

图分类号: O647.4

单位代码: 10425

学 号: Z20140016



中國石油大學

硕士学位论文

Master Degree Thesis of China University of Petroleum
(专业学位)

贻贝足蛋白在材料表面粘附机理的分子模拟研究
Molecular Simulation Study of Adhesion Mechanism of
Mussel Foot Protein on Material Surface

学科专业: 材料与化工

研究方向: 新能源材料

作者姓名: 魏 琦

指导教师: 张 军 教授

二〇二三年五月

Molecular Simulation Study of Adhesion Mechanism of Mussel Foot Protein on Material Surface

A Thesis Submitted for the Professional Degree of Master

Candidate: Qi Wei

Supervisor: Prof. Jun Zhang

College of Materials Science and Engineering

China University of Petroleum (East China)

学位论文答辩委员会

答辩时间	2023 年 5 月 19 日		
答辩地点	古镇口校区山能新能源大厦 269 教室		
答辩委员会组成			
组成	姓名	职称	工作单位
主席	胡松青	教 授	中国石油大学（华东）
委员	王 巍	教 授	中国海洋大学
	高业胜	研究员	中国电子科技集团公司第四十一研究所
	都时禹	教 授	中国石油大学（华东）
	任 浩	副教授	中国石油大学（华东）

关于学位论文的独创性声明

本人郑重声明：所呈交的论文是本人在指导教师指导下独立进行研究工作所取得的成果，论文中有关资料和数据是实事求是的。尽我所知，除文中已经加以标注和致谢外，本论文不包含其他人已经发表或撰写研究成果，也不包含本人或他人为获得中国石油大学（华东）或其它教育机构的学位或学历证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对研究所做的任何贡献均已在论文中作出了明确的说明。

若有不实之处，本人愿意承担相关法律责任。

学位论文作者签名： 魏琦

日期： 2023 年 6 月 1 日

学位论文使用授权书

本学位论文作者完全了解中国石油大学（华东）有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留并向国家有关部门或机构送交学位论文的复印件和电子版，允许本学位论文被查阅和借阅。本人授权中国石油大学（华东）可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用复印、缩印、扫描或其它手段保存和汇编本学位论文。（保密的学位论文在解密后适用本授权书）

学位论文作者签名： 魏琦

日期： 2023 年 6 月 1 日

指导教师签名： 张军

日期： 2023 年 6 月 1 日

摘 要

海洋生物粘附在水下设备表面会造成严重的生物污损问题，而贻贝作为海洋宏观污损生物的典型代表，它能够通过足丝分泌大量的粘附类蛋白从而牢固地附着在水下几乎任何表面上，为海洋产业带来极大不利。近年来，人们已经对贻贝足蛋白（Mussel foot proteins, Mfps）中 Dopa 等官能团的作用进行了确定，为粘附素及防污表面的设计提供了一定的经验。但传统的实验手段难以对 Mfps 间的相互作用及附着机制进行深入研究，这不仅导致贻贝仿生类材料与天然材料性能上存在巨大差异，还严重阻碍了防污研究的进程。因此，揭示 Mfps 的粘性来源，深入探究其在水环境中进行附着的微观机制，成为相关研究领域中的关键问题。本文采用分子动力学模拟的方法，探究了表面粘附类蛋白 Mfp3 与 Mfp5 分子之间和它们在不同表面的粘附行为及机理。研究结论概括如下：

（1）探明了 Mfps 之间的协同作用及致粘机理。对粘附蛋白之间的相互作用研究发现，相互作用的蛋白呈现出明显的结构互补性，复合物的稳定性与蛋白序列类型、极性残基的含量有关。静电相互作用是引起不同复合物粘性差异的主要原因，界面残基间形成的氢键、盐桥是增强静电相互作用的结构基础。此外，Dopa 不仅有利于氢键的形成，同时还在界面形成 π - π 阳离子- π 结构极大促进了分子之间的粘附。

（2）分析了 Mfps 在不同表面上的粘附细节与机理。结果表明 Mfps 在附着于铁和石墨烯表面时，金属- π 和 π - π 相互作用会使 Dopa 易于突破表面水层稳定粘附在表面；而在 TiO_2 表面主要来自蛋白亲水性基团与表面的氢键相互作用。此外，芳香残基主要通过去除界面水来促进粘附。

（3）探究了超滑及超亲水两类防污涂层对 Mfps 附着的影响及其机制。结果表明，以聚二甲基硅氧烷为代表的超滑涂层可以增强表面水的扩散性，进而减弱 Mfps 与表面间的相互作用；而超亲水表面的强水化作用导致水化层的增强，从而抑制 Mfps 的附着，研究结果表明两类表面的防污机制具有明显区别，但皆可对海洋生物污损起到有效的抑制作用。

本研究可为贻贝附着的微观机制提供新的见解，同时为海洋防污材料的设计以及海洋污损的防治提供有价值的参考。

关键词：贻贝足蛋白；生物界面；粘附；防污；分子模拟

Abstract

The attachment of marine organisms to the surface of underwater equipment causes serious biological fouling. As a typical representative of marine macro fouling organisms, mussels can firmly attach to almost any surface underwater by secreting large amounts of adhesive proteins from their byssus. This phenomenon poses great disadvantages to marine-related industries. In recent years, the effects of functional groups such as Dopa in mussel foot proteins (Mfps) have been identified, the related studies provided useful insights into the design of adhesives and anti-fouling surfaces. However, the traditional experimental methods are difficult to study the adhesion mechanisms of Mfps on molecular level, and the lack of understanding of the Mfp adhesion hinders the development of adhesives and anti-fouling surfaces. Therefore, the investigation of Mfp adhesion in marine environment is vital for many relevant research areas. In this work, by using molecular dynamics simulations, the adhesion behaviors and mechanisms of Mfp3 and Mfp5 on different surfaces have been clarified. Meanwhile, the interactions between Mfps have been elucidated. The main conclusions are summarized as follows:

(1) The interactions between Mfps were investigated for understanding the stickiness characteristics of adhesive proteins on macro-level. The simulation results demonstrated that the Mfps exhibit structural complementarity, and the stability of the complex was related to the protein sequence type and the content of polar residues. In addition, the electrostatic interaction is responsible for the differences in the viscosity of different complexes, and hydrogen bonds and salt bridges formed between interface residues were the structural basis for enhancing electrostatic interactions. Furthermore, Dopa not only facilitates the hydrogen bond formation but also greatly promotes the molecular adhesion between molecules by forming π - π and cation - π structures at the interface.

(2) The adhesion details and mechanisms of Mfps on different surfaces were explored. The simulation results show that the metal- π and π - π interactions is vital when Mfps interacting with the surfaces of iron and graphene, Dopa can break through the surface water layer and help Mfps to firmly adhere onto the surfaces. In contrast, when Mfps interacting with TiO_2 surface, the driving force is mainly the hydrogen bonding between surface and

hydrophilic groups of Mfps. In addition, the aromatic residues mainly promotes the adhesion by removing interfacial water.

(3) The adhesion behavior of Mfps on two polymer coatings with different physicochemical properties were investigated. The simulation results indicate that the super-slippy and super-hydrophilic surfaces were both promising coatings for inhibiting the adhesion of Mfps, but their anti-fouling mechanisms are different. In super-slippy surface system, the diffusibility of water is significantly enhanced. In contrast, the strong hydration effect of super-hydrophilic polymer leads to the formation of a strong hydration layer. The variation of water diffusibility in those two systems both inhibits the adhesion of Mfps. The relevant analysis demonstrates these two kinds of coatings can both preventing biofouling.

This study provides new insights into the adhesion mechanisms of mussels. In addition, it provides valuable references for the design of marine anti-fouling materials.

Key words: Mussel Foot Protein; Biological Surfaces; Adhesion; Anti-fouling; Molecular Simulation

目 录

摘要	i
Abstract	ii
第 1 章 绪论	1
1.1 贻贝足蛋白简介	2
1.2 贻贝足蛋白粘附行为	3
1.2.1 蛋白自身性质对粘附的影响	4
1.2.2 材料表面性质对蛋白质粘附的影响	4
1.3 贻贝足蛋白与材料表面相互作用的实验与模拟研究现状	5
1.4 本论文的研究内容及意义	9
第 2 章 理论方法与模型	11
2.1 GROMACS 软件简介	11
2.2 分子动力学模拟	11
2.2.1 MD 方法的基本原理	12
2.2.2 MD 模拟的系综与周期性边界条件	13
2.2.3 模拟的一般步骤	14
2.3 模型的建立	15
2.3.1 蛋白模型的构建	15
2.3.2 表面模型的构建	16
2.4 模拟过程的基本设置	17
第 3 章 贻贝足蛋白间的相互作用研究	18
3.1 模拟设置	18
3.2 结果与讨论	19
3.2.1 蛋白之间粘合特点及其粘合稳定性	19
3.2.2 蛋白界面相互作用	21
3.2.3 界面典型结构特征	21
3.3 本章小结	26
第 4 章 贻贝足蛋白在不同表面粘附行为研究	27
4.1 模拟设置	27

4.2 结果与讨论	28
4.2.1 蛋白在不同表面上粘附行为	28
4.2.2 蛋白在不同表面粘附时的结构特征	29
4.2.3 蛋白中各个氨基酸动力学特征	30
4.2.4 不同表面水化层特点	33
4.3 本章小结	36
第 5 章 超滑/超亲水表面对贻贝足蛋白粘附行为的影响研究	37
5.1 模拟设置	37
5.2 结果与讨论	38
5.2.1 蛋白在不同表面水粘附动力学行为	38
5.2.2 蛋白与表面之间的相互作用	40
5.2.3 表面水分子结构和动力学	42
5.3 本章小结	44
第 6 章 结论	46
参考文献	48
攻读硕士学位期间取得的研究成果	59
致谢	60

第 1 章 绪论

21 世纪被誉为海洋的世纪，我国在海洋强国战略的科学部署下，海洋经济不断快速且稳定地发展。但与此同时，海洋环境中的生物污损问题为我国海洋产业带来严重的危害：海洋中的微生物、动物和一些植物能够强有力地附着在船舶、采油平台、海底管道等各种仪器设备表面，造成严重的海洋生物污损问题^[1-5]。其中，贻贝作为海洋宏观污损生物的典型代表，它能够通过足丝牢固地附着在水下几乎任何表面上且极难剥离，这不仅造成船舶的重量和摩擦阻力增大，进而导致燃料消耗和温室气体排放的增加等问题，还会导致管线等水下设施的阻塞，这为海洋相关产业带来严重的经济损失与安全隐患^[6-8]。因此，研究贻贝粘附的机制及其抑制方法成为研究者们关注的热点问题。

贻贝如此“粘”，其因为何？事实上，前人研究发现贻贝通过其伸长的足丝牢牢地附着在水下设备、船体等介质表面来抵抗海水的冲刷且极难清除。这些伸长的足丝能分泌出多种具有湿粘附性能的蛋白，统称为贻贝足蛋白（Mussel foot proteins, Mfps），它们序列中含有大量的左旋多巴（L-Dopa）是具有强粘附能力的关键因素之一^[9]。经过多年的探索，研究者们已经对 Mfps 的结构进行了分析，并初步探明了 Dopa 等基团的作用，这不仅为贻贝仿生类材料的发展提供了重要的借鉴，而且也为防污技术的发展提供了重要参考^[10]。然而，采用振动光谱实验或核磁共振波谱等传统实验方法虽然可以分别对材料界面性质及蛋白质构象开展系统性探究，但却难以对 Mfps 附着过程中复杂的蛋白质动力学过程以及蛋白与材料间的微观相互作用开展比较细致的研究，这不仅使得 Mfps 更深层面的附着机制仍未被理解，同时也使得贻贝仿生类材料与天然材料在粘附性能上存在巨大差异。因此，深入探究 Mfps 之间以及 Mfps 与材料间的相互作用对于海洋生物污损的防治以及仿生与防污材料的发展具有重要意义。

近年来，随着计算机技术的飞速发展和相关理论的不完善，分子模拟方法逐渐发展成为研究生物现象及材料性质的一种有效手段，在对纳米生物界面的探索以及材料的发展都起到了至关重要的作用。鉴于此，针对研究体系以及分子模拟方法的原理与特点，本工作采用全原子分子模拟方法对 Mfps 之间以及 Mfps 与各类表面/涂层间的相互作用开展系统分析，探究 Mfps 附着过程中的蛋白质动力学及其附着机制，以此为生物界面现象的理解以及海洋生物污损的防护提供基础数据。

1.1 贻贝足蛋白简介

海洋中的贻贝因其异乎寻常的附着能力而在海洋防污、生物医学、仿生设计等诸多领域引起广泛关注^[11-14]。其不仅在干/湿环境中都具有极强的附着能力，甚至可在高盐化的环境中稳定附着于材料表面。贻贝感应到固体表面时，首先伸出许多细长的足丝，足丝腺体分泌出许多特殊的多酚类粘附蛋白。这类蛋白粘附时会驱逐表面水层，进而与固体表面产生强烈的粘附，贻贝足丝斑块示意图如图 1-1 所示^[15-17]。

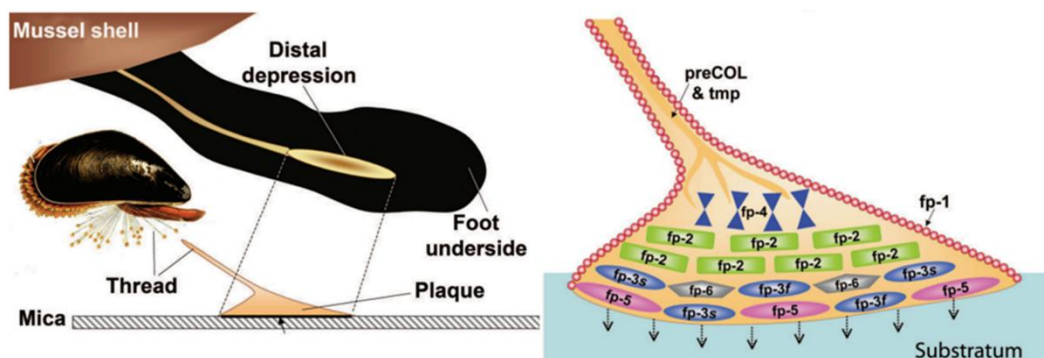


图 1-1 贻贝足丝斑块示意图^[15-17]

Figure 1-1 Schematic diagram of mussel foot silk plaque^[15-17]

自 Waite 等人于 1981 年在 Science 杂志上首次报道了 Mfps 以来^[9]，关于 Mfps 的更多的物化性质逐渐被研究者们揭示，实验上根据分泌蛋白在斑块位置不同，又大致将 Mfps 分为 Mfp1、Mfp2、Mfp3、Mfp4、Mfp5、Mfp6 六种（如图 1-1 所示），每种类型的 Mfp 都有一个独特的功能，而且对粘附斑块的界面特性有不同的贡献^[18-20]，六种蛋白各自特点如下：

Mfp1 是一种由 70~90 个重复多肽组成，分子量高达 108 kDa 和二级结构很少的碱性蛋白^[21]，可以说是 Mfps 中最大的蛋白，Mfp1 分布在足丝和粘附斑块的角质层^[22]。L-Dopa 含量约为 11%，能够与生物金属（铁、钴、钒等）发生金属络合反应^[23, 24]，形成致密和坚韧涂层。

Mfp2 是一种分子量为 42~47 kDa 的较小蛋白，Mfp2 具有高度重复的基序，是斑块中最丰富的蛋白（25%），它被认为为粘附斑块提供了结构上的完整性^[25]。

Mfp3 是斑块蛋白中最小的粘附蛋白，分子量在 5~7 KD 之间，它是一种高度多态性的表面粘附蛋白，没有已知的重复序列^[26-28]，在 Mfps 中相对含量少，但 L-Dopa 的含量高达 28%，主要分布在接触界面处。据研究报道，它有超过 30~35 种不同的变异，可以进一步细分为两个独立的组，分别为 Mfp3f 和 Mfp3s^[28, 29]。根据某些研究报道的序列，

Mfp3f 和 Mfp3s 均富含甘氨酸和天冬酰胺，但二者其他重要氨基酸含量、电荷分布等不同^[28]，导致亲疏水性不同，在表面粘附效果也不同。

Mfp4 是由一个富含组氨酸的十肽组成，有各种高度重复序列，分子量约为 90 KD，与铜等过渡金属离子的结合非常好^[30]，它位于粘附斑块和囊线的远端部分之间，能有效地将斑块蛋白（如 Mfp2）和囊线内的蛋白（如 preCOL）连接起来，在 Mfps 分子之间交联上发挥重要作用。

Mfp5 分子量在 8~9 KD 之间，有 70 多个氨基酸，L-Dopa 的含量高达 30 mol%。与 Mfp3 一样，Mfp5 分布在接触界面处，而且具备强粘合力，有研究表明，它是最先分泌的蛋白，到达表面后驱逐表面水，以便更多地蛋白能够粘附^[31, 32]。

Mfp6 的分子量约为 11.6 KD，主要存在于贻贝斑块与底物接触界面，有助于增强与表面的湿粘附，与上述 Mfp3 和 Mfp5 表面粘附蛋白不同的是，虽然 Mfp6 中的总酚残基含量与 Mfp3 和 Mfp5 中的相似，但 Mfp6 中的酪氨酸残基并不能有效地转化为多巴，因此，Mfp6 中含有的 L-Dopa 含量要低得多（大概不到 5 mol%），而酪氨酸含量却很高（20 mol%）^[18, 33]。

上述六种蛋白质之间相互配合，使贻贝足斑块能稳定地粘附在水下固体表面，这类蛋白的共同特征在于存在相同的残基类型：如 L-Dopa、酪氨酸、赖氨酸和不带电荷的其它氨基酸基团，尽管这些氨基酸的相对含量在各种 Mfps 中有所不同。此外，Mfp3 和 Mfp5 中含有最高量的 L-Dopa（分别约为 28 mol%和 30 mol%），L-Dopa 作为功能性残基，具有很强的湿粘附性能^[9, 32]，被认为是贻贝足斑较强粘附能力的关键因子^[31]。除了 L-Dopa，其他疏水基团和极性基团能通过氢键、静电、阳离子- π 等多种相互作用来增强 Mfps 的湿粘附性能^[34, 35]。值得注意的是，尽管 Dopa 具有优异的附着能力，但它很容易受到氧化的影响，变为多巴醌，这在一定程度上能够减弱粘附^[36]，从而减弱了对水下基材的破坏。

1.2 贻贝足蛋白粘附行为

海洋生物贻贝由于异常强的表面粘附能力受到国内外科研人员的广泛关注，通过足丝分泌诸多的足丝蛋白不仅可以粘附在粗糙物体表面，还可以粘附在岩石、混凝土、木材结构、金属、聚合物和海洋生物等材料上，即便是被认为极难粘附的聚四氟乙烯表面，它都能够粘附上。Mfps 所具有的超强的水下粘附能力，广泛的粘附基材适用性，优异的生物细胞相容性，生物降解和无毒性等特性，使其在生物医药、仿生设计和海洋工程

等领域有着广泛的应用前景。一般认为,蛋白质在固体表面粘附时,蛋白质分子之间^[37]、蛋白质与固体表面之间、蛋白质与溶剂分子之间都存在着相互作用:如疏水相互作用、静电相互作用、范德华相互作用、氢键作用等,这些微观相互作用决定了蛋白质与蛋白质之间以及蛋白质在固体表面粘附性能^[38-43]。因此,海水环境中贻贝的附着过程也是基于自身足丝斑块中分泌的多种具有复杂性质的足丝蛋白。这些足丝蛋白之间的相互协调,是其极强粘附性能的来源^[44]。此外,贻贝足蛋白质往往作用于各类材料表面,因此材料的表面性质也是影响贻贝足蛋白吸附的重要因素^[45]。

1.2.1 蛋白自身性质对粘附的影响

组成蛋白质的氨基酸的种类、数量以及序列结构显著影响蛋白质的空间结构,进而影响蛋白质的表界面功能。众所周知,贻贝足丝斑块中分泌的多种足丝蛋白,特别是 Mfp3 和 Mfp5 在实现贻贝对各种蛋白的粘附中起着关键作用,它们共同特征在于存在相同的氨基酸类型,如 Dopa, 酪氨酸, 赖氨酸等,这类极性氨基酸在贻贝足蛋白序列中的比例非常高^[19]。Dopa 作为功能性残基,其在粘附中的多功能作用已被广泛证实。除了 Dopa 之外,其他亲水基团之间一般能通过氢键、静电相互作用来增强贻贝足蛋白在水下表面的湿粘附性能,然而,由于 Mfps 本质上的内在无序性与分子链的高度柔性,组成蛋白氨基酸之间总会以十分巧妙的协同方式增强粘附,进而影响整体粘附性能^[46]。另外,特殊的序列结构使得 Mfps 具有较强的极性表面,较弱的疏水内核,这往往会使得蛋白质在水溶液容易发生巨大的构象变化(如形状和体积变大),尤其在粘附时,这种构象变化可能导致更多残基的有效接触,进而影响粘附。

1.2.2 材料表面性质对蛋白质粘附的影响

如上所述,蛋白 Mfp3 和 Mfp5 不仅在蛋白质之间的粘附起关键作用,作为表面粘附类蛋白,还对 Mfps 与材料的相互作用产生直接影响,此外,研究表明材料的性质也会对 Mfps 的附着效果产生重要作用^[47]。例如,有研究采用表面力装置测量了贻贝足蛋白中的 Mfp1、Mfp3 和 Mfp5 在四种不同化学表面(表面物质分别为云母、二氧化硅、聚甲基丙烯酸甲酯和聚苯乙烯)上的相互作用的力-距离曲线。结果表明,粘附非常依赖于测试的 Mfps 种类、粘附基底表面化学性质以及接触时间^[45]。

虽然 Mfps 在云母、聚苯乙烯等材料表面的附着已被一定程度的研究,然而普适性的机理仍有待深入研究。Yu 等人于 2013 年在《PNAS》期刊上通过自组装单层膜来系统阐明多巴在表面的一些特性以及不同化学性质表面对粘附的影响^[47]。研究显示,酸性

pH 值下, Mfps 通过疏水相互作用能强烈粘附在自组装膜 CH_3 端表面, 粘附作用能为 4 mJ/m^2 到 9 mJ/m^2 ; 而通过氢键作用的粘附与自组装膜 OH 端表面明显很弱, 粘附作用能小于 0.5 mJ/m^2 。由此可知, 材料表面物理化学性质对蛋白粘附影响显著, 通过调节表面性质达到海洋贻贝污损的防治是一种可行策略。但是, 相关工作仍主要以唯象研究为主, 材料表面影响 Mfps 附着的分子机制仍有待深入挖掘^[48]。

1.3 贻贝足蛋白与材料表面相互作用的实验与模拟研究现状

Waite 等人于 20 世纪 80 年代通过实验的方式首次报道了贻贝足蛋白, 他们发现贻贝的永久粘附依靠的是一类含有大量羟基脯氨酸 (13%) 和 3,4-二羟基苯丙氨酸 (多巴, 11%) 的多酚蛋白质, 这些蛋白储存在贻贝的外分泌腺中, 在形成新的粘附斑块的过程中通过足丝沉积在材料表面^[9]。继而在 1983 年, 他们又对这类多酚蛋白进行纯化, 并通过酶解鉴定从多酚蛋白中制备出由 10 个氨基酸的高度重复序列 (重复高达 75 次) 所组成的含有多巴的多肽, 他们认为这些多肽的不同构象可能与多酚蛋白的粘附功能有关^[49]。随后 Olivieri 等人于 1992 年鉴定并比较了这种多肽的表面性质, 结果表明, 肽的构象能将 L-Dopa 和酪氨酸残基与固体基质紧密结合, 进而对 Mfps 的生物粘附性能提出了一种可能的解释^[50]。自此, 贻贝粘附的奥秘逐渐进入大众视野, 人们对其关注度也是逐渐提升^[51]。

然而, 前期的研究只突出多巴在粘附中的关键作用, 对于其的详细结合机制尚不清楚, 还有贻贝在无机和有机表面的粘附能力的化学基础从未得到充分的解释, 这极大限制了贻贝仿生材料在相关领域的应用以及海洋防污进度。鉴于此, Lee 等人于 2006 年研究了单个多巴残基与有机和无机表面的相互作用, 他们发现 Mfps 固化过程中多巴氧化显著降低了与金属氧化物的相互作用强度, 相对于无机表面, 多巴的氧化产物能与有机表面形成高强度的不可逆共价键^[18]。Anderson 等人研究了 Dopa 对贻贝启发合成肽粘附的贡献, 研究表明 Dopa 氧化可以增加薄膜的厚度, 但降低薄膜的粘聚力, 将贻贝启发的肽链与之前对 Mfp3 薄膜的研究进行比较, 发现 Mfp3 薄膜的强粘附力和内聚力可以归因于 Dopa 基团在这些薄膜的界面内或界面上的良好取向^[52]。这些研究揭开了多巴界面粘合作用的新图景, 对关键因子多巴的理解又提升到一定高度。另外, Lin 等人利用表面力装置在纳米尺度上直接测量了 Mfps 在云母表面的粘附性能, 结果表明, Mfp1 和 Mfp3 都可以通过多巴和其他羟基化氨基酸形成氢键附着在云母上, 但在一个狭窄的连接空间处, 相对较小的 Mfp3 能够更好地扩散到缝隙中, 由于其流动性和灵活性高而与

表面形成更多的结合位点^[53]。Danner 等人研究发现在云母表面上, Mfp5 的附着能远高于 Mfp3, Mfp5 也表现出强烈的与自身以及与 Mfp3 蛋白相互作用^[54]。但由于蛋白多样性以及粘附影响因素的复杂性, Mfps 之间的内在相互作用仍然是一个值得探索的谜团。相关研究的欠缺一定程度上因为以往的实验研究虽然对贻贝的粘附机制与特点进行了广泛探讨, 并基于贻贝足蛋白的生物启发设计原则也已经被广泛应用^[55, 56], 但天然贻贝足蛋白始终存在获取困难, 价格昂贵等一系列问题, 在其粘附机理的研究上始终不够深入, 尤其多巴在水下不同表面的粘附细节仍然不清。

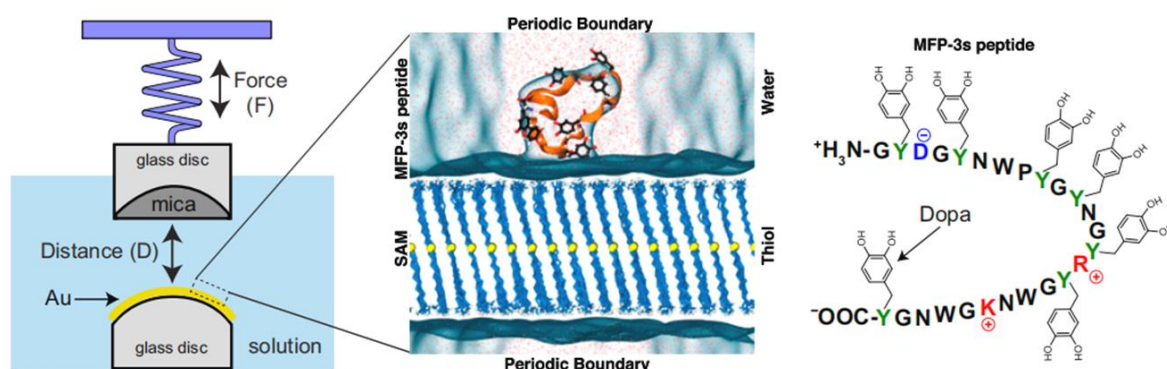


图 1-2 MFP-3s 肽在 SAMs 表面粘附行为示意图^[57]

Figure 1-2 Adhesion behavior of MFP-3 s peptide on the surface of self-assembled film^[57]

随着近年来计算机技术手段的发展与加入，一些粘附细节才逐渐被揭开。Qin 等人使用一种先进的分子取样技术来鉴定两种贻贝足蛋白（Mfp3 和 Mfp5）的分子结构，并使用这些结构来研究它们的粘附力学，研究发现，折叠贻贝足蛋白的分子结构倾向于与底物的强粘附，其中 L-3, 4-二羟基苯丙氨酸（L-Dopa）残基以协同的方式增强粘附^[58]。Levine 等人用实验和模拟相结合的手段对一种含有多巴的肽（MFP-3s 肽）进行了研究（如图 1-2 所示），结果都表明，肽链整体与单个多巴在疏水 SAMs 上的吸附强于亲水 SAMs，且多巴结合方式平行于疏水 SAMs，垂直于亲水 SAMs，附近的带电氨基酸增强了多巴对有机表面的粘附性^[57]。Chen 等人探讨了单个多巴在可调单层膜上的吸附和取向，研究结果与上述 Levine 等人的研究相一致^[59]。值得注意的是，最近越来越多的研究表明，Mfps 在表面粘附过程中，各个氨基酸之间并不是单独起作用的，而是贻贝粘附蛋白的结构和序列特征导致了其水下粘附能力。Rapp 等人证明了多巴和赖氨酸基团之间的协同作用促进了湿矿物表面的粘附，这使界面粘附蛋白 Mfps 的序列中高赖氨酸组成合理化^[35]。此外，Li 等人的研究表明了多巴与赖氨酸的关系，即与多巴相邻的赖氨酸

酸可以通过三种不同的机制显著增强多巴的表面结合^[60]：①取代表面水和离子增加有效结合位点；②以序列依赖的方式直接参与协同表面结合；③通过添加氧化物增强内聚力或形成阳离子- π 相互作用。这些发现可能会极大增强人们目前对天然粘合剂设计原则的理解，并激发新的仿生和防污等领域的巨大提升。

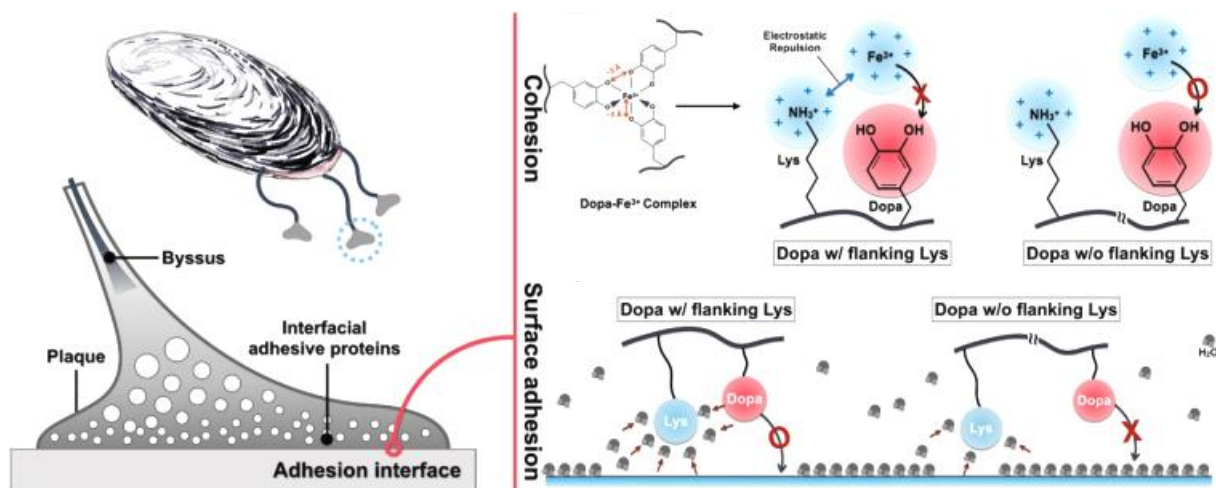


图 1-3 水下贻贝粘附中“侧翼 Lys 效应”的示意图^[61]

Figure 1-3 Schematic illustrations of “flanking Lys effects” in underwater mussel adhesion^[61]

随着研究技术的逐步成熟，人们对 Mfps 的认知又跨越了一个大层次。对 Mfps 中侧翼赖氨酸和 Dopa 残基之间的协同作用研究更为详细。Shin 等人设计了粘附肽来研究赖氨酸在水下贻贝粘附中的隐藏作用，结果显示，表面粘附时 Dopa 和赖氨酸之间有协同作用，而且有多巴侧翼的赖氨酸比没有多巴的赖氨酸更能有效地溶剂化，侧翼的赖氨酸吸引了多巴 OH 周围的水分子，而多巴疏水性的增加更有可能取代界面水，从而增强了粘附力，虽然侧翼的赖氨酸增强了表面粘附力，但同时也破坏了 Fe^{3+} 介导的粘附力（如图 1-3 所示）^[61, 62]，这在一定程度上减弱了粘附，相关研究结论为水凝胶的设计提供了良好的理论支撑^[61, 62]。尽管已经对贻贝粘附中的胺-儿茶酚对协同作用在水相中的表面粘附进行了充分的研究，但这种分子片段对内聚力的影响知之甚少，特别是在分子间阳离子- π 相互作用中。Shin 于 2021 年又研究发现胺-邻苯二酚对分子间阳离子 π 相互作用具有反协同效应，这一发现可能提供了一种见解，即胺-邻苯二酚对协同作用可能不总是在水下粘附的积极方面起作用^[63]。此外，浙江大学物理系李敬源课题组联合南京大学物理学院等单位的合作者利用分子动力学模拟发现这种固有无序蛋白结构中多巴与正电氨基酸（如赖氨酸、精氨酸等）在空间分布上存在明显的相关性，并形成配对结构图^[46]（如图 1-4 所示），在亲水表面，这种配对结构来回摆动，从而使其驱散界面水分子，消除了表面离子的静电屏蔽效应。蛋白质的结合稳定性很大程度上归因于带正电荷的碱

性残基对带负电荷的表面位点的静电吸引，而芳香残基为碱性残基粘附在云母表面铺平了道路。因此，蛋白的耐盐水下粘附可以归因于这种柔性大分子中的残基对间的协调配合导致优异的水下粘附能力。以往这些研究结果极大推进了人们对协同作用的认识与理解，对相关领域的设计研究具有重要的指导意义，例如设计一些贻贝启发水凝胶，生物材料等^[64, 65]。然而，考虑到海洋防污工作，上述贻贝足蛋白强烈的粘附特点并不利于防污工作的进行，因此如何设计相关防污材料，阻碍海洋生物附着仍然是当下存在的一大难题^[66]。

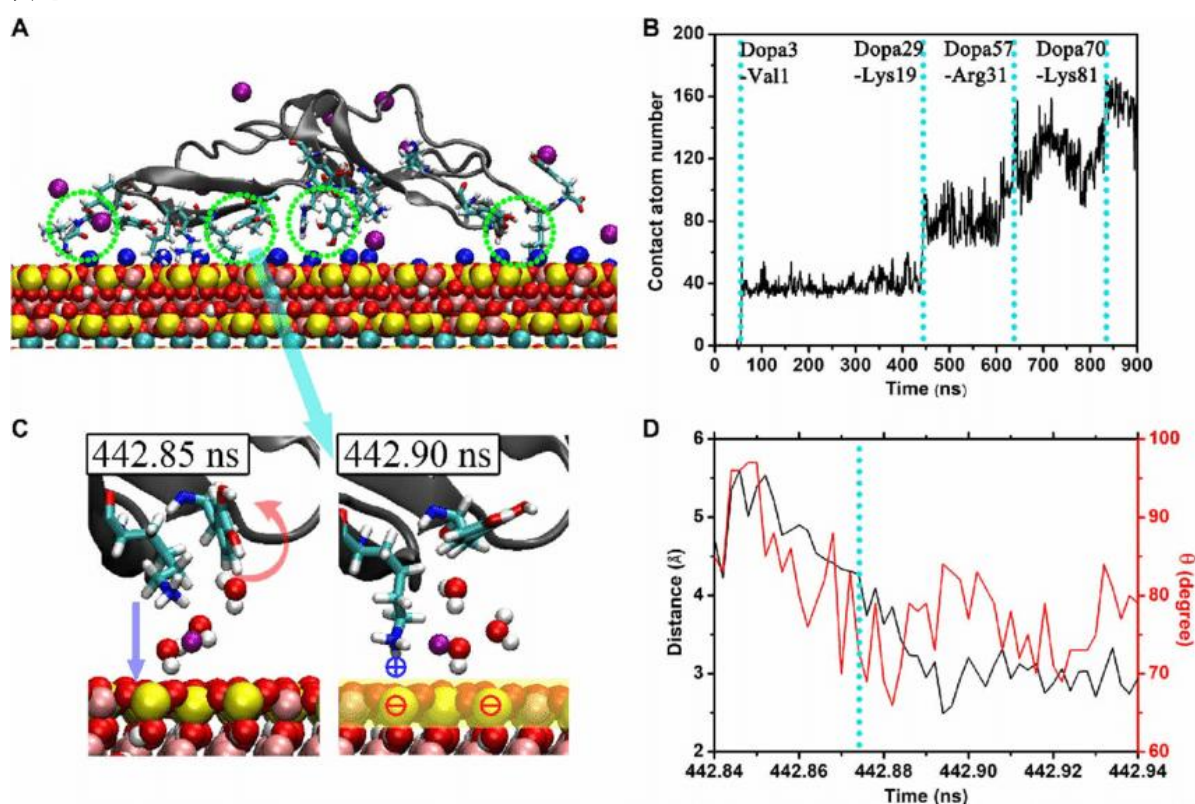


图 1-4 贻贝足蛋白中正电残基与多巴的空间相关性^[46]

Figure 1-4 Spatial correlation between positive residues and Dopa in mussel foot proteins^[46]

结合前期研究成果，表面水化被证明可以有效预防生物蛋白的粘附，但由于对其认识不清，从水化层角度解释材料抑制微生物附着性能依然带有极大的局限性^[67-72]。目前研究较多的有聚乙二醇（Polyethyleneglycol, PEG）涂层材料，然而由于 PEG 在实际应用中具有容易氧化的特点，致使其表面水化性能减弱，进而造成材料防污效果减弱，这在一定程度上限制了其广泛应用。具有亲水特点的两性离子聚合物刷大多为线性分子，其分子链会与污染剂之间相互渗透，增强了两两者之间的相互作用，同样也会导致防污效果减弱。值得注意的是，超亲水性表面材料使用聚甲基丙烯酸寡聚乙二醇酯（Poly ethylene glycol methacrylate, POEGMA）似乎能减弱上述聚合物与污染剂相互渗透问题

以及容易氧化的问题，但 POEGMA 涂层防污效果和防污机理仍然值得去探索。除此之外，基于猪笼草启发的仿生超滑液体（Polydimethylsiloxane, PDMS）注入固态多孔表面（超滑表面）^[73, 74]，虽然在实验中能够很好地阻止贻贝粘附^[75]，但其微观机理仍然不明。在此背景下，探究 Mfps 与功能涂层间的相互作用对于防污技术的发展具有重要意义。

总的来说，经过长达三十余年的研究，无论是从科学实验还是理论计算角度，对贻贝粘附机制都有了全新而又广泛的认知，但是由于蛋白质本身结构的复杂性以及技术手段的限制，至今仍有一些关键问题需要解决：首先，从蛋白自身粘性来考虑，Mfps 之间的内在相互作用仍然是一个值得探索的谜团：先前研究多是集中于单种 Mfp 的附着力，而关于 Mfps 的协同作用对附着的影响知之甚少。其次，关于 Mfps 附着的普适性机理认识不清，从笼统的水化层角度难以对 Mfps 附着的性能做出预测和解释；此外，先前研究大多关注 Dopa 的作用，而忽视了蛋白质动力学的影响，Mfps 的附着机理有待从更加全面、动态的角度进行探究。最后，目前有研究证明，仿生超滑液体注入多孔表面材料和超亲水聚合物材料对海洋生物的粘附有一定的抑制效果，有可能在未来的防污行业发挥重大作用，但对它们分子层面粘附动力学过程与防污机理认识不清，限制防污材料的进一步优化设计。上述问题制约了海洋宏观生物污损防护技术的发展以及仿生贻贝材料的研发，因此有待引入新的技术与思路对其进行探索与研究。

1.4 本论文的研究内容及意义

由上述关于 Mfps 附着研究的发展和研究现状可知，研究者们已经了解了 Mfps 的作用与结构，并证明其极强的附着能力来自其独特的序列及结构，并且材料性质显著影响 Mfps 的附着性能。然而，受蛋白质提纯及实验表征方法的限制，对于 Mfps 附着的微观机制仍缺少深入、系统的认识，一定程度上显著了防污技术及仿生材料的发展。

基于目前研究存在的不足以及相关领域上面临的主要问题，本论文采用分子动力学模拟的研究方法，对贻贝足蛋白的粘附机理进行全面而又广泛探索，以期对相关领域的生产研究提供理论指导。具体工作从以下三个方面展开：

（1）贻贝足蛋白之间的相互作用研究

Mfp3 和 Mfp5 作为主要表面粘附类蛋白在贻贝与基材表面的粘结过程中发挥重要作用，由于对同种粘附蛋白自身以及不同粘附蛋白之间粘性探索较少，以至于对这类蛋白粘性来源没有很清晰的认识，因此，在该部分，根据贻贝足丝斑块表面粘附蛋白相对

位置分布,设计了三种体系(Mfp3和Mfp3, Mfp5和Mfp5, Mfp3和Mfp5)来探索贻贝足蛋白之间的粘性来源,首先研究了蛋白质之间粘附时界面特点,考察了不同体系蛋白质粘附时的差别与联系;其次研究了蛋白粘附的稳定性与相互作用能,明确了其粘附背后的粘性来源;最后对粘附蛋白间界面典型结构进行分析,明确了一些特殊结构对蛋白之间粘性的贡献。

(2) 贻贝足蛋白在功能表面粘附行为研究

Mfps不仅自身之间有着良好的粘性,其与不同表面之间的相互作用也是当下研究的热点。在该部分,设计六个体系,将Mfp3和Mfp5分别放置在金属铁、疏水性的石墨烯与亲水性的二氧化钛表面,研究不同表面粘附蛋白在不同化学性质表面的粘附行为。首先通过Mfps在不同表面粘附时的质心变化、整体构象来判断蛋白质表面粘附特点;其次提取各个氨基酸在粘附过程中的粘附状态来进一步研究蛋白粘附的微观特征,进而揭示序列中一些氨基酸在粘附中的作用;最后研究材料表面水化层对粘附的影响等来系统地挖掘其粘附现象背后的微观机理。

(3) 超滑/超亲水表面对贻贝足蛋白粘附行为的影响研究

针对具有低表面能的超滑涂层表面和超亲水等聚合物抑制Mfps附着机制不明的问題,对Mfp3/Mfp5与PDMS及POEGMA的相互作用开展系统研究。首先通过研究Mfp3和Mfp5在不同表面粘附过程、结合状态以及相互作用来说明蛋白质在超滑表面与超亲水表面上的粘附特点;其次通过研究表面水的角度分布、扩散系数、自相关函数以及弛豫时间来阐述不同体系表面溶剂的动力学性质,从而探明溶剂运动状态对粘附的影响,进而揭示不同表面粘附现象背后的机理。

相关研究可为海洋宏观生物污损防护技术的发展提供理论参考,同时对水下胶粘材料的开发具有借鉴意义。

第 2 章 理论方法与模型

分子模拟（Molecular Simulation）已经成为继实验与理论手段之后，从分子水平了解和认识世界的第三种有效手段。它是一类通过计算机软件模拟手段来研究分子或分子体系结构性质的方法，这些方法均以分子或分子体系的经典力学模型为基础，包括通过优化单个分子总能量的方法得到稳定构型的分子力学（Molecular Mechanics, MM）模拟；通过反复采样分子体系位形空间并计算其总能量，得到体系的最可几构型与动力学平衡性质的蒙特卡洛（Monte Carlo, MC）模拟；通过数值求解分子体系经典力学运动方程的方法得到体系随时间的运动轨迹，并计算体系的结构特征和其他性质的分子动力学（Molecular Dynamics, MD）模拟等。其中，MD 方法作为从分子水平对复杂体系进行研究的的有效手段，已被广泛应用在诸多领域。

MD 模拟在 1957 年就已经实现，自 Alder 等人提出了刚性球模型后得到了不断发展^[76]。随后在 1959 年提出把 MD 方法推广到更复杂的具有方势阱的分子体系去模拟体系结构和性质^[77]。1964 年 Rahman 研究了具有 Lennard-Jones 函数的 Ar 原子体系，得到与状态方程有关的一系列性质^[78]。此后，人们广泛模拟研究了具有不同是函数参数的 Lennard-Jones 模型分子体系，得到了体系的结构特征及其他各种热力学性质，逐步建立了 Lennard-Jones 势函数参数与模型分子体系结构和性质之间的关系。与此同时，首例蛋白质分子动力学模拟和核酸分子动力学模拟也相继被报道^[79, 80]，MD 模拟也逐渐揭开新篇章。随后经过数十年的发展，MD 方法不断完善，不同条件下的分子动力学方法被提出，极大丰富了其应用范围^[81-85]。目前，MD 模拟已经在物理化学、生物医学、生物材料等领域有着广泛应用^[86-88]。

相比于实验研究，MD 模拟具有数据可靠，节约成本等优点，尤其是在揭示生物大分子之间、生物大分子与材料表面的作用机制方面展示出独特的优势，MD 模拟按照模拟尺度的不同，可以分为全原子、粗粒度和介观尺度模拟等。其中全原子模拟方法是对原子尺度进行细致又全面的刻画，保留了更详细的模拟细节，虽然其相对计算量大，但对于蛋白质粘附细节的揭示却有着得天独厚的优势。

2.1 GROMACS 软件简介

一般实现 MD 模拟需要用到一些特殊的模拟软件。目前，比较常用的分子动力学模拟软件主要有：AMBER、CHARMM、NAMD、LAMMPS 和 GROMACS。前两个软件

开发得比较早，主要针对生物体系，适当兼容一般化学分子，但是计算效率不高，而且会收取一定费用；后三个则是开源的，可以免费使用，计算效率极高。其中，GROMACS可以用于几百万原子的模拟系统，尤其是用于具有许多复杂键合相互作用的生化分子，如蛋白质、磷脂双分子层生物膜、药物分子等，另外，由于GROMACS在计算非键合相互作用（通常主导模拟）方面性能极佳，许多科学团队也将其用于研究非生物系统，例如聚合物、一些有机物、无机物、流体动力学等。此外，GROMACS还具有软件开源、力场全面等优点，使其成为MD模拟的最主流软件之一。

2.2 分子动力学模拟

随着计算机技术水平的不断提高并结合相关理论的完善，分子模拟的研究已经从时间尺度与空间尺度进行了扩展，目前已成为探究复杂体系性质、预测实验研究结果及验证一些理论的有效工具。其基本思想是以原子或分子作为基本粒子组成系统，通过体系中各个原子或分子的位置信息，计算出体系的势能函数，然后依据经典力学由势能计算出分子所受的力，从而计算出分子的加速度，最后将牛顿运动定律方程对时间积分从而预测原子经过一段时间之后的速度和位置，如此反复循环过程，最终求解得到体系的宏观性质。

2.2.1 MD 方法的基本原理

对于含有 N 个分子或原子的运动系统，系统总能量为系统分子动能与总势能之和。而势能又由原子间的范德瓦尔斯（VDW）与分子内部势能（int）两大部分组成，即：

$$U = U_{VDW} + U_{int} \quad (2-1)$$

范德瓦尔斯作用一般近似为各个原子对间的范德瓦尔斯作用加成，即：

$$\begin{aligned} U_{VDW} &= u_{12} + u_{13} + u_{14} + \cdots + u_{1n} + u_{23} + u_{24} + \cdots \\ &= \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n u_{ij}(r_{ij}) \end{aligned} \quad (2-2)$$

式中， r_{ij} 为原子(i)与原子(j)之间的距离。

MD 方法认为所有粒子的运动能够用经典力学处理。其中，原子(i)所受力的 $\vec{F}_i$ 大小可用势能的梯度来进行表示：

$$\vec{F}_i = -\nabla_i U = -\left(\vec{i} \frac{\partial}{\partial x_i} + \vec{j} \frac{\partial}{\partial y_i} + \vec{k} \frac{\partial}{\partial z_i}\right) U \quad (2-3)$$

通过给定原子(i)的初速度($\vec{v}_i^0$)和位置($\vec{r}_i^0$)，对牛顿运动方程进行求解，就可得到系统中

任意 t 时刻原子的加速度 $\vec{a}_i$ 、速度 $(\vec{v}_i)$ 以及位置 $(\vec{r}_i)$ ，最终得到体系在一段时间内的变化构型。

由牛顿运动定律求得加速度，即

$$\vec{a}_i = \frac{\vec{F}_i}{m_i} \quad (2-4)$$

将牛顿运动定律方程对时间积分，可以计算系统中任意 t 时刻原子 (i) 的速度 $(\vec{v}_i)$ 以及位置 $(\vec{r}_i)$ ：

$$\frac{d^2}{dt^2} \vec{r}_i = \frac{d}{dt} \vec{v}_i = \vec{a}_i \quad (2-5)$$

$$\vec{v}_i = \vec{v}_i^0 + \vec{a}_i t \quad (2-6)$$

$$\vec{r}_i = \vec{r}_i^0 + \vec{v}_i^0 t + \frac{1}{2} \vec{a}_i t^2 \quad (2-7)$$

上列各式中，上标“0”分别为相应物理量的初始值。

由于在 MD 中必须解牛顿运动方程（式 2-5、2-6、2-7）以获得原子的速度与位置信息，所以选择合适的积分算法，是高效准确地计算出任意时刻原子信息的关键，在本论文中，使用的是 GROMACS 软件中默认的蛙跳积分算法^[89]。

蛙跳积分算法是对标准 Verlet 算法^[90]进行改进之后形成的，此方法计算速度与位置的数学形式为：

$$\vec{v}_i \left(t + \frac{1}{2} \Delta t \right) = \vec{v}_i \left(t - \frac{1}{2} \Delta t \right) + \vec{a}_i(t) \Delta t \quad (2-8)$$

$$\vec{r}_i(t + \Delta t) = \vec{r}_i(t) + \vec{v}_i \left(t + \frac{1}{2} \Delta t \right) \Delta t \quad (2-9)$$

$$\vec{v}_i(t) = \frac{1}{2} \left[\vec{v}_i \left(t + \frac{1}{2} \Delta t \right) + \vec{v}_i \left(t - \frac{1}{2} \Delta t \right) \right] \quad (2-10)$$

计算时假设 $\vec{v}_i \left(t - \frac{1}{2} \Delta t \right)$ 与 $\vec{r}_i(t)$ 是已知的，则由 $\vec{r}_i(t)$ 可以计算得到 t 时刻质点所受的力与加速度 $\vec{a}_i(t)$ ，再根据（2-9）预测 $\vec{v}_i \left(t + \frac{1}{2} \Delta t \right)$ ，依此类推，而 t 时刻的速度则由公式（2-10）计算得出。

2.2.2 MD 模拟的系综与周期性边界条件

动力学模拟过程中，通常通过定义一个系综来计算体系的宏观性质。系综指的是在一定的宏观条件下，大量性质和结构完全相同的、处于各种运动状态的、各自独立的系统的集合，根据宏观约束条件，系综主要分为四种类型：微正则系综（NVE）、正则系

综 (NVT)、等温等压系综 (NPT)、等压等焓系综 (NPH)。常规的 MD 模拟是在 NPT 或者 NVT 下进行的, 虽然 NPT 最接近常规生物实验条件, 但是计算性能不如 NVT。此外, NPT 会调整体积以使压强恒定, 故而适合形状变化较大的模拟体系, 但在在实际模拟中需要根据模拟条件选择合适的系综。

对有限的系统, 最大限度地减小边缘效应的经典方法是应用周期性边界条件。当任意粒子运动到系统外时, 则必有相应的粒子从相反的界面回到系统内, 从而保证该模拟体系的粒子数目保持不变, 需要注意的是, 并不是所有的体系模拟时都需要在三个方向上施加周期性边界条件, 还得根据实际情况具体分析。例如在研究一些小分子在材料表面吸附时, 就只需在平行于材料表面方向施加周期性边界条件, 此外, 还有些问题需要非周期性边界条件进行处理。GROMACS 中使用周期性边界条件, 并结合了最小映像约定: 对短程非键相互作用, 每个粒子只考虑其最近的一个映像。对长程静电相互作用, 有时不够精确, 因此 GROMACS 还包含了晶格加和方法, 如 Ewald 加和、PME 和 PPPM 等。

2.2.3 模拟的一般步骤

对于一般的模拟体系而言, 大致分为以下几个步骤:

第一步, 评估体系。根据研究问题, 确定模拟体系, 设计模拟流程。

第二步, 选择模拟工具与力场。根据研究问题, 选择合适的模拟工具, 主要包含两点: 模拟软件的选择与力场的选择, 在对二者的选择上主要看研究的体系, 如对于蛋白体系, GROMACS, AMBER, NAMD 均可, 而对于 DNA、RNA 等体系, 则首选 AMBER 等;

第三步, 选定初始构型。通过实验数据或其他工具计算结果得到体系中原子的位置坐标, 然后按照一定规则或者随机摆放满足模拟体系, 得到初始构型。对初始构型进行能量最小化处理, 并根据麦克斯韦方程给体系随机分配一个初始速度。

第四步, 平衡模拟阶段。此过程可以对模拟体系中溶质做一些位置限制, 使溶液分子快速达到平衡, 温度压力达到设定条件, 通过温度、压力、能量等判断是否达到平衡状态。

第五步, 成品模拟阶段。确定体系完全弛豫之后, 可以进行长时间的模拟采样, 设置合理的参数, 记录体系轨迹用于数据分析, 一定要保证现象出现的可重复性。

第六步, 轨迹分析。根据上步产生的运动轨迹, 分析想要的热力学量或者其他宏观

性质，阐明问题。

2.3 模型的建立

2.3.1 蛋白模型的构建

贻贝足腺能分泌众多的贻贝足蛋白，这些蛋白在宏观生物贻贝的粘附过程中起着重要作用。由于表面粘附蛋白 Mfp3 和 Mfp5（蛋白序列信息如图 2-2 所示）在蛋白数据库中没有特定的晶体结构^[16]，于是利用一种能在线实现蛋白质结构和功能预测的同源建模工具（I-TASSER）进行初始模型的构建，该工具能从氨基酸序列预测蛋白质分子的三维空间结构，在提交组成蛋白质的基本序列信息后最终会生成 5 个初始结构，从网站生成的这些初始结构中，依照评判标准选择出合适的模型结构^[91-95]，并将选定结构的每个酪氨酸修改为 Dopa。

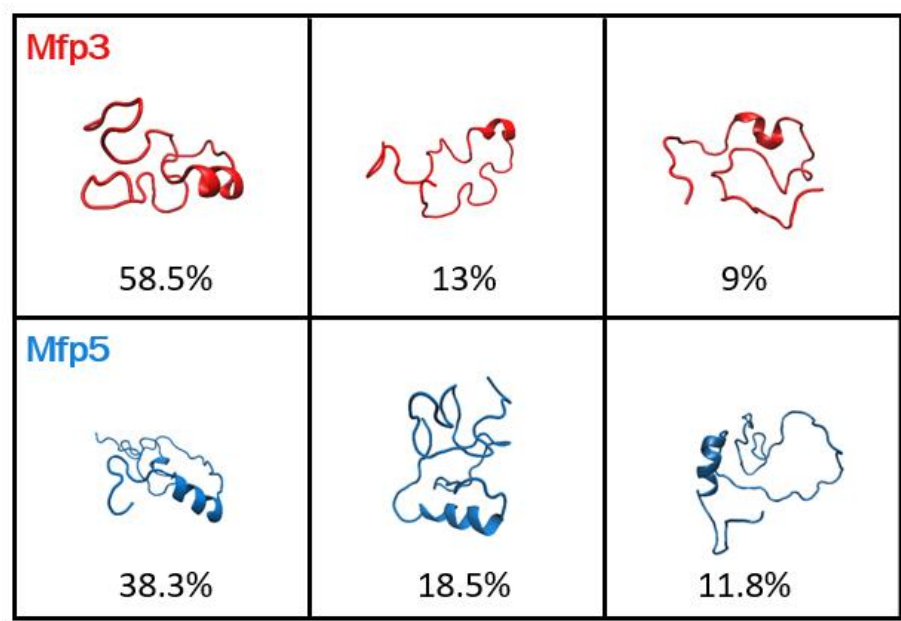


图 2-1 Mfps 在实验条件下的构象及概率

Figure 2-1 Conformation of Mfps under experimental conditions and probability

为了模拟一个典型的实验条件，净电荷为+10 e 的 Mfp3 和净电荷为+15 e 的 Mfp5 在 0.15 M 氯化钠溶液中被中和。然后，利用 Charmm36 力场^[96]，进行 160 ns 全原子 MD 模拟，生成 800 个结构，利用聚类算法将这些结构的主干划分为多个构象（如图 2-1 所示）^[97]。选择了水下粘附的最佳构象作为本文最终的蛋白质粘附模型（如图 2-2-a 和图 2-2-b 所示），并初步分析了组成不同蛋白质的氨基酸序列中主要氨基酸的含量及性质情况（如图 2-2-c 和图 2-2-d 所示）。

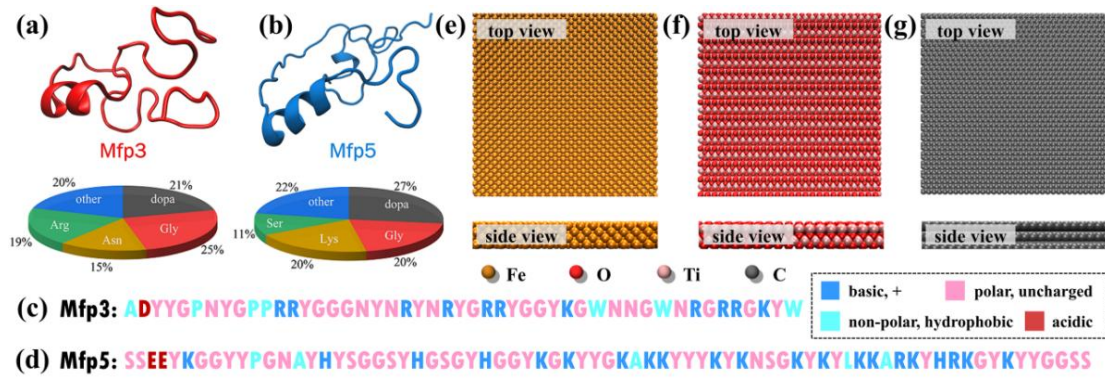


图 2-2 模拟中用到的蛋白质模型、序列及功能性表面；(a-b) Mfp3/5 模型；(c-d) Mfp3/5 序列；(e-f) 分别为 Fe、石墨烯、TiO₂ 表面

Figure 2-2 Protein model, sequence, and functional surface used in the simulation; (a-b) Mfp3 and Mfp5 model; (c-d) Mfp3 and Mfp5 sequence; (e-f) The surface of Fe, graphene and TiO₂

2.3.2 表面模型的构建

本论文中，涉及到的表面模型有铁(100)表面（如图 2-2-e 所示）、二氧化钛（110）表面（如图 2-2-f 所示）、石墨烯（001）表面（如图 2-2-g 所示）、二氧化硅表面（如图 2-3-c 所示）、超亲水表面（二氧化硅表面涂覆有超亲水性材料，如图 2-3-d 所示）和超滑表面（二氧化硅表面涂覆有硅油，如图 2-3-e 所示）。其中，石墨表面由三片石墨烯薄片组成，彼此间隔 3.395 Å。石墨烯的 C-C 键长为 1.42 Å，与实验中报告的长度相匹配^[98]。铁、二氧化钛以及二氧化硅的力场参数参数均来源于已知文献报道^[99-102]，超亲水性表面材料使用聚甲基丙烯酸寡聚乙二醇酯（POEGMA），硅油使用聚二甲基硅氧烷（PDMS），表面模型和聚合物的建模均使用 Materials Studio 模拟软件，具体细节如图 2-3 所示。

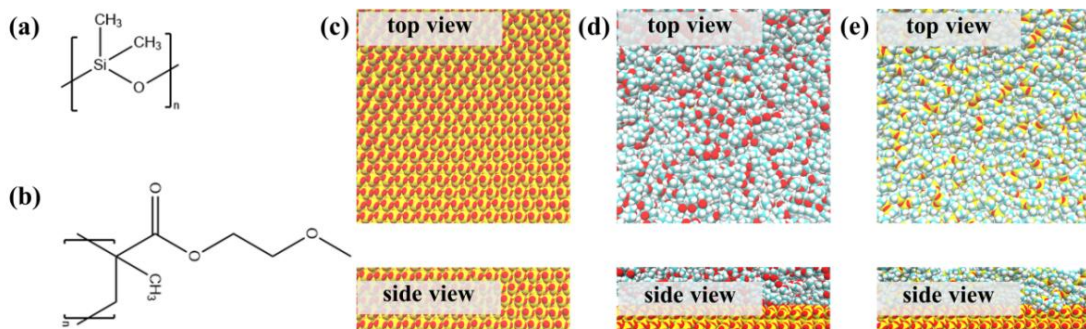


图 2-3 模拟的涂层材料和构造的防污表面；(a-b) 涂覆材料结构；(c-e) 玻璃、超亲与超滑表面

Figure 2-3 Antifouling surface of coating material and construction used in the simulation; (a-b) Coated material structure (c-e) Glass, super hydrophilic/lubricated surface

2.4 模拟过程的基本设置

所有 MD 模拟均使用 GROMACS 2019.6 软件包^[103]进行。分别采用 CHARMM36 力场和 TIP3P 力场对 Mfps 和水分子进行建模模拟，并用 Packmol 工具进行分子堆积。在蛋白与表面相互作用模拟中，将 Mfps 放置于表面上方约 0.8 nm 处，使蛋白可以自由旋转和调整结构。此外，去除距离蛋白质 0.3 nm 范围内的水分子，以避免不良接触。对于每个动态过程，MD 模拟首先通过最陡下降法来进行能量最小化，以消除任何不必要的空间接触，然后运行带有 2 ns 的 MD 的预平衡系统，以放松溶剂分子并优化系统压力。在预平衡过程中，蛋白质的位置受到限制，直到 MD 过程，完全放开，模拟温度为 298 K，离子浓度 0.15 M，温度由 Berendsen 恒温器控制^[104]。在模拟中，所有涉及氢原子的键都受到 LINCS 算法的约束。VDW 利用双范围截止距离分别为 1 和 1.2 nm 的开关函数计算相互作用，采用截止距离为 1.2 nm 的粒子网格 Ewald（PME）方法^[105]处理库仑相互作用，在各方向上都应用了周期边界条件，所有可视化处理均使用 VMD 软件。对于不同章节体系的具体模拟细节也有着一些差别，详见本论文第三、四、五章节。

第3章 贻贝足蛋白间的相互作用研究

蛋白质是细胞生命活动的功能分子，控制着细胞中所有生物系统。但是，通常它们并不是单一“作战”的，很多时候蛋白质会与其他蛋白质相互作用，一起参与生命的过程，例如免疫反应中抗原抗体的结合^[106]、细菌增殖中细菌之间的粘附行为^[107]、蛋白与表面的粘附行为等，探究蛋白与蛋白之间的相互作用和结合区域的知识自然有助于功能蛋白质组学、药物以及仿生胶粘剂的发现等。但由于在大量蛋白质中找到所有相互作用在实验上成本相当高，操作流程极其复杂，故而相对节省人力物力成本、筛选效率高的计算模拟方法逐渐成为研究蛋白质相互作用的首选策略。深入了解蛋白与蛋白之间的相互作用，明确蛋白之间结合特征，在生物医药的研发、仿生新材料的设计等方面都有着重要意义^[108-110]。

对于有着“天然胶粘剂”之称的贻贝足蛋白亦是如此，贻贝在物体表面粘附同样离不开蛋白质之间的相互作用。众所周知，贻贝粘附时会分泌大量的足丝蛋白，这些蛋白之间的协同配合使得海洋宏观生物贻贝牢牢地附着在水下表面从而抵抗海水的冲蚀。前期，人们关于贻贝足蛋白的成分细节以及分布的相对位置关系已经进行了一系列讨论^[18-20]，对目前研究所存在的问题也已经进行了总结。但是，对于本质上具有内在无序性与分子链高度柔性的表面粘附蛋白之间的相互作用研究较少（尤其是 Mfp3 和 Mfp5 蛋白），严重阻碍了相关行业的设计应用。因此，从分子角度理解不同的表面粘附类蛋白之间的分子相互作用，探讨并明确其粘性来源，对贻贝粘附机理的理解与贻贝仿生新材料的研发具有重要意义。

3.1 模拟设置

模拟中用到的蛋白质模型见第二章（如图 2-2-a 和 2-2-b 所示），本章设计了三种体系来探索贻贝足蛋白之间的粘性来源，分别为 System A（由 Mfp3-Mfp3 组成）、System B（由 Mfp3-Mfp5 组成）和 System C（由 Mfp5-Mfp5 组成）。建模过程中盒子尺寸三维方向分别设置为 8 nm、8 nm、11 nm，使用 Berendsen 压力控制器进行平衡体系压力，预平衡处理后，总共进行了 480 ns 的动力学模拟，最后采用结合稳定状态进行数据提取与分析，每个体系进行了多次重复。相互作用特点分析阶段，选择了体系中占比最多的四种相互作用的代表结构，用 RDG 函数等值面显示并确定这些对应于弱相互作用区域的点在实空间上的位置，此外，涉及接触原子数的计算截断值为 0.6 nm。

3.2 结果与讨论

3.2.1 蛋白之间粘合特点及其粘合稳定性

贻贝为什么如此“粘”的问题一直以来困扰着科学界，前边已经提到，贻贝会分泌大量的足丝蛋白，这些蛋白之间有着千丝万缕的联系，它们共同支撑起了贻贝的整个粘附体系。然而，前期的研究大都集中于贻贝在不同表面粘附特点，对各种分泌蛋白分子之间的相互作用研究还存在不足，尤其是对于主导表面粘附蛋白之间的粘附特点认识不清，这严重阻碍了海洋防污和相关材料设计进程。因此，本章工作主要针对表面粘附蛋白 Mfp3 和 Mfp5，设计不同的蛋白相互作用体系来探讨它们之间的粘性問題。

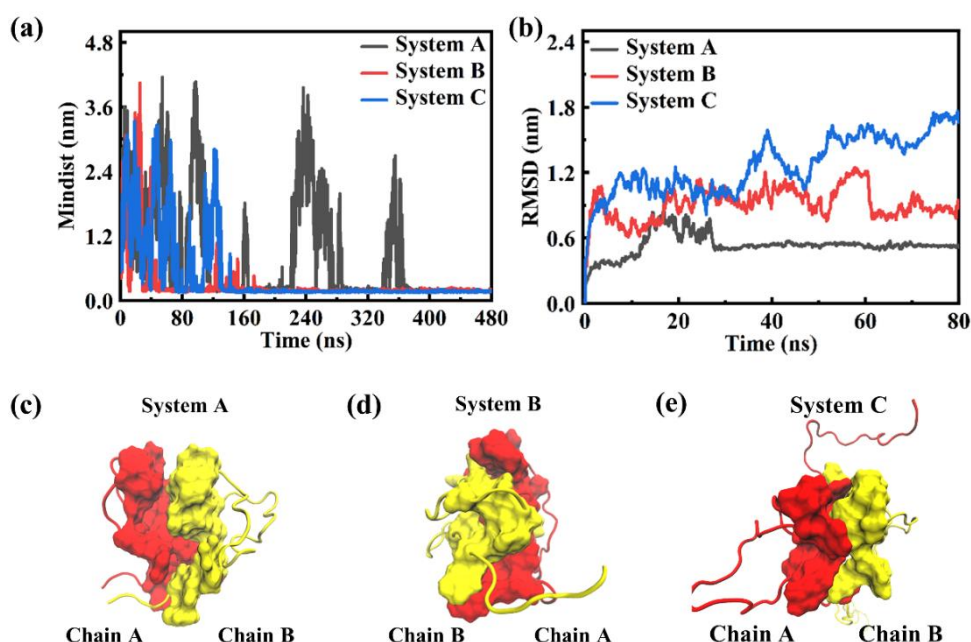


图 3-1 蛋白模拟稳定性变化及结合稳定后的界面结构；(a-b) 蛋白质之间的最小距离及最后 80 ns 的 RMSD；(c-e) 结合稳定时 System A/B/C 复合物的三维界面结构

Figure 3-1 Protein simulates stability changes and interface structure after binding stability; (a-b) minimum distance between proteins and RMSD; (c-e) The interface structure of System A/B/C

首先提取了蛋白之间最小距离随时间变化的函数图像，从图中可以观察到，对于三种体系，经过 480 ns 的模拟之后，蛋白之间的距离最终逐渐稳定在一个很小的范围，尤其是在最后 80 ns，蛋白之间的距离不再变化，表明蛋白质发生了结合(如图 3-1-a 所示)。随后提取了 MD 过程最后 80 ns 的均方根位移(如图 3-1-b 所示)，分析其结合过程中整体构型的变化。根据 MD 模拟结果，发现这两种结合蛋白在长时间 MD 模拟中都产生了一定程度上的构象变化。其中 System C 的 RMSD 波动较大，标志着较大的构象变化。

一般而言,造成 RMSD 波动较大的原因主要有两种:其一是蛋白质在 MD 模拟过程中结构遭到严重破坏(如二级结构),即发生了严重的局部变形;与此相对应的是,在 MD 模拟过程中,蛋白质的局部结构保持的较好,但是蛋白分子本身各个结构域之间发生了相对运动,从而导致整体 RMSD 的波动较大。考虑到蛋白具有高极性表面,弱疏水内核的这种特点,并结合复合物结构图可以明确得出,上述两种因素共同作用使得 RMSD 波动较大,这种变化似乎很大程度依赖于蛋白质的序列组成。另外,从 RMSD 的变化可以看出,在最后 5 ns 的范围,不同体系的变化呈现相对稳定状态,而且在三个体系中,蛋白质的界面表现出高度的结构互补性,一个蛋白质表面的突起与第二个蛋白质表面的凹槽部分相匹配(如图 3-1-c、图 3-1-d 和图 3-1-e 所示),这与以往晶体蛋白的研究现象相类似^[111, 112]。

表 3-1 最后 5 ns 蛋白界面 0.6 nm 范围内残基类型及蛋白性质

Table 3-1 Residue types and protein properties within 0.6 nm of the last 5 ns protein interface

System		Polar %	Nonpolar %	Rg (nm)	Backbone Rms (nm)	Avg. HB-Number
System A	Mfp3	25	10	2.46	1.92	9.37
	Mfp3	31	10	2.11	1.94	
System B	Mfp3	44	21	2.91	2.39	12.88
	Mfp5	26	10	3.41	3.17	
System C	Mfp5	29	14	3.80	4.02	11.68
	Mfp5	41	14	3.72	3.50	
Bulk Water	Mfp3	60	40	1.41	0.29	——
	Mfp5	73	27	1.51	0.31	

对蛋白-蛋白复合物的三维结构分析表明,在蛋白-蛋白紧密相互作用的界面上普遍存在界面残基。它们既可以位于“配体”上,也可以位于“受体”上,比起简单的形状匹配,界面的组成氨基酸的性质也至关重要,是蛋白质-蛋白相互作用的关键。参与蛋白粘附的界面氨基酸比例如表 3-1 所示,可以观察到,极性残基在蛋白质之间的相互作用中发挥着重要作用,这主要是蛋白存在于水环境中,其外表面多为亲水性残基,在蛋白相互作用过程中,亲水性残基会变得异常活跃。形成蛋白复合物后,蛋白质的形状和体积发生了巨大变化(如表 3-1 所示),尤其是对于体系中有 Mfp5 的链,在溶液中比

较灵活，具有较高的柔性，整体变化比较明显，且相对于其它体系，Mfp3-Mfp5 之间氢键明显更多，这种氢键为蛋白之间的粘性贡献很大，这也似乎能合理解释自然界中 Mfp3 和 Mfp5 为什么总是作为界面粘附蛋白一起参与粘附。然而，单独氢键数量还不足以充分说明蛋白之间的粘附强弱，还需进一步分析蛋白表面之间相互作用情况。

3.2.2 蛋白界面相互作用

蛋白质与蛋白界面相互作用性质是研究蛋白复合物的关键参量，也是表征蛋白结合强弱的有力工具。为了探究蛋白之间粘性强弱，在此统计了不同体系最后 5 ns 的相互作用数据（如图 3-2-a 和图 3-2-b 所示），研究发现，蛋白复合物具有较大的接触面积与接触原子数，对于不同的体系而言，这种较大接触数目的变化趋势与蛋白本身有关，即复杂体系蛋白间更容易形成更多的有效接触。然而，接触原子数目多少似乎与相互作用强弱并非线性相关。另外，通过计算组成蛋白复合物的两条链之间的范德华相互作用与静电相互作用情况（如图 3-2-b 所示）可以得到，在模拟进行过程中，不同体系复合状态下的范德华相互作用能量只占静电贡献的一半，说明静电相互作用是引起不同复合物粘性差异的主要原因，造成这种差异是因为粘附蛋白自身带有+10 e 或+15 e 的净电荷，且在发生相互作用时，蛋白表面大多为极性残基，这些极性残基之间更容易产生氢键，从而影响蛋白复合物界面的粘性，值得一提的是，研究结果表明，不同界面结构对粘附的贡献也不同，这点将在后续内容中进行讨论。

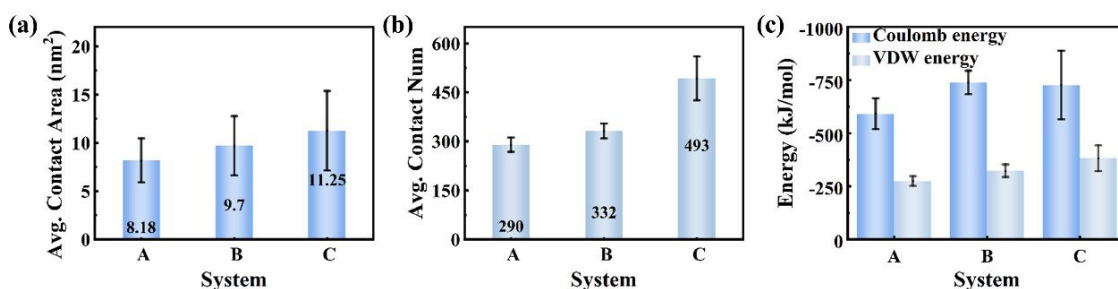


图 3-2 模拟稳定后蛋白的接触情况以及相互作用能；（a）最后 5 ns 蛋白复合物界面的接触面积；（b）接触原子数；（c）蛋白链之间相互作用能

Figure 3-2 Simulate the contact and interaction energy of proteins after stabilization; (a) Contact area of the last 5 ns protein complex interface; (b) Number of contact atoms; (c) Interaction energy between protein chains

3.2.3 界面典型结构特征

蛋白质与蛋白质之间的界面结构支持着许多生物过程。过去一些研究介绍了蛋白质-蛋白质复合物的原理和识别机制，其中大多数研究提出了位于两个相互作用蛋白界面

的氨基酸残基在识别过程中的重要性^[43, 113, 114]。类似的，本文中蛋白复合物界面处也会存在一系列的典型配对结构，这些结构的存在增强了蛋白之间的相互作用。

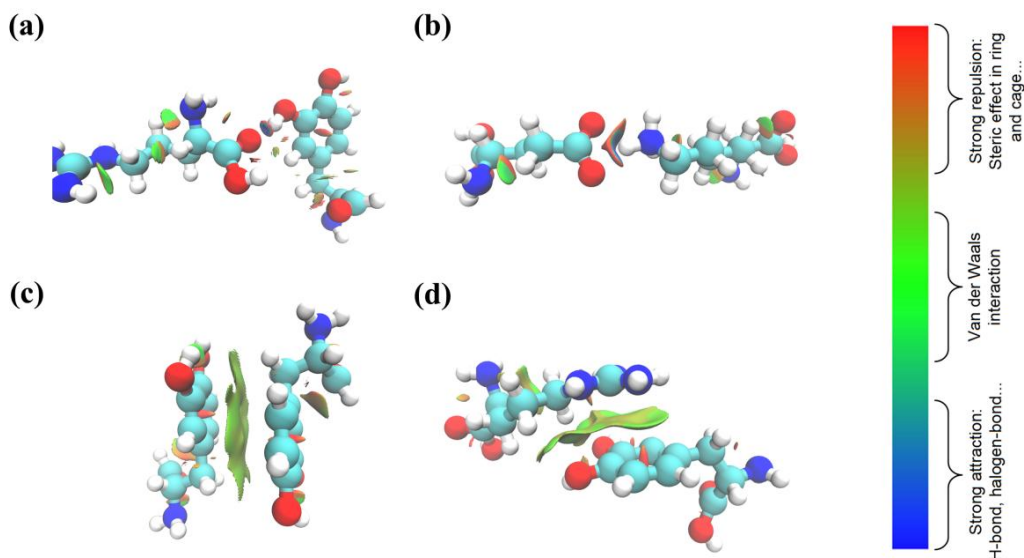


图 3-3 复合分子界面存在的四种典型结构示意图；（a）界面氢键结构；（b）阴阳离子配对结构；（c） π - π 结构；（d）阳离子- π 结构

Figure 3-3 Schematic diagram of four typical structures present at the interface of complex molecules; (a) interfacial hydrogen bond structure; (b) canal-cation pairing structure; (c) π - π structure; (d) cationic - π structure

研究发现，复合分子界面主要存在的四种典型结构，利用 RDG 函数等值面显示并确定了这些对应于弱相互作用区域的点在实空间上的位置，如图 3-3 所示，主要有界面氢键、界面阴阳离子配对（盐桥）、 π - π 作用与阳离子- π 相互作用，前两种主要是静电相互作用的形式，后两种以范德华作用为主。

（1）界面氢键与盐桥

界面残基间形成的氢键是增强静电相互作用的结构基础，对蛋白质的结构稳定起着重要的作用。三种体系中，氢键成键的类型主要有 N-H--Y 与 O-H--Y 两种（Y 为电负性原子），成键方式有主链-主链、主链-侧链、侧链-侧链三类，以供体-受体之间的距离为 0.35 nm，氢键成键角度小于等于 30° 为标准，统计的不同体系氢键概率分布如图 3-4-a 所示，整体而言，分子界面氢键大多来源于极性氨基酸，非极性氨基酸对氢键贡献非常小，且在动力学模拟过程中极易断开。而不同体系之间氢键分布差异，则主要源于体系成分不同，造成体系的性质差异较大。此外，通过统计不同氢键寿命（如图 3-4-b 所示），可以发现 System C 的蛋白之间氢键寿命最短，而 System A 蛋白之间的氢键寿命最长，结合前文中所论述的动力学过程稳定性可知，这种差异主要是由动力学过程中

结合状态决定，相对结合稳定的 System A 形成的氢键更稳定。

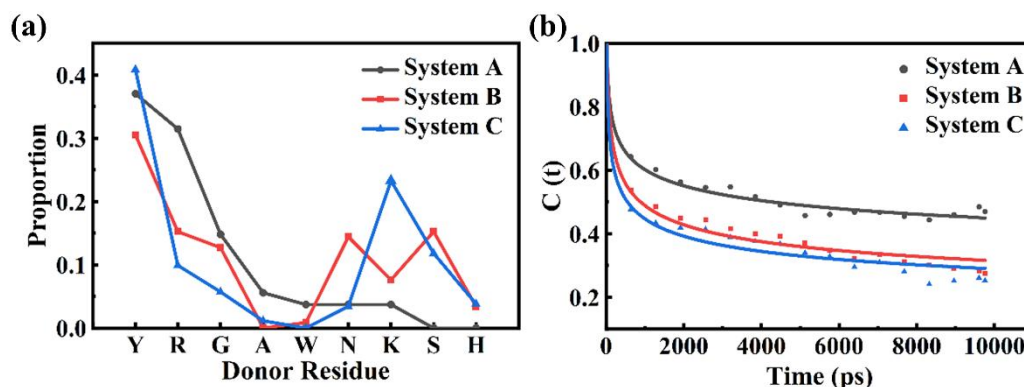


图 3-4 体系中氢键形成概率及寿命自相关函数；(a) 不同体系形成氢键供体概率分布；(b) 不同体系氢键自相关函数

Figure 3-4 Hydrogen bond formation probability and lifetime autocorrelation function in the system; (a) Probability distribution of hydrogen bond donor formation in different systems; (b) hydrogen bond autocorrelation functions of different systems

此外，本节举例了三类氢键成键方式进行展示（如图 3-5 所示），并统计了一段时间内氢键的成键距离分布概率以及不同时刻氢键占有率情况，可以看出，氢键的稳定性高度依赖于成键距离和体系状态，结合 RMSD 可以看出，在波动比较明显的体系中，氢键产生与断裂速率明显较快，占有率较低，且其稳定性与成键方式也有一定的关联。

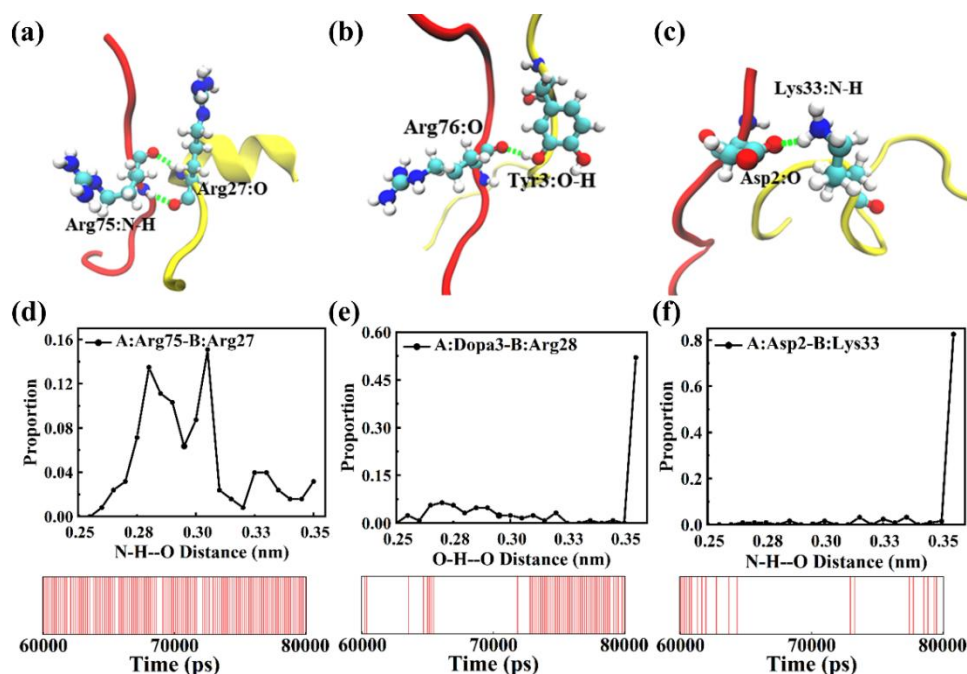


图 3-5 分子界面氢键作用示例；(a-c) 主链-主链、主链-侧链和侧链-侧链氢键示意图；(d-f) 三种类型氢键成键距离与占有率情况

Figure 3-5 Example of hydrogen bonding at molecular interface; (a-c) Schematic diagram of three hydrogen bonds; (d-f) Bonding distance and occupancy of three types of hydrogen bonds

除过氢键作用之外,研究还发现,组成蛋白复合物的单体蛋白之间也存在大量阴阳离子配对结构,即盐桥。它产生于单体分子内部或者单体分子界面,不仅有助于单体分子间结构的维持,而且在分子界面结合上也发挥一定的作用,如保持分子整体结构的刚性等(如图 3-6-a、图 3-6-b、图 3-6-c 所示)。盐桥的距离分布和占有情况同氢键类似,但是盐桥的形成条件更加苛刻,严重受氨基酸序列排布的制约,因此并不像氢键一样可以大量分布于界面。若设置截断距离为 0.4 nm,蛋白复合物中不同性质氨基酸之间形成的盐桥数目如图 3-6-d 所示,其中,带负电的谷氨酸(Glu, E)与带正电的赖氨酸(Lys, K)盐桥数目最多,因此在粘附中意义重大。有文献将持续度大于 25%的盐桥认为是稳定盐桥^[115],于是本章类似地提取 E-K 所形成的盐桥作为示例进行盐桥强度分析,从距离分布概率来看(如图 3-6-e 所示),大部分趋近小距离,这表明所形成的盐桥相当稳定。此外还统计了图中所示盐桥的占有率情况, Glu3 与 Lys6 形成盐桥占有率为 0.65, Lys34 与 Glu4 形成盐桥占有率高达 0.94,说明分子界面形成的盐桥是非常稳定的,这种高度稳定的盐桥与氢键对蛋白粘性贡献十分重要。

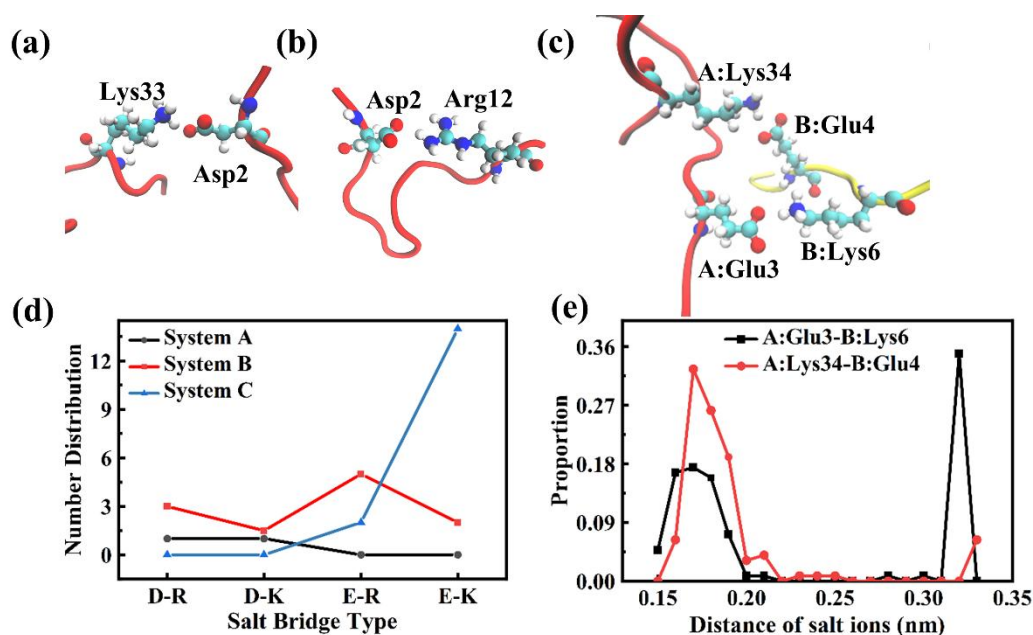


图 3-6 分子内与分子间盐桥结构示意图; (a-b) 单个分子内盐桥示意图; (c) 两分子间盐桥示意图; (d) 三个体系盐桥形成情况; (e) 典型分子间盐桥成键距离分布

Figure 3-6 Schematic diagram of intramolecular and intermolecular salt bridge structure; (a-b) Schematic diagram of intramolecular salt Bridges; (c) Schematic diagram of the salt bridge between two molecules; (d) Formation of salt Bridges in the three systems; (e) typical intermolecular salt bridge bonding distance distribution

(2) π - π 与阳离子- π 结构

除上述界面氢键与盐桥之外，蛋白复合物自身由于大量芳香基团（主要为 Dopa, Y）和带电氨基酸的存在，还会形成以 VDW 相互作用为主的 π - π 结构与阳离子- π 结构。 π - π 相互作用对于蛋白复合物界面的粘结有着重要作用，这里提取了单体形成蛋白复合物时 π - π 结构的典型结合形态如图 3-7 所示，以 System A 两对苯环为例，蛋白不仅可以形成分子内 π - π 结构（如图 3-7-a 所示），还能形成分子界面 π - π 结构（如图 3-7-b 所示），其稳定性如图 3-7-c 所示，相对于 Y25-Y25 结构，Y3 与 Y8 处于分子首端，受溶剂干扰较大，因此前期距离和角度分布均波动明显。当克服溶剂影响形成稳定结构时，角度相对更趋向 180° 排布（如图 3-7-d 所示）。一般而言，由于溶剂与蛋白的共同作用，使得 π - π 结构不易在界面稳定形成，但是，一旦形成这种结构，其苯环的疏水性会让复合物更稳定。

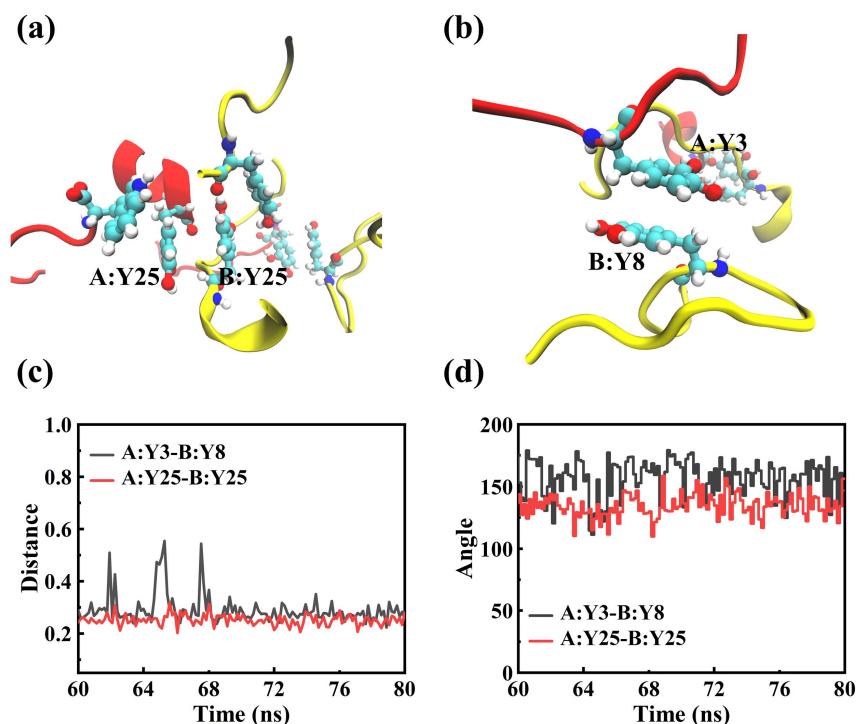


图 3-7 π - π 相互作用示意图；（a） π - π 相互作用；（b）System A 分子界面典型 π - π 结构示意图；（c）最后 20 ns 中 π - π 结构之间距离；（d） π - π 结构两苯环平面之间夹角变化

Figure 3-7 Schematic diagram of π - π interaction; (a) π - π interaction; (b) Schematic diagram of typical π - π the molecular interface of System A; (c) The distance between π - π in the last 20 ns; (d) Change of the Angle between the planes of the biphenyl ring with π - π structure

另外，研究表明阳离子- π 相互作用经常存在于蛋白质之间，对蛋白相互作用的贡献不可忽略。相比 π - π 结构，阳离子- π 相互作用形成更加苛刻，带电粒子不仅要克服溶剂的影响，还要与 Dopa 正确配位，一旦超出配对范围，更可能转化成界面氢键相互作用。如图 3-8 所示，阳离子- π 的形成距离波动范围比较广，配对结构数目在分子界面更是少

于 π - π 结构，且仅展示出较弱的范德华作用。也有研究报道了阳离子- π 结构的协同与反协同作用，这种结构具体效应需从不同的情况做以分析^[63, 116]，此处不再进行讨论。

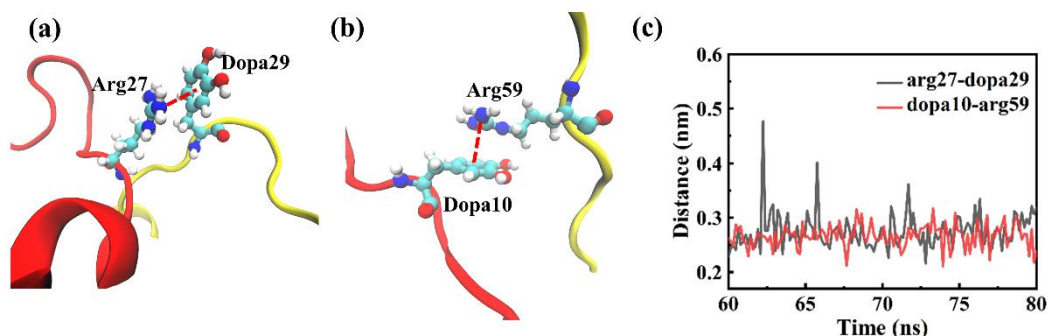


图 3-8 阳离子- π 相互作用示意图；(a-b)分子界面典型阳离子- π 结构；(c)最后 20 ns 中阳离子- π 结构之间距离变化

Figure 3-8 Schematic diagram of cation- π interactions; (a-b) typical cationic - π structure at the molecular interface; (c) The change of distance between cationic and π structures in the last 20 ns

总之，界面复杂结构是蛋白之间粘性强弱的关键因素，不同贻贝足蛋白之间的粘附强弱主要与组成蛋白分子本身的氨基酸性质和蛋白本身的构象十分相关，这无论是对于晶体结构的蛋白还是对具有生物功能性蛋白都体现的十分明显，同时，这些界面结构特点的研究对于指导新材料的合成设计至关重要。

3.3 本章小结

本章中，主要探究了 Mfps 之间粘性来源问题，根据表面粘附蛋白的分布特点，分别设计了 Mfp3-Mfp3, Mfp5-Mfp5, Mfp3-Mfp5 三种体系，从蛋白粘附稳定性，蛋白之间相互作用，蛋白粘附界面主要结构等多个方面展开全方位的阐述。通过研究发现，相互作用的蛋白呈现出明显的表面形貌互补性，复合物的稳定性与蛋白序列类型、极性残基的含量关系密切。在粘附过程中，静电相互作用是引起不同复合物粘性差异的主要原因，界面残基间形成的氢键、盐桥是增强静电相互作用的结构基础，这些丰富的界面结构对蛋白质复合物的结构稳定起着重要的作用。对于广泛研究的残基多巴，它的存在不仅利于氢键的形成，同时还在界面形成 π - π 结构极大促进了分子之间的粘结，与此同时，多巴还会与带电氨基酸在复合物界面形成相对稳定的阳离子- π 结构来稳定粘结。相关研究结果为贻贝启发仿生材料如新型水凝胶的设计提供了理论依据，为海洋防污提供理论参考。

第 4 章 贻贝足蛋白在不同表面粘附行为研究

海洋贻贝因其在潮湿和高盐化的环境中牢固地附着于各种水下基材表面而闻名。前人的研究发现贻贝利用其自身分泌的具有湿粘附性能的蛋白牢牢地附着在礁石、船体等介质表面抵抗海水的冲刷。过去三十年的研究为Mfps的粘附提供了重要信息，即粘附通过Dopa与不同底物表面的直接相互作用^[59]，例如，Mfps与羟基化二氧化硅的粘附来源于Dopa与表面羟基之间形成的氢键^[117, 118]。Mfps与金属的粘附来自于Dopa与表面金属离子的螯合，一些金属离子也可以使Mfps本身交联，形成更致密的结构^[119, 120]。然而，氢键相互作用和螯合作用还不足以解释粘附蛋白的强粘附能力^[18, 52, 121]。此外，最近的理论和实验研究也表明，除了Dopa外，其他氨基酸（如赖氨酸）在粘附中也有贡献，但它们对粘附相互作用的具体影响仍存在争议^[63]。此外，对于那些通常用作防污涂料、具有抗菌活性且能减少生物膜形成的防污涂层而言，Mfps在其上的粘附细节至关重要，直接关系到防污涂层的设计，但以往研究很少去揭示Mfps在不同抗菌涂层表面的粘附行为。因此，全面了解Mfps在不同防污涂层上的结合能力，特别是在分子水平上了解序列中一些残基在粘附时的贡献对于海洋防污而言异常重要。

为了研究Mfps与基体表面的特殊粘附效应，考虑到蛋白质的复杂性及其与表面相互作用的多样性，我们采用全原子分子动力学模拟方法，研究了Mfps在铁表面、二氧化钛表面和石墨烯表面的动力学过程、结构特征和表面水化层。在这项工作中，我们不仅揭示了蛋白在海洋环境中对不同化学表面的粘附特性和分子链中其他氨基酸在粘附过程中的作用以及粘附特点，还对不同表面防污性能进行讨论。这对宏观生物污垢的控制、新型水下胶粘剂的开发和生物技术的应用都具有重要意义。

4.1 模拟设置

模拟中用到的蛋白模型和表面模型详见第二章（如图 2-2 所示），本章中，为了研究Mfps与不同涂层表面之间的粘附细节与粘附机理，总共设计 6 个模拟体系，考虑到海洋工程中金属材料以及常用来构筑功能性表面的纳米材料，在此选用金属铁、亲水性二氧化钛和疏水性石墨烯为代表性表面，将Mfp3 和Mfp5 分别放置在三种表面上，研究表面粘附蛋白在不同化学性质表面的粘附行为。建模过程中盒子尺寸三维方向分别设置为 8.2 nm、8.2 nm、9.3 nm，预平衡处理后，总共进行了 60 ns的NVT动力学模拟，每个体系进行了多次重复模拟，保证了数据规律的准确性，文中所有数据提取工具为

GROMACS内置命令以及自编脚本。

4.2 结果与讨论

4.2.1 蛋白在不同表面上粘附行为

为了揭示蛋白质在不同涂层表面的粘附机理，首先观测了蛋白质的粘附过程。在此提取了Mfps在不同表面质心随时间的变化图像（见图 4-1-a和图 4-1-c所示），并用VMD可视化快照监测了整个分子的粘附情况（见图 4-1-b和图 4-1-d所示）。三种表面上，两种蛋白在 T_1 到 T_2 之间质心波动较大，说明Mfps粘附时会进行构象调整以达到最佳粘附取向。随着模拟的进行，Mfps在铁和石墨烯表面的粘附变得更加稳定（ T_3 ~ T_4 阶段，质心几乎不变），蛋白质分子表现出明显的“平铺”式粘附。相比之下，二氧化钛表面的质心一直较高，这是由于二氧化钛具有较强的亲水性，Mfps很难作为一个整体“平铺”在表面，只有少数几个带有亲水基团的残基起主要的粘附作用，且结合质心变化曲线可以看出，这种粘附状态极不稳定。此外，从模拟快照中（见图 4-1-b和图 4-1-d）能明显看到蛋白粘附时分子构象发生了变化，这种变化可能有利于自然界中蛋白在不同表面的最佳粘附。

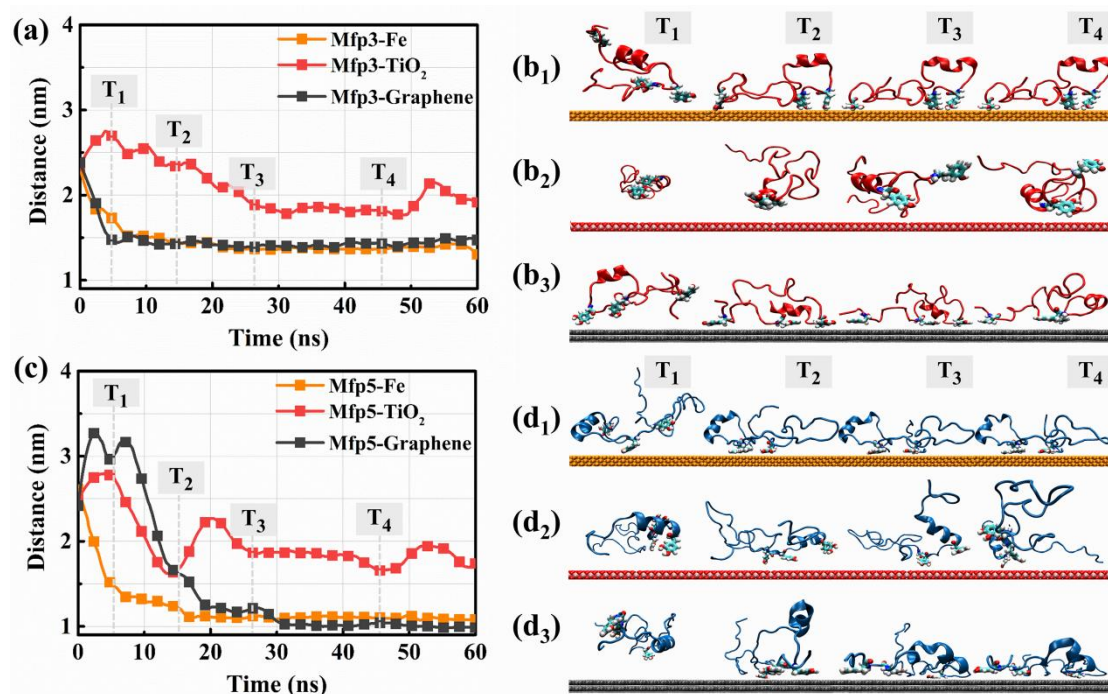


图 4-1 蛋白质动力学过程中质心变化及对应的过程快照；（a/c）Mfps 与表面质心距离；（b/d）Mfps 在不同表面粘附快照

Figure 4-1 Centroid distance and snapshot of protein; (a/c) Distance between Mfps centroid; (b/d) Mfps adhere to snapshots on different surfaces

4.2.2 蛋白在不同表面粘附时的结构特征

以往的实验研究表明，Mfps的粘附能力随材料表面的不同而不同^[45]。在本章模拟中观察到蛋白分子Mfp3和Mfp5能够吸附在不同的表面上，但稳定吸附时构象有明显的不同。为了确定材料的表面对Mfps的粘附时的结构影响，研究了Mfps的吸附构象特征（如图4-2所示）。

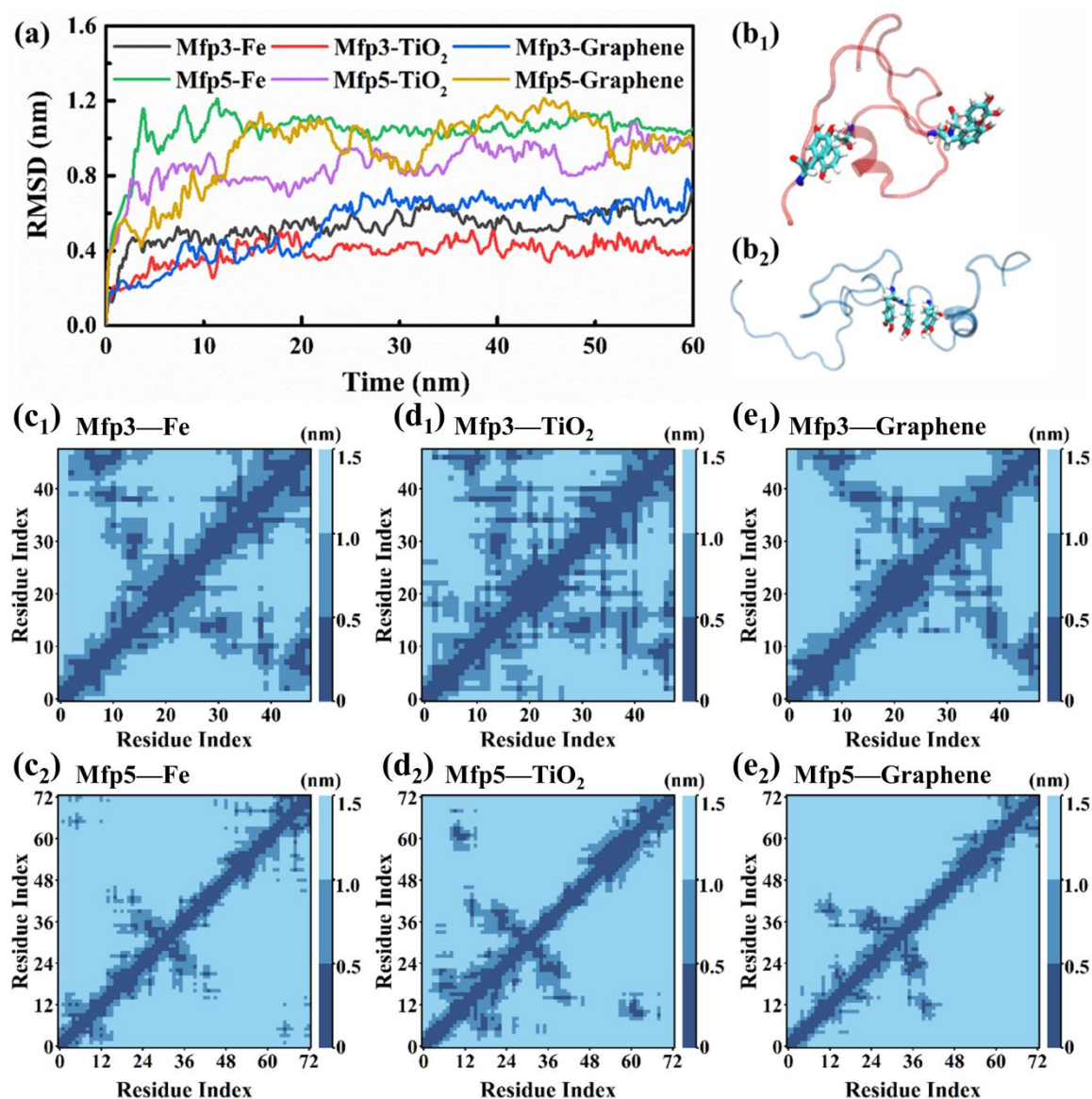


图 4-2 Mfps 粘附过程结构特征图；（a）Mfps 的 RMSD 随模拟时间的变化；（b）Mfps 在 TiO₂ 表面粘附的快照；（c-e）在最后 2 ns 时间内 Mfps 残基之间的平均距离分布

Figure 4-2 Structural characteristics of Mfps adhesion process; (a) The change of RMSD of Mfps with simulation time; (b) Snapshot of Mfps adhesion on TiO₂ surface; (c-e) The average distance distribution between Mfps residues in the last 2 ns time

首先对Mfps在粘附过程中的均方根偏差（RMSD）进行了分析，如图4-2-a所示。

RMSD曲线表明,6个体系中Mfps的构象变化在20 ns后变化趋于相对平缓。由于序列较长,结构灵活,Mfp5的结构比Mfp3更松散,其构象变化比Mfp3强烈,这种差异来自于不同表面的粘附方式差异。在铁和石墨烯表面粘附时,Mfp3和Mfp5分子总会尽可能接触表面,这会使得不同时间段每个氨基酸总会以最大程度偏离初始位置,从而与表面接触,所以会出现RMSD曲线波动,在二氧化钛表面粘附时,Mfp3结构变化较小,主要是受自身序列中Dopa的影响,在这里,Dopa不仅参与表面粘附,还会自身之间形成 π - π 相互作用来稳定自身结构(如图4-2-b₁所示),所以Mfp3的RMSD波动较小。而Mfp5中虽然Dopa也会形成 π - π 相互作用稳定结构(如图4-2-b₂所示),但由于序列较长,结构灵活以及弱疏水内核,故而不容易形成稳定结构体,具体表现为模拟过程中结构的波动较大。

进一步,本节对稳定粘附时蛋白质残基之间的分布特征进行了探索(如图4-2-c、图4-2-d和图4-2-e所示)。横坐标和纵坐标表示蛋白质分子中的残基索引。浅蓝色区域越大,蛋白质在表面的分布就越广。显然,在铁与石墨烯表面,呈现明显的“平铺式”粘附,在两种表面上,大距离颜色分布较广,结合RMSD变化说明蛋白在这两种表面上粘附时结构具有灵活性和延伸性。在二氧化钛表面,Dopa与表面氢键结合非常弱,Mfps很难整体“平铺式”粘附在表面,使蛋白质分子变得刚性而紧凑,因此小距离颜色分布较多。这些观察结果表明,Mfp3和Mfp5的吸附从一个致密构型开始, π - π 叠加需要被破坏才能达到最佳吸附构型。相比于Mfp5,Mfp3整体而言结构始终比较稳定,发生结构间相对运动的概率较低,故而Mfp3的RMSD总是低于Mfp5的。

4.2.3 蛋白中各个氨基酸动力学特征

组成蛋白质的氨基酸在蛋白粘附过程中至关重要,于是,进一步探究了各个氨基酸在整体粘附中的作用,而氨基酸的侧链性质决定了氨基酸表面粘附特点,故对每个氨基酸的侧链接触情况进行统计。图4-3为不同蛋白质分子的所有残基与表面接触距离随时间的变化,当残基与表面的距离小于0.6 nm时,认为是强粘附;当残基与表面的距离为0.6 nm~1.2 nm时,认为弱粘附;而当距离大于1.2 nm时,即不粘附。从图中可以直观的看出每个氨基酸在模拟过程中与表面开始接触的时刻及持续性情况,结果显示,Mfp3和Mfp5在铁和石墨烯表面上深色区域较多,说明这个过程中接触残基比较多,而且随着时间的变化深色区域一直持续,则表明粘附比较强烈且稳定,而且整个粘附过程来看,似乎大多数氨基酸参与了表面粘附。在二氧化钛表面则浅色区域较多,说明此表面上蛋

白质残基侧链远离表面，即很少稳定粘附，且通过颜色变化可以发现，粘附过程中只有少数几个氨基酸的参与。

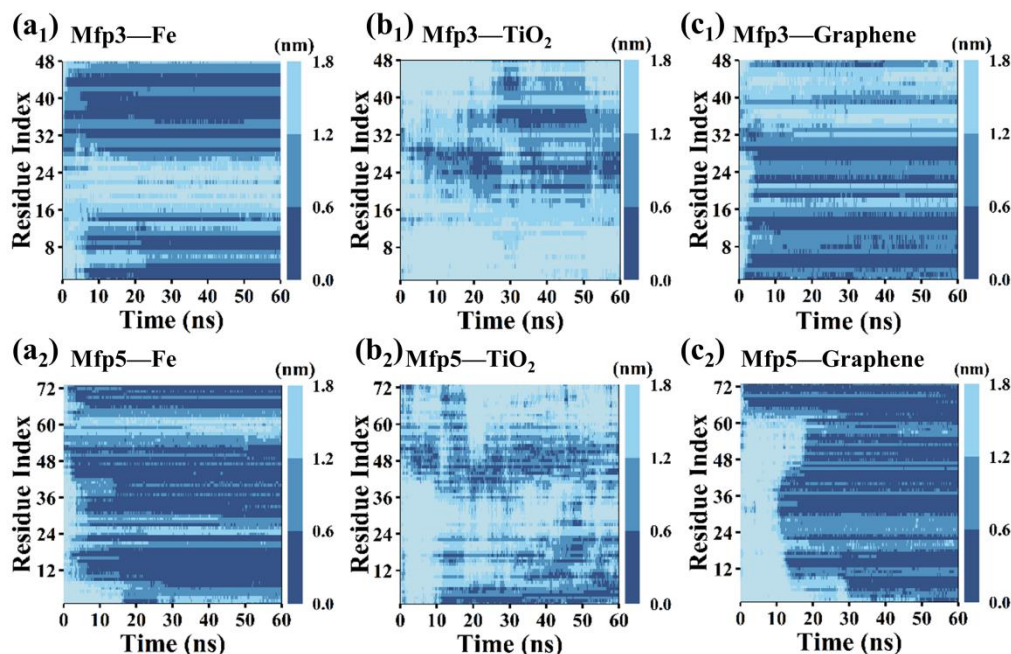
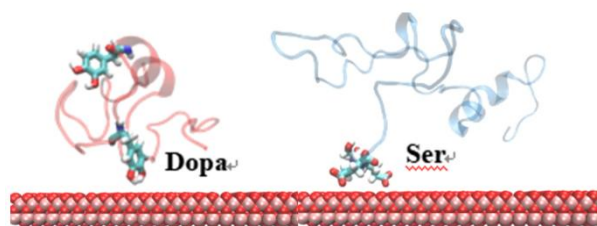


图 4-3 Mfps 每个氨基酸在粘附过程中动力学行为；（a）Mfps 残基与铁表面距离随时间的变化；（b）Mfps 残基与 TiO_2 表面距离随时间的变化；（c）Mfps 残基与石墨烯表面距离随时间的变化

Figure 4-3 Kinetic behavior of each amino acid in Mfps during adhesion; (a) The variation of distance between Mfps residue and iron surface with time; (b) The change of distance between Mfps residues and TiO_2 surface with time; (c) Change of distance between Mfps residues and graphene surface over time

值得注意的是，铁表面粘附的Mfp5 与Mfp3 大规律相似，不同之处在于Mfp5 接触残基中含有大量甘氨酸。一方面，甘氨酸的到达时间总是滞后于邻近氨基酸，这似乎表明甘氨酸是受邻近氨基酸驱动的。另一方面，从分子性质上看，甘氨酸属于疏水氨基酸，但它的侧链非常特殊（只有一个H原子），往往认为它对粘附作用不大，只参与链间蠕动，从而增加了分子链的灵活性，并极大地促进了分子与表面之间形成更稳定的键。当Mfp5 粘附在石墨烯表面时，精氨酸却是首先到达石墨烯表面（如图 4-3-c₂ 所示），随后，Mfp5 中的Dopa、丙氨酸、天冬酰胺、赖氨酸等也会由于其本身的疏水性，相继驱除表面水并到达石墨烯表面，辅助蛋白质粘附。

Mfps在 TiO_2 表面粘附时所呈现的现象与在铁和石墨烯表面粘附时明显不同，蛋白质在亲水表面粘附时受其分子链中亲水性基团影响巨大，这些亲水基团会与表面形成氢键相互作用，但少量的氢键对于粘附是极其不稳定的。且反复模拟表明除过Dopa之外，丝氨酸也参与了表面粘附，可视化快照如图 4-4 所示。

图 4-4 TiO_2 表面亲水性基团的粘附Figure 4-4 Adhesion of hydrophilic groups on TiO_2 surface

另外，对上述过程中表面接触残基进行统计（如表 4-1 所示）后发现，亲水性氨基酸确实在表面粘附过程中所占比例很高。特别是在亲水性表面，亲水性残基表现出很大的粘附优势。进一步发现，在这些异常高的亲水性残基中，Dopa所占的比例非常高。结合动力学过程可以看出，Dopa出现在多个系统粘附过程中，在分子与表面的相互作用过程中发挥重要作用。

表 4-1 Mfps 在铁、二氧化钛、石墨烯表面粘附时残基类型

Table 4-1 Residue types when Mfps adhere to iron, titanium dioxide and graphene surfaces

Type	Mfp3			Mfp5		
	Fe	TiO_2	Graphene	Fe	TiO_2	Graphene
Hydrophobic residues %	12.5	0	10.4	13.7	0	12.3
Hydrophilic residues %	27.1	4.2	18.8	42.5	4.1	38.4

为了从分子粘附方面更进一步了解Dopa的特点，提取了Mfps在不同表面粘附时Dopa与表面接触角度的变化。以Mfp3 在铁表面粘附为例，选取了序列中的三个Dopa（Y3，Y29，Y32）进行观察（如图 4-5-a₁ 所示），Y3 靠近分子链的一端，最先到达表面。它在分子链之间较少受到其他氨基酸的限制，因此非常灵活，可以最大限度地附着在表面上。而且，邻苯二酚与衬底表面的夹角仅为 5° 左右（如图 4-5-a₁ 所示）。对于Y29 和Y32，由于它们处在分子链的中间，受到相邻氨基酸位阻明显，因此可能不像Y3 那么灵活。此外，结合图 4-3-a₂ 可以看出，在粘附过程中，Dopa与底面的夹角经过链间调整逐渐稳定在一个较小的值（如图 4-5-a₂ 所示），这也说明Dopa在铁表面的粘附方式几乎是平行表面粘附；在石墨烯表面，Dopa与石墨烯的夹角约为 $7^\circ \sim 8^\circ$ ，也是呈小角度，接近于平

行；在二氧化钛表面，由于Mfps粘附不稳定，多巴与其它亲水氨基酸交替粘附，所以与表面夹角变化似乎没有明显规律，然而，一旦Dopa锚定在表面上，将会很大概率垂直表面粘附（见图 4-4 所示）。

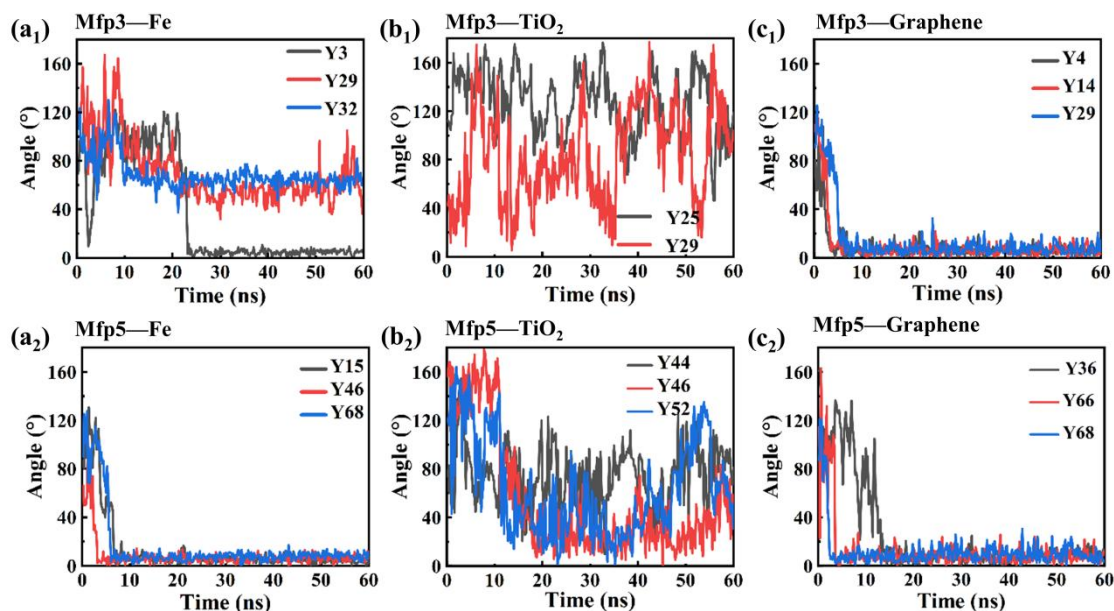


图 4-5 Mfps 中选取的 Dopa 苯环与表面接触角度变化过程；（a-c）Mfps 在铁、二氧化钛和石墨烯表面粘附时 Dopa 与表面夹角随时间的变化

Figure 4-5 Change process of contact angle between the selected Dopa benzene ring and the surface in Mfps; (a-c) The change of the Angle between Dopa and graphene surface with time during adhesion of Mfps to iron, titanium dioxide and graphene surface

综上所述，贻贝在不同表面具有不同的粘附能力，其内部机制非常复杂，这种粘附与Dopa的特性有关。对于一般的疏水表面粘附，主要是Dopa与表面的疏水或 π - π 相互作用，而亲水表面粘附主要是Dopa或亲水残基与表面的氢键相互作用。此外，Dopa作为重要粘附基团，可以与其他氨基酸一起促进界面粘附。除此之外，芳香残基主要通过去除界面水来促进粘附，一些分子链上含有亲水性基团的氨基酸可能在亲水性表面上具有与Dopa相同的竞争优势，所有现象都与表面性质有很大关系。

4.2.4 不同表面水化层特点

Mfps在不同表面上的不同特性给我们带来了一个有趣的问题：影响Mfps粘附过程的主要因素是什么？为了进一步探究粘附过程的机理，对经典水化层理论进行了讨论。根据水化层假说，在水环境中，蛋白质和基质表面会根据亲水性的不同，在其周围形成密实程度不同的溶剂层。当蛋白质与表面相互作用并粘附时，它首先会破坏表面和自身周围的水膜。众所周知，粘附在表面上的水与本体水在结构上是不同的^[67-70]。这里，我们

主要分析了不同表面水的密度分布（如图 4-6 所示），所有情况下均观察到水化层，密度剖面峰值随表面类型的不同而不同。可以观察到，铁（见图 4-6-a₁ 所示）和石墨烯（见图 4-6-a₃ 所示）表面出现了两个峰，分别代表第一水化层和第二水化层。在二氧化钛表面只形成了一个水化层（见图 4-6-a₂ 所示），这与之前研究相一致^[122-125]。同时散装水的密度分布也验证了模型的合理性。一般认为粘附蛋白需要突破水化层才能达到有效的粘附作用。因此，Mfp3 和 Mfp5 在铁和石墨烯上粘附后，分布剖面的峰值相应降低（如图 4-6-a₁ 和图 4-6-a₃ 所示）。此外，由于 Mfp5 的分子尺寸较大，在 Mfp5 粘接后峰值的下降更为显著，说明 Mfp5 相比于 Mfp3 粘附效果更好。为了理解水化层，进一步计算了水与表面之间的相互作用能，如图 4-6-b 所示。在所有情况下，随着 Mfps 的粘附，水与表面的相互作用减小，尤其是 Mfp5 粘附后减小更大，说明这种现象十分依赖于蛋白分子质量与序列结构。

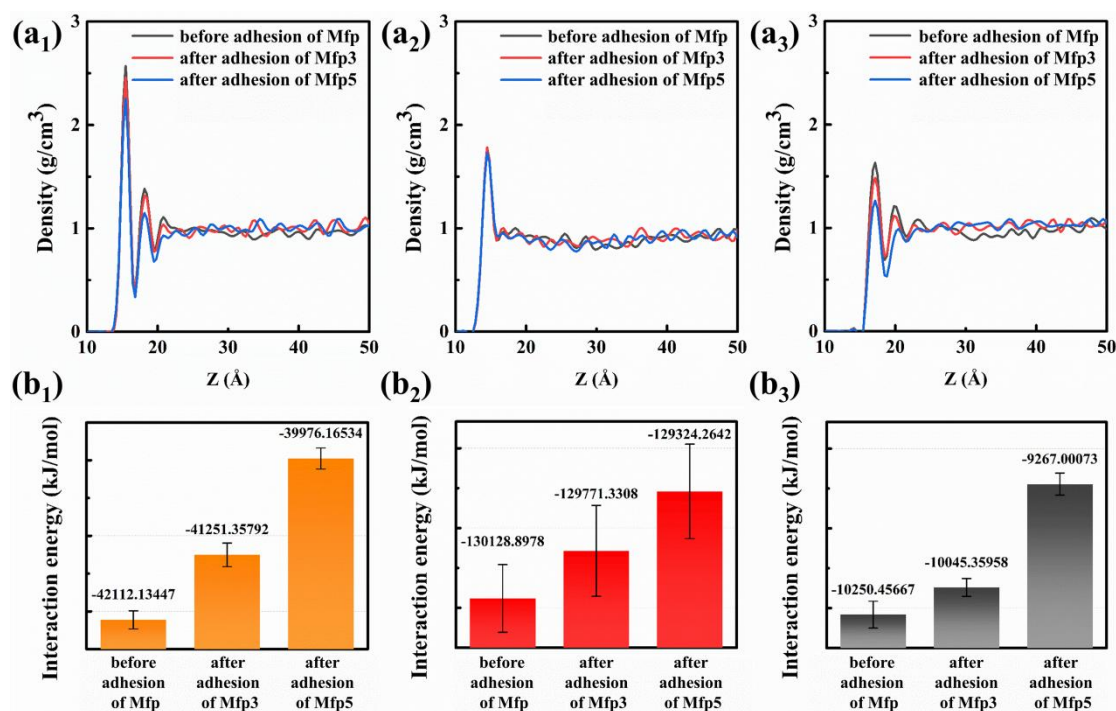


图 4-6 Mfps 粘附前后表面水性质；（a₁-a₃）三种表面的水密度分布；（b₁-b₃）水与三种表面的相互作用能

Figure 4-6 Surface water properties before and after Mfps adhesion; (a₁-a₃) Water density distribution on three surfaces; (b₁-b₃) Interaction energy between water and surfaces

另外，在模拟快照中可以直观地观察到水化层的破裂（选择表面 0.65 nm 内的水分子绘制，如图 4-7-a、图 4-7-b 和图 4-7-c 所示）。水化层的破裂表明 Mfps 与表面直接相互作用（如黄色箭头所示）。为了定量分析 Mfps 与表面的接触，定义了水化层破坏面积（Damaged Hydration Area, DHA）作为评价水化层破坏程度的参数。其公式为

$$DHA = (SAS_{protein} + SAS_{surface} - SAS_{complex})/2$$

其中 $SAS_{protein}$ 、 $SAS_{surface}$ 和 $SAS_{complex}$ 分别为单独的Mfps、单独底物表面和蛋白质-表面复合物的溶剂可及表面（SAS）面积。随着模拟的进行，可以发现Mfps对铁和石墨烯表面水层的破坏比较明显，Dopa等疏水性氨基酸主要通过去除界面水，介导蛋白与界面的粘附，且通过计算可以看出，Mfp3 和Mfp5 在铁表面的接触面积分别收敛到 8 nm^2 和 17 nm^2 。在石墨烯表面分别收敛到 10 nm^2 和 28 nm^2 。而二氧化钛表面的水层比较完整，主要是粘附能力较弱(少量的氢键)，无法使蛋白质与表面建立较强的联系。即使少量氨基酸突破水层与表面接触，水分子在运动过程中也会轻松去除这种弱粘附，从而保持水膜的完整性，最终两种蛋白的接触面积收敛于 0.6 nm^2 和 2 nm^2 ，且达到收敛时，Mfps与表面相互作用情况如图 4-7-d所示，相对而言，分子量大的Mfp5 去除表面水的能力更优异，且与表面相互作用更强。此外，考虑到Mfps粘附前后的接触面积和水相互作用能的变化，虽然二氧化钛表面只有一个明显的水化层，但表面水密度远高于石墨烯表面，蛋白很难突破水层粘附在上边，这是Mfps在不同防污涂层表面的粘附特性和粘附强度不同的原因之一。另外，研究结果也说明，Mfps在亲水性功能表面更加不易粘附，这为相关涂料的设计提供一定的理论参考。

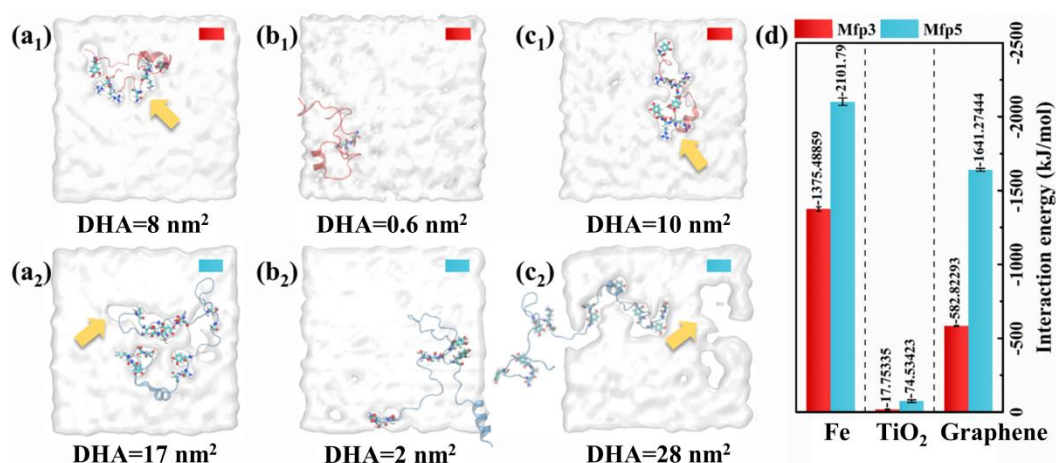


图 4-7 Mfps 粘附后对水化层的破坏情况及粘附稳定时的相互作用能；（a-c）Mfps 粘附后水化层破裂图片；（d）Mfps 与不同表面之间的相互作用能

Figure 4-7 Damage to the hydration layer after Mfps adhesion and interaction energy when adhesion is stable; (a-c) Pictures of fracture of hydration layer after Mfps adhesion; (d) Interaction energy between Mfps and different surfaces

4.3 本章小结

表面粘附蛋白Mfp3和Mfp5在抗菌涂层表面的粘附分子机制尚未充分了解,阻碍了海洋宏观生物污染的防治过程。为了探明Mfps在功能性表面的结合特点及序列中某些残基在表面粘附时的贡献机制,本章工作选取了三种常见的海洋工程中常用的表面进行探究。研究发现,Mfps在不同基质上的粘附性能决定了其粘附机理和粘附特性,当Mfps粘附在金属铁和石墨烯表面时,由于特殊的金属- π 相互作用和 π - π 相互作用,Dopa可以很容易地突破表面预吸附的水,从而稳定粘附在表面,这种效应比氢键相互作用强。一旦粘附稳定,贻贝的蛋白质结构呈现“凝固”状态。Mfps对二氧化钛涂层的附着力最差,粘附主要来自蛋白质分子亲水性官能团与表面的氢键和静电相互作用,但这种弱粘附很难突破表面水层,而且在运动过程中会被体相自由水剥离,故而粘附不稳定。值得一提的是,除Dopa外,其他氨基酸的影响方式较为复杂,芳香残基主要通过去除界面水来促进粘附,一些分子链上含有亲水性基团的氨基酸可能在亲水性表面上具有与Dopa相同的竞争优势,所有现象都与表面性质有很大关系。研究结果可为海洋防污涂料及水下胶粘剂的开发提供有价值的参考。

第 5 章 超滑/超亲水表面对贻贝足蛋白粘附行为的影响研究

贻贝接触表面进行粘附时，会伸出许多细长的足丝，从足丝分泌大量的非特异性足丝蛋白，进而与不同表面产生粘附，人们根据其粘附特点，已经发展了各种防污策略，如防污涂料涂装、海水间歇加热、超声波振动等^[126]。单从涂层防污层面来讲，目前已经发展了多种具有实际应用价值的防污涂层^[127]，从性质上来说主要有两类，亲水性防污材料^[69, 128]与疏水性防污材料^[75]。其中，已经证明亲水性材料具有一定的防污效果，常见的有 PEG 及其衍生物，但是 PEG 等自身氧化作用会使防污效果下降，这限制了其进一步应用^[71, 72, 129]。此外，人们发现，某些含有交替阴离子和阳离子基团的两性离子聚合物刷在防止生物粘附方面具有良好的化学稳定性和良好的防污活性，这种超亲水材料由带电基团的溶剂化形成比较强的表面水化作用，借助于氢键，能够有效阻止蛋白质的吸附^[67]，然而，在实际应用中对这种材料分子间会相互渗透，造成防污效果下降，导致实际应用难度较大。随着研究更加深入，人们发现，超亲水性表面材料使用 POEGMA 似乎能减弱上述聚合物与污染剂相互渗透问题以及容易氧化的问题，唯一不清楚的是 POEGMA 超亲水聚合物涂层是否和聚合物刷一样，具有相似的防污效果。此外，目前实验室研究的新型仿生超滑液体注入表面的防污涂层（超滑表面）已经显示出良好的性能，无论是对细菌还是宏观生物贻贝都具有防治效果^[73-75]。然而，这种与亲水表面性质完全不同的涂层，人们对其防污机理的认识还不太清楚，这阻碍了其在海洋防污领域的发展应用，因此，进一步探索超滑液体注入表面的防污机理与防污特点，对海洋防污新方法的发展以及实际推广应用具有重要意义。

综合当前防污策略的研究现状及存在问题，在该部分研究了超滑与超亲表面抑制 Mfp3 粘附机制，通过研究 Mfp3 和 Mfp5 在不同表面粘附过程与结合状态等性质来表明模拟结果与实验结论有着内在一致性；从超滑与超亲表面表面水分布特点和水与表面作用性质角度入手，阐述不同表面的性质特点，进而揭示不同表面防污机理，以期为海洋防污提供理论依据。

5.1 模拟设置

模拟中用到的蛋白质模型和表面涂层模型详见第二章（如图 2-2、图 2-3 所示）。本章节中，为了研究仿生超滑液体注入多孔材料表面和超亲水聚合物材料对海洋生物粘附的抑制机理，总共设计 6 个模拟体系：即分别探究了 Mfp3 在二氧化硅、涂覆有硅油

的超滑表面及涂覆有超亲水聚合物材料的表面上的粘附行为和 Mfp5 在二氧化硅、涂覆有硅油的超滑表面及涂覆有超亲水聚合物材料表面上的粘附行为。建模过程中盒子尺寸三维方向分别设置为 9.8 nm、9.8 nm、15.6 nm，使用 Berendsen 压力控制器进行平衡体系压力，预平衡处理后，总共进行了 80 ns 的动力学模拟，每个体系进行了多次重复模拟，保证了数据规律的准确性。文中所有数据提取工具为 GROMACS 内置命令以及自编脚本。

5.2 结果与讨论

5.2.1 蛋白在不同表面水粘附动力学行为

分析蛋白质与表面之间的粘附现象，有利于人们寻找合适的聚合物材料来阻止蛋白粘附，从而减少海洋海运过程中海洋生物对海洋设备的腐蚀。对 Mfps 而言，它在不同表面上是否稳定粘附与表面材料的防污特性密切相关，了解蛋白质在不同体系中的动力学过程更是对材料防污效果的评价意义重大。为了证实本章节的研究结果与实验研究结果相一致，在此提取了整个动力学过程中蛋白质与材料表面接触距离（如图 5-1-a、图 5-1-b 和图 5-1-c 所示）与原子数（如图 5-1-d 和图 5-1-e 所示）随时间的变化关系图，以原子间距离不大于 0.6 nm 为截断值来统计接触原子数（如图 5-1-f 所示），所得数据如图 5-1 所示。总的来说，整个动力学过程大致可以分为两个阶段，即吸附构象调整阶段和蛋白粘附（或不粘附）阶段。前一阶段大概发生在起始 5 ns 的范围，三种表面上蛋白与表面间的距离和接触原子数均呈现明显的变化，此时，蛋白质会通过旋转来调整自身结构状态，以便与表面进行最大程度的结合，第二阶段中，蛋白受到表面材质的影响，会发生粘附（或不粘附）行为。

从动力学过程与接触原子数都可以观察到，初始阶段，蛋白质在表面会进行一定的吸附取向调整，随后才会在与表面相互作用下呈现不同现象，具体来说，两种表面粘附蛋白 Mfp3 和 Mfp5 在裸二氧化硅表面都表现出粘附行为，接触原子数远远高于其他两表面，而且随着时间的推移，这种粘附状态会越来越稳定，但是在涂覆了超亲水聚合物和硅油的表面很少或者几乎不粘附。而动力学模拟的最大优势在于可以从微观状态观察体系的动态变化，为了更加直观地观测蛋白粘附前后的状态，本工作中用可视化软件 VMD 抽取了蛋白体系不同时间段动力学状态快照（见图 5-2 所示），可以看出，在普通二氧化硅表面始终表现出良好的粘附能力，在超滑表面与超亲水表面蛋白质经过一段时间后会远离表面，即表现为不粘附，这些模拟现象与实验研究结果相一致^[75]。

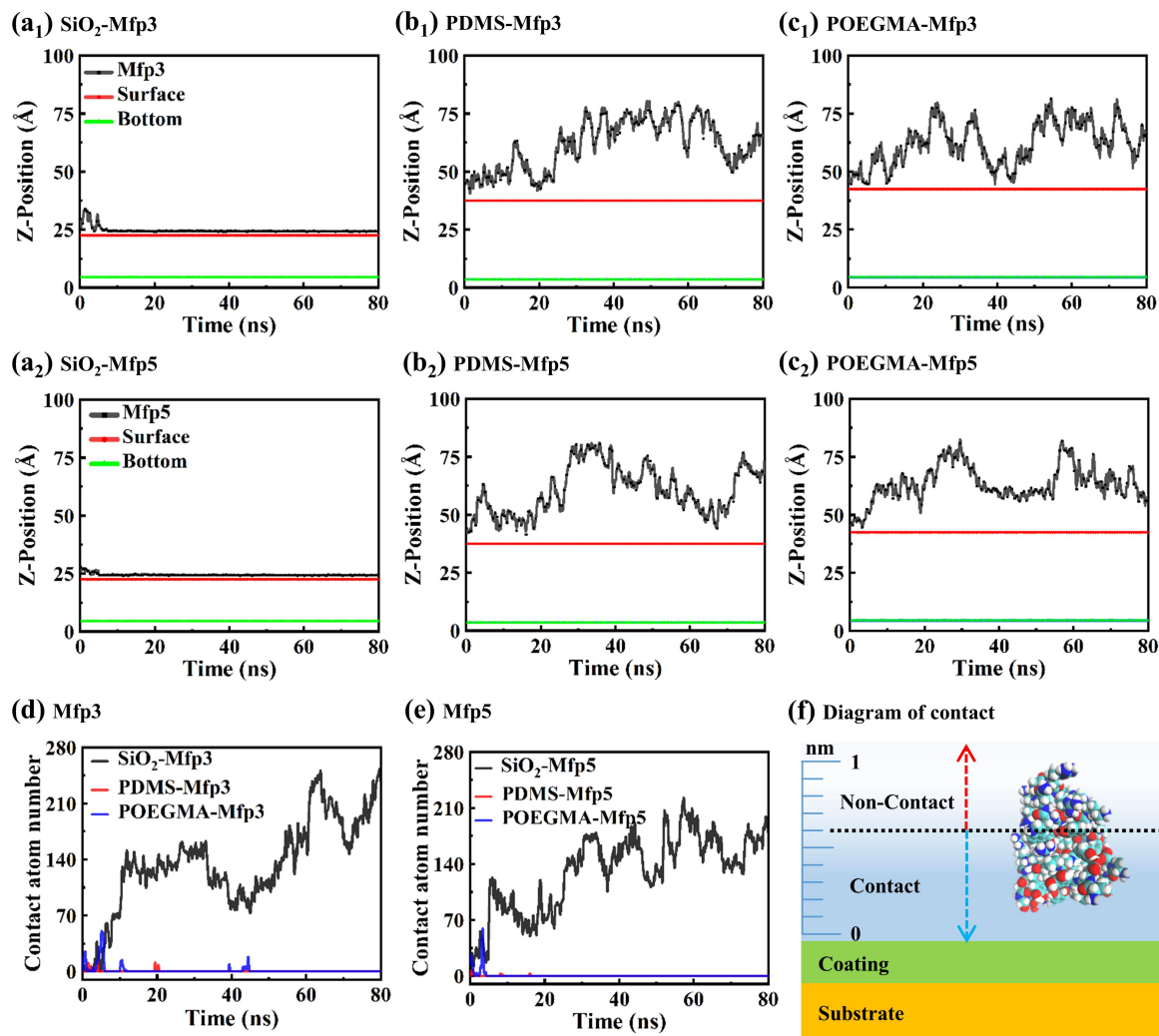


图 5-1 Mfps 在三种表面上的粘附行为及蛋白与表面原子接触情况；（a-c）Mfp3 和 Mfp5 在三种表面上的粘附行为；（d-e）Mfp3 和 Mfp5 在三种表面上接触原子数；（f）接触原子数判断示意图
 Figure 5-1 Adhesion behavior of Mfps on three surfaces and contact between proteins and surface atoms; (a-c) Adhesion behavior of Mfp3/Mfp5 on three surfaces; (d-e) The number of contact atoms between Mfp3/Mfp5 on three surfaces; (f) Schematic diagram for the number of contact atoms

除此之外，从动力学可视化过程中（如图 5-2 所示）很明显可以看到不同体系中蛋白质经过一段时间后其构象发生了巨大转变，这种转变对于蛋白质的表面粘附（或不粘附）具有十分重要的意义。以不同体系蛋白质的 RMSD 用来衡量其在模拟过程中构型的变化，RMSD 越小，表明蛋白质模拟过程中结构变化不大，相反，则表示发生了巨大的结构变化；如图 5-3 所示，初始 5 ns 内，蛋白质距离表面比较近，在表面相互作用的影响下，蛋白质调整吸附方向与状态，故而发生了第一次明显的结构变化。随着模拟过程的进行，又开始出现不一样的现象：Mfps 在普通二氧化硅表面与超疏水表面上结构变化较小，而在超亲水表面上，发生了较大的结构变化，这主要由于 Mfps 结构本身具

有的高极性表面以及弱的疏水内核，在水溶剂体系中运动时不容易维持稳定的构象，尤其是在超亲水表面，蛋白质构型不仅受到材料表面相互作用的影响，而且表面特殊的水分布更是影响了蛋白质构型以及运动状态，因此，在一个含有超亲水表面的粘附体系中，这种无序蛋白很难保持构型不变，但在其他体系中，这种影响似乎弱很多。

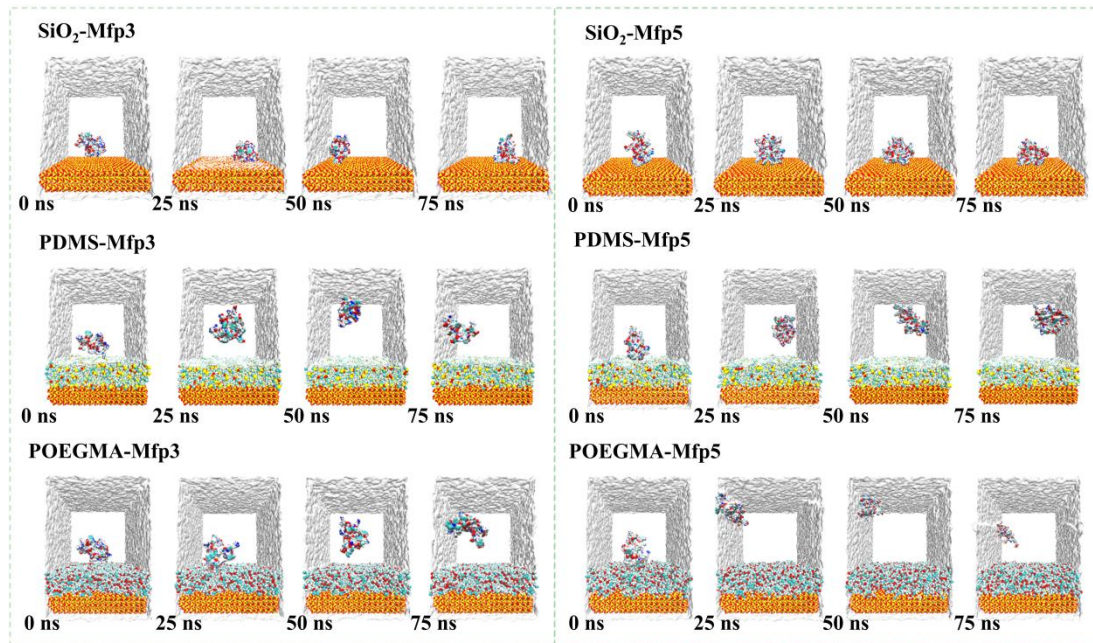


图 5-2 Mfps 在三种表面上的粘附行为过程快照

Figure 5-2 Snapshot of the adhesion behavior of Mfps on three surfaces

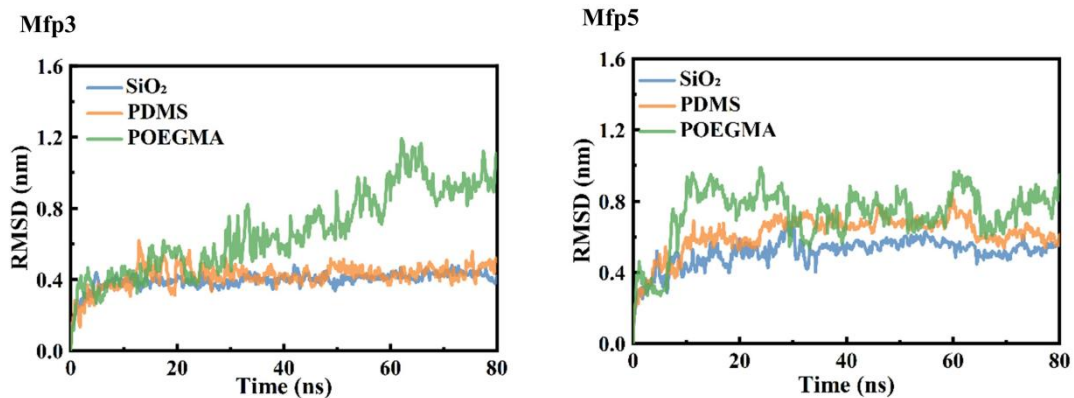


图 5-3 Mfps 粘附过程中 RMSD

Figure 5-3 RMSD of Mfps adhesion

5.2.2 蛋白与表面之间的相互作用

进一步，为了更清晰不同时刻 Mfps 与表面之间的粘附能力大小，在此分析了动力学过程的相互作用能量（如图 5-4-a₁ 和 5-4-a₂ 所示）。主要包括范德华作用和库伦相互作用（如图 5-4-b₁ 和 5-4-b₂ 所示），数据表明，无论是从总的相互作用能还是相互作用

能分量角度，贻贝足蛋白始终与二氧化硅表面具有较强的相互作用，在超亲水与超滑表面几乎没有相互作用，这种巨大的差异与本章所选材料表面性质有关，说明本实验中所选的防污涂层表面确实达到了防污目的，这为相关机理的研究奠定了基础，且这一现象与动力学过程完全对应。

为揭示不同过程蛋白与表面结合情况，进一步统计了所有时间段两种蛋白与三种表面的结合概率（如图 5-4-c₁ 和 5-4-c₂ 所示）。根据以往文献^[128]，原子之间距离小于 0.6 nm 为强结合，距离范围在 0.6-1.2 nm 为弱结合，大于 1.2 nm 判定为不结合，针对本章节的体系，总共统计 80 ns 的 MD 模拟。在图 5-4 中，Mfp3 与二氧化硅表面的强结合、弱结合、不结合概率分别为 96.6%、3.4%、0%，与超滑表面的强/弱/不结合概率分别为 2.0%、17.8%、80.2%，与超亲表面的强/弱/不结合概率分别为 9.2%、12.6%、78.2%；Mfp5 与二氧化硅表面的强结合、弱结合、不结合概率分别为 100%、0%、0%，与超滑表面的强/弱/不结合概率分别为 2.6%、14.6%、82.8%，与超亲表面的强/弱/不结合概率分别为 4.4%、4.0%、91.6%；即蛋白在二氧化硅表面表现出强结合，在超滑表面和超亲表面上几乎不结合，说明超滑表面和超亲表面具有良好的防污效果。一般而言，材料的防污效果受界面水结构和动力学的影响比较严重，因此，需要进一步对界面水结构进行讨论。

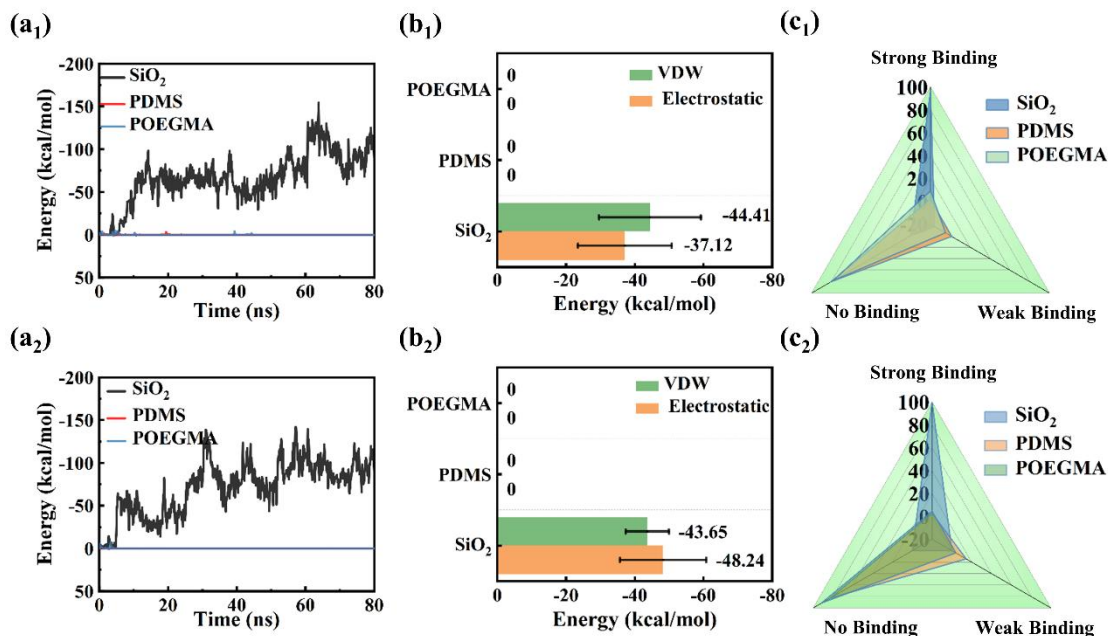


图 5-4 Mfps 在三种表面上的相互作用能及结合概率；（a₁-a₂）Mfps 在三种表面上的相互作用能；（b₁-b₂）Mfps 在不同表面范德华与静电相互作用；（c₁-c₂）Mfps 在不同表面结合概率

Figure 5-4 Interaction energy and binding probability of Mfps on three surfaces; (a₁-a₂) Interaction energy of Mfps on three surfaces; (b₁-b₂) Mfps interact with static electricity on different surfaces; (c₁-c₂) Probability of Mfps binding on different surfaces

5.2.3 表面水分子结构和动力学

上节提到, 界面水结构和动力学会影响蛋白质动力学行为与结构。事实上, 材料界面的水分子性质不同于普通溶剂水这一点这已经被证实, 基于“水屏障”假说, 人们普遍认为在聚合物材料附近紧密结合的水层对防污性能至关重要, 因为界面上动态水可以极大地介导蛋白质的吸附, 当蛋白质靠近基底表面时, 水化层会形成一个物理屏障阻止蛋白质的进一步靠近, 故而有必要对界面水进行更深一步的探讨。首先探究了表面水的分布特点, 选取表面 1.5 nm 的水层, 如图 5-5-a 所示, 定义了两个向量, 向量之间的夹角为 θ , 当两个向量同向时, θ 为 0° , 反向时, θ 为 180° ; 不同的 θ 表示水分子在表面上的状态分布, 对一段时间内水分子分布状态进行统计 (如图 5-5-b 所示)。从峰值上可以看出, 在普通二氧化硅表面、超滑表面以及超亲表面上水分子分布概率最大时夹角 θ 分别为 97° 、 95° 、 94° 。从分布范围来看, 超滑表面相对普通表面水的角度分布更加分散, 是由于表面材料很强的疏水性, 对水分子的束缚能力不是很强, 而超亲表面水的角度分布更加集中, 可能是由于亲水性基团的存在, 使得水具有高度有序性。

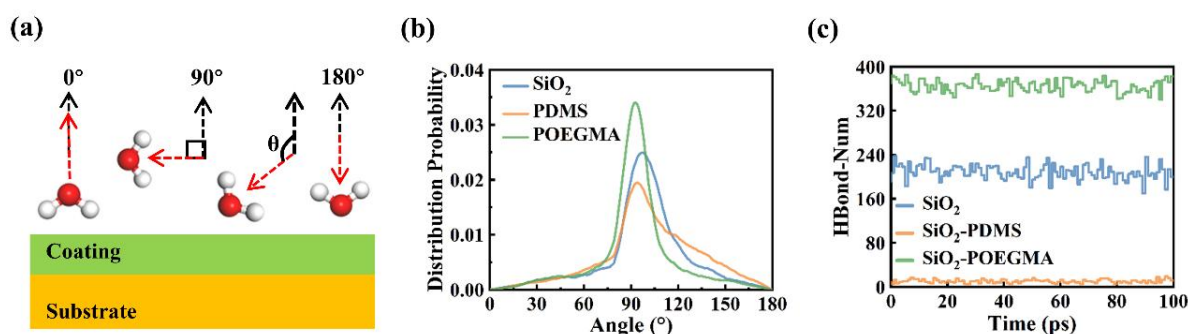


图 5-5 表面水分布及水与表面所成氢键情况; (a) 水角度定义示意图; (b) 水的分布情况; (c) 水分子与表面所形成氢键

Figure 5-5 Surface water distribution and hydrogen bonding between water and surface; (a) Schematic diagram of water Angle definition; (b) The distribution of water; (c) Hydrogen bonds formed between water molecules and surfaces

此外, 图 5-5-c 显示, 超亲水表面形成氢键数目最高, 超滑表面最低, 这与以往研究结果完全一致。从传统防污角度来理解, 更多的氢键可以使表面与材料结合更加牢固, 从而抵御蛋白的粘附, 因此超亲水表面表现出很好的防污性能。但这一点对于超滑表面而言不是很适用, 为了深入探索其机制, 有必要对表面水的运动性质进行探讨。

如图 5-6 所示, 对除去蛋白的体系总共进行了 10 ns 模拟, 待体系运动状态达到平衡后, 提取了最后 4 ns 的轨迹进行了水分子扩散的分析。从所选表面溶剂层的均方位移变化关系来看, 最后 4 ns 所选表面溶剂层的扩散呈明显的线性关系。图中数据线的斜率

表示扩散系数的大小，扩散系数越大，表示溶剂扩散过程中受到材料表面的限制越小，具体数值见表 5-1 所示，扩散系数从高到低排序依次为超滑表面、普通二氧化硅表面、超亲水表面，不同材料表面溶剂扩散趋势与人们目前认知一致。

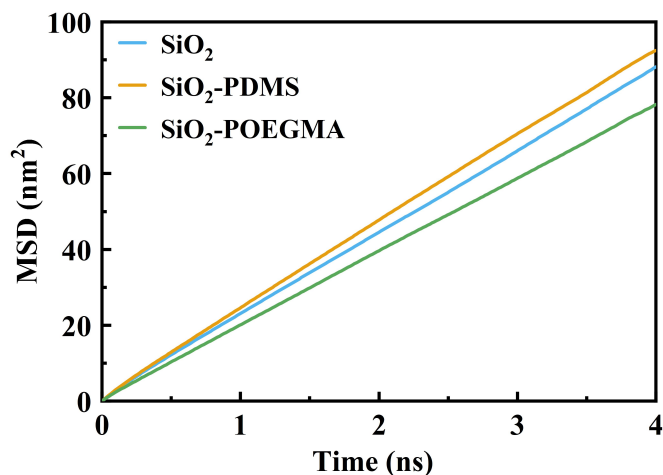


图 5-6 表面水的扩散系数

Figure 5-6 Diffusion coefficient of surface water

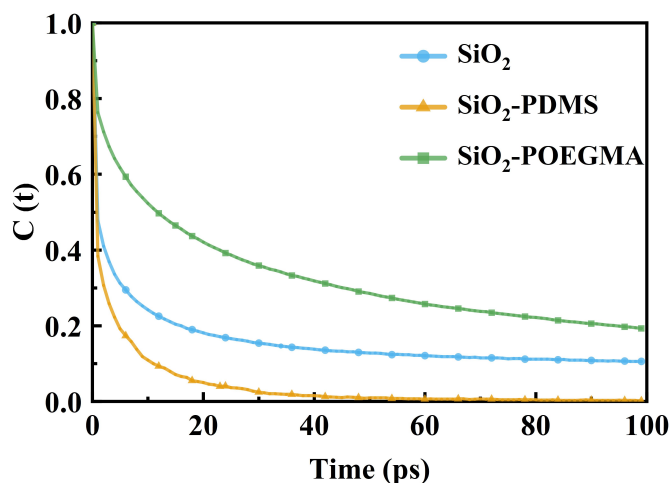


图 5-7 表面水的自相关函数

Figure 5-7 Autocorrelation function of surface water

为了更进一步说明表面水分子性质，用表面溶剂层的弛豫时间来反应材料表面对溶剂分子的限制能力。弛豫时间与材料限制溶剂层分子的能力成正比，通常用每帧时间内残留在选定范围内的水的数量去衡量弛豫时间，具体公式如下：

$$C(t) = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N \frac{\langle P_j(0)P_j(t) \rangle}{\langle P_j(0) \rangle^2}$$

N 为所选溶剂总数，若 t 时刻溶剂仍在范围内，则 $P_j(t) = 1$ ，反之，则 $P_j(t) = 0$ 。

从图 5-7 中 $C(t) - t$ 关系图可以看出, 溶剂分子在三种表面均呈现衰减趋势, 在超滑表面衰减最快, 超亲表面衰减最慢。通过对曲线拟合并依据 $C(t) = A\exp(-t/t_\mu)$ 求出弛豫时间 t_μ , 具体数值在表 5-1 中进行了展示。通过具体数值可以看出, 超滑表面水的停留时间很短, 水与表面形成氢键的寿命也很短, 说明溶剂水在超滑表面处于不断更新状态, 再者, 蛋白本身具有高极性表面, 根据水化层理论, 蛋白周围也会结合一层水, 当表面对水的排斥很强时, 蛋白界面水对蛋白粘附不利, 会受表面排斥, 与蛋白一起远离表面, 因此, 蛋白接近超滑表面不会被粘附。与超滑表面相反的是, 超亲水表面对水的限制更强, 氢键数目最多, 形成氢键稳定, 蛋白要想和其结合, 必须突破自身表面水层与材料表面水的阻碍作用, 这显然难度更大, 故而能够有效阻碍蛋白粘附在表面。

表 5-1 表面水分子的运动性质
Table 5-1 The motion properties of surface water molecules

System	Diffusion coefficients $\times 10^{-5}(\text{cm}^2 \text{ s}^{-1})$	HB-Life	HB-Num	τ_μ
	D	(ps)	(nm^2)	(ps)
SiO_2	3.5875(± 0.0374)	1.42	2.27	50.12
PDMS	3.8145(± 0.1382)	1.14	0.12	3.17
POEGMA	3.2243 (± 0.0663)	3.81	3.95	66.26
Bulk Water	4.5168 (± 0.0864)	—	—	2.52

总而言之, 蛋白质分子在材料表面的吸附实质上是蛋白与水分子在作用界面竞争作用位点的结果。但对于不同表面, 作用机理有着明显不同。首先, 对于超亲水材料, 水分布越有序, 则表面水与材料结合越强烈, 水分子运动越受限制, 防污性能越好; 其次, 对于超疏水材料, 水分布比较分散, 表面水与材料结合越弱, 水分子运动越剧烈, 这种强烈运动使得表面覆盖了水化层的污染剂分子无法靠近表面, 故而表现出较好的防污性能, 研究结论为以后防污材的开发设计提供了有价值的参考。

5.3 本章小结

本章中主要研究了两种物理化学性质完全不同的聚合物材料在防污领域上的表现并深入探索了它们抑制贻贝足蛋白粘附的微观机理。通过设计合理的模拟体系与对照体系, 经过多次重复模拟, 结果表明, 贻贝足蛋白在超滑表面与超亲水表面上明显不粘附, 而在普通表面展现出强粘附, 说明超滑与超亲水表面有望成为解决海洋生物污染问题的

可行方法。进一步，对这种不粘附现象背后的微观机理进行了探索，研究结果显示，对于不同性质的表面，其防污机理有着显著差异，在超滑表面上，表面呈现明显的对液体排斥，表面水强的流动性能够阻止蛋白与表面的粘附；在超亲水表面上，表面水比较稳定，表面强水化作用形成了蛋白粘附的高表面阻力，进而抑制粘附，相关研究结果能为环境友好型海洋防污材料的设计应用以及海洋生物污损的防治提供见解。

第 6 章 结论

海洋贻贝的粘附细节问题是海运行业目前急需解决的焦点问题。本文采用分子动力学模拟的方法,通过对贻贝表面粘附类蛋白分子之间以及蛋白在不同表面的粘附行为进行探索,更为广泛地揭示了蛋白分子粘性来源以及表面粘附的微观机制,以期为海洋防污行业的相关研究提供理论依据。本论文主要结论如下:

(1) 通过对表面粘附蛋白之间的相互作用研究发现,相互作用的蛋白呈现出明显的表面结构互补性,复合物的稳定性与蛋白序列类型、极性残基的含量关系密切。在粘附过程中,静电相互作用是引起不同复合物粘性差异的主要原因,界面残基间形成的氢键、盐桥是增强静电相互作用的结构基础,这些丰富的界面结构对蛋白质的结构稳定起着重要的作用。此外,对于广泛研究的残基多巴,它的存在不仅利于氢键的形成,而且还在界面形成 π - π 结构极大促进了分子之间的粘结,与此同时,多巴还会与带电氨基酸在复合物界面形成相对稳定的阳离子- π 结构来稳定粘结。

(2) 进一步,对 Mfps 在不同性质纳米功能表面上粘附行为进行研究,结果表明,不同表面粘附机理和粘附特点不尽相同,当 Mfps 粘附在裸金属铁和石墨烯表面时,由于特殊的金属- π 相互作用和 π - π 相互作用,Dopa 可以很容易地突破表面水层,从而稳定粘附在表面,这种效应比氢键相互作用强。一旦粘附稳定,贻贝的蛋白质结构呈现“凝固”状态。Mfps 对二氧化钛涂层的附着力最差,粘附主要来自蛋白质分子亲水性官能团与表面的氢键和静电相互作用,但这种弱粘附很难突破较稳定的表面水层,而且在运动过程中会被体相自由水剥离,故而粘附不稳定。此外,除过 Dopa,其他氨基酸的影响方式较为复杂,芳香残基主要通过去除界面水来促进粘附,一些分子链上含有亲水性基团的氨基酸可能在亲水性表面上具有与 Dopa 相同的竞争优势,所有这些都与表面性质有很大关系。

(3) 此外,还探索了两种抑制机理不同的但对贻贝附着都有明显抑制效果的聚合物材料在防污领域上的表现,并深入探索了它们抑制贻贝足蛋白粘附的微观机理。研究发现,贻贝足蛋白在超滑表面与超亲表面上明显不粘附,而在普通表面展现出强粘附,通过蛋白粘附动力学过程的提取与相互作用能变化情况说明超滑与超亲水表面有望成为解决海洋生物污染问题的可行方法。进一步,探究了这种不粘附现象背后的微观机理,从水的动力学性质分析表明,对于不同性质的表面,其防污机理有着显著差异,在超滑表面上,表面呈现明显的对水溶剂排斥现象,表面水强的流动性能阻止蛋白与表面的

粘附；在超亲水表面上，表面呈现明显的对水溶剂吸引现象，表面强水化作用形成了蛋白粘附的高表面阻力，进而抑制粘附。

本文的工作详细阐述了海洋贻贝粘附问题，这些研究结果不仅有助于人们提升对海洋生物污损的认知，设计开发新的海洋防污类材料，还对一些仿生类材料的开发应用有着极佳的参考价值与理论支撑。

参考文献

- [1] 付成林, 刘庆波, 刘佳敏等. 海洋防污材料研究应用与发展趋势 [J]. 混凝土世界, 2022, 158(8): 72-76.
- [2] Callow M. E., Callow J. E. Marine biofouling: a sticky problem [J]. *Biologist (London)*, 2002, 49(1): 10-14.
- [3] Hennebert E. , Wattiez R. , Demeuldre M. , et al. Sea star tenacity mediated by a protein that fragments, then aggregates [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014, 111(17): 6317-6322.
- [4] Kamino K. Mini-review: barnacle adhesives and adhesion [J]. *Biofouling*, 2013, 29(6): 735-749.
- [5] Stewart R. J., Weaver J. C., Morse D. E., et al. The tube cement of *Phragmatopoma californica*: a solid foam [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2004, 207(26): 4727-4734.
- [6] Nakano D., Strayer D. L. Biofouling animals in fresh water: biology, impacts, and ecosystem engineering [J]. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2014, 12(3): 167-175.
- [7] Waite J. H. Nature's underwater adhesive specialist [J]. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 1987, 7(1): 9-14.
- [8] Richmond M. D., Seed R. A review of marine macrofouling communities with special reference to animal fouling [J]. *Biofouling*, 2009, 3(2): 151-168.
- [9] Waite J. H., Tanzer M. L. Polyphenolic Substance of *Mytilus edulis*: Novel Adhesive Containing L-Dopa and Hydroxyproline [J]. *Science*, 1981, 212(4498): 1038-1040.
- [10] 刘蓉, 周秉涛, 魏伟等. 金属表面新型绿色海洋防污功能膜层的研究进展 [J]. 表面技术, 2022, 51(09): 15-29.
- [11] Kim B. J., Oh D. X., Kim S., et al. Mussel-mimetic protein-based adhesive hydrogel [J]. *Biomacromolecules*, 2014, 15(5): 1579-1585.
- [12] Donkerwolcke M., Burny F., Muster D. Tissues and bone adhesives--historical aspects [J]. *Biomaterials*, 1998, 19(16): 1461-1466.
- [13] Neoh K. G., Kang E. T. Combating bacterial colonization on metals via polymer coatings:

- p relevance to marine and medical applications [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2011, 3(8): 2808-2819.
- [14] Ren J., Han P., Wei H., et al. Fouling-resistant behavior of silver nanoparticle-modified surfaces against the bioadhesion of microalgae [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2014, 6(6): 3829-3838.
- [15] Hwang D. S., Zeng H., Masic A., et al. Protein- and metal-dependent interactions of a prominent protein in mussel adhesive plaques [J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(33): 25850-25858.
- [16] Nicklisch S. C., Waite J. H. Mini-review: the role of redox in Dopa-mediated marine adhesion [J]. Biofouling, 2012, 28(8): 865-877.
- [17] Yu J., Wei W., Danner E., et al. Mussel protein adhesion depends on interprotein thiol-mediated redox modulation [J]. Nature Chemical Biology, 2011, 7(9): 588-590.
- [18] Lee H., Scherer N. F., Messersmith P. B. Single-molecule mechanics of mussel adhesion [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2006, 103(35): 12999-13003.
- [19] Kord F. P., Lee B. P. Recent approaches in designing bioadhesive materials inspired by mussel adhesive protein [J]. Journal of Polymer Science Part A-Polymer Chemistry, 2017, 55(1): 9-33.
- [20] Waite J. H. Mussel adhesion - essential footwork [J]. Journal of Experimental Biology, 2017, 220(4): 517-530.
- [21] Filpula D. R., Lee S. M., Link R. P., et al. Structural and functional repetition in a marine mussel adhesive protein [J]. Biotechnology progress, 1990, 6(3): 171-177.
- [22] Benedict C. V., Waite J. H. Location and analysis of byssal structural proteins of *Mytilus edulis* [J]. Journal of Morphology, 1986, 189(2): 171-181.
- [23] Mesko M., Xiang L., Bohle S., et al. Catechol-Vanadium Binding Enhances Cross-Linking and Mechanics of a Mussel Byssus Coating Protein [J]. Chemistry of Materials, 2021, 33(16): 6530-6540.
- [24] Priemel T., Palia G., Förste F., et al. Microfluidic-like fabrication of metal ion-cured bioadhesives by mussels [J]. Science, 2021, 374(6564): 206-211.
- [25] Rzepecki L. M., Hansen K. M., Waite J. H. Characterization of a Cystine-Rich Polyphenolic Protein Family from the Blue Mussel *Mytilus edulis* L [J]. Biological

- Bulletin, 1992, 183(1): 123-137.
- [26] Papov V. V., Diamond T. V., Biemann K., et al. Hydroxyarginine-containing polyphenolic proteins in the adhesive plaques of the marine mussel *Mytilus edulis* [J]. Journal of Biological Chemistry, 1995, 270(34): 20183-20192.
- [27] Waite J. H. Reverse engineering of bioadhesion in marine mussels [J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 1999, 875(1): 301-309.
- [28] Zhao H., Robertson N. B., Jewhurst S. A., et al. Probing the adhesive footprints of *Mytilus californianus* byssus [J]. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281(16): 11090-11096.
- [29] Floriolli R. Y., von Langen J., Waite J. H. Marine Surfaces and the Expression of Specific Byssal Adhesive Protein Variants in *Mytilus* [J]. Marine Biotechnology, 2000, 2(4): 352-363.
- [30] Zhao H., Waite J. H. Proteins in load-bearing junctions: the histidine-rich metal-binding protein of mussel byssus [J]. Biochemistry, 2006, 45(47): 14223-14231.
- [31] Petrone L., Kumar A., Sutanto C. N., et al. Mussel adhesion is dictated by time-regulated secretion and molecular conformation of mussel adhesive proteins [J]. Nature Communications, 2015, 6(1): 1-12.
- [32] Waite J. H., Qin X. Polyphosphoprotein from the Adhesive Pads of *Mytilus edulis* [J]. Biochemistry, 2001, 40(9): 2887-2893.
- [33] Zhao H., Waite J. H. Linking adhesive and structural proteins in the attachment plaque of *Mytilus californianus* [J]. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281(36): 26150-26158.
- [34] Kan Y., Wei Z., Tan Q., et al. Inter- and intramolecular adhesion mechanisms of mussel foot proteins [J]. Science China Technological Sciences, 2020, 63(9): 1675-1698.
- [35] Rapp M. V., Maier G. P., Dobbs H. A., et al. Defining the Catechol-Cation Synergy for Enhanced Wet Adhesion to Mineral Surfaces [J]. Journal of the American Chemical Society, 2016, 138(29): 9013-9026.
- [36] Yang B., Lim C., Hwang D. S., et al. Switch of Surface Adhesion to Cohesion by Dopa-Fe³⁺ Complexation, in Response to Microenvironment at the Mussel Plaque/Substrate Interface [J]. Chemistry of Materials, 2016, 28(21): 7982-7989.
- [37] Keskin O., Gursoy A., Ma B., et al. Principles of protein–protein interactions: what are

- p>the preferred ways for proteins to interact? [J]. Chemical reviews, 2008, 108(4): 1225-1244.
- [38] Shaikh A. R., Karkhanechi H., Yoshioka T., et al. Adsorption of Bovine Serum Albumin on Poly(vinylidene fluoride) Surfaces in the Presence of Ions: A Molecular Dynamics Simulation [J]. Journal of Physical Chemistry B, 2018, 122(6): 1919-1928.
- [39] Zare D., Allison J. R., McGrath K. M. Molecular Dynamics Simulation of beta-Lactoglobulin at Different Oil/Water Interfaces [J]. Biomacromolecules, 2016, 17(5): 1572-1581.
- [40] Mucksch C., Urbassek H. M. Accelerated Molecular Dynamics Study of the Effects of Surface Hydrophilicity on Protein Adsorption [J]. Langmuir, 2016, 32(36): 9156-9162.
- [41] Ithuralde R. E., Roitberg A. E., Turjanski A. G. Structured and Unstructured Binding of an Intrinsically Disordered Protein as Revealed by Atomistic Simulations [J]. Journal of the American Chemical Society, 2016, 138(28): 8742-8751.
- [42] Penna M. J., Mijajlovic M., Biggs M. J. Molecular-level understanding of protein adsorption at the interface between water and a strongly interacting uncharged solid surface [J]. Journal of the American Chemical Society, 2014, 136(14): 5323-5331.
- [43] Elcock A. H., Sept D., McCammon J. A. Computer simulation of protein– protein interactions [J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2001, 105(8): 1504-1518.
- [44] Priemel T., Degtyar E., Dean M. N., et al. Rapid self-assembly of complex biomolecular architectures during mussel byssus biofabrication [J]. Nature Communications, 2017, 8(1): 1-12.
- [45] Lu Q., Danner E., Waite J. H., et al. Adhesion of mussel foot proteins to different substrate surfaces [J]. Journal of The Royal Society Interface, 2013, 10(79): 20120759.
- [46] Ou X., Xue B., Lao Y., et al. Structure and sequence features of mussel adhesive protein lead to its salt-tolerant adhesion ability [J]. Science advances, 2021, 6(39): 1-11.
- [47] Yu J., Kan Y., Rapp M., et al. Adaptive hydrophobic and hydrophilic interactions of mussel foot proteins with organic thin films [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2013, 110(39): 15680-15685.
- [48] Ackerman J. D., Cottrell C. M., Ethier C. R., et al. Attachment Strength of Zebra Mussels on Natural, Polymeric, and Metallic Materials [J]. Journal of Environmental Engineering,

- 1996, 122(2): 141-148.
- [49] Waite J. H. Evidence for a repeating 3,4-dihydroxyphenylalanine- and hydroxyproline-containing decapeptide in the adhesive protein of the mussel, *Mytilus edulis* L [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1983, 258(5): 2911-2915.
- [50] Olivieri M. P., Baier R. E., Loomis R. E. Surface properties of mussel adhesive protein component films [J]. *Biomaterials*, 1992, 13(14): 1000-1008.
- [51] Hansen D. C., Luther G. W., Waite J. H. The adsorption of the adhesive protein of the blue mussel *Mytilus edulis* L onto type 304L stainless steel [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 1994, 168(1): 206-216.
- [52] Anderson T. H., Yu J., Estrada A., et al. The Contribution of DOPA to Substrate-Peptide Adhesion and Internal Cohesion of Mussel-Inspired Synthetic Peptide Films [J]. *Advanced Functional Materials*, 2010, 20(23): 4196-4205.
- [53] Lin Q., Gourdon D., Sun C., et al. Adhesion mechanisms of the mussel foot proteins mfp-1 and mfp-3 [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2007, 104(10): 3782-3786.
- [54] Danner E. W., Kan Y., Hammer M. U., et al. Adhesion of mussel foot protein Mefp-5 to mica: an underwater superglue [J]. *Biochemistry*, 2012, 51(33): 6511-6518.
- [55] Hwang D. S., Zeng H., Lu Q., et al. Adhesion mechanism in a DOPA-deficient foot protein from green mussels [J]. *Soft Matter*, 2012, 8(20): 5640-5648.
- [56] Hwang D. S., Waite J. H. Three intrinsically unstructured mussel adhesive proteins, mfp-1, mfp-2, and mfp-3: analysis by circular dichroism [J]. *Protein Science*, 2012, 21(11): 1689-1695.
- [57] Levine Z. A., Rapp M. V., Wei W., et al. Surface force measurements and simulations of mussel-derived peptide adhesives on wet organic surfaces [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2016, 113(16): 4332-4337.
- [58] Qin Z., Buehler M. J. Molecular mechanics of mussel adhesion proteins [J]. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 2014, 62: 19-30.
- [59] Chen T., Yang H., Gao H., et al. Adsorption and Orientation of 3,4-Dihydroxy-L-phenylalanine onto Tunable Monolayer Films [J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2017, 121(21): 11544-11551.

- [60] Li Y., Liang C., Gao L., et al. Hidden complexity of synergistic roles of Dopa and lysine for strong wet adhesion [J]. *Materials Chemistry Frontiers*, 2017, 1(12): 2664-2668.
- [61] Shin M., Shin J. Y., Kim K., et al. The position of lysine controls the catechol-mediated surface adhesion and cohesion in underwater mussel adhesion [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2020, 563(1): 168-176.
- [62] Li Y., Cheng J., Delparastan P., et al. Molecular design principles of Lysine-DOPA wet adhesion [J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 1-8.
- [63] Shin M., Park Y., Jin S., et al. Two Faces of Amine–Catechol Pair Synergy in Underwater Cation– π Interactions [J]. *Chemistry of Materials*, 2021, 33(9): 3196-3206.
- [64] Zhang C., Xiang L., Zhang J., et al. Revisiting the adhesion mechanism of mussel-inspired chemistry [J]. *Chemical Science*, 2022, 13(6): 1698-1705.
- [65] Guo Q., Zou G., Qian X., et al. Hydrogen-bonds mediate liquid-liquid phase separation of mussel derived adhesive peptides [J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 1-10.
- [66] 周军. 如何解决海洋生物污损问题 [J]. *阅读*, 2022, 1010(94): 7-9.
- [67] Li C., Xia Y., Liu C., et al. Lubricin-Inspired Loop Zwitterionic Peptide for Fabrication of Superior Antifouling Surfaces [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2021, 13(35): 41978-41986.
- [68] He C., Zhang H., Lin C., et al. A molecular dynamics study on the adsorption of a mussel protein on two different films: Polymer film and a SAM [J]. *Chemical Physics Letters*, 2017, 676(1): 144-149.
- [69] Kang T., Banquy X., Heo J., et al. Mussel-Inspired Anchoring of Polymer Loops That Provide Superior Surface Lubrication and Antifouling Properties [J]. *ACS Nano*, 2016, 10(1): 930-937.
- [70] Li-Mei H. U., Cun-Guo L. I. N., Li W., et al. Lysozyme Protein Adsorbed on Antifouling Polymer Film Surface [J]. *Acta Physico-Chimica Sinica*, 2014, 30(11): 2149-2156.
- [71] Zhao C., Patel K., Aichinger L. M., et al. Antifouling and biodegradable poly(N-hydroxyethyl acrylamide) (polyHEAA)-based nanogels [J]. *RSC Advances*, 2013, 3(43): 19991-20000.
- [72] Banerjee I., Pangule R. C., Kane R. S. Antifouling coatings: recent developments in the design of surfaces that prevent fouling by proteins, bacteria, and marine organisms [J].

- Advanced Materials, 2011, 23(6): 690-718.
- [73] Wang P., Zhang D., Lu Z. Slippery liquid-infused porous surface bio-inspired by pitcher plant for marine anti-biofouling application [J]. Colloids and surfaces. B, Biointerfaces, 2015, 136(1): 240-247.
- [74] Epstein A. K., Wong T. S., Belisle R. A., et al. Liquid-infused structured surfaces with exceptional anti-biofouling performance [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2012, 109(33): 13182-13187.
- [75] Amini S., Kolle S., Petrone L., et al. Preventing mussel adhesion using lubricant-infused materials [J]. Science, 2017, 357(6352): 668-673.
- [76] Alder B. J., Wainwright T. E. Phase Transition for a Hard Sphere System [J]. The Journal of Chemical Physics, 1957, 27(5): 1208-1209.
- [77] Alder B. J., Wainwright T. E. Studies in Molecular Dynamics. I. General Method [J]. The Journal of Chemical Physics, 1959, 31(2): 459-466.
- [78] Rahman A. Correlations in the Motion of Atoms in Liquid Argon [J]. Physical Review, 1964, 136(2): 405-411.
- [79] Levitt M. Computer simulation of DNA double-helix dynamics [J]. Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology, 1983, 47(1): 251-262.
- [80] McCammon J. A., Gelin B. R., Karplus M. Dynamics of folded proteins [J]. nature, 1977, 267(5612): 585-590.
- [81] Nosé S. A molecular dynamics method for simulations in the canonical ensemble [J]. Molecular Physics, 2006, 52(2): 255-268.
- [82] Çağın T., Pettitt B. M. Molecular dynamics with a variable number of molecules [J]. Molecular Physics, 2006, 72(1): 169-175.
- [83] Berendsen H. J. C., Postma J. P. M., van Gunsteren W. F., et al. Molecular dynamics with coupling to an external bath [J]. The Journal of Chemical Physics, 1984, 81(8): 3684-3690.
- [84] Andersen H. C. Molecular dynamics simulations at constant pressure and/or temperature [J]. The Journal of Chemical Physics, 1980, 72(4): 2384-2393.
- [85] Gillan M. J., Dixon M. The calculation of thermal conductivities by perturbed molecular dynamics simulation [J]. Journal of Physics C: Solid State Physic, 1983, 16(5): 869-878.

- [86] Kurniawan J., Ishida T. Protein Model Quality Estimation Using Molecular Dynamics Simulation [J]. ACS Omega, 2022, 7(28): 24274-24281.
- [87] Sohrabi B., Poorgholami-Bejarpasi N., Nayeri N. Dispersion of carbon nanotubes using mixed surfactants: experimental and molecular dynamics simulation studies [J]. Journal Of Physical Chemistry B, 2014, 118(11): 3094-3103.
- [88] Ranatunga R , Nguyen C T , Chiu C C , et al. Molecular Dynamics Simulations of Nanoparticles and Surfactants at Oil/Water Interfaces[J]. Acs Symposium, 2011 1070(1):295-314.
- [89] Hockney R. W., Goel S. P., Eastwood J. W. Quiet high-resolution computer models of a plasma [J]. Journal of Computational Physics, 1974, 14(2): 148-158.
- [90] Verlet L. Computer "Experiments" on Classical Fluids. II. Equilibrium Correlation Functions [J]. Physical Review, 1968, 165(1): 201-214.
- [91] Zheng W., Zhang C., Li Y., et al. Folding non-homologous proteins by coupling deep-learning contact maps with I-TASSER assembly simulations [J]. Cell Rep Methods, 2021, 1(3): 1-25.
- [92] Zhang C., Freddolino P. L., Zhang Y. COFACTOR: improved protein function prediction by combining structure, sequence and protein-protein interaction information [J]. Nucleic Acids Research, 2017, 45(1): 291-299.
- [93] Yang J., Zhang Y. I-TASSER server: new development for protein structure and function predictions [J]. Nucleic Acids Research, 2015, 43(1): 174-181.
- [94] Yang J., Yan R., Roy A., et al. The I-TASSER Suite: protein structure and function prediction [J]. Nature Methods, 2015, 12(1): 7-8.
- [95] Roy A., Kucukural A., Zhang Y. I-TASSER: a unified platform for automated protein structure and function prediction [J]. Nature Protocols, 2010, 5(4): 725-738.
- [96] Best R. B., Zhu X., Shim J., et al. Optimization of the additive CHARMM all-atom protein force field targeting improved sampling of the backbone phi, psi and side-chain chi(1) and chi(2) dihedral angles [J]. Journal of Chemical Theory and Computation, 2012, 8(9): 3257-3273.
- [97] Daura X., Gademann K., Schäfer H., et al. The β -peptide hairpin in solution: conformational study of a β -hexapeptide in methanol by NMR spectroscopy and MD

- simulation [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2001, 123(10): 2393-2404.
- [98] Raffaini G., Ganazzoli F. Molecular dynamics simulation of the adsorption of a fibronectin module on a graphite surface [J]. *Langmuir*, 2004, 20(8): 3371-3378.
- [99] Brandt E. G., Lyubartsev A. P. Systematic Optimization of a Force Field for Classical Simulations of TiO₂–Water Interfaces [J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2015, 119(32): 18110-18125.
- [100] Emami F. S., Puddu V., Berry R. J., et al. Force Field and a Surface Model Database for Silica to Simulate Interfacial Properties in Atomic Resolution [J]. *Chemistry of Materials*, 2014, 26(8): 2647-2658.
- [101] Heinz H., Lin T. J., Mishra R. K., et al. Thermodynamically consistent force fields for the assembly of inorganic, organic, and biological nanostructures: the INTERFACE force field [J]. *Langmuir*, 2013, 29(6): 1754-1765.
- [102] Heinz H., Vaia R. A., Farmer B. L., et al. Accurate simulation of surfaces and interfaces of face-centered cubic metals using 12–6 and 9–6 Lennard-Jones potentials [J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2008, 112(44): 17281-17290.
- [103] Abraham M. J., Murtola T., Schulz R., et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers [J]. *SoftwareX*, 2015, 1(2): 19-25.
- [104] Yang Y. I., Shao Q., Zhang J., et al. Enhanced sampling in molecular dynamics [J]. *Journal of Chemical Physics*, 2019, 151(7): 3684-3690.
- [105] Phillips J. C., Hardy D. J., Maia J. D. C., et al. Scalable molecular dynamics on CPU and GPU architectures with NAMD [J]. *Journal of Chemical Physics*, 2020, 153(4): 8577-8593.
- [106] Corrada D., Morra G., Colombo G. Investigating allostery in molecular recognition: insights from a computational study of multiple antibody-antigen complexes [J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2013, 117(2): 535-552.
- [107] Taraszkiewicz A., Fila G., Grinholc M., et al. Innovative strategies to overcome biofilm resistance [J]. *Biomed Research International*, 2013, 2013(1): 1-13.
- [108] Shahfar H., Du Q., Parupudi A., et al. Electrostatically Driven Protein-Protein Interactions: Quantitative Prediction of Second Osmotic Virial Coefficients to Aid

- Antibody Design [J]. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 2022, 13(5): 1366-1372.
- [109] Harada R., Tochio N., Kigawa T., et al. Reduced native state stability in crowded cellular environment due to protein-protein interactions [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2013, 135(9): 3696-3701.
- [110] Koh G. C., Porras P., Aranda B., et al. Analyzing protein-protein interaction networks [J]. *Journal of Proteome Research*, 2012, 11(4): 2014-2031.
- [111] Norel R., Lin S. L., Wolfson H. J., et al. Molecular surface complementarity at protein-protein interfaces: the critical role played by surface normals at well placed, sparse, points in docking [J]. *Journal of molecular biology*, 1995, 252(2): 263-273.
- [112] Lawrence M. C., Colman P. M. Shape complementarity at protein/protein interfaces [J]. *Journal of molecular biology*, 1993, 234(4): 946-950.
- [113] Wu J., Zhou Y., Zhang J., et al. Molecular Dynamics Simulation Investigation of the Binding and Interaction of the EphA6-Odin Protein Complex [J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2022, 126(26): 4914-4924.
- [114] Keskin O., Tuncbag N., Gursoy A. Predicting Protein-Protein Interactions from the Molecular to the Proteome Level [J]. *Chemical Reviews*, 2016, 116(8): 4884-4909.
- [115] Basu S., Biswas P. Salt-bridge dynamics in intrinsically disordered proteins: A trade-off between electrostatic interactions and structural flexibility [J]. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*, 2018, 1866(5): 624-641.
- [116] Chang H., Adibnia V., Li C., et al. Short-Sequence Superadhesive Peptides with Topologically Enhanced Cation- π Interactions [J]. *Chemistry of Materials*, 2021, 33(13): 5168-5176.
- [117] Mian S. A., Gao X., Nagase S., et al. Adsorption of catechol on a wet silica surface: density functional theory study [J]. *Theoretical Chemistry Accounts*, 2011, 130(2): 333-339.
- [118] Mian S. A., Saha L. C., Jang J., et al. Density functional theory study of catechol adhesion on silica surfaces [J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2010, 114(48): 20793-20800.
- [119] Yu J., Wei W., Menyo M. S., et al. Adhesion of mussel foot protein-3 to TiO₂ surfaces: the effect of pH [J]. *Biomacromolecules*, 2013, 14(4): 1072-1077.

- [120] Zeng H., Hwang D. S., Israelachvili J. N., et al. Strong reversible Fe^{3+} -mediated bridging between dopa-containing protein films in water [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, 107(29): 12850-12863.
- [121] Vega-Arroyo M., LeBreton P. R., Rajh T., et al. Density functional study of the TiO_2 -dopamine complex [J]. *Chemical Physics Letters*, 2005, 406(4): 306-311.
- [122] Mondal S., Bagchi B. Water Layer at Hydrophobic Surface: Electrically Dead but Dynamically Alive? [J]. *Nano Letters*, 2020, 20(12): 8959-8964.
- [123] Foroutan M., Darvishi M., Fatemi S. M. Structural and dynamical characterization of water on the Au (100) and graphene surfaces: A molecular dynamics simulation approach [J]. *Physical Review E*, 2017, 96(3): 1-10.
- [124] Fernandes F. W., Campos T. M. B., Cividanes L. S., et al. Adsorbed water on iron surface by molecular dynamics [J]. *Applied Surface Science*, 2016, 362(1): 70-78.
- [125] Huang L., Gubbins K. E., Li L., et al. Water on titanium dioxide surface: a revisiting by reactive molecular dynamics simulations [J]. *Langmuir*, 2014, 30(49): 14832-14840.
- [126] 王泽昊, 丛巍巍, 张凯等. 海洋防污涂料环保化策略研究与发展 [J]. *材料导报*, 2022, 36(S2): 480-485.
- [127] Xie Q., Pan J., Ma C., et al. Dynamic surface antifouling: mechanism and systems [J]. *Soft Matter*, 2019, 15(6): 1087-1107.
- [128] Liu Y., Zhang D., Ren B., et al. Computational Investigation of Antifouling Property of Polyacrylamide Brushes [J]. *Langmuir*, 2020, 36(11): 2757-2766.
- [129] Ryu J. Y., Song I. T., Lau K. H., et al. New antifouling platform characterized by single-molecule imaging [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2014, 6(5): 3553-3558.

攻读硕士学位期间取得的研究成果

- [1] Jun Zhang, **Qi Wei**, Bojin Zhu, et al. Asphaltene aggregation and deposition in pipeline: Insight from multiscale simulation[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2022, 649: 129394.
- [2] Zhen Li, Junfeng Wang, **Qi Wei**, et al. In silico insights into the receptor-mediated endocytosis of virus-like nanoparticles[J]. Chemical Physics Letters, 2022, 790: 139360.

致 谢

星霜荏苒，居诸不息。转眼间硕士生涯即将结束，回想起在中国石油大学（华东）点点滴滴，虽有些许遗憾，但更多的是幸福与感动。研究生三年如诗如画的校园生活，将是我一生最宝贵的财富，然纵有万般不舍，终究会有离别之时，落笔之际，将感激之情抒于此文，铭记于心。

感谢石油大学多年来对我的培养和教育，让我收获知识的同时，结识了众多优秀的老师、同学和朋友。

感谢我的导师张军教授多年来的培养、照顾和帮助。2020年春，我进入材料多尺度模拟课题组，在张老师的指导下，我开启了为期三年的科研之路。生活中，张老师以身作则、虚怀若谷、一言九鼎、平易近人的人格魅力对我影响深远；科研中，张老师严谨的治学态度，渊博的知识，踏实的工作作风，敏捷的科研思维，对工作的热爱和执着，淡泊名利的处世哲学，皆是我今后学习工作的榜样。在我遇到困难的时候，张老师总会单独谈话，帮助解决我的问题，让我完成了人生中重要的蜕变，让我快速成长的同时带给我无穷的精神财富。片纸有尽，而恩师之情难以言尽，借此论文完成之际，再次向恩师致以我深深的谢意。

感谢课题组李振教授在我研究生期间的培养、鼓励和帮助。从文献查阅到文献汇报，从软件学习到方案执行，每一个环节，老师都会尽可能抽出时间来和我交流，传授学习经验，让我事半功倍。李老师待人谦和、学识渊博、能力出众，在科研上更是一丝不苟、勤奋热情，给我树立了良好的榜样。从课题的确立，到工作汇报检查，再到论文的写作技巧，李老师总能针对我存在的问题给出合理建议，在此向李老师表达我最诚挚的感谢！

感谢课题组的燕友果老师、钟杰老师、王晓老师对我课题工作提出的意见和建议，几位老师博学多识、循循善诱，他们分享的科研体会，让我受益匪浅。

感谢李嘉伟师兄、李力文师兄、朱泊锦师兄、张立来师兄对我的帮助，尤其是感谢李嘉伟师兄，在我硕士三年的指导和帮助。硕士期间，师兄不辞劳苦，认真负责，教给我很多实用方法技巧。从我课题的拟定到结构框架的梳理，再到内容的充实和完善以及论文的写作，师兄总能给出很好的建议。师兄精湛的学术技能、渊博的专业知识、严谨的科学态度、谦逊待人的高贵品质让我深深的折服。在此，向师兄表达衷心的感谢。

感谢硕士同级同学在校期间的帮助，同窗数载，知己难忘。

感谢我的父母多年来对我的理解、包容与支持，因为你们，我的生活更加丰富多彩，

人生道路才会越走越远，越走越宽，你们永远是我坚强的后盾。