

КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ УЧАСТКА ЦЕПИ ТАХИКИНИНОВОГО РЕЦЕПТОРА NK1

Г. А. Агаева

Институт Физических Проблем, БГУ

Для определения механизма биологического действия полифункциональной пептидной молекулы необходимо знание не только конформационных особенностей данного природного биорегулятора, но и контактирующего с ним участка соответствующего рецептора. Известно, что два тахикининовых нейропептида вещество Р и нейрокинин А обладают похожими функциональными свойствами. И каждый из них взаимодействует с той и иной степенью сродства с тахикининовым рецептором NK1. Поэтому создание высокоактивных антагонистов рецептора NK1 на основе этих двух нейропептидов позволит блокировать конкретное физиологическое воздействие в лечении ряда заболеваний. В настоящее время интенсивно проводятся структурные исследования тахикининового рецептора NK1 путем его клонирования и уже определены отдельные места связывания с некоторыми пептидными лигандами. В работе [1] было показано, что участок 178-190 внеклеточной петли (E2) NK1 рецептора человека, имеющий аминокислотную последовательность: V-V-C-M-I-E-W-P-E-N-P-N-K, является общим местом связывания с С-концевыми участками молекул вещества Р и нейрокина А. Различными методами моделирования были проведены исследования вторичной структуры данного участка рецептора NK1 для определения хода пептидной цепи. Были предсказаны некоторые регулярные и подвижные участки отдельных сегментов рецептора [1]. Но пока не выяснено конформационное поведение всего участка, конкретная локализация регулярных структур, взаимная ориентация боковых цепей и их взаимодействия.

В представленной работе были исследованы конформационные особенности участка 170-190 рецептора NK1 человека методом молекулярной механики на основе фрагментарного подхода и с использованием стандартной геометрии. При расчете внутримолекулярной конформационной энергии учитывались энергетические вклады невалентных ($E_{нев.}$), электростатических ($E_{элс.}$), торсионных взаимодействий ($E_{тор.}$) и водородных связей ($E_{вод.св.}$). Параметризация потенциальных функций была аппроксимирована к условиям полярной среды: величина диэлектрической проницаемости принята равной 10, а водородные связи предполагались ослабленными. Расчет стабильных конформаций пептидов проводился с помощью программы и системы потенциальных функций, ранее описанных и примененных в работах [2,3]. Выбор структурных вариантов при расчете конформаций отдельных пептидов осуществлялся на основе известных значений двугранных углов (ϕ и ψ) соответствующих низкоэнергетическим областям конформационной карты для каждого монопептида. Отсчет двугранных углов (ϕ и ψ) проводился согласно общепринятой номенклатуре.

Расчет конформаций участка 178-190 внеклеточной петли (E2) NK1 рецептора проводился на основе его аминокислотной последовательности Val¹-Val²-Cys³-Met⁴-Ile⁵-Glu⁶-Trp⁷-Pro⁸-Glu⁹-His¹⁰-Pro¹¹-Asn¹²-Lys¹³-Ile¹⁴-Tyr¹⁵-Glu¹⁶-Lys¹⁷ с помощью фрагментарного анализа. Последовательность этого участка была разбита на перекрывающиеся сегменты, стабильные конформационные состояния которых использовались при моделировании больших фрагментов, а затем и всей цепи. Конформационный анализ участка 178-190 NK1 рецептора показал, что в интервал относительной энергии 0-10 ккал/моль вошли два семейства структур, отличающихся конформационным состоянием участка 5-8, который может находиться в одной из двух похожих пространственных формах. В обоих семействах образуется стабильный спиральный пентапептидный сегмент в С-концевой части молекулы, стабилизированный внутримолекулярными водородными связями. Спиральный сегмент стабилизируется также солевым мостиком, который формирует водородную связь между Glu⁹ и Lys¹³. В этой аминокислотной последовательности в позициях I и i+4 идеально локализованы разноименно заряженные остатки Glu⁹ и Lys¹³, за счет заряд-дипольных взаимодействий которых стабилизируется виток α -спирали - элемента вторичной структуры. Формирование в предпочтительной конформации первого семейства молекулы двух β -изгибов на участках 5-8 и 8-11, также стабилизируется двумя водородными связями.

Консерватизм локализации α -спирали, β -изгиба и солевых мостиков (возможно также и водородных связей) в двух конформациях показывает, что они могут быть важными для механизма действия рецептора. Сопоставление полученных результатов с данными, указанными в работе [1] показало, что полуэмпирический расчет подтверждает не только наличие стабильной α -спиральной конформации в С-концевой части этого участка, но также предсказывает наличие двух β -изгибов в N-концевой части молекулы. В результате теоретического расчета были выделены два вероятных семейства низкоэнергетических структур молекулы с точностью до значений отдельных углов внутреннего вращения и величин потенциальных энергий межатомного взаимодействия, соответствующих каждой структуре. Показано, что пространственное строение участка 178-190 рецептора в самой низкоэнергетической форме характеризуется наличием двух β -изгибов (предположительно на участках цепи 5-8 и 8-11), а также образованием α -спирального сегмента в С-концевой части цепи. В результате расчетов были определены локальные регулярные структуры и их взаимная ориентация в энергетически предпочтительных конформационных состояниях участка 178-190. На основе рассчитанных значений двугранных углов были построены визуальные модели энергетически предпочтительных конформационных состояний исследуемого участка рецептора NK1.

Итак, в результате конформационного анализа было получено несколько похожих низкоэнергетических структур участка 178-190 рецептора NK1 человека, каждая из которых может быть реализована в зависимости от конформационного состояния взаимодействующих с ним пептидных лигандов- нейрокинина А и вещества Р. Анализ и сопоставление конформационного поведения участка рецептора 178-190 и конформационных возможностей ранее исследованных методом молекулярной механики молекул нейрокинина А и вещества Р в работах [2] и [3] соответственно, выявил много похожих конформационных характеристик взаимодействующих молекул. Проведенное исследование позволило дать более детальное описание пространственной организации участка внеклеточной петли E2 рецептора NK1 для успешного предсказания мест связывания с молекулами нейрокинина А и вещества Р, необходимого для создания их эффективных аналогов.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] A.A. Bremer, S.E. Leeman, N.D. Boyl, FEBS Letter **486**, 43 (2000).
- [2] Г.А. Агаева, Н.Н. Керимли, Н.М. Годжаев, Биофизика **50**, 203 (2005).
- [3] G.A. Agaeva, Journal of Qafqaz University **15**, 72 (2005).