

УДК 577.3.01; 577.38; 577.3:51-76

ИЗУЧЕНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ И КОНФОРМАЦИОННЫХ СВОЙСТВ МОЛЕКУЛЫ ШИСТОСТАТИНА SCG-AST7

Л.И.ВЕЛИЕВА, У.Т.АГАЕВА, Э.З.АЛИЕВ
Бакинский Государственный Университет
Lala_Veliyeva@rambler.ru

Изучение конформационных свойств, геометрических и энергетических параметров молекулы Scg-AST7, принадлежащего семейству аллатостатинов, проводилось методом теоретического конформационного анализа. На основе расчёта величины внутримолекулярной конформационной энергии была дана количественная оценка стабильности возможных конформационных состояний молекулы в условиях полярной среды.

Ключевые слова: аллатостатин, шистостатин, нейропептиды, структура, теоретический конформационный анализ

Нейропептиды, обладающие уникальной способностью регулировать процессы синтеза и выделения ювенильных гормонов у различных видов насекомых, относятся к числу объектов интенсивного исследования последнего десятилетия. Они играют ключевую роль в процессах онтогенеза насекомых, участвуют в нейропередаче и ингибировании перистальтического движения кишечника [1-6]. В работе методом теоретического конформационного анализа исследована структура и конформационные свойства одного из представителей семейства аллатостатинов – шистостатина 7, содержащего в своей первичной структуре девять аминокислотных остатков (рис.1).

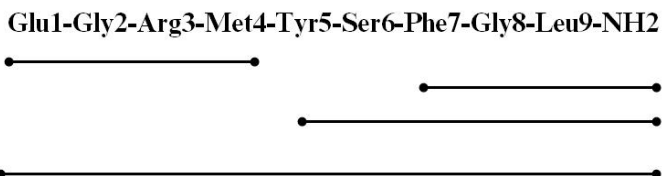


Рис 1. Первичная структура и схема расчета молекулы шистостатина Scg-AST7

Метод расчета и анализ полученных результатов

Метод теоретического конформационного анализа базируется на механической модели атома, где молекула рассматривается как система взаимодействующих атомов, соединенных жесткими связями. Используемые в работе полуэмпирические потенциальные функции и их параметризация были взяты из работы [7, 8].

Пространственная структура молекулы изучена на основе стабильных конформаций метиламидов N-ацетил- α -аминокислот с учетом различных ориентаций их боковых цепей. Поэтапный расчет пространственной структуры проведен согласно схеме, приведенной на рис.1. Схема разбиения на фрагменты произвольна и согласно результатам многочисленных расчетов не влияет на конечные результаты исследования [9, 10].

Для расчета фрагмента Glu1-Gly2-Arg3-Met4, состоящий из 69 атомов и 26 двугранных углов, в процедуру минимизации полной конформационной энергии был пущен 152 начальных вариантов. Как следует из результатов расчета только 8 минимизированных конформаций попадают в интервал относительной энергии 0-5 ккал/моль. Остальные конформации энергетически невыгодные и поэтому в последующую схему расчета они не были включены. Глобальная конформация этого фрагмента характеризуется $B_3BR_1B_3$ формой, принадлежащей eef шейпу (таб.1).

Таблица 1

Энергетические вклады низкоэнергетических конформаций фрагмента Glu1-Gly2-Arg3-Met4 молекулы шистостатина Scg-AST7

Шейп	Форма	$E_{нев.в.}$	$E_{эл.ст.}$	$E_{торс.}$	$E_{общ.}$	$E_{отн.}$
eef	$B_3BR_1B_3$	-14.57	-3.19	1.02	-16.74	0
	$B_2BR_1B_1$	-15.05	-2.53	1.42	-16.17	0.57
	$B_3BR_1B_1$	-13.49	-3.59	1.27	-15.80	0.94
	$B_2BR_1B_3$	-13.54	-2.88	1.14	-15.28	1.46
efe	$B_1RB_3R_3$	-15.10	1.0	1.26	-12.85	3.89
fee	$R_3RL_2B_3$	-17.28	2.71	1.12	-13.45	3.29
eee	$L_1RL_2B_1$	-17.9	2.16	2.13	-12.90	3.84
fef	$R_2BB_2B_3$	-14.28	1.30	1.21	-11.78	4.96

Согласно схеме, данной на рис.1 вторым изученным фрагментом был Phe-Gly-Leu-NH₂. Так как этот C-концевой трипептидный фрагмент одинаков для всех аллатостатинов и во многих статьях его результаты многократно были анализированы, то для расчета молекулы шистостатина Scg-AST7 двугранные углы были взяты из расчетов предыдущих шистостатинов.

Далее был рассчитан рентапептидный фрагмент Tyr-Ser-Phe-Gly-Leu-NH₂, состоящий из 84 атомов и 26 двугранных углов. Всего было составлено 1638 начальных вариантов для процедуры минимизации полной конформационной энергии, включающей вклады невалентных, элек-

тростатических, торсионных взаимодействий, а также энергию образования водородных связей.

Как следует из результатов исследования (табл.2) в интервал с относительной энергией 0-10 ккал/моль попадают представители всех рассчитанных шейпов. Наибольшее число низкоэнергетических конформационных состояний принадлежит к структурам полностью свернутого типа (шейп ffff). В интервал с относительной энергией 0-5 ккал/моль попадает 40 конформаций этого шейпа. Всего на 0,77ккал/моль отличается глобальная конформация (шейп efff) от конформации принадлежащей шейпу ffff. Все низкоэнергетические конформации этого фрагмента были включены в процедуру расчета всей молекулы.

Таблица 2

**Распределение конформаций по шейпам фрагмента
Tyr-Ser-Phe-Gly-Leu-NH2 молекулы шистостатина Scg-AST7**

Шейп	Интервал энергии $E_{отн}$ (ккал/моль)					
	0÷1	1÷2	2÷3	3÷4	4÷5	>5
efff	1	8	6	12	8	56
ffff	1	6	8	11	14	29
eeee	0	0	7	6	4	144
feee	0	0	0	0	11	93
eefe	0	0	10	6	6	124
ffee	0	0	0	2	15	46
efff	1	0	2	4	6	76
fefe	0	0	0	2	9	84
effe	0	0	1	1	6	140
fffe	0	0	2	12	39	44
feef	0	0	0	0	0	33
eeef	0	0	1	4	3	54
efef	0	1	2	8	5	51
ffef	0	0	0	1	6	29
feff	0	0	0	1	3	62
efee	1	3	3	15	11	89

Согласно схеме, на основе сочетания результатов исследования отдельных фрагментов, проведен расчет пространственной структуры и конформационных свойств молекулы шистостатина Scg-AST7. Полученные результаты объединены в табл.3-5. Наибольшее число конформаций с минимальным значением конформационной энергии приходится на шейпы ffefefef, ffefeeee, ffefeeef (по 4 конформаций). Анализ полученных результатов позволяет заключить, что конформационное состояние с минимальным значением полной энергии, равным -12.99 ккал/моль, является наиболее предпочтительным по вкладу невалентных взаимодействий ($E_{нев.} = -34.62$ ккал/моль) (табл.4).

Таблица 3

**Распределение конформаций по шейпам молекулы шистостатина
Scg-AST7**

Шейп	Интервал энергии $E_{отн}$ (ккал/моль)						
	0÷1	1÷2	2÷3	3÷4	4÷5	5÷6	6÷7
ffefeefe	1	-	-	-	1	-	-
ffefefef	1	-	-	1	1	-	-
ffefeeeee		-	1	-	-	1	1
efeeeeeee	-	-	2	-	-	1	1
eeeeeeefe	-	-	1	-	-	-	-
ffefeeff	-	1	-	-	-	-	-
ffefeef	-	2	-	1	-	1	-
efefeef	1	-	-	-	-	-	-
efeeeeeef	-	-	-	-	1	-	-
efefefff	-	-	-	1	-	1	-
efeeefff	-	-	-	-	1	-	-
ffefefff	-	-	-	1	-	-	-
ffefeffe	-	-	-	-	-	-	1
efefefef	-	-	-	-	1	-	-
ffeeffff	-	-	1	-	-	-	2
efeeffff	-	-	-	-	-	-	1
ffeeffee	-	-	-	-	-	-	1
eeefffee	-	-	1	-	-	-	-
efeeffee	-	-	-	-	-	-	1
ffeefeeee	-	1	1	-	-	-	-
eeefffeeee	-	-	1	-	-	-	-
efefffeeee	-	-	-	-	1	-	-
efeefffeeee	-	-	1	-	-	-	-
eeeffffff	-	-	-	1	-	-	-

Таблица 4

Энергетические вклады молекулы шистостатина Scg-AST7

Шейп	Форма	$E_{нев.в.}$	$E_{эл.ст.}$	$E_{торс.}$	$E_{общ.}$	$E_{отн.}$
ffefeefe	$R_1B_2LR_3B_2B_3B_1LB_3$	-28.78	3.75	8.29	-16.73	0
ffefefef	$R_1B_2LR_3B_2R_1R_1PB_3$	-27.55	3.89	10.16	-13.51	3.22
	$R_1B_2LR_3B_2R_1R_1PR_3$	-28.75	3.85	9.09	-15.81	0.92
ffefeeeee	$R_1B_2LR_3B_2B_3B_3BR_3$	-31.69	4.50	13.20	-13.99	2.74
	$R_1B_2LR_3B_2B_3B_3BB_3$	-25.25	3.78	10.22	-11.24	5.49
efeeeeeee	$L_2B_2LB_3B_2B_3B_3BR_3$	-27.63	3.89	9.93	-13.81	2.92
	$L_2B_3LB_3B_2B_3B_3BR_3$	-33.56	5.22	14.45	-13.89	2.84
eeeeeeefe	$L_2B_2BB_3B_2B_3B_1LB_3$	-33.06	3.26	15.43	-14.37	2.36
ffefeef	$R_1B_2LR_3B_2B_1B_2PR_3$	-28.72	3.78	9.79	-15.15	1.58
ffefeef	$R_1B_2LR_3B_2B_3R_1PR_3$	-31.64	3.79	12.88	-14.96	1.77
	$R_1B_2LR_3B_2B_2R_1PR_3$	-28.72	3.32	9.77	-15.63	1.1
	$R_1B_2LR_3B_2B_3R_1PB_3$	-34.62	4.11	17.52	-12.99	3.74
efefeef	$L_2R_3BR_1B_2B_3R_1PB_3$	-32.12	2.60	13.00	-16.51	0.22
efefefff	$B_1B_3LR_3B_3R_1B_2PR_3$	-26.57	5.40	7.43	-13.73	3.0
efeeefff	$L_2B_2LB_3B_3R_1B_2PR_3$	-28.92	3.10	13.60	-12.21	4.22

fffeffff	R ₁ B ₂ LR ₃ B ₃ R ₂ B ₁ PR ₃	-25.84	4.13	8.15	-13.57	3.16
fffeffff	R ₁ B ₃ LB ₁ R ₁ R ₁ B ₂ PR ₃	-29.46	4.56	10.43	-14.47	2.26
eeefffee	B ₁ B ₃ BR ₂ R ₁ R ₁ B ₃ BR ₃	-26.20	5.28	7.08	-13.85	2.88
eeefffee	B ₁ B ₃ BR ₂ R ₁ B ₁ B ₃ BR ₃	-27.62	5.37	7.99	-14.26	2.47
ffefeefe	R ₁ B ₃ LB ₁ R ₁ B ₁ B ₃ BR ₃	-28.39	4.72	8.65	-15.02	1.71
eeefffff	B ₁ B ₃ BR ₂ R ₁ R ₁ B ₂ PR ₃	-26.69	4.74	9.01	-12.93	3.8

Глобальная конформация с R₁B₂LR₃B₂B₃B₁LB₃ формой пептидной цепи (шейп ffefeefe) лишь на 2.26 и 3.16 ккал/моль уступает структурам свернутого типа с R₁B₃LB₁R₁R₁B₂PR₃ и R₁B₂LR₃B₃R₂B₁PR₃ формой, соответственно (шейпы ffeeffff и ffefefff), стабилизированной системой водородных связей (табл.5).

Таблица 5

**Водородные связи низкоэнергетических конформаций
молекулы шистостатина Scg-AST7**

Шейпы	Конформации	Аминокислоты	Длина связи Å	E _{водор.}
ffefeefe	R ₁ B ₂ LR ₃ B ₂ B ₃ B ₁ LB ₃	Glu1(NH)...Glu1(CO)	2.85	-0.13
		Glu1(CO)...Arg3(NH)	2.02	-1.15
		Glu1(CO)...Arg3(NH)	2.78	-0.16
		Arg3(CO)...Arg3(NH)	2.74	-0.17
		Arg3(NH)...Arg3(CO)	2.54	-0.31
		Met4(NH)...Met4(CO)	2.60	-0.26
		Met4(NH)...Tyr5(CO)	2.92	-0.10
		Tyr5(CO)...Leu9(NH)	2.88	-0.12
		Ser6(CO)...Phe7(NH)	2.05	-1.08
		Phe7(CO)...Phe7(NH)	2.58	-0.27
		Phe7(NH)...Gly8(CO)	2.22	-0.72
Gly8(NH)...Leu9(CO)	2.72	-0.18		
ffefefef	R ₁ B ₂ LR ₃ B ₁ R ₁ R ₁ PR ₃	Glu1(NH)...Glu1(CO)	2.86	-0.12
		Glu1(CO)...Arg3(NH)	2.01	-1.18
		Glu1(CO)...Arg3(NH)	2.75	-0.17
		Arg3(NH)...Arg3(CO)	2.50	-0.35
		Arg3(NH)...Met4(CO)	2.54	-0.30
		Met4(NH)...Tyr5(CO)	2.77	-0.16
		Ser6(CO)...Phe7(NH)	2.78	-0.15
		Phe7(NH)...Phe7(CO)	2.84	-0.13
		Phe7(CO)...Gly8(NH)	2.60	-0.26
		Gly8(NH)...Gly8(CO)	2.24	-0.69
		Leu9(NH)...Leu9(CO)	2.75	-0.17
ffefefff	R ₁ B ₂ LR ₃ B ₂ B ₁ B ₂ PR ₃	Glu1(NH)...Glu1(CO)	2.85	-0.13
		Glu1(CO)...Met4(NH)	2.00	-1.19
		Glu1(CO)...Arg3(NH)	2.88	-0.12
		Glu1(CO)...Arg3(NH)	2.72	-0.18
		Gly2(CO)...Arg3(NH)	2.74	-0.17
		Arg3(NH)...Arg3(CO)	2.52	-0.32
		Met4(NH)...Met4(CO)	2.59	-0.27
		Tyr5(NH)...Tyr5(CO)	2.68	-0.21
		Phe7(CO)...Gly8(NH)	2.61	-0.26
		Leu9(NH)...Leu9(CO)	2.88	-0.11

fffeffff	R ₁ B ₂ LR ₃ B ₃ R ₂ B ₁ PR ₃	Glu1(NH)...Glu1(CO)	2.85	-0.13
		Glu1(CO)...Met4(NH)	2.00	-1.20
		Glu1(CO)...Arg3(NH)	2.86	-0.12
		Gly2(CO)...Arg3(NH)	2.74	-0.17
		Arg3(NH)...Arg3(CO)	2.48	-0.37
		Met4(NH)...Met4(CO)	2.54	-0.31
		Tyr5(NH)...Tyr5(CO)	2.79	-0.15
		Tyr5(CO)...Phe7(NH)	2.25	-0.67
		Phe7(CO)...Gly8(NH)	2.63	-0.24
		Leu9(NH)...Leu9(CO)	2.92	-0.10
fffeffff	R ₁ B ₃ LB ₁ R ₁ R ₁ B ₂ PR ₃	Glu1(NH)...Glu1(CO)	2.31	-0.59
		Glu1(CO)...Met4(NH)	2.33	-0.55
		Gly2(CO)...Arg3(NH)	2.74	-0.17
		Arg3(NH)...Arg3(CO)	2.50	-0.35
		Met4(NH)...Met4(CO)	2.46	-0.38
		Tyr5(NH)...Tyr5(CO)	2.88	-0.11
		Tyr5(CO)...Phe7(NH)	2.05	-1.08
		Phe7(CO)...Gly8(NH)	2.61	-0.25
		Gly8(NH)...Gly8(CO)	2.27	-0.64
		Leu9(NH)...Leu9(CO)	2.91	-0.11

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. Stay B., Fairbairn S., Yu C.G. Role of allatostatins in the regulation of juvenile hormone synthesis. *Arch. Insect. Biochem. Physiol.*, 1996, v.32, №3-4, p.287-297
6. Veelaert D., Schoofs L., Tobe S.S., Yu C.G., Vullings H.G.B., Couillaud F., Deloof A. Biosynthesis and release of juvenile-hormone during the reproductive cycle of the ring-legged earwing. *Comparative Biochem.and Phys. (pharmacology, toxicology and endocrinology)*, 1995, v.110, №3, p.241-251
7. Попов Е.М. Структурная организация белков, М.: Наука, 1989, 352 с.
8. Levis P.N., Momany F.A., Scheraga H.H. VI. Conformational energy analysis of the N-acetyl N-methyl amides of the twenty naturally occurring amino acids. *Israel J. Chem.*, 1973, v.11, p.121-152
9. Godjaev N.M., Alieva I.N., Akyuz S., Aliev D.I. Conformational analysis of Argiopiopine Molecule obtained from "Argiopiop Lobata" Spider Venom. *J. of Mol. Struc.*, 1995, v.350, p.173-183
10. I.N.Alieva, L.I.Veliyeva, M.A.Musayev, N.M.Gojayev. Conformational features of the Dippu-Ast 8 neuropeptide from the cockroach *Diploptera Punctata*. *Protein and Peptide Letters*, 2006, v.13, №10, p.1007-1015

SCG-AST7 ŞİSTOSTATİN MOLEKULUNUN FƏZA QURULUŞUNUN VƏ KONFORMASIYA XÜSUSİYYƏTLƏRİNİN TƏDQIQI

L.İ.VƏLİYEVƏ, Ü.T.AĞAYEVƏ, E.Z.ƏLİYEV

XÜLASƏ

Allatostatinlər ailəsinə mənsub Scg-AST7 molekulunun konformasiya xüsusiyyətlərinin, həndəsi və enerji parametrlərinin tədqiqi nəzəri konformasiya analizi üsulu ilə yerinə yetirilmişdir. Molekul daxili konformasiya enerjisinin hesablanması nəticəsində polyar mühitdə mümkün stabil konformasiyalar kəmiyyətə qiymətləndirilmişdir.

Açar sözlər: allatostatin, şistostatin, neuropeptidlər, quruluş, nəzəri konformasiya analizi

THE STUDY OF THE SPATIAL STRUCTURE AND CONFORMATIONAL PROPERTIES OF SHISTOSTATINA SCG-AST7 MOLECULES

L.İ.VELIYEVA, U.T.AGAYEVA, E.Z.ALIYEV

SUMMARY

The article studies conformational properties, geometric and energy parameters of the molecule Scg-AST7 by the method of theoretical conformational analysis. Based on the calculation of the intramolecular conformational energy, the quantitative estimation of the stability of possible conformational states of a molecule in a polar environment is provided.

Keywords: allatostatin, shistostatin, neuropeptides, structure, theoretical conformational analysis

Поступила в редакцию: 15.07.2012 г.

Подписано к печати: 20.10.2012 г.