

Казеин Фосфопептидийн Молекулын Динамикийн (МД) Симуляци

Б. Мижиддорж¹, М. Баяржаргал², Т. Ган-Эрдэнэ², П. Энхбаяр^{1*}

¹ Монгол Улсын Их Сургууль, Мэдээлэл компьютерийн ухааны тэнхим
² Шинжлэх ухааны академи, Хими, химийн технологийн хүрээлэн, Биохимийн лаборатори
enkhbayar.p@seas.num.edu.mn

Товчлол—Сүүнд агуулагдах нийт уургийн дийлэнх хувийг фосфопро테인уудын комплекс болох казеин уураг эзэлдэг ба казеины ферментэт гидролизийн дүнд фосфопептидүүд чөлөөлөгддөг. Казеин фосфопептидийн –Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu- гэсэн амин хүчлээс тогтох дараалал нь уг пептидийн бүтцийг тогтворгүй бөгөөд харилцан үйлчлэлд оролцох идэвхтэй бүтцийг үүсгэхэд нөлөөлдөг гэж үздэг. Бид энэ ажлаар молекулын динамикийн симуляцийн аргыг ашиглан таван фосфорт казеин пептидийн усан орчинд үүсгэх бүтэц ба түүний Cu^{+2} ионтой үүсгэх харилцан үйлчлэлийг шинжлэв. Симуляцийн үр дүнд *In Silico* аргаар зэсийн ионуудтай комплекс үүсгэсэн казеин фосфопептидийн бүтцийг загварчлав. Загвараар үүсгэсэн бүтцийн ϕ , ψ өнцгүүдийг бодож, Рамачандрын график байгуулан бүтцийг шалгахад ϕ , ψ өнцгүүд зөвшөөрөгдөх мужид байв.

Түлхүүр үг—Казеин фосфопептид, S2 альфа казеин, молекулын динамикийн симуляци, AMBER.

I. ОРШИЛ

Казеин уураг нь бүтэц, шинж чанараараа ойролцоо дөрвөн төрлийн (α_{S1} -, α_{S2} -, β -, κ -) фосфопро테인уудаас тогтдог ба үнээний сүүний казеины найрлага дахь фосфорын 30% органик хэлбэрт буюу сериний аминхүчилтэй моноэфирийн холбоогоор холбогдсон байдаг. Протеаза ферментүүдийн үйлчлэлээр *in vivo* болон *in vitro* нөхцөлд казеин задрахад үүсдэг олон төрлийн биологийн идэвхтэй пептидүүдийн нэг нь казеин фосфопептидүүд юм [1]. Казеин фосфопептидүүдэд агуулагдах –Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu- дараалалтай амин хүчлүүд нь хүчиллэг шинж чанартай бөгөөд тус пептидийн хоёр валентат металлын ионтой холбогдох чадавхыг нэмэгдүүлдэг. Эдгээр пептидүүдийг кальци, магни, төмөр, цайр зэрэг ионы идэвхтэй зөөгч болж, зарим эрдсийн био шимэгдлийг сайжруулах чухал ач холбогдолтой гэж үздэг [2-3]. Усан орчинд кальцийн фосфат, фтортой харилцан үйлчлэлд орж тогтворждог нь казеин фосфопептидүүдийн хэрэглээг нэмэгдүүлдэг [4-6]. Казеин фосфопептидүүд агуулсан бэлдмэлийг ясны сийрэгжлийн эсрэг кальцийн дутагдлыг нөхөх бэлдмэлд оруулахын зэрэгцээ шүдний оо, ундаа, бохь зэрэг бүтээгдэхүүнд нэмэлтээр ашигладаг [4, 6].

Бид энэ ажилд молекулын динамикийн (МД) симуляцийн аргыг ашиглан үхрийн сүүний уургийн гидролизатаас ялгасан фосфопептидийн бэлдмэлд агуулагдах 5-фосфорт S2 альфа-казеины дарааллын [7] усан орчинд үүсгэх бүтэц болон металл ионтой үүсгэх

харилцан үйлчлэл, тогтворжилтыг шалгах зорилго тавьсан. Молекулын динамикийн симуляцийг Монгол Улсын Их Сургуулийн Биоинформатикийн лабораторийн Quad core, Asus компьютер ашиглан гүйцэтгэв.

II. ӨГӨГДӨЛ, АРГА ЗҮЙ

Бид AMBER цогц програмыг ашиглан KNTMEHVSSSEESISQET (бүх серин фосфоржсон) амин хүчлийн дараалалтай 5-фосфорт S2 альфа-казеины бүтцийн МД симуляцийг хийв [8]. Пептидийн анхны шугаман бүтцийг AMBER цогц програмын дэд хэрэгсэл *xleap* програмаар үүсгэв. Фосфоржсон амин хүчлүүдтэй учраас *leaprc.ff14SB*, *leaprc.phosaa10* хүчний орны параметруудыг, ус ба ионы хоорондын харилцан үйлчлэлийг тодорхойлох *frmod.ionsjc_tip3p*, *frmod.ionslm_1264_tip3p* параметруудийг сонгов. Үүссэн пептидийн молекулаас 1Å радиустай тойрогт 6 Cu^{+2} ион ба нэг Na^{+} ионыг нэмж системийг саармаг болгов. Үүссэн системээс ирмэг хүрэх зай 12 Å байхаар хайрцаг бэлдэж усан орчинд оруулав (Хүснэгт 1). Үүссэн системийн энергийг минимумчилж, температурыг 0-300 К хүртэл халааж, эцэст нь симуляци хийв. МД симуляцийг T=300 K, P = 1 атм даралттай орчинд, үечилсэн захын нөхцөл, 2 фемтосекундийн симуляцийн алхам, 8 Å-ийн дотор холбоосын бус харилцан үйлчлэлтэй байхаар тохируулж Amber-ийн Sander дэд програмаар гүйцэтгэв.

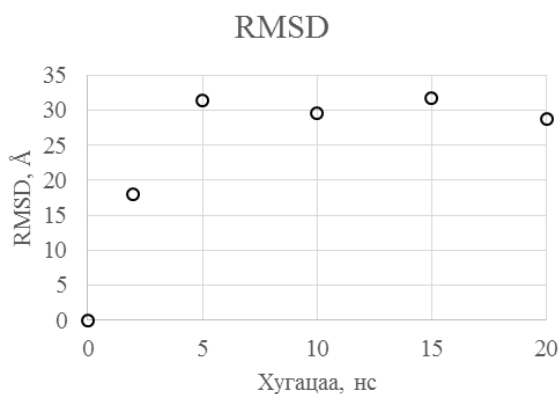
Уургийн 3 хэмжээст бүтцийг PyMol програмаар дүрслэв [10].

ХҮСНЭГТ 1. СИСТЕМИЙН БҮРДЭЛ

Нэр	Тоо
Фосфопептид	1
Cu^{+2}	6
Na^{+}	1
H_2O	3927
Нийт атом	12090

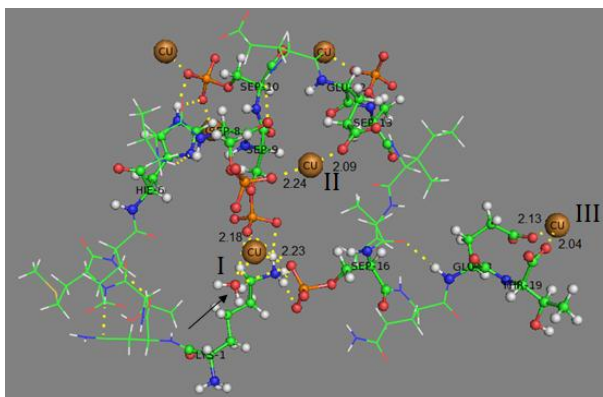
III. ҮР ДҮН БА ХЭЛЭЛЦҮҮЛЭГ

Казеин фосфопептидийн бүтцийг усан орчинд 20нс-ийн турш симуляци хийх явцад пептидийн бүтцийн өөрчлөлтийг RMSD-ын графикаар харуулав (Зураг 1). Эндээс үзвэл 5 нс-ээс эхлэн RMSD-ын утга



Зураг 1. RMSD-ын график. Симуляцийн эхний бүтцийн өөрчлөлтийг хугацааны 0 нс, 2 нс, 5 нс, 10 нс, 15 нс, 20 нс агшинд үзүүлнэ.

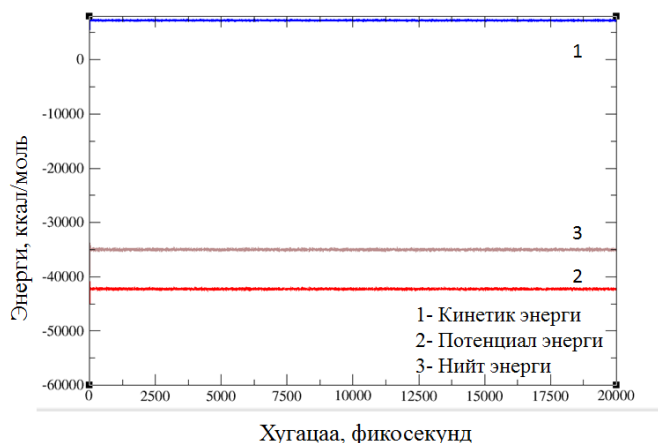
тогтворжиж байгаа нь пептидийн бүтэц усан орчинд тогтвортой болж байгааг харуулж байна. Симуляцийн төгсгөлд бүх Cu^{+2} -ийн ион пептидтэй харилцан үйлчлэлцэж байсан ба Na^{+} ион молекулаас холдсон байв (Зураг 2). Гурван Cu^{+2} ионы харилцан үйлчлэлээр металл төвүүд үүсэж байна. Эхний зэсийн ион Ser(P)9, Ser(P)16 амин хүчлүүд ба усны молекултай, хоёр дахь нь Lys1, Ser(P)8, гурав дахь нь Glu18, Thr19 амин хүчлүүдтэй тус тус харилцан үйлчилж тогтворжсон байна. Нэгдүгээр зэсийн ионоос Ser(P)9, Ser(P)16 амин хүчлүүдийн O атом хүрэх зай харгалзан 2.18, 2.23. Хоёрдугаар зэсийн ионоос Ser(P)8, Glu16 амин хүчлүүдийн O атом хүрэх зай харгалзан 2.24, 2.09. Гуравдугаар зэсийн ионоос Glu18, Thr19 амин хүчлүүдийн O атом хүрэх зай харгалзан 2.13, 2.04 байна. Эдгээр нь металл төв үүсэхэд хангалттай ойрхон ба “хэт ойртолт” (bad contacts) үүсээгүй байна. I, II металл төв нь пептидийн бүтцийн тогтворжилтод гол нөлөөтэй байна (Зураг 2). 2-р зургаас харвал Lys1, Asn2, Met6, Ser(P)8, Ser(P)9, Ser(P)10, Glu12, Ser(P)13, Ser(P)16, Glu18, Thr19 амин хүчлүүд харилцан үйлчлэлд оролцож байна.



Зураг 2. Казеин фосфопептид б зэсийн ионууд хоорондын харилцан үйлчлэл, тогтворжилт. Металл төвүүдийг I-III-аар гэмдэглэв. I нь Ser(p)9, Ser(p)16, II Ser(p)8, Glu13, III Glu18, Thr19 амин хүчлүүдтэй харилцан үйлчилж байгаа зэсийн ионы тодруулав. Сумаар усны молекулыг заав.

Системийн энерги (кинетик, потенциал ба нийт) хугацаанаас хамаарах хамаарлыг графикаар үзүүлэв (Зураг 3). Эндээс үзвэл системийн нийт энерги ойролцоогоор $-3.5 \cdot 10^4$ ккал/моль байна.

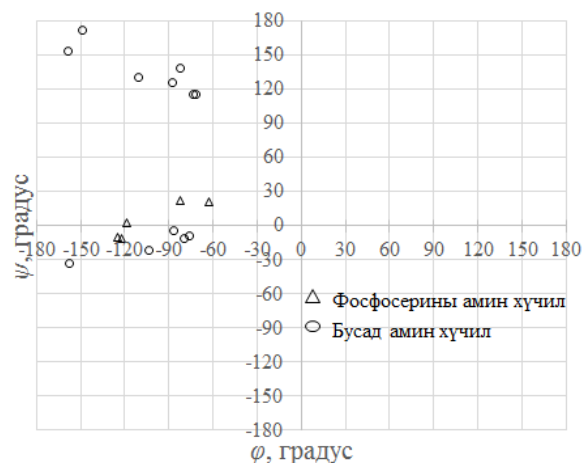
Үүссэн бүтцийг DSSP програмыг ашиглан амин хүчил бүрийн хувьд ϕ , ψ өнцгийг бодож Рамачандрын график байгуулав (Зураг 4). Эндээс үзвэл 20 нс хугацаанд симуляци хийсний дараа амин хүчлүүдийн ϕ , ψ өнцгүүд хориотой мужид гарахгүй байна.



Зураг 3. Системийн энерги ба хугацааны хамаарал.

IV. ДҮГНЭЛТ

Энэ ажлаар *In Silico* аргаар казеин фосфопептидийн бүтцийг угсарч, усан орчинд 20 нс-ын симуляци хийв. Уг пептидийн тогтворжилтод 3 металл төвүүд үүссэн ба I, II металл төвүүд чухал үүрэгтэй байна. Уургийн бүтцийн тогтворжилт болон харилцан үйлчлэлд оролцож байгаа амин хүчил бүрийг тодорхойлов. Cu^{+2} ионууд пептидтэй харилцан үйлчилж бүтцийн тогтворжилтод чухал нөлөөтэй металл төвүүд үүсгэж байна. Симуляцийн төгсгөлд үүссэн бүтцийн Рамачандрын графикаас харвал



Зураг 4. Рамачандрын график.

ϕ , ψ өнцгүүд хориотой мужид гарахгүй байна. Эдгээр нь байгалийн нөхцөлд тухайн бүтэц үүсэх боломжтойг гэрчилж байгаа бөгөөд казеин фосфопептид нь металлын хордлогыг тайлах боломжтой байж болохыг харуулж байна.

V. АШИГЛАСАН МАТЕРИАЛ

1. D.W. West, "Structure and function of phosphorilated residues of casein", *Journal of Dairy Research*, **53**, 333-352, 1986.
2. Saïd Bouhallab, Nabil Aït Oukhatar, Daniel Mollé, Gwénaële Henry, Jean-Louis Maubois, Pierre Arhan, Dominique L Bouglé, "Sensitivity of β -casein phosphopeptide-iron complex to digestive enzymes in ligated segment of rat duodenum", *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **10** (12), 723-727, 1999.
3. M. Hansen, B. Sandström, M. Jensen, S.S. Sørensen, "Effect of Casein Phosphopeptides on Zinc and Calcium Absorption from Bread Meals", *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, **11** (3), 143-149, 1997.
4. E.C. Reynolds, "The Prevention of Sub-surface Demineralization of Bovine Enamel and Change in Plaque Composition by Casein in an Intra-oral Model", *Journal of Dental Research*, **66**, 1120-1127, 1987.
5. E.C. Reynolds, F. Cai, N.J. Cochrane, P. Shen, G.D. Walker, M.V. Morgan and C. Reynolds, "Fluoride and Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate", *Journal of Dental Research*, vol. **87** (4), 344-348, 2008.
6. Rose RK. Binding characteristics of *Streptococcus mutans* for calcium and casein phosphopeptide. *Caries Res.* **34**(5) 427-431, 2000.
7. T. Gan-Erdene, M. Bayarjargal, M. Schumann, E. Krause, Ch. Batjargal, Ts. Ganzorig, N. Erdenechimeg, J. Jargalmaa, S. Ganchimeg, D. Regdel, "Isolation and characterization of phosphopeptide from pancreatic casein hydrolysate", *Annual Scientific Reports*, **8** (34), 152-156, 2007.
8. R. Salomon-Ferrer, D.A. Case, R.C. Walker. An overview of the Amber biomolecular simulation package. *WIREs Comput. Mol. Sci.* **3**, 198-210, 2013.
9. H.J.C. Berendsen, J.P.M. Postma, W.F. van Gunsteren, A. DiNola, J.R. Haak, "Molecular dynamics with coupling to an external bath", *J. Chem. Phys.*, **81**, 3684-3690, 1984
10. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.2.3, Schrödinger, LLC.