

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛЫ БАКТЕНЕЦИНА

Алиев Р.Э.

Бакинский государственный университет

ул. Академика З. Халилова, 23, г.Баку, AZ 1148, Азербайджан

e-mail: rashid_aliev@mail.ru

Аннотация. На классической основе, при помощи полуэмпирического метода атом-атомных потенциалов, выполнен априорный конформационный анализ молекулы бактенецина. Конформационный анализ был проведен на основе аминокислотной последовательности и стандартной валентной структуры аминокислот, используя фрагментарный подход для расчета оптимальных пространственных структур олигопептидов и белков. Проведенный конформационный анализ перекрывающихся четырех гексапептидных фрагментов и всей молекулы бактенецина показал, что низкоэнергетичность конформаций достигается за счет согласованных стабилизирующих невалентных взаимодействий между всеми остатками. Низкоэнергетические состояния линейной последовательности бактенецина можно сгруппировать в нескольких формах основной цепи, в которых остатки Cys 3 и Cys 11 расположены недалеко друг от друга и их боковые цепи имеют необходимую для образования дисульфидной связи взаимную ориентацию.

Ключевые слова: бактенецин, полуэмпирический метод атом-атомных потенциалов, конформационный анализ.

STRUCTURAL-FUNCTIONAL ORGANIZATION OF BACTENECIN MOLECULE

Aliyev R.E.

Baku State University

Z. Khalilov St, 23, Baku, AZ 1148, Azerbaijan

e-mail: rashid_aliev@mail.ru

Annotation. On a classical basis, using a semi-empirical method of atom-atom potentials, an a priori conformational analysis of the molecule of bactenecin is carried out. Conformational analysis was carried out on the basis of the amino acid sequence and the standard valence structure of amino acids using a fragmentary approach for calculating the optimal spatial structures of oligopeptides and proteins. Conformational analysis of overlapping four hexapeptide fragments and the entire molecule of bactenecin showed that the low-energy conformations are achieved due to consistent stabilizing non-valent interactions between all the residues. Low-energy states of the linear sequence of bactenecin can be grouped in several forms of the main chain in which the Cys 3 and Cys 11 residues are located close to each other and their side chains have a mutual orientation which is necessary for the formation of the disulfide bond.

Keywords: bactenecin, semi-empirical method of atom-atom potentials, conformational analysis.

Молекула бактенецина, выделенная из нейтрофилов крупного рогатого скота, является антимикробным пептидом системы врожденного иммунитета животных. Эта молекула состоит из 12 аминокислотных остатков (додекапептид) с первичной структурой: $\text{H} - \text{Arg}^1 - \text{Leu}^2 - \text{Cys}^3 - \text{Arg}^4 - \text{Ile}^5 - \text{Val}^6 - \text{Val}^7 - \text{Ile}^8 - \text{Arg}^9 - \text{Val}^{10} - \text{Cys}^{11} - \text{Arg}^{12} - \text{COOH}[1]$, с одной дисульфидной связью, образующей небольшой цикл из 9 аминокислотных остатков. Бактенецин является самой маленькой молекулой из известных антимикробных пептидов с одной дисульфидной связью, имеет в своем составе пять различных остатков и сильно обогащена аргининами. По всей видимости, оригинальная аминокислотная последовательность бактенецина необходима для формирования определенной пространственной структуры, которая является важной для связывания пептида с мембраной. Для понимания стереохимических особенностей механизма действия бактенецина необходимы знания структурно-функциональных и структурно-конформационных возможностей олигопептида.

В настоящей работе, используя фрагментарный подход, предложенный Поповым Е.М.[2] для расчета оптимальных пространственных структур олигопептидов и белков, на классической основе при помощи полуэмпирического метода атом-атомных потенциалов изучены конформационные возможности бактенецина. Согласно фрагментарному подходу расчету конформаций бактенецина предшествовал расчет четырех перекрывающихся гексапептидных фрагментов: $\text{Arg}^1 - \text{Val}^6$; $\text{Cys}^3 - \text{Ile}^8$; $\text{Ile}^5 - \text{Val}^{10}$; $\text{Val}^7 - \text{Arg}^{12}$. Набор низкоэнергетических конформаций этих фрагментов стали исходными при расчете конформаций всей молекулы.

При расчете вышеуказанных фрагментов и всей молекулы бактенецина выбрана стандартная геометрия аминокислот: аргинина, лейцина, цистина, изолейцина и валина[3]. Конформационная энергия молекулы ($E_{\text{конф}}$) представлялась нами как сумма невалентных ($E_{\text{нев}}$), электростатических ($E_{\text{эл}}$) взаимодействий, а также торсионных вкладов ($E_{\text{тор}}$) и энергии водородных связей ($E_{\text{в.с.}}$).

$$E_{\text{конф}} = E_{\text{нев}} + E_{\text{эл}} + E_{\text{тор}} + E_{\text{в.с.}}$$

Невалентные взаимодействия рассчитывали по потенциалу Ленарда-Джонса с параметрами Скотта и Шераги. Электростатическую энергию рассчитывали по закону Кулона с зарядами на атомах, предложенных Момани и др.[3]. Все расчеты выполнены применительно к условиям полярной среды и среды, имитирующей окружение мембраны. Торсионные потенциалы, описывающие вращение вокруг связей основных и боковых цепей взяты из работы Момани и др.[3]. Водородные связи, оцениваемые по потенциалу типа предполагались ослабленными и энергия связи в воде на равновесном состоянии принята равной 1.1 ккал/моль. Отсчет двугранных углов произведен согласно номенклатуре IUPAC-IUB[4]. Расчет оптимальных форм фрагментов выполнен путем минимизации конформационной энергии при вариации двугранных углов вращения. В качестве нулевых приближений выбраны сочетания оптимальных R и B

форм состояний аминокислотных остатков на конформационной карте ϕ и ψ . При обсуждении результатов расчета мы пользовались пространственной классификацией пептидных структур по конформациям, формам и шейпам[2]. При расчете циклических структур Cys³ – Cys¹¹ с учетом геометрических параметров дисульфидной связи в выражение конформационной энергии был включен стягивающий потенциал $E^{S-S} = B\sum(r_i - r_{i0})^2 + A(r_4 - r_{40})^2$ [3].

На рисунке 1 показан путь расчета конформационных возможностей молекулы бактенецина.

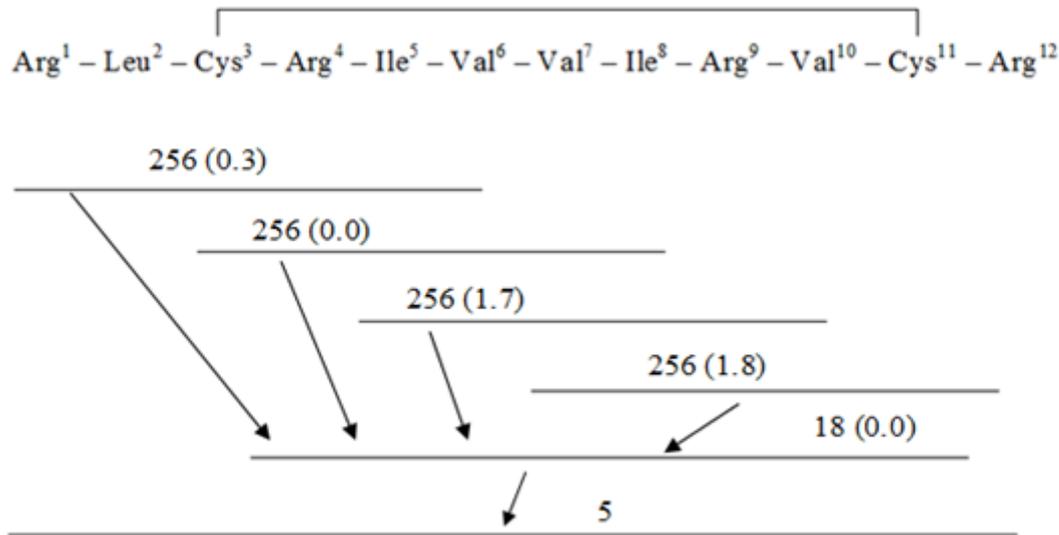


Рисунок 1 – Схема расчета конформаций бактенецина. Приведены количество рассчитанных конформаций и в скобках относительная энергия его конформационного состояния (ккал/моль), вошедшего в глобальную структуру бактенецина

Для всех четырех гексапептидных фрагментов рассчитаны 256 конформаций, принадлежащих 32 шейпам. Выявлены низкоэнергетические конформации. Все они стабилизируются за счет невалентных взаимодействий.

Фрагмент Arg¹ – Leu² – Cys³ – Arg⁴ – Ile⁵ – Val⁶ состоит из 119 атомов и 39 двугранных углов вращения. В интервал энергии 0-3 ккал/моль попадает 6 шейпов.

Таблица 1 – Энергетические параметры оптимальных конформаций фрагмента Arg¹ – Val⁶

N°	форма основной цепи	шейп	E _{нев}	E _{эл}	E _{тор}	E _{общ}	E _{отн} ккал/моль
1.	R-B-R-B-B-B	f-e-f-e-e	-26.61	9.09	2.68	-14.84	0.0
2.	B-B-B-R-R-B	e-e-e-f-f	-26.15	8.67	2.90	-14.58	0.3

Фрагмент Cys³ – Arg⁴ – Ile⁵ – Val⁶ – Val⁷ – Ile⁸ состоит из 111 атомов и 39 двугранных углов вращения. В интервал энергии 0-3 ккал/моль попадает 8 шейпов.

Таблица 2 – Энергетические параметры оптимальных конформаций фрагмента Cys³ – Ile⁸

N°	форма основной цепи	шейп	E _{нев}	E _{эл}	E _{тор}	E _{общ}	E _{отн} ккал/моль
1.	B-R-R-B-B-R	e-f-f-e-e	-23.62	5.68	4.7	-13.24	0.0

Фрагмент Ile⁵ – Val⁶ – Val⁷ – Ile⁸ – Arg⁹ – Val¹⁰ состоит из 110 атомов и 40 двугранных углов вращения. В интервал энергии 0-3 ккал/моль попадает 8 шейпов.

Таблица 3 – Энергетические параметры оптимальных конформаций фрагмента Ile⁵ – Val¹⁰

N°	форма основной цепи	шейп	E _{нев}	E _{эл}	E _{тор}	E _{общ}	E _{отн} ккал/моль
1.	B-R-B-R-R-B	e-f-e-f-f	-26.56	6.08	1.65	-18.8	0.0
2.	R-B-B-R-B-B	f-e-e-f-e	-24.59	5.91	1.53	-17.1	1.7

Фрагмент Val⁷ – Ile⁸ – Arg⁹ – Val¹⁰ – Cys¹¹ – Arg¹² состоит из 110 атомов и 34 двугранных углов вращения. В интервал энергии 0-3 ккал/моль попадает 6 шейпов.

Таблица 4 – Энергетические параметры оптимальных конформаций фрагмента Val⁷ – Arg¹²

N°	форма основной цепи	шейп	E _{нев}	E _{эл}	E _{тор}	E _{общ}	E _{отн} ккал/моль
1.	B-B-R-B-B-B	e-e-f-e-e	-23.14	8.93	2.08	-12.13	0.0
2.	B-R-B-B-B-B	e-f-e-e-e	-23.15	9.44	3.36	-10.35	1.8

Оптимальные конформации рассчитанных гексопептидных фрагментов стали исходными при расчете конформаций всей молекулы бактенецина. На рисунке 2 приведено пространственное строение априорно рассчитанной глобальной конформации бактенецина.

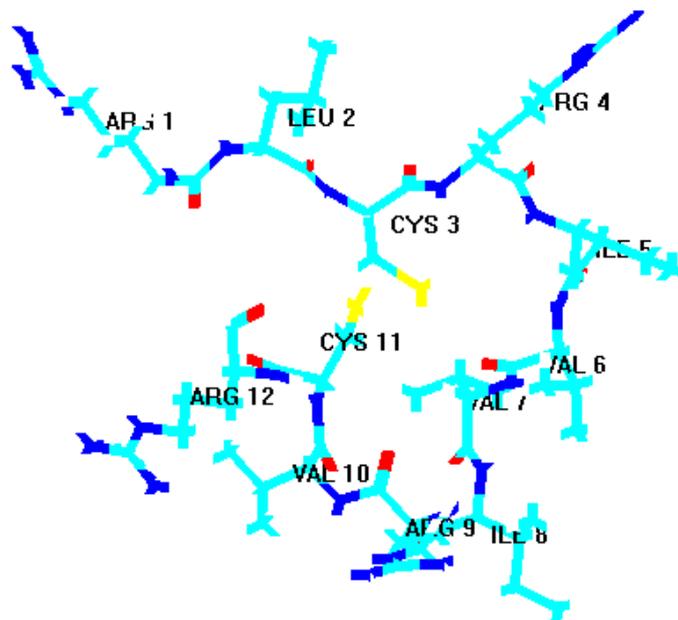


Рисунок 2 – Пространственное строение низкоэнергетической конформации бактенецина

На основе полученных структурно-конформационных взаимосвязей бактенецина могут быть сконструированы их усовершенствованные аналоги и создан новый класс лекарств как альтернатива или дополнение в лечении различных инфекционных болезней.

Список литературы / References:

1. Кокряков В. Н. *Биология антибиотиков животного происхождения*. СПб.: Наука, 1999, 162 с. [Kokryakov V.N. *Biology of antibiotics from animal sources*. St. Petersburg: Nauka, 1999, 162 p. (In Russ.)]
2. Попов Е.М. *Структурная организация белков*. М.: Наука, 1989, 352с. [Popov E.M. *Structural organization of proteins*. Moscow:Nauka, 1989, 352 p. (In Russ.)]
3. Mamany F.A., Mc Guire R.F., Burgess A.W., Scheraga H.A. *J.Chem. Phys.*, 1975, vol. 79, no. 22, p. 2361-2381.
4. IUPAC – IUB. *Commission on Biochemical Nomenclature Biochem.Biophys.Acta*. 1971, vol. 229, pp. 1-17.