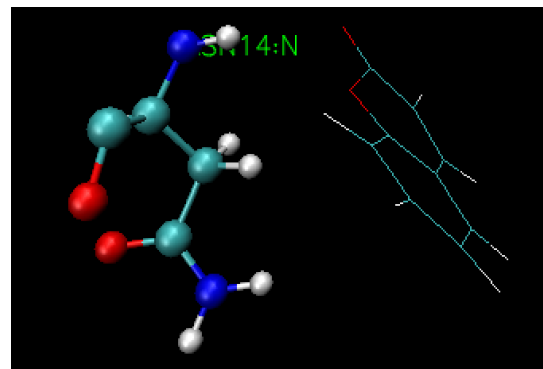
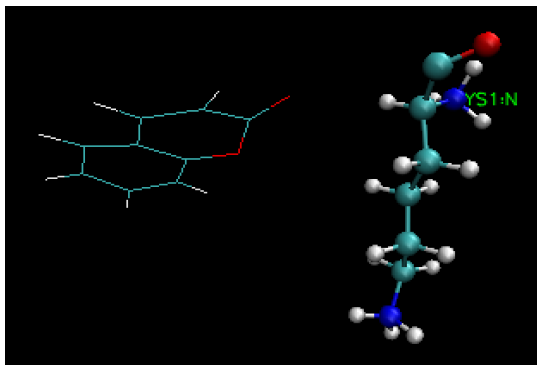
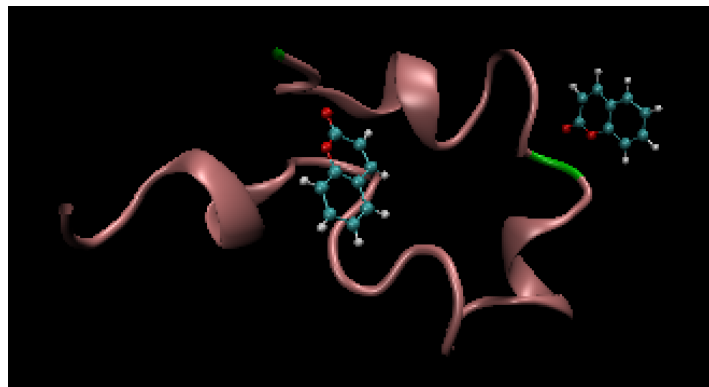
- (2)香豆素(C)會使 IAPP 摺疊更為明顯，因此其系統能量應該會降低。我們逐一量測每個香豆素(C)與 IAPP 結構序列間的能量變化，發現兩個香豆素(C)分子，一個作用在 B'分子之1號 Lys，另一個在14號 Asn，如表3-8，且在端點處較不具結構立障影響，因此整體能量以此處稍多穩定。

(3)從微觀面向來看，我們逐一觀察找出香豆素(C)與此兩處作用的結構特徵，如圖3-4.3，  
香豆素結構中兩個 O 原子的孤對電子與 IAPP 結構上的-NH 基團形成氫鍵作用力。

表3-8 香豆素(C)與 IAPP 及其胺基酸之系統能量

	第一個香豆素(C)分子與 IAPP(B')						
	IAPP	10 Gln	11 Arg	12 Leu	13 Ala	14 Asn	15 Phe
能量 (Kcal/mole)	-24.47	-1.05	-4.93	-3.39	-4.23	<b>-10.49</b>	-2.10

	第二個香豆素(C)分子與 IAPP(B')				
	IAPP	1 Lys	2 Cys	31 Asn	32 Val
能量 (Kcal/mole)	-31.74	<b>-15.15</b>	-4.44	-7.07	-2.23



左方為香豆素(C)，右方為 IAPP 之 1 號 Lys      左方為 IAPP 之 14 號 Asn，右方為香豆素(C)

圖 3-4.3 兩個香豆素(C)與 IAPP 作用之模擬微觀系統



## (二) 香豆素衍生物(C-COOH)與 IAPP

將摺疊狀的 IAPP(A'、B')與兩個香豆素衍生物(C-COOH)置入系統內；動態模擬觀察發現，兩個香豆素衍生物(C-COOH)分別作用在同一個 IAPP 上，如右圖所示。依據文獻資料<sup>2</sup>：若 IAPP 發生聚集，其分子間相對距離的縮短可從結構中第24號 Gly 來判斷，因此我們依此原則進行量測。

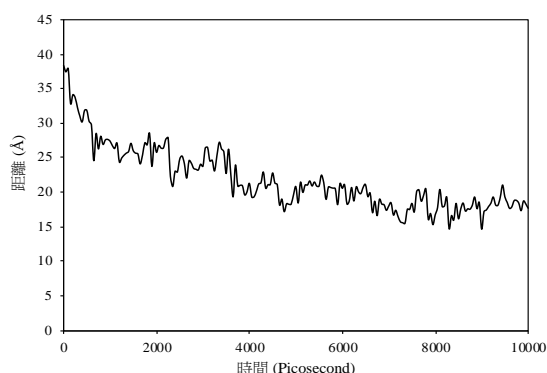
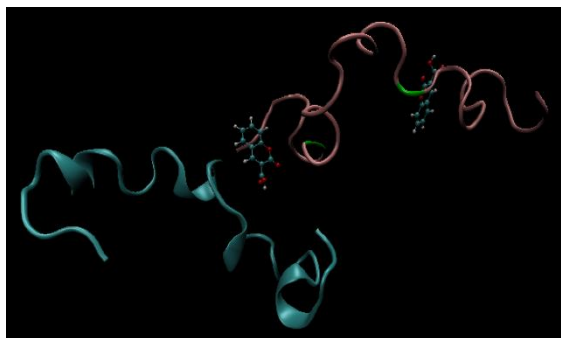


圖3-4.4 IAPP(A'、B')之24Gly 的距離

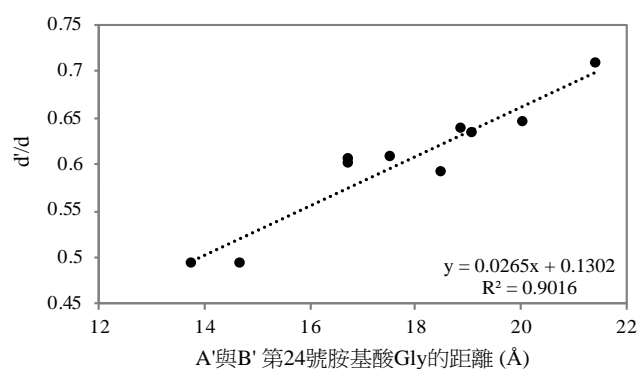
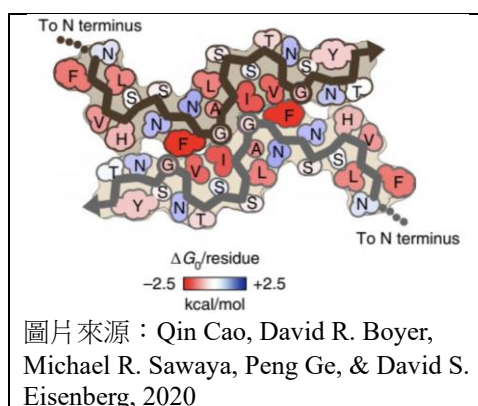


圖3-4.5 IAPP(A'、B')之24Gly 間之相對密度

- 如圖3-4.4，兩個 IAPP 第24號 Gly 間的距離有漸小的趨勢；觀察分子的動態行為，由於香豆素(C-COOH)將摺疊狀 IAPP 拉伸，因此兩 IAPP 分子得以相互靠近，因此24Gly 之距離縮短；這與單系統中實驗結果三-(二)相符合。
- 我們在動態模擬時間第9000-10000 ps 間隨機挑選10個數據，觀察兩個 IAPP 分子甘胺酸間的水密度變化。與整個系統的水密度進行比較，發現當 A'與B'間的距離愈近，水分子之相對密度亦降低，如圖3-4.5，此顯示兩個 IAPP 相互靠近聚集時，會形成較為疏水的區塊，進而形成聚集核心的疏水中心，此現象與文獻<sup>2</sup>結果(示意圖如右)相符合，可確知香豆素衍生物(C-COOH)會促使 IAPP 分子聚集。



### 3. 反應系統能量

- 比較加入有機分子(C-COOH)前後的系統能量，如表3-9。我們發現兩個 IAPP 靠近後系統能量大幅下降，這表示 IAPP 分子聚集後會趨於穩定。

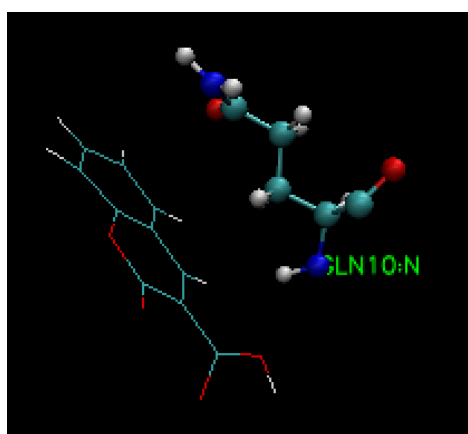
$E_{前}$	-27269.05
$E_{後}$	-29948.09
$\Delta E = E_{後} - E_{前}$	-2679.04

(2) 從動態模擬觀察，兩個香豆素衍生物(C-COOH)分別作用在 B'分子之前端 10Gln 及後端 24Gly 的對稱位置處，如表3-10。由於香豆素衍生物之羧基(-COOH)，在此兩位置上明顯以極性較高的 O 原子端靠近產生氫鍵，見圖3-4.6；在兩端相互吸引的狀況下，另一 IAPP 靠近與被拉展的 IAPP 分子形成  $\beta$ -sheet，產生聚集之現象。

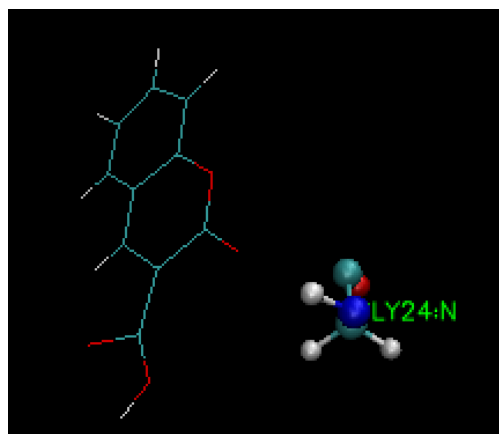
表 3-10 香豆素衍生物(C-COOH)與 IAPP 及其胺基酸之系統能量

	香豆素衍生物 (C-COOH) 與 IAPP(B')					
	IAPP	8 Ala	9 Thr	10 Gln	11 Arg	12 Leu
能量 (kcal/mol)	-41.56	-2.41	-2.19	<b>-15.33</b>	-8.78	0.12

	香豆素衍生物(C-COOH)與 IAPP(B')						
	IAPP	20 Ser	21 Asn	22 Asn	23 Phe	24 Gly	25 Ala
能量 (kcal/mol)	-29.56	-3.27	-4.64	-5.77	-7.38	<b>-12.30</b>	-0.13



左方為(C-COOH)，右方為 IAPP 之 10Gln



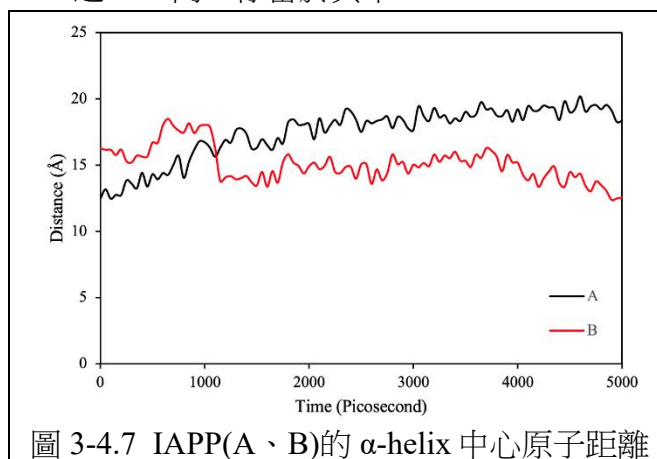
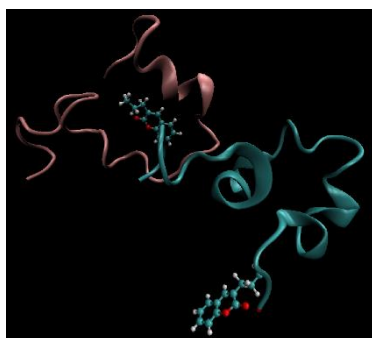
左方為(C-COOH)，右方為 IAPP 之 24Gly

圖 3-4.6 兩個香豆素衍生物 (C-COOH) 與 IAPP 作用之模擬微觀系統

### (三) 香豆素衍生物(C-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)與 IAPP

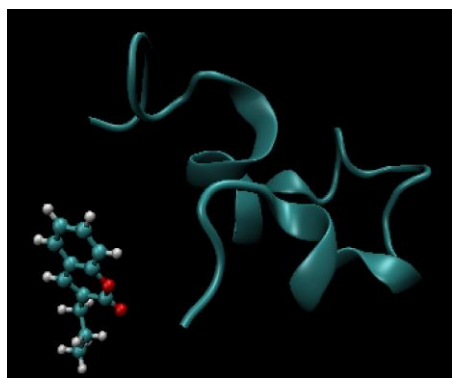
同樣是香豆素衍生物(C-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)分別與 IAPP 為直鏈形(A、B)與摺疊形(A'、B')作用之系統。動態模擬發現，摺疊形 IAPP 不受香豆素衍生物(C-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)影響；而直鏈構形系統中，有機分子與 IAPP 呈現一對一的作用，見下圖左。

1. 量測 IAPP 分子之兩段  $\alpha$ -helix 中心原子之距離得知，有機分子一個會吸引 IAPP (A)之 tail 端，並拉展其結構(如圖3-4.7藍線)，另一則是使 IAPP (B)逐漸形成較穩定的摺疊狀，且有機分子(C-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)會進入摺疊狀 IAPP 之 turn 內，停留於其中。

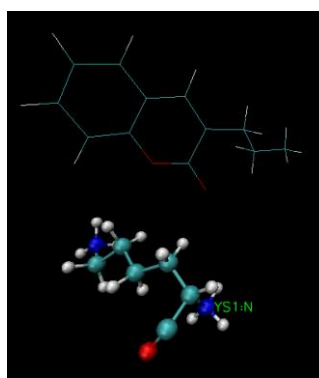


2. 觀察動態模擬過程，兩個有機分子與 IAPP 之作用機制如下討論：

- (1) 香豆素衍生物(C-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)吸引 IAPP A 分子之 tail 端，同樣以結構中教具陰電性的 O 原子，吸引 IAPP 結構中 1Lys 之 -NH 基團，以氫鍵作用力穩定存在，如下圖。



有機分子(C-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)與 IAPP(A)



-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>基團與 IAPP 之 1Lys

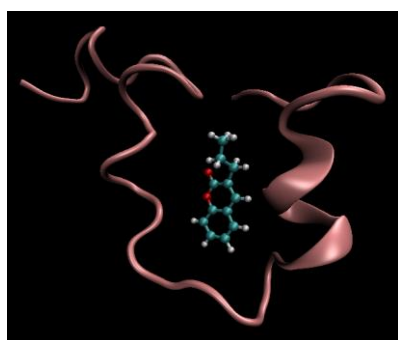
圖 3-4.8 香豆素衍生物 (C-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>) 與 IAPP(A)作用之模擬微觀系統

表 3-11 香豆素衍生物(C-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)與 IAPP 及其胺基酸之系統能量

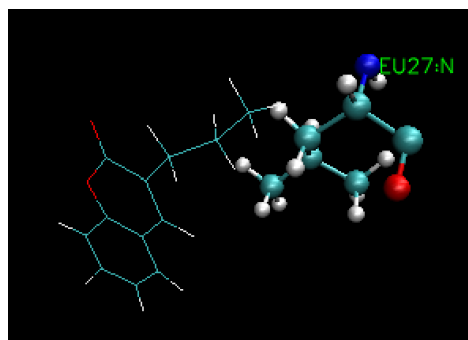
能量 (kcal/mol)	香豆素衍生物 (C-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> )與 IAPP(A)							
	IAPP	1 Lys	2 Cys	10 Gln	13 Ala	14 Asn	17 Val	20 Ser
	-52.78	<b>-30.52</b>	1.65	-4.60	-4.11	-3.66	-1.32	-1.97

(2) 使 IAPP 形成摺疊狀時，進入 IAPP 之 turn 內的香豆素衍生物(C-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)，以其較低極性的-正丙基(-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)支鏈靠近 IAPP 之疏水核心--第20~29號之胺基酸，如圖3-4.9。此外，我們觀察到(C-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)分子的環狀結構會介於 tail 端與 turn 之間，且其結構上的環狀電子流與極性 tail 端的庫侖引力會將有機分子拉離 turn；從表3-12比較系統能量可看出：有機分子(C-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)位於 turn 內或 IAPP tail 端之穩定性相差不多，顯示此有機小分子在兩處作用或影響的程度約略相同。由此現象可推知，香豆素衍生物(C-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)在 IAPP 多處產生作用影響，應可抑制 IAPP 分子間相互靠近或發生聚集之現象。

表 3-12 有機分子作用在不同位置之系統能量(kcal/mol)	
$E_{tail\ 端}$	-29766.56
$E_{turn}$	-29744.29
$\Delta E = E_{tail\ 端} - E_{turn}$	-22.27



C-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub> 落入 IAPP(B) turn 內



-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub> 基團靠近 IAPP 疏水核心

圖 3-4.9 兩個香豆素衍生物 (C-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>) 與 IAPP(B)作用之模擬微觀系統

## 肆、 結論與應用

本研究成功利用電腦程式建構模擬系統，採用分子動力學觀察不同有機分子與 IAPP 的運動與交互作用。研究結果歸納確知：在純水或低濃度食鹽水環境中，IAPP 構形主要是受水分子影響，易形成較為穩定的摺疊構形。探討有機分子對 IAPP 之影響，綜合動態模擬觀察及系統能量穩定性，歸納如下：若使 IAPP 分子愈發摺疊，如香豆素(C)及衍生物(C-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)，則 IAPP 分子間不易靠近形成  $\beta$ -sheet 二級結構；若有機分子具有較高極性基團或因結構較大易產生立障效應，如及茯苓酸(Pa)與香豆素衍生物(C-COOH)，此等分子會拉伸開展 IAPP 分子，使其分子間可相互靠近聚集，形成  $\beta$ -sheet 纖維；若有機分子具有較低極性之基團，易進入停留在 IAPP 的 turn 內，破壞 IAPP 產生聚集現象的疏水核心區塊，可抑制 IAPP 分子間的積聚。

由本研究模擬歸納之結果，後續我們希望能夠增加較多量 IAPP 分子之系統，觀察各式有機分子如何使多量 IAPP 分子間產生聚集或抑制之作用；此外，依據此結論進行設計，以適當的有機合成方法獲得一系列小分子，針對這些有機分子與 IAPP 進行實際實驗操作，以期確認、驗證模擬系統之結論，並希冀能更進一步應用於第二型糖尿病的病症試驗。

## 伍、 參考文獻

- 一、 Joshua A. Rackers, Marie L. Laury, Chao Lu, Zhi Wang, Louis Lagardère, Jean-Philip Piquemal, Pengyu Ren, Jay W. Ponder. (2018). TINKER 8: A Modular Software Package for Molecular Design and Simulation. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 14, 5273-52
- 二、 Qin Cao, David R. Boyer, Michael R. Sawaya, Peng Ge, and David S. Eisenberg. (2020). Cryo-EM structure and inhibitor design of human IAPP (amylin) fibrils. *Natural Structural & Molecular Biology*, 27, 653–65
- 三、 Tseng, W. H., Chen, S. H., & Hiramatsu, H. (2020). pH-controlled stacking direction of the  $\beta$ -strands in peptide fibrils. *Scientific reports*, 10(1), [22199]. doi: 10.1038/s41598-020-79001-x
- 四、 Wieczorek, G. & Niedzialek, D.. (2020). *Molecular Dynamics*. eLS, 1-18. doi: 10.1002/9780470015902.a0003048.pub3

# 附錄一

## 一、key 檔

### 1. minimize

```
parameters amber99_oplsaa.prm  
  
openmp-threads 64  
  
cutoff 9.0  
ewald  
ewald-cutoff 7.0  
vdw-correction  
polar-eps 0.01  
  
steepest-descent
```

### 2. nvt

```
parameters amber99_oplsaa.prm  
  
openmp-threads 24  
cutoff 9.0  
ewald  
ewald-cutoff 7.0  
vdw-correction  
polar-eps 0.01  
  
thermostat berendsen  
integrator verlet  
  
archive
```

### 3. npt

```
parameters amber99_oplsaa.prm  
  
openmp-threads 24  
cutoff 9.0  
ewald  
ewald-cutoff 7.0  
vdw-correction  
polar-eps 0.01  
  
thermostat berendsen  
integrator verlet  
barostat berendsen  
tau-temperature 1.0  
tau-pressure 1.0  
  
archive
```

## 【評語】 030020

由分子動力學模擬探討蛋白質結構的研究，對藥物的開發非常有幫助。本研究有很好的結果，但是也要將結果和各種有機分子的化學性質結合，才能夠進一步的了解及建議藥物的發展方向。