

МОДЕЛИРОВАНИЕ ФОЛДИНГА ЦИСТЕИНСОДЕРЖАЩЕГО ПЕПТИДА ГУАНИЛИНА С ОБРАЗОВАНИЕМ ДИСУЛЬФИДНЫХ СВЯЗЕЙ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

С.А. Измайлов, И.В. Смоленский, А.В. Егоров, И.С. Подкорытов, Н.Р. Скрынников
Санкт-Петербургский Государственный Университет, лаборатория биомолекулярного ЯМР
198504, Санкт-Петербург, Старый Петергоф, ул. Ботаническая, д. 17.
E-mail: sergei.a.izmailov@gmail.com

Дисульфидные связи играют важную роль в стабилизации вторичной и третичной структуры белков, а также в регулировании редокс баланса в клетке. Поэтому изучение их формирования имеет важное значение для понимания механизма фолдинга пептидов и белков. Наряду с экспериментальными исследованиями процессов, связанных с фолдингом, весьма эффективным методом является компьютерное моделирование фолдинга методом молекулярной динамики [1].

Для моделирования мы выбрали пептид гуанилин, состоящий из 15 аминокислотных остатков, в том числе 4 остатков цистеина (Cys4, Cys7, Cys 12, Cys 15), образующих 2 дисульфидных мостика. Три варианта образования пар связанных цистеиновых остатков соответствуют 3 изомерам гуанилина: Cys4 – Cys7, Cys12 – Cys15 (1 изомер), Cys4 – Cys12, Cys7 – Cys15 (2 изомер), Cys4 – Cys15, Cys7 – Cys12 (3 изомер). В природе, где гуанилин выполняет функцию гормона пищеварительной системе, он представлен изомером 2, и целью исследования было проверить, является ли природный изомер самым энергетически стабильным, а также будет ли молекула пептида преимущественно сворачиваться в конформацию, соответствующую изомеру 2. Кроме того, лишь компьютерное моделирование может воспроизвести не только результат фолдинга, но и пошаговую картину сворачивания пептида и связанные с этим конформационные и энергетические изменения в молекуле.

В природе гуанилин синтезируется в составе своего предшественника – прогуанилина. Сворачивание гуанилина происходит до протеолиза прогуанилина с отрезанием зрелого пептида, свернутого в трехмерную структуру.

В экспериментальных исследованиях показано, что правильное сворачивание гуанилина происходит только в составе прогуанилина. В нашем исследовании мы хотели показать методом молекулярной динамики, что наличие «тела» прогуанилина способствует образованию биологически активного изомера-2.

В исследовании использовалась программа Amber 14. Для случайных конформаций гуанилина, сгенерированных с помощью TraDES, моделировалось поведение молекулы в водном растворе. При сближении двух атомов серы в остатках цистеина в модель вводилась ковалентная связь (дисульфидный мостик), и моделирование продолжалось.

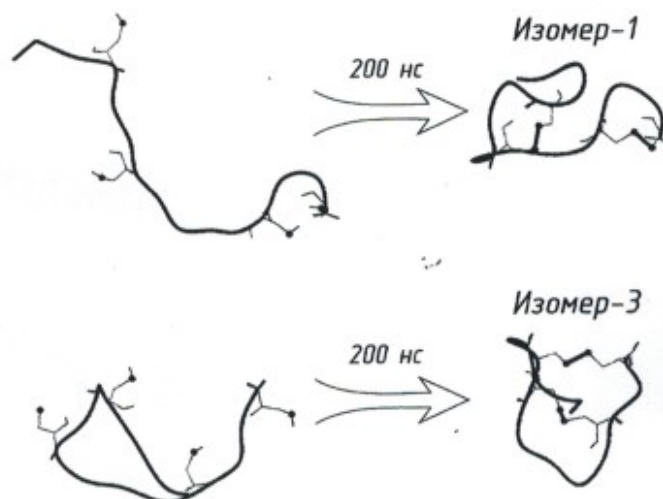


Рис.1 Образование различных изомеров

В результате моделирования часть структур образовали по два дисульфидных мостика и было получено распределение по изомерам для гуанилина и прогуанилина. Также было проанализировано распределение по энергиям различных изомеров и оценены времена релаксации структур после образования дисульфидных связей.

Литература

- [1] Marti-Renom, N. A.; Stote, R. H.; Querol, E.; Aviles, F. X.; Karplus, M., Refolding of potato carboxypeptidase inhibitor by molecular dynamics simulations with disulfide bond constraints. *J. Mol. Biol.* 1998, 284, 145.
- [2] Lauber, T., Neudecker, P., Rösch, P., & Marx, U. C. (2003). Solution Structure of Human Proguanylin The role of a hormone prosequence. *Journal of Biological Chemistry*, 278(26), 24118-24124.
- [3] Lauber, T., Schulz, A., Rösch, P., & Marx, U. C. (2004). Role of disulfide bonds for the structure and folding of proguanylin. *Biochemistry*, 43(31), 10050-10057.
- [4] Salomon-Ferrer, R., Case, D. A., & Walker, R. C. (2013). An overview of the Amber biomolecular simulation package. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 3(2), 198-210.
- [5] Feldman, H. J., & Hogue, C. W. (2002). Probabilistic sampling of protein conformations: new hope for brute force?. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 46(1), 8-23