

УДК 577.3.01; 577.38; 577.3:51-76

**ПРОСТРАНСТВЕННОЕ СТРОЕНИЕ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ
ДИНАМИКА МОЛЕКУЛЫ АЛЛАТОСТАТИНА 2 (Dipru AST2)
В ВОДНОЙ СРЕДЕ**

Л.И.ВЕЛИЕВА, М.А.МУСАЕВ, И.Н.АЛИЕВА

Бакинский Государственный Университет

Lala_Veliyeva@rambler.ru

На основе исследования внутримолекулярных взаимодействий и количественной оценки пределов изменения двугранных углов в основной и в боковых цепях аминокислотных остатков, формирующих структуру нейропептида аллатостатина 2 (или Dipru AST2), изучено пространственное строение, конформационные свойства и подвижность молекулы в средах, моделирующих водное окружение. Показано, что фрагменты Ala1-Val5 и Glu7-Leu11, стабилизированные невалентными и электростатическими взаимодействиями атомов, сохраняют свою структуру в процессе молекулярной динамики в присутствии явно заданных молекул воды.

Ключевые слова: аллатостатины, пространственная структура, конформация.

Нейропептиды семейства аллатостатинов, обладающие уникальной способностью регулировать процессы синтеза и выделения ювенильных гормонов у различных видов насекомых, относятся к числу объектов интенсивного исследования последнего десятилетия [1-4]. Семейство включает в себя пептидные молекулы, известные под названием аллатостатинов 1-13, или Dipru-ASTs. В работе, методами теоретического моделирования, детально исследована структура и конформационные свойства одного из представителей данного семейства-аллатостатина 2, или Dipru-AST2, содержащего в своей первичной структуре восемнадцать аминокислотных остатков.

Метод расчета

Низкоэнергетические конформационные состояния Dipru AST2 были установлены путем минимизации полной конформационной энергии в силовом поле атом-атомных потенциальных функций. При расчете энергии учитывались невалентные ($E_{нев}$) и электростатические ($E_{эл}$) взаимодействия атомов, водородные связи ($E_{вод}$) и торсионные вклады ($E_{торс}$), для описания которых были использованы полуэмпирические потенциальные функции, предложенные в работах [5,6]. Расчеты проводились в

рамках жесткой валентной схемы, т.е. при фиксированных значениях длин валентных связей и валентных углов аминокислотных остатков, входящих в химическую структуру Dipeptide AST2. Примененная система потенциальных функций и вычислительные программы были апробированы на большом числе пептидов и белков авторами данной работы и другими исследователями [7-10].

Для моделирования водного окружения использовалась параметризация, предложенная в работах [5,6,11]. Энергия водородных связей оценивалась с помощью потенциала Морзе при значении энергии диссоциации водородной связи, равной 1,5 ккал/моль, соответствующей расстоянию связи NH...OC $r=1.8\text{\AA}$ для водных растворов. Величина диэлектрической постоянной принята равной 10 [11]. При обсуждении результатов расчета была использована общепринятая классификация пептидных структур [5]. Выбор структурных вариантов при расчете конформаций отдельных пептидов осуществлялся на основе известных значений двугранных углов (ϕ и ψ) соответствующих низкоэнергетическим областям конформационной карты R,B,L и P для каждого монопептида. Отсчет двугранных углов проводился согласно международной номенклатуре [12].

Для изучения конформационной подвижности Dipeptide AST2 был использован метод молекулярной динамики, описанный в работах авторов [13-15]. В методе, использующем силовое поле атом-атомного потенциала, рассчитываются классические траектории движения атомов макромолекулы, т.е. моделируется детальная микроскопическая картина внутренней тепловой подвижности молекулы в субнаносекундных интервалах времени. При проведении расчетов использовалась демонстрационная версия программы Hyper.chem, доступная на сайте Hypercube (<http://www.hyper.com/>) [16]. Для ускорения расчетов ван-дер-ваальсовых, водородных и электростатических взаимодействий используется радиус обрезания 12 \AA . Во избежание нежелательных краевых эффектов пептидная цепь была дополнена остатками ацетила вначале и N-метиламином в конце цепи. Поиск низкоэнергетических конформаций молекулярной системы проводился с помощью численных методов поиска экстремумов функций многих переменных. При этом предполагается, что нативная конформация молекулы находится в области глобального минимума потенциальной энергии.

Результаты и обсуждение

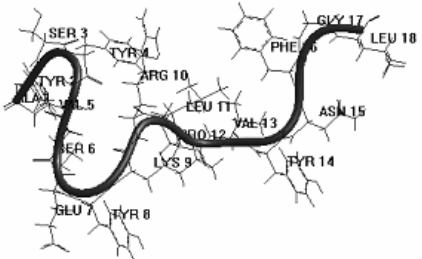
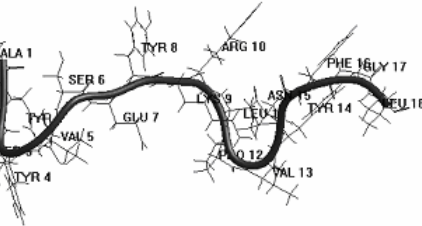
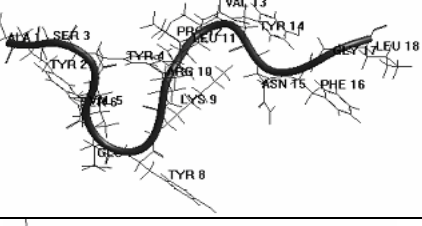
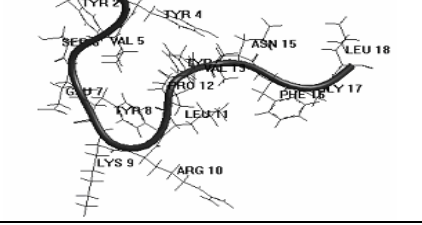
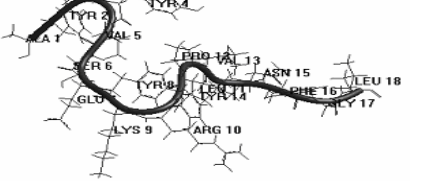
В химической структуре нейропептида Dipeptide AST2 содержится восемнадцать аминокислотных остатков Ala1-Tyr2-Ser3-Tyr4-Val5-Ser6-Glu7-Tyr8-Lys9-Arg10-Leu11-Pro12-Val13-Tyr14-Asn15-Phe16-Gly17-Leu18-NH₂ (AYSIVSEYKRLPVYNFGL). Конформационное исследование молекулы проводилось на основе фрагментарного подхода, исполь-

зубаемого в методе конформационного анализа [5]. Начальные структурные варианты для расчета стабильных конформаций отдельных фрагментов составлялись с учетом различных положений боковых цепей аминокислотных остатков таким образом, чтобы учесть максимальное количество стабилизирующих структуру межостаточных взаимодействий. В расчетах были использованы также данные, полученные для С-концевого фрагмента Phe-Gly-Leu в предыдущих исследованиях авторов [8,9]. В методе молекулярной динамики молекула Dipeptide AST2, окруженная 406 молекулами воды, с учетом периодических граничных условий, помещалась в гипотетический ящик с размерами $21.5\text{Å} \times 18.5\text{Å} \times 31\text{Å}$ [15].

Расчет низкоэнергетических конформационных состояний отдельных фрагментов и их перекрывающихся участков позволил выявить устойчивые состояния нейропептида, которые приведены в табл.1. Согласно результатам исследования, в интервал с относительной энергией 0-10 ккал/моль попадает 10 конформаций, полная энергия которых варьирует в пределах значений от -66.19 до -58.94 ккал/моль. Конформационное состояние с минимальным значением энергии, равным -66.19 ккал/моль, является наиболее предпочтительным по вкладу как невалентных, так и торсионных взаимодействий (табл.1). Конформационные состояния 8 наиболее устойчивых структур, построенные на основе рассчитанных значений двугранных углов также приведены в табл.1. Все они содержат β -повороты на участках Ala1-Val5 и Glu7-Leu11 пептидной цепи и стабилизированы как невалентными, так и электростатическими взаимодействиями атомов в пределах данных участков.

С целью изучения влияния молекул воды на конформационную подвижность нейропептида исследована молекулярная динамика аллатостатина Dipeptide AST2. Молекулярно-динамическое моделирование для конформации с минимальным значением полной энергии проводилось в гипотетическом кубическом объеме с размерами $21.5\text{Å} \times 18.5\text{Å} \times 31\text{Å}$, содержащем 406 молекул воды с наложенными периодическими граничными условиями (рис.1). Вначале расчета проводилась релаксация молекулы с использованием силового поля AM1 в течение 30 пс. Найденный энергетический минимум позволяет поместить молекулу в объем, содержащий 406 молекул воды. Далее проводится релаксация молекул с учетом реального водного окружения молекул. Для имитации водного окружения частота столкновений атомов с молекулами воды задана равной 50 пс^{-1} .

**Низкоэнергетические конформационные состояния
молекулы аллатостатина Dippi AST2**

Конформация	Энергетические вклады, ккал/моль				
	$E_{\text{нев}}$	$E_{\text{эл}}$	$E_{\text{торс}}$	$E_{\text{полн}}$	$E_{\text{отн}}$
	-89.55	16.09	7.27	-66.19	0.00
	-85.67	11.92	7.64	-66.11	0.08
	-89.11	16.23	7.52	-65.36	0.83
	-86.41	14.65	7.78	-63.99	2.20
	-86.97	15.94	7.42	-63.61	2.58

	-85.55	14.93	8.14	-62.47	3.72
	-82.60	13.16	8.16	-61.28	4.91
	-84.78	14.22	10.17	-60.39	5.80

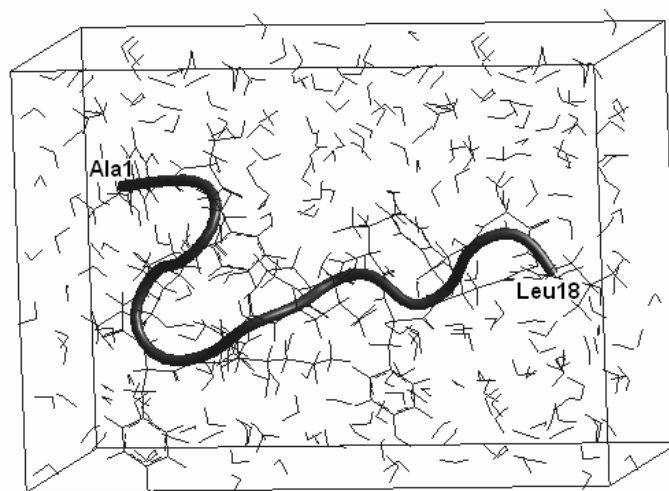


Рис.1 Оптимизированная структура молекулы аллатостатина Dirru AST2 в условиях явно заданного водного окружения.

Согласно результатам расчета фрагменты Ala1-Val5 и Glu7-Leu11 сохраняют свернутый характер пептидной цепи до и после оптимизации. Расстояние между C^{α} -атомами остатков первого и пятого остатков в указанных последовательностях варьирует в пределах 4.3-6.2 Å, а водород-

ная связь между CO и NH-группами пептидной цепи не разрушается в процессе молекулярной динамики, несмотря на изменения во внутримолекулярной энергии нейропептидов на 10-15 ккал/моль.

Устойчивость структуры отдельных фрагментов подтверждают также значения двугранных углов в основной цепи молекулы, пределы изменения которых приведены в табл.2.

Таблица 2

Пределы изменения двугранных углов основной цепи в процессе молекулярной динамики (МД) аллатостатина Dipep AST2

Остаток	Угол, град	До оптимизации	После оптимизации	МД	Остаток	Угол	До оптимизации	После оптимизации	МД
Ala1	φ	-87	-70	-72 -169	Arg10	φ	-84	-66	-109 -12 -178
	ψ	-54	-62			ψ	-53	-37	
	ω	180	174			ω	-179	-171	
Tyr2	φ	-154	-92	-88 161 161	Leu11	φ	-106	-131	-142 60 164
	ψ	170	175			ψ	141	75	
	ω	180	-174			ω	-177	178	
Ser3	φ	-92	-87	-84 -41 173	Pro12	φ	-80	-58	-52 -33 179
	ψ	-74	-46			ψ	-52	-28	
	ω	180	-174			ω	176	174	
Tyr4	φ	-120	-91	-121 -89 179	Val13	φ	-69	-83	-81 56 -167
	ψ	-43	-80			ψ	148	55	
	ω	179	173			ω	179	-172	
Val5	φ	-109	-80	-82 83 -164	Tyr14	φ	148	-66	-56 -33 172
	ψ	133	74			ψ	-48	-28	
	ω	177	-162			ω	179	166	
Ser6	φ	-93	-55	-72 -30 -174	Asn15	φ	-93	-81	-86 64 -175
	ψ	-79	-32			ψ	99	74	
	ω	-177	172			ω	180	-172	
Glu7	φ	-120	-159	-134 -52 -179	Phe16	φ	-135	-75	-78 51 -171
	ψ	-76	-55			ψ	159	71	
	ω	-177	179			ω	178	178	
Tyr8	φ	-111	-134	-101 -41 -170	Gly17	φ	74	72	76 25 173
	ψ	-30	-39			ψ	-79	16	
	ω	-176	178			ω	175	-178	
Lys9	φ	-113	-72	-107 152 176	Leu18	φ	57	61	67 20 -177
	ψ	154	116			ψ	59	25	
	ω	-179	-174			ω	175	-178	

Полученные данные позволяют заключить, что нейропептид аллатостатин 2 (Dipep AST2) содержит устойчивые элементы пространственной структуры, которые могут быть ответственны за формирование конформаций, необходимых для связывания с рецепторами аллатостатинов. Результаты могут быть полезны при исследовании механизма действия аллатостатинов и создании новых, более эффективных аналогов нейропептидов этого семейства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Clark L., Lange A.B., Zhang J.R., Tobe S.S. The roles of Dippu-allatostatin in the modulation of hormone release in *Locusta migratoria* // *J.Insect.Physiol.*, 2008, v.54(6), p.949-958.
2. Gäde G., Graham J.G. Insect peptide hormones: a selective review of their physiology and potential application for pest control // *Pest. Mang.Sci.*, 2003, v.59, p.1063-1075.
3. Gäde G., Marco H.G., Richter D., Weaver R.J. Structure-activity studies with endogenous allatostatins from *Periplaneta americana*: expressed receptor compared with functional bioassay // *J Insect. Physiol.*, 2008, v.54(6), p.988-996.
4. Kai Z.P., Huang J., Xie Y., Tobe S.S., Ling Y., Zhang L., Zhao Y.C., Yang X.L. Synthesis, biological activity, and hologram quantitative structure-activity relationships of novel allatostatin analogues // *J.Agric.Food Chem.*, 2010, v.58(5), p.2652-2658.
5. Попов Е.М. Quantitative approach to conformations of proteins *Int.J.Quant.Chem.*, 1979, v. 16, p. 707-737.
6. Momany F.A., McGuire R., Burgess A.W., Scheraga H.A. Energy parameters in polypeptides: geometric parameters, partial atomic charges, nonbonded interaction for naturally occurring amino acid // *J.Phys.Chem.*, 1975, v.79, p. 2361-2381.
7. Alieva I.N., Veliyeva L.I., Musayev M.A., Gojayev N.M. Conformational features of the allatostatin III neuropeptide from the cockroach *Diploptera Punctata* // *Protein and Peptide Letters*, 2006, v.13, p.1007-1015.
8. Мусаев М.А., Велиева Л.И., Алиева И.Н., Годжаев Н.М. Пространственная структура нейропептида аллатостатина-4 // *Вестник Бакинского Университета, серия физ-мат. наук*, 2005, №2, с.167-178.
9. Велиева Л.И., Мусаев М.А., Алиева И.Н., Годжаев Н.М. Молекулярная динамика нейропептидов семейства аллатостатинов // *Вестник Бакинского Университета, серия физ-мат. наук*, 2006, №1, с.120-131.
10. Alieva I.N., Mustafaeva N.N., Gojayev N.M. Conformational analysis of the N-terminal sequence Met1-Val60 of the tyrosine hydroxylase // *Journal of Molecular Structure ("Elsevier Science" UK)*, 2006, v.785, iss. 1-3, p.76-84.
11. Липкинд Г.М., Архипова С.Ф., Попов Е.М. Теоретическое исследование конформаций N-ацетил L-аланина в различных средах // *Журнал струк.химии*, 1970, т.11, с.121-126.
12. IUPAC-IUB Quantity, Units and Symbols in Physical Chemistry, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1988, p.39.
13. Шноль Э.Э., Гривцов А.Г. и др. Метод молекулярной динамики в физической химии, М.: Наука, 1996, 334 с.
14. Шайтан К.В. Энергетическая поверхность и конформационная динамика молекул // *Электрохимия*, 2003, т.39(2), с.212-219.
15. Шайтан К.В., Сарайкин С.С. Метод молекулярной динамики, 1999, <http://www.moldyn.ru/library/md/default.htm>
16. www.hyper.com

SU MÜHİTİNDƏ ALLATOSTATİN 2 (Dippu AST2) MOLEKULUNUN FƏZA QURULUŞU VƏ MOLEKULYAR DİNAMİKASI

L.İ.VƏLİYEVA, M.H.MUSAYEV, İ.N.ƏLİYEVA

XÜLASƏ

Neuropeptidin quruluşunu formalaşdıran amin turşu qalıqlarının əsas və yan zəncirlərinin ikiüzlü bucaqlarının dəyişmə hədlərinin qiymətləndirilməsi və molekul daxili qarşılıqlı

təsirlərin tədqiqi əsasında, allatostatin 2 (və ya Dippu AST2) molekulunun fəza quruluşu, konformasiya xüsusiyyətləri və mütəhərrikiyi su mühitində tədqiq edilmişdir. Göstərilmişdir ki, qeyri-valent və elektrostatik qarşılıqlı təsirləri ilə stabilləşən Ala1-Val5 və Glu7-Leu11 fraqmentləri molekulyar dinamika prosesində su molekulları ətrafında belə öz quruluşunu saxlayır.

Açar sözlər: allatostatin, fəza quruluşu, konformasiya

SPATIAL STRUCTURE AND MOLECULAR DYNAMICS OF THE ALLATOSTATIN 2 (Dippu AST2) MOLECULE IN WATER SOLUTION

L.İ.VALIYEVA, M.A.MUSAYEV, I.N.ALIYEVA

SUMMARY

The spatial structure, conformational properties and mobility of allatostatin 2 (or Dippu AST2) neuropeptide molecule are investigated by the molecular mechanics method on the base of investigation of intra-molecular interactions and quantitative evaluation of limits of variation of dihedral angles of amino acids in main and side chains in aqueous medium. It is shown, that at the presence of water molecules Ala1-Val5 and Glu7-Leu11 fragments which are stabilized by non-valence and electrostatic interactions maintain their structure during molecular dynamics simulation.

Keywords: allatostatin, spatial structure, conformation.

Поступила в редакцию: 18.04.2011 г.

Принято к печати: 17.06.2001 г.