

ПРОСТРАНСТВЕННОЕ СТРОЕНИЕ ТАХИКИНИНОВОГО ПЕПТИДА ЭЛЕДОИЗИНА

Гюльшен АГАЕВА

Институт проблем физики,
Бакинский Государственный Университет
Баку / АЗЕРБАЙДЖАН
gulshen@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Проведено исследование пространственного строения тахикининового нейропептида эledoизина методом теоретического конформационного анализа. На основе фрагментарного анализа были определены энергетически предпочтительные конформационные состояния отдельных фрагментов и всей молекулы эledoизина. Полученные результаты теоретического расчета были сопоставлены с экспериментальными данными.

Ключевые слова: эledoизин, вещество P, конформация, теоретический конформационный анализ

CONFORMATIONAL SPATIAL STRUCTURE OF THE TACHYKININ PEPTIDE ELEDOSIN

ABSTRACT

The spatial structure of the tachykinin neuropeptide eledoisin has been investigated by theoretical conformational analysis method. On the base of fragmental analysis the energetically preferable conformations of the separate segments and the full eledoisin molecule were determined. The obtained results of theoretical calculation were compared with experimental data.

Key words: eledoisin, substance P, conformation, theoretical conformational analysis.

ВВЕДЕНИЕ

Эledoизин впервые был получен из экстрактов задних слюнных желез моллюска *Eledone moschata* [1,2]. Этот пептид эledoизин (прежнее название мошатин) относится к группе тахикининовых пептидов и содержит 11 остатков с аминокислотной последовательностью pGlu1-Pro2-Ser3-Lys4-Asp5-Ala6-Phe7-Ile8-Gly9-Leu10-Met11NH₂ [2]. К этой же группе пептидов относятся вещество P (SP), нейрокинин А и нейрокинин В, которые были выделены у млекопитающих, а также физалаемин и кассинин, выделенные из амфибии. Все эти пептиды структурно гомологичны, обладают сходным спектром физиологических функций и взаи-

модействуют с общей системой рецепторов. Эledoизин оказывает сильное гипотензивное действие при тестировании на млекопитающих, подобно кининам и гистамину увеличивает проницаемость сосудов кожи и стимулирует гладкую мускулатуру. Гипотензивный эффект эledoизина держится дольше, чем в случае брадикинина. При подкожном введении эledoизина повышается секреторная активность слюнных желез и желез слизистой желудочно-кишечного тракта. В значительных дозах эledoизин стимулирует секрецию гастроинтестинального тракта [2]. Этот пептид повышает также секрецию слезы [3]. На основе эledoизина создан и используется препарат в качестве стимулятора секреции слезы. Из

структурно-функциональных исследований эледоизина следует, что его нона- и декапептидные фрагменты в два раза более активны, чем нативный гормон, а С-концевой гептапептид обладает полной активностью гормона. В последнее время интенсивно изучаются различные структурные аналоги эледоизина в качестве агонистов и антагонистов рецепторов SP-R.

Для целенаправленного моделирования и синтеза новых потенциальных аналогов эледоизина необходимо знание его пространственного строения и конформационных особенностей, требуемых для комплементарного взаимодействия этих лигандов с рецепторами реагирующей клетки. Методами ^1H -ЯМР и КД-спектроскопии в работе [4,5] была изучена пространственная структура эледоизина. Авторы отмечают, что эледоизин в водном окружении демонстрирует конформационную лабильность, а в 50%-ном растворе трихлорэтана и додецилсульфате натрия формирует альфа-спиральную структуру и имеет более упорядоченную конформацию на участке 6-11. В другой работе [6] методом двумерной Н-ЯМР-спектроскопии было показано, что в воде и диметилсульфоксиде эледоизин предпочтительно находится в раз-вернутой конформации, а в присутствии додецилфосфохолиновых мицелл, моделирующей мембранное окружение, эледоизин формирует альфа-спиральную конформацию в центральной и С-конечном участке цепи 4-11 пептида. Однако спектральные методы не могут дать детальное описание всех стабильных конформаций подвижного олигопептида, величины двугранных углов, иерархии стабильности конформеров, энергетические вклады отдельных взаимодействий и т.д. эти задачи разрешаются при использовании метода теоретического конформационного анализа. Поэто-

му становится важным определение пространственной организации молекулы эледоизина именно теоретическим расчетным методом. В данной статье приведены результаты исследования пространственного строения молекулы эледоизина и сопоставления расчетных конформационных параметров с полученными ранее конформациями эледоизина [4-6] спектральными методами.

Метод Расчета

Исследование пространственного строения молекулы эледоизина проводилось методом теоретического конформационного анализа с использованием стандартной геометрии. При расчете внутримолекулярной конформационной энергии учитывались энергетические вклады невалентных ($E_{\text{нев.}}$), электростатических ($E_{\text{эл.с.}}$), торсионных взаимодействий ($E_{\text{тор.}}$) и водородных связей ($E_{\text{вод.св.}}$). Расчет стабильных конформаций пептидов проводился с помощью программы и системы потенциальных функций, ранее описанных и примененных в работах [7-14]. Параметризация потенциальных функций была аппроксимирована к условиям полярной среды: величина диэлектрической проницаемости принята равной 10 [9], а водородные связи предполагались ослабленными (максимальная энергия при $r_0=1,8$ \AA составляла -1.5 ккал/моль).

При обсуждении результатов расчета была использована принятая классификация пептидных структур [10,11]. 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 [13-16]. Отсчет двугранных углов (ϕ и ψ) проводился согласно общепринятой номенклатуре

[12]. Для всех неглициновых монопептидов варианты составлялись из R, В и L областей, а для остатка пролина, благодаря жестко фиксированной связи N-C α , только из R и В областей. Как известно,

для остатка предшествующего пролину, стерически разрешена лишь В форма основной цепи [15,16], что значительно ограничивает его конформационные возможности.

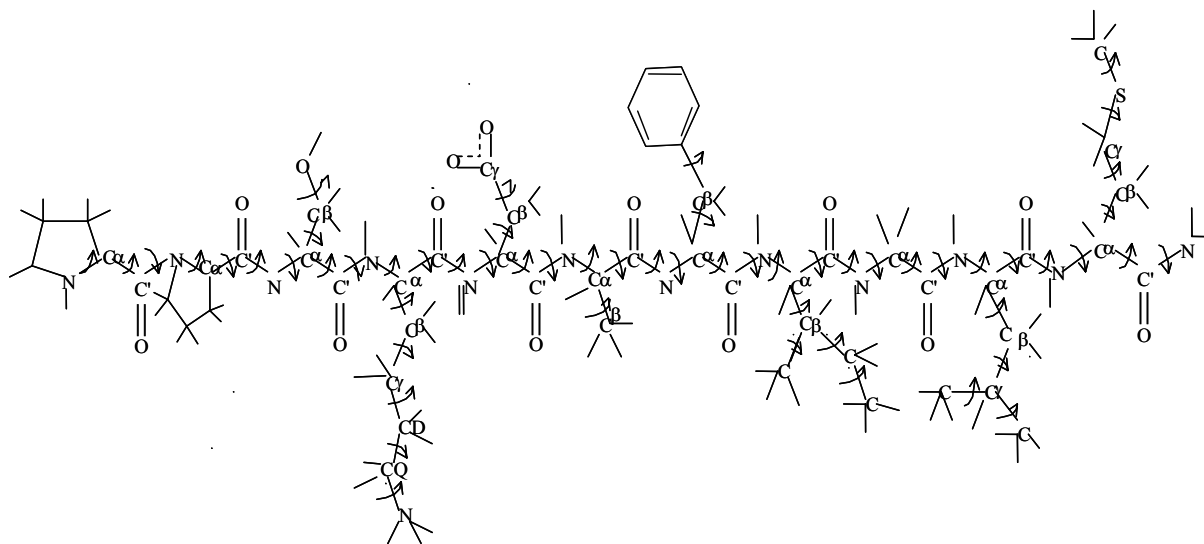


Рис.1. Расчетная атомная модель и переменные двугранные углы молекулы эledoизина

Результаты и Обсуждение

Конформационное исследование эledoизина делится на ряд последовательно решаемых структурных задач. Расчетная атомная модель и переменные двугранные углы молекулы эledoизина показаны на рисунке 1. Схема расчета приведена на рисунке 2. Согласно экспериментальным данным именно гидрофобный участок молекулы, локализованный на С-конце, ответственен за связывание с рецептором на поверхности реагирующей клетки. Надо отметить, что этот пентапептид считается сигнальной последовательностью для тахикининов. Расчеты конформаций С-концевого пентапептида выявили, что чем больше развернута N-концевая часть пентапептида, тем меньше конформационная стабильность этих структур. Энергетически предпочтительной для пентапептида оказалась α -спиральная структура R₂R₂RR₂₁R₃₂. Низкоэнергетические конформации пе-

рекрывающих фрагментов pGlu¹-Asp⁵ и Asp⁵-Ile⁸, позволили последовательно рассмотреть конформационные возможности С-концевого гептапептида Asp⁵-Met¹¹NH₂ и наконец, всей молекулы вещества Р, ундекапептида pGlu¹-Met¹¹NH₂. При составлении структурных вариантов гептапептида ориентации боковых цепей остатков перекрывающегося участка Phe⁷-Tyr⁸ брались с учетом сохранения максимума межостаточных взаимодействий, образуемых этими остатками в перекрывающихся фрагментах. В результате минимизации энергии составленных структурных вариантов были найдены низкоэнергетические конформации С-концевого гептапептида. Энергетически предпочтительными оказались α -спиральные конформации. Иными словами, чем длиннее α -спираль на С-конце пептида, тем стабильнее структура гептапептида.

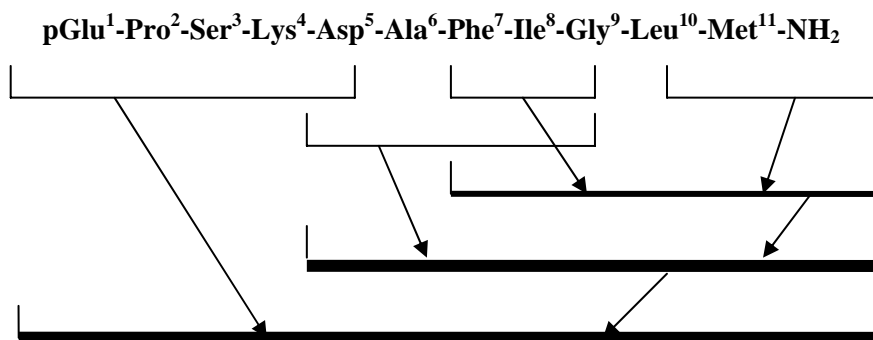


Рис. 2. Схема расчета молекулы эледоизина.

Основные результаты расчета структурных вариантов ундекапептида эледоизина в условиях полярной среды представляют собой семейство конформаций с величинами относительной энергии в интервале 0-10 ккал/моль. Энергетически предпочтительное семейство составляют структуры, содержащие α -спираль на С-концевом гептапептиде. Каждое семейство конформаций ундекапептида формирует одну из стабильных конформаций С-концевого гептапептида. Внутри каждого семейства конформации различаются структурным типом N-концевого тетрапептидного фрагмента, который продолжен относительно жестким участком последовательности Asp⁵-Met¹¹NH₂. Данный конформационно жесткий участок реализуется в шести пространственных формах пептидной цепи. Расчет показал, что молекула эледоизина может формировать, в отличие от молекулы вещества Р, одну глобальную, т.е. самую низкоэнергетическую структуру со значением $E_{отн}=0$ ккал/моль: BRB₃R₂₂R₂ R₂R₂R₃RR₂₁R₃₂, которая содержит один β -изгиб на N-конце и α -спиральный сегмент на С-конце. Следует отметить, что другие последующие по стабильности конформации имеют различные величины относительной энергии $E_{отн}=2.7$ ккал/моль и $E_{отн}=5.7$ ккал/моль. В низкоэнергетических конформациях эледоизина остаток Lys⁴ реализует самые эффективные межостаточные

взаимодействия между боковыми цепями остатков остатков Asp³ и Lys⁶, суммарный энергетический вклад которых составляет -11-12 ккал/моль. Следует отметить, что Lys⁴ играет существенную структурообразующую роль в пространственной организации эледоизина, что предсказывалось спектральными методами. Как показал расчет в N-концевой части молекулы, где в позициях 1 и 4 расположены два остатка пироглутаминовой кислоты и лизина, формируется β -изгиб в стабильных конформациях, о чем свидетельствует величина расстояния между атомами C ^{α} остатков pGlu¹ и Lys⁴, который составляет

6 Å. Как известно, β -изгибы формируются из четырех последовательных аминокислотных остатков (i, i+1, i+2, i+3) и идентифицируются с помощью общего критерия, согласно которому расстояние между атомами C ^{α} i-того и i+3-го остатков должно быть меньше 7Å при иной, чем α -спираль, конформации основной цепи. В других низкоэнергетических конформациях эледоизина также формируются β -изгиб на участках 1-4, о наличии β -изгиба свидетельствует расстояние между атомами C ^{α} остатков в позициях 1 и 4. На рисунке 3 показаны проекции молекулы эледоизина в двух самых низкоэнергетических конформациях. Одна из которых реализует спиральную конформацию на участке 4-11

пептидной цепи, а другая менее стабильная формирует спиральный сегмент на участке 6-11. Следует отметить, что образование низкоэнергетических конформаций ундекапептида сопровождается образованием внутримолекулярных водородных связей. Расчет показал, что в α -спиральном сегменте глобальной конформации образуется система регулярных водородных связей, характерных для правой α -спирали: NH(Ile⁸)...CO(Lys⁴), NH(Gly⁹)...CO(Asp⁵), NH(Leu¹⁰)...CO(Ala⁶) и NH(Met¹¹)...CO(Phe⁷). Конформационный анализ последовательно наращиваемых С-концевых фрагментов молекулы эledoизина выявил значительную преемственность результатов по мере увеличения длины рассматриваемой пептидной цепи. В табл.1 приведены величины двугранных углов двух стабильных конформационных состояний эledoизина. В табл.2 показаны величины энергетических вкладов внутри- и межостаточных взаимодействий в двух низкоэнергетических конформациях I-BRB₃R₂₂R₂R₂R₂R₃₂RR₂₁R₃₂ (0.0 ккал/моль) и II- BRB₃R₂₂B₃R₂R₂R₂₂RR₂₁R₃₂

(2.7 ккал/моль). Как видим, в результате расчетов были определены энергетически предпочтительные области величин двугранных углов и взаимное расположение остатков в низкоэнергетических конформациях эledoизина. Полученные в результате расчетного метода конформационные особенности эledoизина по многим геометрическим и энергетическим параметрам находятся в удовлетворительном согласии с результатами спектральных методов.

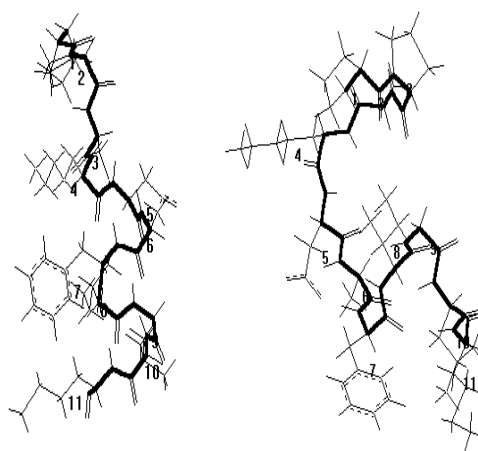


Рис. 3. Проекция двух низкоэнергетических конформаций молекулы эledoизина I - BRB₃R₂₂R₂R₂R₂R₃₂RR₂₁R₃₂ (0.0 ккал/ моль) и II - BRB₃R₂₂B₃R₂R₂R₂₂RR₂₁R₃₂ (2.7 ккал/моль)

Таблица 1. Двугранные углы (град) аминокислотных остатков ундекапептида эledoизина в низкоэнергетических конформациях (I) и (II)

Остаток	Конформация	Основная цепь			Боковая цепь				
		Φ	Ψ	ω	χ^1	χ^2	χ^3	χ^4	χ^5
pGlu ¹	I	-	111	186	-	-	-	-	-
	II	-	117	187	-	-	-	-	-
Pro ²	I	-	-64	180	-	-	-	-	-
	II	-	-51	184	-	-	-	-	-
Ser ³	I	-132	93	175	-61	180	-	-	-
	II	-119	90	177	-60	180	-	-	-
Lys ⁴	I	-117	-55	182	180	180	180	180	180
	II	-120	-53	180	179	180	180	180	180
Asp ⁵	I	-59	-39	182	181	90	-	-	-
	II	-120	164	181	-59	90	-	-	-
Ala ⁶	I	-76	-37	178	182	-	-	-	-
	II	-69	-31	183	182	-	-	-	-
Phe ⁷	I	-64	-43	180	179	90	-	-	-
	II	-63	-49	179	179	90	-	-	-
Ile ⁸	I	-77	-34	-187	-62	183	176	184	-
	II	-78	-31	-184	187	177	177	183	-

Gly ⁹	I	-60	-38	-180	-	-	-	-	-
	II	-61	-38	-179	-	-	-	-	-
Leu ¹⁰	I	-81	-64	-174	175	64	60	57	-
	II	-81	-63	-174	175	64	60	58	-
Met ¹¹	I	-93	-53	-182	-58	180	181	180	-
	II	-92	-52	-181	-59	180	180	180	-

I - BRB₃R₂₂R₂R₂R₂R₃₂RR₂₁R₃₂ (0.0)

II - BRB₃R₂₂B₃R₂R₂RR₂₁R₃₂ (2.7)

Таблица 2. Энергетические вклады внутри- и межстаточных взаимодействий в двух низкоэнергетических конформациях I - BRB₃R₂₂R₂R₂R₂R₃₂RR₂₁R₃₂ (0.0) II - BRB₃R₂₂B₃R₂R₂RR₂₁R₃₂ (2.7)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	№ остатка
I 1.3	-0.4	-0.8	-4.3	-1.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-0.2	1
II 1.2	-0.2	-1.1	-5.0	-0.2	2.1	0.0	-0.8	0.0	0.0	-0.2	
	0.3	-1.3	-0.6	0.1	-0.1	-0.0	-0.0	0.0	0.0	0.0	2
	0.3	-1.3	-0.7	0.1	-0.0	0.0	-1.2	-0.3	0.0	0.0	
		1.2	-0.4	-0.6	-0.8	-1.4	-0.1	0.0	0.0	0.0	3
		1.2	-0.4	-0.8	0.0	0.0	-0.3	-0.3	0.0	0.0	
			2.4	-3.7	-1.2	-2.6	-3.8	-0.1	0.0	0.4	4
			2.4	-7.5	-2.0	0.0	-1.2	-0.1	0.0	0.3	
				2.4	-1.0	-1.1	-2.1	-1.7	-0.1	-0.4	5
				2.7	-1.5	-2.0	-2.6	-2.2	-0.2	-0.5	
					1.2	-0.2	-1.1	-1.6	-1.9	-0.1	6
					1.3	0.5	-1.1	-1.6	-1.7	-0.1	
						-0.1	-2.6	-1.0	-2.4	-3.3	7
						0.0	-2.4	-1.0	-1.9	-3.9	
							1.4	0.4	-1.2	-2.7	8
							4.0	0.6	-1.2	-2.7	
								1.2	-0.7	-0.8	9
								1.2	-0.6	-0.8	
									-1.0	-3.8	10
									-1.0	-3.7	
										-2.3	11
										-2.3	

ЛИТЕРАТУРА

- Anastasi A., Erspamer V. //Br.J.Pharmacol Chemoter, 1962, V.19(2), P.326-336.
- Erspamer V., Anastasi A. // Experienta, 1962, V.15, n.18, P.58-59.
- Jaeger W., //Klin Monatsbl Augenheilkd 1988; V.192 P.163-6.
- De Marco, A., and G. Gatti, //Int. J. Pep. Pro. Res. 7:437-444, 1975.
- Wilson J.C., Nielsen K.I., McLeish M.I., Craik D.I., // Biochemistry. 1994, V.33(22),P.6802-11.
- Grace R.C.R, Chandrashekar I.R., Cowsik S.M., //Biophysical Journal ,2003, V.84,P.655-664.
- Scott R.A., Scheraga H.A.// J.Chem.Phys., 1966, V.45, P.2091.
- Momany F.A., McGuire, Burgess A.W., Scheraga // J.Phys.Chem., 1975, V.79, P.2361.
- Липкин Г.М., Архипова С.Ф., Попов Е.М.// Молек. биол., 1970, Т.4, С.331.
- Scheraga H.A. // Adv. Phys. Org. Chem., 1968, V.61, P.103.
- Попов Е.М., Дашевский В.Г., Липкин Г.М., Архипова С.Ф.// Молек. биол., 1968, Т.2, С.612.
- IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature // Biochim.Biophys.Acta, 1971,V.121, P.121
- Ропов Е.М. // Int. J.Quant. Chem., 1979, V.16, P.707.
- Годжаев Н.М., Максумов И.С., Исмаилова Л.И. // Ж.Структ. хим.,1983, 24.,с.147.
- Schimmel P.R., Flory P.J. //J.Mol.Biol., 1968, V.34, P.105.
- Ponnuswamy P.K., McGuire, Scheraga H.A.// Int. J.Pept. Protein Res., 1973, V.5, P.73.