

## ПРОСТРАНСТВЕННОЕ СТРОЕНИЕ МОЛЕКУЛЫ АЛЛАТОСТАТИНА-2

**М.А.МУСАЕВ**

*Бакинский Государственный Университет*  
*musayev\_m.@gmail.com*

*Методом молекулярной механики на основе детального фрагментарного конформационного анализа исследовано пространственное строение нейропептида аллатостатина-2. Показано, что нейропептид в условиях неявно заданного водного окружения формирует низкоэнергетические состояния, содержащие конформационно устойчивые фрагменты Gly1-Arg4, Tyr6-Gly9 и Ala7-Leu10, стабилизированные Невалентными и электростатическими взаимодействиями валентно несвязанных атомов в пределах тетрапептидных участков.*

### Введение

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 [1-6]. Семейство включает в себя нейропептиды, известные под названием аллатостатины 1-4 или Dipru-ASTs (табл.1).

Таблица 1

Нейропептид	Первичная структура аллатостатинов
Аллатостатин-1 (Dipru-AST 7)	Аминокислотная последовательность
Аллатостатин-1 (Dipru-AST 7)	Ala1-Pro2-Ser3-Gly4-Ala5-Gln6-Arg7-Leu8-Tyr9-Gly10-Phe11-Gly12-Leu13-NH <sub>2</sub>
Аллатостатин-2 (Dipru-AST 9)	Gly1-Asp2-Gly3-Arg4-Leu5-Tyr6-Ala7-Phe8-Gly9-Leu10-NH <sub>2</sub>
Аллатостатин-3 (Dipru-AST 8)	Gly1-Gly2-Ser3-Leu4-Tyr5-Ser6-Phe7-Gly8-Leu9-NH <sub>2</sub>
Аллатостатин-4 (Dipru-AST 5)	Asp1-Arg2-Leu3-Tyr4-Ser5-Phe6-Gly7-Leu8-NH <sub>2</sub>

Ранее нами детально были исследованы структура и конформационные свойства аллатостатина 1 (Dipru-AST 7), аллатостатина 3 (Dipru-AST 8) и аллатостатина 4 (Dipru-AST 5) [7-12]. В данной работе изучены конформационные свойства аллатостатина-2 (Dipru-AST 9), состоящего из 10 аминокислотных остатков с последовательностью Gly1-Asp2-Gly3-Arg4-Leu5-Tyr6-Ala7-Phe8-Gly9-Leu10-NH<sub>2</sub>. Как следует из табл.1 в химической структуре нейропептида

содержатся остатки с ароматическими кольцами в положениях 6 и 8 пептидной цепи и два аминокислотных остатка с заряженными функциональными группами на концах боковых цепей. Это отрицательно заряженная карбоксильная группа у остатка аспарагиновой кислоты (Asp2) и положительно заряженная гуанидиновая группа у аргинина (Arg4). Наличие объемной боковой цепи с разветвлением при C $\gamma$ -атоме в остатках лейцина (Leu5, Leu10), а также трех остатков глицина (Gly1, Gly3, Gly9) в первичной структуре аллатостатина-2 может быть причиной относительно высокой конформационной подвижности пептида.

В данной работе методом молекулярной механики в приближении атом-атомных потенциальных функций были рассчитаны величины двугранных углов основной и боковых цепей аминокислотных остатков в составе нейропептида, проведена количественная оценка пределов их изменения, а также оценены энергетические вклады внутри- и межостаточных взаимодействий во всех оптимальных конформациях молекулы.

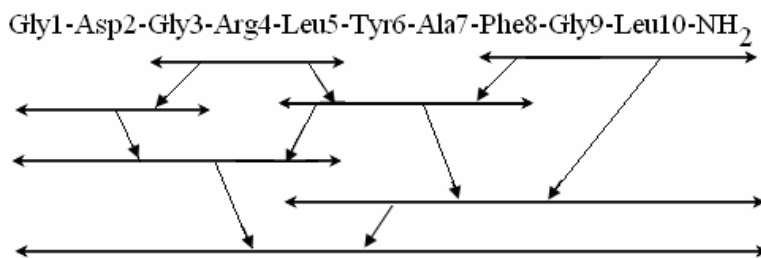
### Метод расчета

Исследования проводились методом теоретического конформационного анализа с учетом фиксированных значений длин валентных связей и валентных углов аминокислотных остатков, входящих в химическую структуру аллатостатина-2. При расчете конформационной энергии учитывались невалентные и электростатические взаимодействия, водородные связи и торсионные вклады, для описания которых были использованы потенциальные функции, предложенные в работе [13]. Расчеты проводились применительно к водной среде, поэтому параметризация потенциальных функций была аппроксимирована к условиям полярной среды, а величина диэлектрической постоянной принята равной 10 [14]. 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. Расчет стабильных конформаций нейропептида проводился с помощью программы и системы потенциальных функций, ранее описанных и примененных в работах [7-12].

При обсуждении результатов расчета была использована общепринятая классификация пептидных структур [15]. Выбор структурных вариантов при расчете конформаций отдельных пептидов осуществлялся на основе известных значений двугранных углов ( $\varphi$  и  $\psi$ ) соответствующих низкоэнергетическим областям конформационной карты R,B,L и P для каждого монопептида. Отсчет двугранных углов проводился согласно международной номенклатуре [16].

### Результаты и обсуждение

Конформационное исследование молекулы аллатостатина-2 проводилось на основе фрагментарного анализа, используемого в методе конформационного анализа по схеме расчета, представленной на рис.1. 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.



**Рис.1.** Схема расчета молекулы аллатостатина-2.

При расчете конформаций исследуемого нейропептида учитывались все двугранные углы (51 угол) основной и боковых цепей входящих в его состав аминокислотных остатков. По схеме расчета, представленной на рис.1, были последовательно рассмотрены конформационные возможности четырех перекрывающихся трипептидов-Gly1-Asp2-Gly3, Gly3-Arg4-Leu5, Phe8-Gly9-Leu10 и Leu5-Tyr6-Ala7, затем на основе стабильных конформаций указанных трипептидов были рассчитаны низкоэнергетические конформации последующих фрагментов и всей молекулы.

Процедура минимизации энергии проведена методом сопряженных градиентов, позволяющим отбирать "перспективные" для дальнейшего расчета конформации на каждом его этапе. Критерий отбора основан на условии, согласно которому значение минимальной энергии заданной конформации ( $E_{\text{конф.}}$ ) не должно превышать значение энергии ближних взаимодействий всех возможных конформеров ( $E_{\text{мин}}$ ) в пределах выбранного участка молекулы на величину  $\Delta E$ , т.е.  $E_{\text{конф.}} - E_{\text{мин}} \leq \Delta E$ . Величина  $\Delta E$  выбрана путем анализа энергии ди-, три- и других типов межостаточных взаимодействий в олигопептидах и белках.

Как следует из результатов расчета (табл.2), нейропептид обладает высокой конформационной подвижностью, так как в интервал с относительной энергией 0-2.5 ккал/моль попадают 9 конформаций, энергия которых варьирует в пределах -37.5 ÷ -35.3 ккал/моль.

Таблица 2

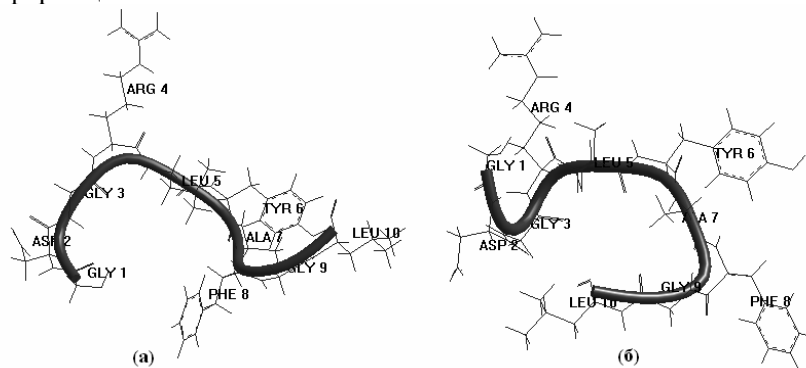
**Величины энергетических параметров (ккал/моль)  
оптимальных конформаций аллатостатина-2**

Конформация	$E_{\text{нев.}}$	$E_{\text{элек.}}$	$E_{\text{торс.}}$	$E_{\text{конф.}}$	$E_{\text{отн.}}$
1	-44.8	3.7	3.6	-37.5	0.0
2	-48.3	6.0	5.1	-37.3	0.2
3	-44.6	4.2	4.8	-35.6	1.9
4	-43.7	2.7	6.3	-34.7	2.8
5	-45.1	4.5	5.8	-34.7	2.8
6	-43.5	3.1	5.4	-35.1	2.4
7	-44.3	3.9	5.1	-35.2	2.3
8	-46.0	4.5	5.7	-35.2	2.3
9	-44.0	4.4	4.3	-35.3	2.2

Основной вклад в стабилизацию структур вносят невалентные взаимодействия, суммарный вклад от энергии электростатических и торсионных взаи-

модействий положителен и варьирует в зависимости от конформационного состояния в пределах  $3.6 \div 6.3$  ккал/моль.

Двугранные углы в основной и боковых цепях аминокислотных остатков в конформациях с минимальными значениями полной энергии (конформации 1 и 2, табл.2) приведены в табл.3, на рис.2 приведены стереоизображения этих конформаций.



**Рис. 2.** Энергетически предпочтительные конформации молекулы аллатостатина-2 с: (а)  $E_{\text{конф}} = -37.5$  ккал/моль; (б)  $E_{\text{конф}} = -37.3$  ккал/моль.

Конформации содержат  $\beta$ -повороты на N- и C-концевых участках, о чем свидетельствуют расстояния между  $C^\alpha$ -атомами аминокислотных остатков Tyr6-Gly9 (7.1 Å) и Ala7-Leu10 (6.9 Å) в первой конформации (табл.4), а также расстояния между  $C^\alpha$ -атомами в пределах тетрапептидных фрагментов Gly1-Arg4 (6.2 Å) и Tyr6-Gly9 (6.8 Å) во второй конформации. Таким образом,  $\beta$ -поворот на участке Tyr6-Gly9 сохраняется в обоих конформационных состояниях и стабилизируется, главным образом, за счет вкладов от ди- и трипептидных взаимодействий в пределах этих участков (табл.4).

Таблица 3

**Величины двугранных углов стабильных конформационных состояний фрагмента молекулы аллатостатина-2**

Остаток	Двугранные углы, град	
	$\phi$ , $\psi$ , $\omega$ , $\chi_1$ , $\chi_2$ , $\chi_3$ , $\chi_4$	$\phi$ , $\psi$ , $\omega$ , $\chi_1$ , $\chi_2$ , $\chi_3$ , $\chi_4$
Gly1	*-83, 66, 183	74, -75, 175
Asp2	-131, 172, 184, 63, 101	-95, -50, 181, -60, 88
Gly3	-74, 81, 178	-80, 72, 177
Arg4	-146, 163, 179, 62, 179, 180, 179	-153, 152, 182, 56, 178, 178, 179
Leu5	-95, -57, 181, -54, 176, 187, 180	-108, 97, 173, -54, 176, 186, 180
Tyr6	-129, 159, 185, -60, 88, 180	-148, 163, 176, -64, 99, 180
Ala7	-78, -47, 182, 178	-75, -41, 180, 177
Phe8	-122, 167, 182, 59, 84	-119, 183, 176, -54, 94
Gly9	78, -73, 177	-70, 74, 183
Leu10	-104, -58, 180, -54, 176, 186, 180	-106, 137, 180, -51, 173, 185, 180
Энергия	$E_{\text{конф}} = -37.5$ ккал/моль	$E_{\text{конф}} = -37.3$ ккал/моль

\*Примечание: Углы даны в последовательности  $\phi$ ,  $\psi$ ,  $\omega$ ,  $\chi_1$ ,  $\chi_2$ ,  $\chi_3$ ,  $\chi_4$

Формированию устойчивых конформационных состояний способствуют также взаимодействия боковых цепей отрицательно заряженной карбоксильной группы аспарагиновой кислоты Asp2 и положительно заряженной гуанидино-

вой группы аргинина Arg4 (табл.4). Об этом свидетельствуют суммарные значения вкладов от взаимодействия этих остатков, равные -11.89 ккал/моль для конформации с  $E_{\text{конф}}=-37.5$  ккал/моль и -7.08 ккал/моль для конформации с  $E_{\text{конф}}=-37.3$  ккал/моль. Одинаковыми для обеих конформаций являются также вклады от взаимодействий между остатками Tyr6 и Leu10 (-2.42 и -2.87 ккал/моль, соответственно).

Таблица 4

**Энергетические вклады (ккал/моль) межостаточных взаимодействий в низкоэнергетических конформациях молекулы аллатостатина-2**

Аминокислотные остатки	Конформация с $E_{\text{конф}}=-37.5$ ккал/моль		Конформация с $E_{\text{конф}}=-37.3$ ккал/моль	
	Расстояние между $C^{\alpha}$ атомами, Å	$\sum_{i,j}^{10} E_{i,j}$	Расстояние между $C^{\alpha}$ атомами, Å	$\sum_{i,j}^{10} E_{i,j}$
Gly1-Asp2	3.8	-0.59	3.8	-0.65
Gly1-Gly3	7.0	-0.15	5.7	-0.33
Gly1-Arg4	8.2	-0.29	6.2	-1.63
Gly1-Leu5	10.3	-0.01	9.4	-1.86
Gly1-Tyr6	11.0	-0.01	10.0	-1.76
Gly1-Ala7	10.5	0.00	12.2	-1.73
Gly1-Phe8	14.2	0.00	10.5	-1.77
Gly1-Gly9	17.1	0.00	7.5	-0.02
Gly1-Leu10	15.5	0.00	8.2	-1.78
Asp2-Gly3	3.8	-1.12	3.8	-0.62
Asp2-Arg4	5.7	-11.89	5.6	-7.08
Asp2-Leu5	8.9	0.10	8.6	-0.23
Asp2-Tyr6	10.2	0.65	9.9	-3.64
Asp2-Ala7	10.1	0.10	11.9	-0.16
Asp2-Phe8	13.5	0.18	11.0	-1.78
Asp2-Gly9	15.9	0.01	9.0	-0.17
Asp2-Leu10	13.7	-0.02	10.3	-4.30
Gly3-Arg4	3.8	-1.28	3.8	-3.82
Gly3-Leu5	7.1	-0.21	7.0	-0.02
Gly3-Tyr6	9.5	-0.01	9.6	-0.04
Gly3-Ala7	10.6	0.00	12.5	-0.04
Gly3-Phe8	13.5	0.00	12.5	-0.05
Gly3-Gly9	15.1	0.00	11.0	-0.27
Gly3-Leu10	12.2	0.01	11.1	-0.57
Arg4-Leu5	3.8	-2.25	3.8	0.00
Arg4-Tyr6	5.9	-2.49	6.2	-0.47
Arg4-Ala7	7.4	-1.91	9.6	0.00
Arg4-Phe8	10.1	-0.35	9.9	-0.51
Arg4-Gly9	11.5	0.00	8.8	0.00
Arg4-Leu10	8.6	0.06	8.2	-4.10
Leu5-Tyr6	3.8	-2.45	3.8	0.00
Leu5-Ala7	7.0	-0.21	7.1	0.07
Leu5-Phe8	9.1	-0.03	8.8	0.00
Leu5-Gly9	9.9	0.01	9.2	-1.20
Leu5-Leu10	7.2	-0.32	8.4	-0.07
Tyr6-Ala7	3.8	-1.69	3.8	0.00
Tyr6-Phe8	5.7	-1.61	5.4	0.11
Tyr6-Gly9	7.1	-0.15	6.8	0.00
Tyr6-Leu10	5.7	-2.42	6.1	-2.87
Ala7-Phe8	3.8	-1.16	3.8	0.01
Ala7-Gly9	7.0	-0.20	7.0	-0.09
Ala7-Leu10	6.9	-0.18	7.6	0.00
Phe8-Gly9	3.8	-1.02	3.8	-0.04
Phe8-Leu10	5.5	-1.90	5.4	0.13
Gly9-Leu10	3.8	-1.44	3.8	-0.04

Обобщая результаты исследования, можно утверждать, что аллатостатин-2, несмотря на высокую конформационную подвижность пептидной цепи, содержит также устойчивые элементы в своей пространственной структуре. К ним относятся фрагменты Gly1-Arg4, Tyr6-Gly9 и Ala7-Leu10, которые стабилизированы невалентными и электростатическими взаимодействиями валентно несвязанных атомов в пределах тетрапептидных участков.

Полученные результаты могут служить основой для установления взаимосвязи между структурой и функциями нейропептидов семейства аллатостатинов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Tobe S.S., Stay B. *Adv. Insect Physiol.*, 1985, v.18, p. 305.
2. Woodhead A.P., Stay B., Siedel S.L., Khan M.A., Tobe S.S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, v. 86, p. 5997.
3. Pratt G.E., Fransworth D.E., Fok K.F., Siegel N.R., McCormack A.L., Shabanowitz J., Hunt D.F., Feyereisen R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, v. 88, p. 2412.
4. Woodhead A.P., Stoltzman C.A., Stay B. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 1992, v. 20, p. 253.
5. Stay B., Woodhead A.P., Joshi S., Tobe S.S. In *Insect Neuropeptides: Chemistry, Biology and Action* (Menn, J.J., Kelly, T.J., and Masler, E.P., Ed), *Am. Chem. Soc.*, Washington, DC., 1991, p.164-176.
6. Pratt G.E., Fransworth D.E., Siegel N.R., Fok K.F., Feyereisen R. In *Insect Neuropeptides: Chemistry, Biology and Action*, (Menn, J.J., Kelly, T.J., and Masler, E.P., Ed), *Am. Chem. Soc.*, Washington, DC., 1991, p.177-192.
7. Alieva I.N., Veliyeva L.I., Musayev M.A., Gojayev N.M. *Protein and Peptide Letters*, 2006, v.13, p.1007-1015.
8. Мусаев М.А., Велиева Л.И., Алиева И.Н., Годжаев Н.М. *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. // *Вестник Бакинского Университета, серия физ-мат. наук*, 2006, №1, с.120-131.
10. Musayev M.A., Əliyeva İ.N., Vəliyeva L.İ. *Elm və təhsildə informasiya-kommunikasiya texnologiyaların tətbiqi // II Beynəlxalq Konfransın materialları*, Bakı, 2007, с.423-427.
11. Musayev M.A. *Fizikanın müasir problemləri / I Respublika konfransı (məqalələr toplusu)*, Bakı, 2007, s.113-114.
12. Велиева Л.И., Алиева И.Н., Мусаев М.А. *Материалы 6-й Всероссийской конференции «Молекулярное моделирование»*, М.: 2009, с.22.
13. Momany F.A., McGuire R., Burgess A.W., Scheraga H.A. *J. Phys. Chem.*, 1975, v.79, p. 2361.
14. Липкинд Г.М., Архипова С.Ф., Попов Е.М. *Журн. струк. химии*, 1970, т.11, с.121-126.
15. Popov E.M. *Int. J. Quant. Chem.*, 1979, v. 16, p. 707.
16. IUPAC-IUB *Quantity, Units and Symbols in Physical Chemistry*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1988, 39.

## **ALLATOSTATİN-2 MOLEKULUNUN FƏZA QURULUŞU**

**M.A.MUSAYEV**

### **XÜLASƏ**

Nəzəri konformasiya analizi üsulu ilə allatostatin-2 neuropeptid molekulunun fəza quruluşu tədqiq edilmişdir. Hesablamalar nəticəsində müəyyən edilmişdir ki, neuropeptid molekulunun su mühitində əmələ gətirdiyi kiçikenerjili stabil konformasiyalarında Gly1-Arg4, Tyr6-Gly9 və Ala7-Leu10 fraqmentlərinin dayanıqlı halları amin turşu qalıqlarının yan zəncirlərinin qeyri-valent və elektrostatik qarşılıqlı təsirlərlə stabilləşir.

## **SPATIAL STRUCTURE OF THE ALLATOSTATIN-2 MOLECULE**

**M.A.MUSAYEV**

### **SUMMARY**

The spatial structure of the allatostatin-2 neuropeptide is investigated by molecular mechanics method. It is established that at the polar conditions allatostatin-2 forms a series of low-energy conformations which consist of stable fragments of Gly1-Arg4, Tyr6-Gly9 and Ala7-Leu10 stabilized by non-valence and electrostatic interactions.