

## 神经元钙传感蛋白R102Q突变体的动力学构象特征

朱玉珍,张庆文(上海体育学院体育教育训练学院,上海市 200438)

## 文章亮点:

1 此问题的已知信息:神经元钙传感蛋白单一氨基酸突变会导致相关精神病学疾病,在对自闭症患者基因测序的过程中,识别出神经元钙传感蛋白第 102 个氨基酸精氨酸 ARG102 突变成谷氨酰胺 Glu102,这一突变引起结构和功能的缺失。

2 文章增加的新信息:神经元钙传感蛋白 R102Q 突变导致蛋白结构中的螺旋和盐桥发生改变,从而降低 L2 的柔性,改变 C 端尾部 L3 在疏水口袋中的位置,使其更加舒展。

3 临床应用的意义:神经元钙传感蛋白 R102Q 突变引起其结构和功能改变的具体原因的确定,从分子的层面和结构的视角,为与 R102Q 突变相关自闭症的诊断和治疗提供理论参考。

关键词:

组织构建;组织工程;神经元钙传感蛋白;R102Q突变;盐桥;自闭症;神经系统;分子动力学 主题词:

神经细胞钙离子传感蛋白质类; 氨基酸类; 突变; 神经元

## 摘要

**背景:**神经元钙传感蛋白参与多种生理功能,在大脑皮质不同脑区都有很高的分布。在自闭症患者基因测序中识别出神经元钙传感蛋白第 102 个氨基酸精氨酸 ARG102 突变成谷氨酰胺 Glu102(R102Q)。实验研究显示,R102Q 突变对神经元钙传感蛋白局部区域影响很大,发生本质性的构象改变。

目的:确定神经元钙传感蛋白单一氨基酸 R102Q 突变引起结构构象动力学变化的具体原因。

方法:采用计算机分子动力学模拟的方法,进行 6 个独立的、模拟时间是 450 ns 的全原子动力学模拟。

结果与结论:①神经元钙传感蛋白 R102Q 突变对蛋白整体结构影响不大,在整个模拟过程中都没有进行大的 构象重组,但导致螺旋改变,结构更加稳定。②R102Q 突变导致盐桥网络发生改变,一方面降低了 L2 的柔 性,使其更加稳定;另一方面改变 L3 在疏水口袋中的位置,使其在疏水口袋中更加舒展。结果表明,螺旋在 蛋白结构稳定中起到一定的作用,盐桥改变也是蛋白动力学变化的重要原因。这项研究可能从分子的层面和 结构的视角,为与 R102Q 突变有关的蛋白质功能缺失提供理论参考。

朱玉珍,张庆文.神经元钙传感蛋白 R102Q 突变体的动力学构象特征[J].中国组织工程研究,2015,19(2):225-230.

# Dynamic conformational characteristics of the R102Q mutant of neuronal calcium sensor-1 protein

Zhu Yu-zhen, Zhang Qing-wen (College of Physical Education & Training, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China)

## Abstract

**BACKGROUND:** Neuronal calcium sensor-1 protein has a variety of different neuronal functions and has a high distribution in different areas of the brain. A single residue R102Q mutation in human neuronal calcium sensor-1 protein is demonstrated to be associated with autism disease. The experiment studies have reported that this R102Q mutant has essential conformation changes in local area of the neuronal calcium sensor-1. **OBJECTIVE:** To well understand the specific reasons of the R102Q mutation of the neuronal calcium sensor-1 to

the conformational dynamic changes.

**METHODS:** Six independent extensive all-atom molecule dynamic simulations during 0–450 ns were conducted. **RESULTS AND CONCLUSION:** We have found that (1) there is no obvious recombination during the simulations between wild type and mutant type, but R102Q mutant alters the helix and makes the structure of the protein more stable; (2) R102Q mutation alters the salt bridges, reduces the flexibility of L2, and makes L3 extend in hydrophobic crevice. These results reveal that the helix plays an important role in the structural stability, and salt bridge is the important reason for the dynamic changes of neuronal calcium sensor-1 protein. This study may provide a structural insight into the function of protein deficiency associated with R102Q mutant.

Subject headings: Neuronal Calcium-Sensor Proteins; Amino Acids; Mutation; Neurons

Zhu YZ, Zhang QW. Dynamic conformational characteristics of the R102Q mutant of neuronal calcium sensor-1 protein. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2015;19(2):225-230.

朱玉珍, 女, 1978年生, 上海体育学院在读博士, 主要从事运动相关蛋白及 体育教育训练学研究。

通讯作者:张庆文,教授, 博士生导师,上海体育学 院体育教育训练学院,上 海市 200438

doi:10.3969/j.issn.2095-4344. 2015.02.012 [http://www.crter.org]

中图分类号:R318 文献标识码:B 文章编号:2095-4344 (2015)02-00225-06 稿件接受: 2014-12-19

Zhu Yu-zhen, Studying for doctorate, College of Physical Education & Training, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China

Corresponding author: Zhang Qing-wen, Professor, Doctoral supervisor, College of Physical Education & Training, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China

Accepted: 2014-12-19



运动对人的身体和大脑都能产生相应的作用<sup>[1]</sup>。体育 活动能够调整神经网络的状态,加强相应区域内细胞/神 经元的能力<sup>[2]</sup>;不仅能触发<sup>[3]</sup>,而且能引起中枢神经系统 内与记忆过程有关的很多区域的塑化变化<sup>[4-5]</sup>;有规律的 体育活动对人类的认知表现也产生积极的影响<sup>[6-8]</sup>;心肺 功能强和运动技能水平高都有利于认知发展<sup>[9]</sup>;运动能够 提高青少年的认知表现和专业成就,运动强度起到重要的 积极作用<sup>[10]</sup>:长期的游泳训练通过增强大鼠海马体区域的 空间短时记忆,能够提高对物体的定位,加强对移动物体 的识别<sup>[2]</sup>。而体育运动以上功能的发挥所依赖的其中一个 很重要的信号蛋白就是神经元钙传感蛋白。

近5年,神经元钙传感蛋白的研究热点之一是有关蛋白 突变体和其功能障碍而导致各种疾病的研究[11]。神经元钙 传感蛋白生理功能的发挥与其结构有很大的关系,结构的 不同变化对生理功能的发挥影响不同。神经元钙传感蛋白 第144个氨基酸proline144突变成serine144的小鼠,显示 出精神分裂症和抑郁症的内表型特征[12]。在对自闭症患者 基因测序的过程中,识别出神经元钙传感蛋白第102个氨 基酸精氨酸 ARG102突变成谷氨酰胺Glu102<sup>[13]</sup>,这一突变 引起蛋白结构和功能的缺失,采用荧光技术、核磁共振等 实验方法,结果表明:①氨基酸或者位置发生改变[14],或 者共振强度发生变化,或者完全消失[15],这些氨基酸包括 N段,也包括C段<sup>[14-15]</sup>。② F螺旋(H6: E99-D109)靠近突 变的位置变化很大<sup>[15]</sup>,另外螺旋H9(L166-K174),C末端尾 部L3(D176-V190)也受到突变点的影响,并改变了L3在疏水 口袋的位置[14-15],这一点也得到分子动力学研究的支持[16], 但这些变化是如何引起的尚不清楚。文章采用分子动力学 模拟的方法,分别对神经元钙传感蛋白野生型和突变体 R102Q在水溶液中进行了3个独立的、持续时间为450 ns 的分子动力学模拟,从分子层面探讨神经元钙传感蛋白 R102Q突变引起其结构和功能变化的机制,进一步阐明其 发挥生理功能的分子机制。

## 1 资料和方法 Data and methods

设计: 原子水平的对比观察。

时间及地点:于2013年5至12月在复旦大学物理系计 算机中心完成。

人类神经元钙传感蛋白及其R102Q突变体来源:根据 Heidarsson等<sup>[14]</sup>研究,在本文中,野生型神经元钙传感蛋 白的最初结构是来自于蛋白质库(Protein data bank, PDB) 中编号ID为2LCP的结构,神经元钙传感蛋白 R102Q突变 体是在野生型蛋白质的基础上,用Accelrys Discovery Stutio 2.5软件将谷氨酰胺Glu102替代精氨酸ARG102,作 为突变体的初始结构。

**纳入标准**:①与神经元钙传感蛋白突变体相关的实验 研究文献。②与神经元钙传感蛋白突变体相关的分子动力 学模拟研究文献。

**排除标准:** 与神经元钙传感蛋白突变体无关的文献。

www.CRTER.org

分子动力学模拟的方法:

方法介绍: 分子动力学模拟 (molecular dynamic simulation, MD)是一门结合数学、物理、化学及生物学的 综合技术。1957年, Alder 和Wainwright完成了首次基于 刚球势的分子动力学模拟。自此以后,分子动力学不断发 展完善,现在已成为应用最为广泛的分子模拟方法之一。 随着计算机运算速度的大幅度提高、各种模拟算法的不断 改进,以及经验力场的发展与完善,分子动力学模拟应用 于各种体系,尤其在生物大分子模拟中起到极其重要的作 用<sup>[17-19]</sup>。一方面,分子动力学模拟可以解决目前实验仪器 无法从原子层面上观察到生物大分子在溶液中行为的不 足;另一方面,动力学模拟中用到的各种势能参数来源于 实验数据,它们对某一原子体系具有共性,能够发现共有 规律。因此,分子动力学模拟方法可以给出蛋白质、核酸 等生物大分子内部运动随时间最详实的变化情况,从而用 于分析体系的诸多运动性质。

## 操作步骤:

第1步:确定起始构型。一个能量较低的起始构型是进行分子模拟的基础,一般分子的起始构型主要来自实验数据或量子化学计算。根据实验数据,从蛋白质数据库中下载相应的蛋白质结构,作为分子模拟的起始结构。本文中神经元钙传感蛋白取自蛋白质库ID为2LCP结构。

第2步:结构转换。将从PDB数据库中下载的蛋白质结构转换成用于模拟的topology文件。

第3步: 力场的确定。首先采用不同的蛋白质经验力场 (包括OPLS力场和CHARMM27力场)对研究体系进行测 试,把模拟结果跟实验结果进行比较,并参考前人研究中 采用的力场,从而选取合适的力场,或对现有力场进行进 一步优化。本文最终确定的力场是CHARMM27力场。

第4步:能量优化。对于生物大分子体系,在进行分子 动力学模拟之前,通常用分子力学方法进行优化,从而获 得能量较低的起始构型。根据实验条件中的各个参数,将 蛋白质置于一个类似于真实环境的体系中,包括给蛋白质 加盒子、加水、加离子、加盐浓度,使整个体系保持中性 环境,从而使得动力学模拟环境与实验环境对这一原子体 系具有共性,能够发现共有规律,并对体系进行能量优化。

第5步:约束动力学。约束分子动力学方法是为了满足 实验上已知的某一距离/角度约束或为了提高分子动力学 模拟的抽样效率,而在体系的势能函数中加入一个简谐项, 是分子动力学模拟中一种比较常用的方法。本文中,在整 个体系保持中性环境的基础上,确定温度和压强,使模拟 环境保持恒温恒压。

第6步:动力学模拟。分子动力学技术已被公认为一个用来改善实验结构的可靠的工具。这一过程类似于一个高速摄像机,以ps(10<sup>-12</sup> s)为单位的速度记录蛋白质在

模拟体系中最详尽的运行和变化情况,从而分析蛋白质 诸多的运动性质,分析所用数据正是从这个过程中获取 的。

第7步: 数据分析。采用VMD1.9.1、origin8、 gromacs4.5.3等相关软件对动力学模拟结果进行分析和处 理。

*参数设置*: 分子动力学模拟采用GROMACS 4.5.3程 序包和CHARMM27力场<sup>[20-21]</sup>,水分子采用显型模型 TIP3P,盒子大小是10.07×6.98×6.70 nm<sup>3</sup>,在溶液中加入 0.05 mol的NaCl,使溶液呈中性。温度耦合采用速度调节 法<sup>[22]</sup>,压力耦合采用Parrinello-Rahman法<sup>[23]</sup>,采用的耦合 常数分别是0.1 ps和1.0 ps,温度保持在310 K,压强保持 在100 kPa(1 bar),使整个体系保持等温等压。蛋白质和水 分子内的键长分别用LINCS和SETTLE算法<sup>[24-25]</sup>,每步的 时间是2fs,库伦类型为Particle mesh Ewald (PME),静电 的相互作用采用 cut-off=1.0 nm,范德华作用采用 cut-off=1.4 nm。

## 2 结果与讨论 Results and discussion

神经元钙传感蛋白是一个含有190个氨基酸的蛋白质,通过EF-hand对钙离子进行结合,并呈现"高亲和力,低容量"的特点<sup>[26]</sup>,4个EF-hand中有3个(EF2、EF3和EF4)能够结合Ca<sup>2+[27]</sup>,而EF1是不能与Ca<sup>2+</sup>结合的<sup>[27-28]</sup>。其中,EF1和EF2称为N段(N-domain),EF3和EF4称为C段(C-domain)。通过NMR光谱法已经解析出人类非酰化的神经元钙传感蛋白溶液结构<sup>[14]</sup>,**图1**显示了人类神经元钙传感蛋白的三维立体结构(pdb ID=2LCP)。

神经元钙传感蛋白的结构呈现螺旋-环-螺旋的特点, 主要包括9个α螺旋(Helix)和3个环(Loop),根据Heidarsson 等<sup>[14]</sup>的研究,这9个α螺旋分别命名为: H1(E11-R18)、 H2(E24-F34)、H3(A45-Q54)、H4(T62-F72)、H5(F82-S93)、 H6(D98-Y108) 、 H7(R118-V132) 、 H8(E146-M155) 、 H9(L166-K174); 3个环分别是连接螺旋H3和H4的 L1(F56-P61)、螺旋H7和H8之间的L2(G133-P145)、蛋白C 端尾部L3(D176-V190)。其中8个螺旋H2-H9构成了疏水口 袋,螺旋H4、H5和H6构成了疏水口袋的底部,H3和H7是 疏水口袋的一边,H9在另一边,H2和H8分别在疏水口袋 的两头。EF-hand 各段分别是: EF1 (E24-Q54)、 EF2(T62-S93)、EF3(D98-V132)、EF4(E146-K174)。图1 显示的神经元钙传感蛋白疏水口袋中没有配体,蛋白C端 尾部L3部分在疏水口袋中充当配体,并占据着疏水口袋。 为了使图示更为清晰, EF-hand及Ca<sup>2+</sup>没有在图中显示出 来。

2.1 单一氨基酸 R102Q 突变对蛋白的整体结构影响不大 蛋白在整个分子动力学模拟过程中结构的调整可以用 均方根偏差(Root mean square deviations, RMSD)表示,均方根偏差值大,说明在模拟过程中蛋白的结构变化

大:均方根偏差值小,说明结构变化不大。作者计算神经 元钙传感蛋白聚类中心结构 Backbone E11-K174 各部分 的均方根偏差,以比较蛋白在模拟前后整体结构构象的变 化情况。本文分别进行了 6 个独立的动力学模拟,包括 3 个野生型(wild type)和 3 个突变体(mutant type)模拟,分别 表示为 WT1、WT2、 WT3 和 MT1、MT2、MT3。野生型 和突变体神经元钙传感蛋白的均方根偏差平均值分别用 WT-Average 和 MT-Average 表示(见图 2)。

从 6 个结构的均方根偏差值及其平均值看出,①野生型和突变体各部分均方根偏差值的趋势一致,说明野生型和突变体神经元钙传感蛋白有类似的构象变化。②从图 2 可以看出,两种状态下各部分均方根偏差值都很小,平均值约为 0.2 nm,说明野生型和突变体构象变化不大,在整个模拟过程中没有进行大的构象重组。③突变体大部分结构的均方根偏差值小于/等于野生型的,说明相对野生型蛋白,突变体构象变化更小,结构更稳定。但有趣的是,在神经元钙传感蛋白野生型和突变体中,L2 的均方根偏差数值都很大,说明 L2 的柔性都比较大;而突变体 L2 的均方根偏差数偏差值明显小于野生型蛋白,说明在突变体中 L2 的动力学降低,构象变化减小。

2.2 单一氨基酸 R102Q 突变导致蛋白结构中螺旋改变, 构象更加稳定 R102Q 突变没有使蛋白整体结构发生很大的构象重组,但突变体大部分的均方根偏差值均小于野生型,尤其是 L2 的均方根偏差值减小的更为明显,表明神经 元钙传感蛋白突变体的构象更为稳定,这一点也能从蛋白的三维结构中显示出来,为了更清晰的表明结构中螺旋改 变及 L2 的构象变化,采用蛋白的侧面图示(见图 3)。

在图 3 中,神经元钙传感蛋白的结构用紫色表示,蓝 绿色是 L2,紫罗兰色标示出来的是 3<sub>10</sub>螺旋。对蛋白结构 的稳定性而言,α螺旋的稳定性大于 3<sub>10</sub>螺旋,而非螺旋的 结构稳定性最差。在野生型神经元钙传感蛋白结构中,α 螺旋 H7 上有一个 3<sub>10</sub>螺旋,而在突变体结构中,H7 上的 3<sub>10</sub>螺旋消失,只有 9 个α螺旋,这表明突变体结构比野生 型更加为稳定,这跟均方根偏差值计算的结果一致。 Heidarsson等<sup>[14]</sup>的研究也显示,突变体的结构更加紧凑, 也与本文的研究结果一致。另外,相比野生型神经元钙传 感蛋白,在突变体结构中,L2 上有一个 3<sub>10</sub>螺旋,由于 3<sub>10</sub> 螺旋的稳定性大于非螺旋的,这也可能是导致 L2 的均方根 偏差值明显比野生型神经元钙传感蛋白小很多,从而使其 结构更加稳定的原因之一。

2.3 单一氨基酸 R102Q 突变导致盐桥改变,使 L2 和 L3 动力学减弱 神经元钙传感蛋白是一个含有 190 个氨基酸的蛋白,而且还是一个多电荷蛋白。在构成结构的 190 个 氨基酸中,包含 24 个正电荷和 33 个负电荷,电荷与电荷 之间存在相互作用,其中正电荷和负电荷之间的相互作用 在一定范围内就形成盐桥。而盐桥在维持蛋白质结构稳定 中起到极其重要的作用<sup>[29-30]</sup>,而且还能够控制蛋白质的变





Figure 2 Root mean square deviation of each part of the wild-type and mutant-type neuronal calcium sensor-1







图 3 450 ns 模拟后野生型和突变体神经元钙传感蛋白的侧面结构 Figure 3 Structure of wild-type and mutant neuronal calcium sensor protein after 450 ns simulation



图 4 神经元钙传感蛋白动态盐桥简易图 Figure 4 Simple chart of dynamic salt bridge of neuronal calcium sensor protein

图注: A 为野生型神经元钙传感蛋白; B 为突变型神经元钙传感蛋白。

构动力学及其功能<sup>[31-33]</sup>。为了更为清楚的了解突变体构象 稳定的具体细节,深入了解功能变化的机制,作者进一步 探讨盐桥的变化。为了清晰的描述盐桥间的相互作用以及 动态盐桥的形成,按照蛋白结构中盐桥的相对位置,做了 一个盐桥网络简易图(见图 4)。突变对各盐桥的影响是不同 的,将受 R102Q 突变体影响最大的各个盐桥在蛋白质结 构图中标示出来。图 4 中蓝色氨基酸表示带正电荷,红色 氨基酸表示带负电荷,氨基酸之间有箭头的连线表示氨基 酸之间形成了盐桥,氨基酸之间没有连线表示没有形成盐 桥,箭头线的粗细表示形成盐桥的概率大小,箭头线越粗, 表示形成盐桥的概率越高;反之,越低。

从图 4 中可以看出,受影响最大的盐桥包括 N 段的 某些氨基酸,如氨基酸 K63、E74 和 R94;也包括 C 段 某些氨基酸,按氨基酸序列顺序分别是氨基酸 D98、E99、 K100、R102、D123、D126、E140、E142、R148、R151、 K174、D176、D187。这与前人的研究结果一致<sup>[14-15]</sup>。 从图 4 可以看出, 整个结构中受影响最大的盐桥在突变 体中明显减少,盐桥内部也发生了变化。结果显示:野 生型蛋白质结构中,氨基酸 R102 与 E99 和 E74 形成动 态盐桥, 氨基酸 D187 与 K100、R148 形成动态盐桥, 氨基酸 R148 与 E142、D187 形成动态盐桥, 氨基酸 K63 分别与 D123 和 D126 形成动态盐桥, 而氨基酸 D123 和 D126 靠近 L2 的 N 端, 氨基酸 E142 靠近 L2 的 C 端, 这些动态盐桥的相互拉动, 使 L2 构象变化较大: 而在突 变体中,由于 R102 突变为 Q102, Q102 呈中性,氨基酸 E99 和 E74 被释放出来, 氨基酸 E99 与 R94, 氨基酸 R94 与 D187 都形成动态盐桥, 氨基酸 D187 与 K63 形成盐桥, 使氨基酸 K63 和 D123、D126 之间的盐桥断裂, L2 的 N 端受力显著减小,螺旋 H7 相对更加稳定;而氨基酸 R148 与 D176 和 E140 形成动态盐桥, 氨基酸 D176 与 R151 形 成盐桥,即氨基酸 D176 与 R148、R151 形成动态盐桥, 这两对盐桥的作用力,导致 L2 的 C 端相对稳定,使螺旋 H8 也更加稳定。以上盐桥的变化使得处于螺旋 H7 和 H8 之间的 L2 更加稳定,一定程度上可以解释相对于野生型蛋 白,L2 在突变体中均方根偏差值更小。另外,在野生型神 经元钙传感蛋白中,氨基酸 R148 与 E142、D187 形成动 态盐桥,氨基酸 D187 靠近蛋白 L3 的 C 端部位,活动幅 度相对较大;而在突变型神经元钙传感蛋白中,氨基酸 D148 与 E140、D176 形成动态盐桥, 氨基酸 D176 在 L3 的 N 端部位, 更靠近螺旋 H9, 活动幅度较小, 一方面, 我们可以认为这些盐桥的改变, 使得 L2 在野生型和突变体 神经元钙传感蛋白中的稳定性不同,在野生型中较大,这 与 NMR 研究结果一致<sup>[16]</sup>;另一方面,氨基酸 D176 是蛋白 尾部 L3(D176-V190)的 N 端, 氨基酸 D187 是靠近 L3 尾 部C端的氨基酸,盐桥网络的改变导致L3在疏水口袋中的 位置发生很大的改变,这与以前的研究结果一致[14-15,34]。 而且三对盐桥 D176-R148、D176-R151、D148-E140 共 同牵动螺旋 H9、蛋白 C 端尾部 L3 向螺旋 H8 靠拢,从而 使氨基酸 K174 与 D98 间的作用力减小,盐桥断开,这与 螺旋H6(E99-D109)靠近突变的位置以及螺旋H9变化很大 这一研究结果一致[15]。

另外,靠近L3 尾部C端的氨基酸 D187 在野生型和 突变型结构中形成的盐桥发生明显改变,在野生型中氨基 酸 D187 与 K100、R148 形成动态盐桥,在突变体中与氨 基酸 R94、K63 形成动态盐桥,这一盐桥变化拉动蛋白尾 部L3 的C端部位远离N端,而L3 的N端氨基酸 D176 在野生型神经元钙传感蛋白中没有形成盐桥,在突变体中 与氨基酸 R148 和 R151 形成盐桥,而且氨基酸 R148 和 E140 形成盐桥,共同牵动L3 的N端向螺旋H8 靠近。这 些动态盐桥的改变导致蛋白C端尾部L3 在疏水口袋中更 加舒展,这已经在作者的研究中得到证实<sup>[31]</sup>。

#### 3 结论 Conclusion

神经元钙传感蛋白R102Q突变对蛋白整体结构影响 不大,在整个模拟过程中都没有进行大的构象重组,但导 致结构中螺旋改变,使其结构更加稳定;也导致盐桥网络 发生改变,从而一方面降低了L2的柔性,使其更加稳定, 另一方面改变L3在疏水口袋中的位置,使其更加舒展,阻 碍受体与疏水口袋中结合位点的结合,致使其功能受限。

*作者贡献*:所有作者共同构思并设计本研究,通讯作者实施 本研究,第一作者分析解释数据并起草成文,第二作者审校,所 有作者共同对文章负责。

利益冲突: 文章及内容不涉及相关利益冲突。

伦理要求:无涉及伦理冲突的内容。

**学术术语:** 神经元钙传感蛋白属于神经元钙传感蛋白家族,各 家族成员的结构呈现"螺旋-环-螺旋"的特点,对 Ca<sup>2+</sup>具有高亲和 性,是钙调素超级大家族中一个保守的亚家族。神经元钙传感蛋白 家族中的蛋白分布广泛,能调节不同的靶蛋白,具有高度专一性。

*作者声明*: 文章为原创作品,无抄袭剽窃,无泄密及署名和 专利争议,内容及数据真实,文责自负。

### 4 参考文献 References

- Nagamatsu LS, Flicker L, Kramer AF, et al. Exercise is medicine, for the body and the brain. Br J Sports Med. 2014; 48: 943-944.
- [2] Drumond LE, Mourao FA, Leite HR, et al. Differential effects of swimming training on neuronal calcium sensor-1 expression in rat hippocampus/cortex and in object recognition memory tasks. Brain Res bulletin.2012;88:385-391.
- [3] Czurko A, Hirase H, Csicsvari J,et al. Sustained activation of hippocampal pyramidal cells by 'space clamping' in a running wheel.Eur Neurosci. 1999;11:344-352.
- [4] Berchtold NC, Chinn G, Chou M, et al. Exercise primes a molecular memory for brain-derived neurotrophic factor protein induction in the rat hippocampus.Neuroscience. 2005; 133:853-861.
- [5] Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. Trends in neurosciences. 2002;25:295-301.
- [6] Chodzko-Zajko WJ,Moore KA. Physical fitness and cognitive functioning in aging.Exerc Sport Sci Rev. 1994;22:195-220.
- [7] Etgen T, Sander D, Huntgeburth U, et al. Physical activity and incident cognitive impairment in elderly persons: the INVADE study. Archives of internal medicine. 2010;170:186-193.
- [8] Geda YE, Roberts RO, Knopman DS, et al. Physical exercise, aging, and mild cognitive impairment: a population-based study. Arch Neurol. 2010;67:80-86.
- [9] Haapala EA. Cardiorespiratory Fitness and Motor Skills in Relation to Cognition and Academic Performance in Children-A Review. J Hum Kinet. 2013;36:55-68.
- [10] Ardoy DN, Fernandez-Rodriguez JM, Jimenez-Pavon D, et al. A Physical Education trial improves adolescents' cognitive performance and academic achievement: the EDUFIT study. Scandinavian Journal Of Medicine & Science In Sports. 2014; 24: e52-e61.



- [11] 朱玉珍,张庆文.神经元钙传感蛋白研究前沿与热点分析[J].中国 组织工程研究,2014,18(42):6856-6862.
- [12] Saab BJ. The synaptic role of neuronal calcium sensor 1 in dentate gyrus plasticity, curiousity and spatial memory, In Department of Molecular Genetics, University of Toronto. 2010.
- [13] Piton A, Michaud JL, Peng H, et al. Mutations in the calcium-related gene IL1RAPL1 are associated with autism. Hum Mol Genet.2008;17:3965-3974.
- [14] Heidarsson PO, Bjerrum-Bohr IJ, Jensen GA, et al. The C-terminal tail of human neuronal calcium sensor 1 regulates the conformational stability of the Ca<sup>2+</sup>- activated state.J Mol Biol. 2012;417:51-64.
- [15] Handley MT, Lian LY, Haynes LP, et al. Structural and functional deficits in a neuronal calcium sensor-1 mutant identified in a case of autistic spectrum disorder.PLoS One. 2010;5:e10534.
- [16] Bellucci L, Corni S, Di Felice R, et al. The Structure of Neuronal Calcium Sensor-1 in SolutionRevealed by Molecular Dynamics Simulations.PLoS One. 2013;8:e74383.
- [17] Duan Y, Kollman PA. Pathways to a protein folding intermediate observed in a 1-microsecond simulation in aqueous solution.Science. 1998;282:740-744.
- [18] Shrivastava IH, Sansom MS. Simulations of ion permeation through a potassium channel: molecular dynamics of KcsA in a phospholipid bilayer.Biophys J. 2000;78:557-570.
- [19] Zhong Q, Jiang Q, Moore PB, et al. Molecular dynamics simulation of a synthetic ion channel. Biophys J. 1998;74:3-10.
- [20] Hess B,Kutzner C,Van der Spoel D,et al.Erik GROMACS 4: Algorithms for highly efficient, load-balanced, and scalable molecular simulation.J Chem Theory Comput. 2008;4:435-447.
- [21] Bjelkmar P, Larsson P, Cuendet MA,et al.Implementation of the CHARMM force field in GROMACS: analysis of protein stability effects from correction maps, virtual interaction sites, and water models.J Chem Theory Comput. 2010;6:459-466
- [22] Bussi G, Donadio D, Parrinello M. Canonical sampling through velocity rescaling. J Chem Phys. 2007;126:014101.
- [23] Parrinello MR.A Polymotphic transitions in single-crystals-a new molecular-dynamics method.J Appl Phys.1981;52:7182-7190.

- [24] Hess, B. B., H ; Berendsen, HJC ; Fraaije, JGEM. LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations. J Comput Chem. 1997;18:1463-1472.
- [25] Miyamoto SK, PA. Settle- an analytical version of the shake and rattle algorithm for rigid water models. J. Comput. Chem. 1992; 13: 952-962.
- [26] 张占军,李澎,邱蕾,等.神经元钙传感蛋白的研究进展及其在脑缺 血中的作用[J].中国药理学通报,2009,25(1):12-15.
- [27] Burgoyne RD, Weiss JL. The neuronal calcium sensor family of Ca<sup>2+</sup>-binding proteins. Biochem J 2001;353:1-12.
- [28] Bourne Y,Dannenberg J,Pollmann V,et al. Immunocytochemical localization and crystal structure of human frequenin (neuronal calcium sensor 1).J Biol Chem. 2001;276:11949-11955.
- [29] Kumar S, Ma B, Tsai CJ,et al. Contribution of Salt Bridges Toward Protein Thermostability.J Biomol Struc. and Dynamics. 2000;conversation 11:79-85.
- [30] Kumar S, Ma B, Tsai CJ,et al. Electrostatic strengths of salt bridges in thermophilic and mesophilic glutamate dehydrogenase monomers.Proteins. 2000;38:368-383.
- [31] van Wijk SJ, Melquiond AS, de Vries SJ,et al. Dynamic control of selectivity in the ubiquitination pathway revealed by an ASP to GLU substitution in an intra-molecular salt-bridge network.PLoS Comput Biol. 2012;8:e1002754.
- [32] Mohan S, Sheena A, Poulose N, et al. Molecular dynamics simulation studies of GLUT4: substrate-free and substrate-induced dynamics and ATP-mediated glucose transport inhibition.PloS one. 2010;5:e14217.
- [33] Chebaro Y, Amal I, Rochel N, et al. Phosphorylation of the retinoic acid receptor alpha induces a mechanical allosteric regulation and changes in internal dynamics.PLoS Comput Biol. 2013;9:e1003012.
- [34] Zhu Y, Wu Y, Luo Y, et al.R102Q Mutation Shifts the Salt-bridge Network and Reduces the Structural Flexibility of Human Neuronal Calcium Sensor-1 Protein.Jour Phys Chem B. J Phys Chem B. 2014;118(46):13112-13122.