

α -, 3_{10} - хеликсийн тогтворжилтын молекулын динамикийн симуляци

О.Энхдэлгэр^{1,2,3}
enhdelger0731@gmail.com

Б.Мижиддорж^{1,2,3}
mijiddorj@seas.num.edu.mn

П.Энхбаяр^{1,2,3}
enkhbayar.p@seas.edu.mn

¹МУИС, Хэрэглээний шинжлэх ухаан, инженерчлэлийн сургууль, Мэдээлэл, компьютерийн ухааны тэнхим,

²Биоинформатик, системийн биологийн лаборатори

³Улаанбаатар, Монгол улс

Товчлол— Уургийн хоёрдогч бүтэц нь түүний 3D бүтэц, функц болон ангилалд чухал үүрэгтэй. Уурагт α -, 3_{10} -, ω -, болон π - хеликс, β -странд гэх мэт хоёрдогч бүтэц байдаг нь тогтоогдсон. Бид энэ ажлаар 8 амин хүчлийн урттай тусгаар каноник α -хеликс, Полингийн 3_{10} -, Перуцийн 3_{10} - хеликс, уургийн бодит 3_{10} - хеликсийн тогтворыг 300К температуртай 0.09% концентрацтай NaCl-ын усан уусмалд 5 нс-ын хугацаанд молекулын динамикийн симуляциар судлав. Мөн дээрх урттай 3_{10} - хеликс агуулж байгаа уургийн бүтцийг бүхлээр нь дээрхтэй адилхан орчинд 5 нс-ын хугацаанд симуляци хийв. Усан орчинд явуулсан симуляцид α -хеликс тогтвортой бус байсан бөгөөд бэнд (bend) бүтэцрүү шилжиж байна. Тусгаар 3_{10} -хеликс усан орчинд α -хеликс болж, харин бүхэл уураг дунд байгаа 3_{10} -хеликс тогтвортой альфа хеликс болж байв.

Түлхүүр үг: 3_{10} -хеликс, α - хеликс, Полингийн 3_{10} - хеликс, Перуцийн 3_{10} - хеликс, молекул динамикийн симуляци, хеликсийн тогтвор, GROMACS, PDB.

I. ОРШИЛ

Ойролцоогоор 120000 уургийн 3D бүтэц тодорхойлогдсон байдаг [1]. Тэдгээрийн бүтэц, үүрэг болон автомат ангилалд хоёрдогч бүтэц чухал үүрэгтэй. Уургийн бүтцэд хеликс (helix), β -утас (sheet) болон гогцоо (loop) гэсэн 3 ерөнхий төрөл байдаг. α -, 3_{10} -, ω -, болон π - хеликс гэсэн 4 төрлийн хеликс байдаг. 3-хэмжээст бүтэц нь тодорхойлогдсон нийт уургийн хоёрдогч бүтцэд харьяалагдах амин хүчлийн 32% -ийг α -, 4% -ийг π -, 0.3% -ийг 3_{10} - хеликс эзэлдэг [2] ба уургийн 7.4 %-нь ω - хеликс агуулсан уураг байдаг [3].

Уургийн үндсэн хэлхээний карбоксил бүлгийн хүчилтөрөгч (C=O), амин бүлгийн устөрөгчийн (NH) хооронд үүсэх устөрөгчийн холбоо нь уургийн хоёрдогч бүтэц үүсэхэд чухал үүрэг гүйцэтгэдэг [4]. Уургийн i -р амин хүчил $i+4$ дүгээр амин хүчилтэй устөрөгчийн холбоогоор холбогдож байвал α -хеликс үүсдэг. α -хеликсийн нэг эргэлт 5.4 Å урттай ба харгалзах амин хүчлийн тоо 3.6 байдаг. Харин i -р амин хүчил $i+3$ дугаар амин хүчилтэй устөрөгчийн холбоогоор холбогдвол 3_{10} -хеликс үүсдэг. Энэ хеликсийн нэг эргэлт 5.8-6.0 Å урттай ба харгалзах амин хүчлийн тоо 3 байдаг Зур. 1 [5].

1960-аад оны эхээр α -хеликс койл хэлбэрт шилжиж байгааг хэд хэдэн загвараас тогтоосон. Энэ санаа дээр үндэслэн Zimm, Bragg [6] болон Lifson, Roig [7] нарийн онол үүсжээ. Онолоор α -хеликс койл хэлбэрт хувирч болно эсвэл хеликс бүтцээ хадгална гэж үздэг. Энэ онолыг статистик механикаар баталсан юм.

Хеликсийн денатурацийн судалгаагаар бага температурт α -хеликс түгээмэл тохиолддог бол температур ихэсгэхэд устөрөгчийн холбоо нэгээр шилжиж π -хеликс ($i, i+5$) болдог. Богино хеликс усан орчинд тогтворгүй байгаа бол урт хеликс илүү тогтвортой, температур ихсэхэд хоёрдогч бүтцийг задрал бага явагддаг. Температур ихсэхэд хеликс нь койл болж хувирдаг [8].

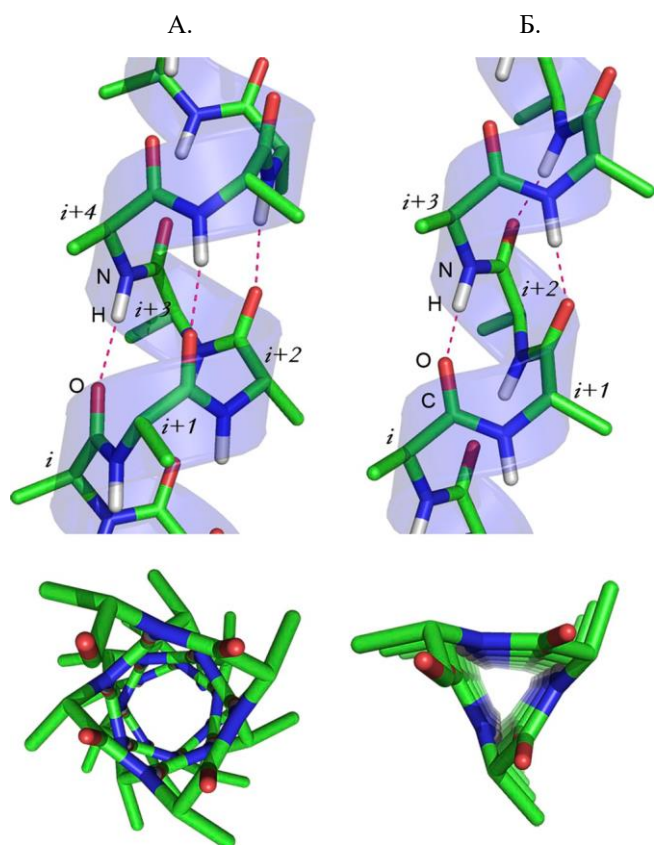
Бид энэ ажлаар 8 аланинаас тогтсон α -, 3_{10} - хеликс, Полингийн 3_{10} -, Перуцийн 3_{10} -, уураг дунд орших 3_{10} -хеликсийн тогтворжилтыг 300 К температуртай 0.09% концентрацтай NaCl-ын усан орчинд 5 нс-ын хугацаанд GROMACS програмын ашиглан молекулын динамикийн (МД) симуляци хийв. Аланин амин хүчил нь метилийн бүлэгт хамаардаг ба хажуугийн хэлхээ жижиг, бусад амин хүчилтэй харилцан үйлчлэлцэх боломж багатай учраас хеликсийн бүтцийг тогтворжуулдаг [9].

II. ӨГӨГДӨЛ, АРГА ЗҮЙ

Энэ ажилд каноник α -, 3_{10} -, Полингийн 3_{10} -, Перуцийн 3_{10} -, уураг дундах 3_{10} - хеликс нийтдээ 5 бүтцэд МД симуляци хийв. 8 амин хүчлийн урттай α -, Полингийн 3_{10} -, Перуцийн 3_{10} - хеликсийн бүтцийг SWISS pdb viewer програмын SWISS MODEL хэрэгслийг ашиглан загварчлав [10]. Дээрх бүтцүүдийг загварчлахад ашигласан уургийн үндсэн хэлхээний хавтгай хоорондох ψ , ϕ өнцгийн утгыг Хүснэгт I-д үзүүлэв. Харин 1OBO (1040-1047) PDB (Protein Data Bank) кодтой бүтцээс 8 амин хүчлийн урттай 3_{10} -хеликсийн бүтцийг агуулж байгаа гинжийг бүтнээр нь болон энэ хэсгийг таслан авч физиологийн орчинд симуляци хийв [11].

GROMACS-5.0.6 програм ашиглан молекул динамикийн симуляцийг тооцоо болон бусад структурын анализыг хийв [12]. Бүх бүтцийн хувьд N-, C- төгсгөлийг NH₂, COOH болгов. Усны SPC загварыг ашиглан

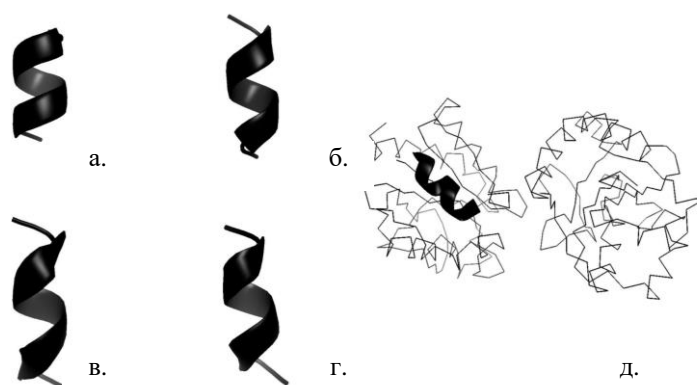
тооцооллын орчинг усан орчин болгов. Системийн цахилгаан саармаг байдлыг хангахын тулд NaCl –ийн концентрацыг 0.09% болгов. Бүх системийг изотерм – изобар (NVT, бөөмийн тоо, эзлэхүүн, температур тогтмол), изотерм - изохор (NPT, бөөмийн тоо, даралт, температур тогтмол) гэсэн хоёр нөхцөлд 5000 фикосекундын хугацаанд тэнцвэржүүлсэн. Тэнцвэржилт болон симуляцийн явцад үелэх захын нөхцөлтэй (Periodic Boundary Condition) бөгөөд 2 фемтосекундийн алхамтайгаар системийн хөдөлгөөний тэгшитгэлийг тооцоолсон. Берендсены алгоритмыг ашиглан 300°K температур ба 1 атмосферийн даралтыг тогтмол барьсан [13]. Симуляцийн үр дүнд GROMACS програмаар RMSD, RMSF, SAS-ийн тооцоо хийсэн ба DSSP програмаар хоёрдогч бүтцэд анализ хийв.



Зур. 2. Каноник хеликсүүдийн бүтэц. А. каноник α - хеликс. Б. каноник 3_{10} - хеликс. Тасархай шугамаар полипептидийн үндсэн хэлхээн дэх атом хоорондох устөрөгчийн холбоог харуулав [5]. Бүтцийн зургийг PyMol програмаар дүрслэв [14].

ХҮСНЭГТ I. ХЕЛИКСҮҮДИЙН ӨНЦГИЙН УТГА, ЭРГЭЛТИЙН ТОО

	$\varphi(^{\circ})$	$\psi(^{\circ})$	n
Каноник α -хеликс	-58	-47	3.6
Полингийн 3_{10} -хеликс	-74	-4	3.0
Перуцийн 3_{10} -хеликс	-49	-26	3.0



Зур. 2. а. α -, б. 3_{10} -, в. Полингийн 3_{10} -, г. Перуцийн 3_{10} -, д. уураг дундах 3_{10} - хеликс. Бүтцийн зургийг PyMol програмаар дүрслэв [14].

III. ҮР ДҮН

Олигоаланиныг SWISS pdb viewer програмаар дизайн хийж, хоёрдогч бүтцийг DSSP програмаар тодорхойлж, GROMACS програм ашиглан симуляц хийв. 8 амин хүчлийн урттай 5 олигоаланинаас бүрдсэн α -, 3_{10} - хеликс, Полингийн 3_{10} -, Перуцийн 3_{10} -хеликс, болон уургийн дунд оршин байгаа хеликсийн тогтворжилт ба бүтцийн өөрчлөлтийг симуляциар судлав. Үр дүнг DSSP програмаар үзүүлэв Зур 2. α -, Полингийн 3_{10} - хеликсүүд нь бэнд, эргэлт (turn) болон өөрчлөгдсөн. 3_{10} -, Перуцийн 3_{10} -, уураг дунд симуляци явуулсан 3_{10} - хеликсүүд α -хеликс болон тогтворжсон.

Дундаж квадрат хазайлт

Хеликсүүдийн бүтэц симуляцийн явцад хэрхэн өөрчлөгдөж байгааг Зур. 3-т үзүүлэв. Эндээс хамгийн тогтворгүй байгаа бүтэц α -хеликс, хамгийн тогтвортой бүтэц нь уураг дунд симуляци хийсэн 3_{10} - хеликс. Бусад хеликсийн бүтэц, уураг дунд хийсэн 3_{10} - хеликстэй харьцуулахад тогтворгүй байна Зур. 3.

Дундаж квадрат флуктуац

Хеликсийн бүтцийн төгсгөлүүд хөдөлгөөн ихтэй динамик байна. α -, Полингийн 3_{10} - хеликс маш их хэлбэлзэж байгаа бол 3_{10} -, Перуцийн 3_{10} -, уургийн дунд орших 3_{10} - хеликсүүдийн хэлбэлзэл 1-7 амин хүчлийн урт дээр харьцангуй тогтвортой байна Зур. 4.

Устай хүрэлцэх талбай

3_{10} -, Перуцийн 3_{10} - хеликс устай харилцан үйлчлэл бага тогтвортой байхад. α -, Полингийн 3_{10} - хеликс усны молекултой илүү их харилцан үйлчлэлцэх бөгөөд тогтворгүй байв Зур. 5.

IV. ХЭЛЭЛЦҮҮЛЭГ

Аланинаас бүрдсэн пептид дээр олон тооны туршилт судалгаа хийсний үр дүнд уургийн хоёрдогч бүтцэд тогтворжилт болон нугалаа (folding) маш чухал гэдгийг нотолсон. Ricardo болон хамтрагч нарийн судалгаагаар Z_{10} -хеликс нь α -хеликс болон өөрчлөгдөх боломжтой гэж үзсэн [5]. Бидний судалгаагаар α -, Полингийн Z_{10} -хеликс симуляцийн явцад ууссан бол, Z_{10} -, Перуцийн Z_{10} -, уураг дундах Z_{10} -хеликс нь α -хеликс болон өөрчлөгдөж байгаа нь харагдаж байна.

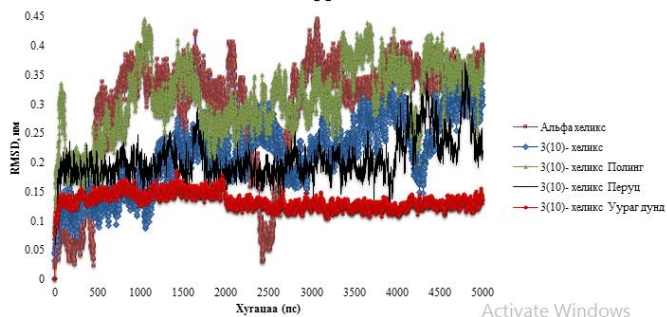
V. ДҮГНЭЛТ

Энэ ажилд 8-аланинаас бүрдсэн хеликсийг усан орчинд GROMACS програмын GROMOS96 54a7 хүчний орон ашиглаж симуляци явуулж тогтворжилтыг судаллаа. Уураг дунд байгаа хеликсийн бүтэц илүү тогтвортой байна. Хоёрдогч бүтцийн анализаас үзвэл уураг дундаа байгаа Z_{10} -хеликс нь аяндаа α -хеликс болж байна. Харин α -хеликс нь усан орчинд койл буюу бэнд болж, тусгаар Z_{10} -хеликс нь α -хеликс болж байна. Иймд уураг дунд байгаа α -хеликсийн тогтворыг судлах шаардлагатай юм.

#	RESIDUE	AA	STRUCTURE	N-H-->O	O-->H-N	N-H-->O	O-->H-N	PHI	PSI
1	1	A		0, 0.0	2, -0.0	0, 0.0	0, 0.0	360.0	136.2
2	2	A	-	6, -0.2	2, -0.2	1, -0.1	6, -0.1	-67.6	152.7
3	3	A	-	2, -0.4	2, -0.3	4, -0.3	-1, -0.1	125.3	170.1
4	4	A	S S+	-2, -0.2	2, -0.3	2, -0.0	-2, -0.0	-83.3	47.9
5	5	A	S S-	2, -0.3	-2, -0.4	-2, -0.3	0, 0.0	175.0	159.5
6	6	A	S S+	-2, -0.3	2, -0.3	2, -0.1	-2, -0.0	-68.9	-23.0
7	7	A		1, -0.1	-4, -0.3	-5, -0.0	-2, -0.3	-76.1	144.5
8	8	A		-2, -0.3	-6, -0.2	-6, -0.1	-2, -0.1	-82.2	360.0
а.									
#	RESIDUE	AA	STRUCTURE	N-H-->O	O-->H-N	N-H-->O	O-->H-N	PHI	PSI
1	1040	E	>>	0, 0.0	3, -1.0	0, 0.0	4, -0.7	360.0	157.8
2	1041	V	H >> +	1, -0.2	4, -3.0	2, -0.2	3, -0.8	-57.4	-45.1
3	1042	T	H 34 S+	1, -0.2	-1, -0.2	2, -0.2	0, 0.0	-57.0	-29.4
4	1043	D	H <4 S+	-3, -1.0	-1, -0.2	1, -0.1	-2, -0.2	-71.8	-25.8
5	1044	L	H << S+	-3, -0.8	2, -0.3	-4, -0.7	-2, -0.2	-91.7	-56.4
6	1045	N	<	-4, -3.0	-1, -0.2	1, -0.1	0, 0.0	129.9	166.2
7	1046	D		-2, -0.3	-3, -0.1	-3, -0.1	-1, -0.1	-52.8	360.0
б.									
#	RESIDUE	AA	STRUCTURE	N-H-->O	O-->H-N	N-H-->O	O-->H-N	PHI	PSI
1	1	A		0, 0.0	0, 0.0	0, 0.0	0, 0.0	360.0	158.7
2	2	A	+	4, -0.0	5, -0.2	5, -0.0	0, 0.0	-51.3	-44.6
3	3	A	S > S-	3, -0.1	4, -2.7	1, -0.1	5, -0.3	-47.5	151.5
4	4	A	T 4 S+	1, -0.2	4, -0.5	2, -0.2	-1, -0.1	-59.3	-37.3
5	5	A	T >4 S+	1, -0.2	3, -1.4	2, -0.2	-1, -0.2	-78.6	-59.2
6	6	A	T 34 S+	1, -0.2	-2, -0.2	0, 0.0	-1, -0.2	-48.7	-36.3
7	7	A	T 3<	-4, -2.7	-1, -0.2	-5, -0.2	-2, -0.2	-51.0	-39.6
8	8	A	<	-3, -1.4	-5, -0.0	-4, -0.5	0, 0.0	-86.5	360.0
в.									
#	RESIDUE	AA	STRUCTURE	N-H-->O	O-->H-N	N-H-->O	O-->H-N	PHI	PSI
1	1	A	>>	0, 0.0	4, -1.6	0, 0.0	3, -1.0	360.0	146.1
2	2	A	H 3> +	1, -0.2	4, -2.8	2, -0.2	3, -0.1	-40.8	-43.1
3	3	A	H 34 S+	1, -0.3	-1, -0.2	2, -0.2	0, 0.0	-54.8	-44.7
4	4	A	H <4 S+	-3, -1.0	-1, -0.3	1, -0.1	-2, -0.2	-72.6	-42.3
5	5	A	H < S+	-4, -1.6	-2, -0.2	-3, -0.1	-3, -0.1	-61.7	-48.4
6	6	A	< +	-4, -2.8	0, 0.0	-5, -0.1	0, 0.0	-64.1	140.5
7	7	A		0, 0.0	-1, -0.1	0, 0.0	-2, -0.0	124.0	-49.7
8	8	A		0, 0.0	-2, -0.0	0, 0.0	0, 0.0	-45.1	360.0
г.									
#	RESIDUE	AA	STRUCTURE	N-H-->O	O-->H-N	N-H-->O	O-->H-N	PHI	PSI
40	1040	E	> -	1, -0.1	4, -1.4	28, -0.0	-1, -0.1	-112.8	173.7
41	1041	V	H > S+	2, -0.2	4, -1.4	-2, -0.1	5, -0.1	-48.2	-31.3
42	1042	T	H > S+	2, -0.2	4, -2.3	1, -0.2	3, -0.3	-71.4	-40.8
43	1043	D	H > S+	1, -0.3	4, -2.4	2, -0.2	-2, -0.2	-55.9	-53.5
44	1044	L	H < S+	-4, -1.4	-1, -0.3	1, -0.2	-2, -0.2	-57.9	-41.1
45	1045	N	H < S+	-4, -1.4	-2, -0.2	-3, -0.3	-1, -0.2	-53.4	-51.0
46	1046	D	H < S+	-4, -2.3	-2, -0.2	-5, -0.1	-3, -0.1	-72.8	-43.2
47	1047	Y	< -	-4, -2.4	3, -0.1	1, -0.1	34, -0.1	-83.0	145.4
д.									

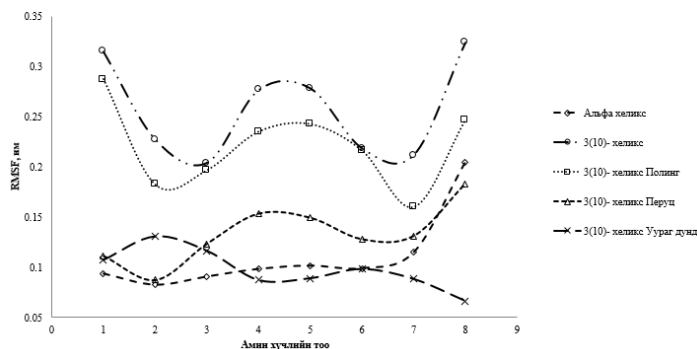
Зур.2 Симуляцийн үр дүнд үүссэн бүтцийн устөрөгчийн холбооны энерги болон хэлбэрийг DSSP програмаар харуулав. а. α -, б. Z_{10} -, в. Полингийн Z_{10} -, г. Перуцийн Z_{10} -, д. уураг дундах Z_{10} -хеликс. Устөрөгчийн холбооны энерги -0.5 — -1.0 байвал сул, -1.0 — -2.0 байвал дунд, < -2.0 байвал хүчтэй холбоо үүссэн гэж үзнэ.

8 амин хүчлийн урттай
хеликсүүдийн RMSD



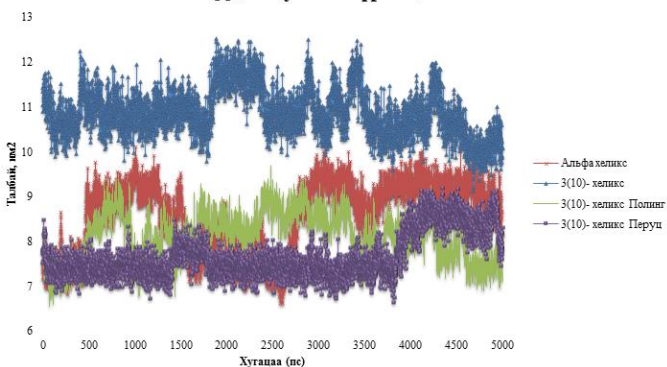
Зур. 3. Симуляцийн явцад эхний бүтцээс өөрчлөгдсөн хэмжээ.

8 амин хүчлийн урттай
хеликсүүдийн RMSF



Зур. 4. Амин хүчлүүдийн хэлбэлзлийг үзүүлэв.

8 амин хүчлийн урттай
хеликсүүдийн устай хүрэлцэх талбай



Зур. 5. Амин хүчлүүдийн устай харилцан үйлчлэх талбайг үзүүлэв.

[1] <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>

[2] Baker, E. N. & Hubbard, R. E. (1984). *Progr. Biophys. Mol. Biol.* **44**, 97-179.

[3] Enkhbayar P, Boldgiv B, Matsushima N. Omega helix in protein. *J. 2010 May; 29 (4):242-9.* doi: 10.1007/s10930-010-9245-5.

[4] Richardson, J.S., *The anatomy and taxonomy of protein structure.* Adv Protein Chem, 1981. **34**: p. 167-339.

[5] Ricardo Simão Vieira-Pires and João Henrique Morais-Cabral. 310 helices in channels and other membrane proteins. *The Journal of General Physiology* 136.6 (2010): 585-92.

[6] Lifson, S. & Roig, A. (1961) *J. Chem. Phys.* 34, 1963-1974.

[7] Zimm, B. H. & Bragg, J. K. (1959) *J. Chem. Phys.* 31, 526-535.

[8] Valerie Daggett and Michael Levitt Molecular dynamics simulations of helix denaturation. *Journal of Molecular Biology.* 03/1992; 223(4):1121-1138.

[9] Avijit Chakrabarty, Tanja Kortemme, Robert L. Baldwin, Helix propensities of the amino acids measured in alanine-based peptides without helix-stabilizing side-chain interactions. *Protein Science* (1994), 3:843-852.

[10] Johansson, M.U., Zoete V., Michielin O. & Guex N. (2012) Defining and searching for structural motifs using DeepView/Swiss-PdbViewer *BMC Bioinformatics*, 13:173.

[11] Purevjav Enkhbayar, Kunio Hikichi, Mitsuru Osaki, Robert H. Kretsinger, and Norio Matsushima. 310-Helices in Proteins Are Parahelices. *Structure, Function, and Bioinformatics* **64**:691–699 (2006)

[12] Hess, B., et al., GROMACS 4: Algorithms for Highly Efficient, Load-Balanced, and Scalable Molecular Simulation. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2008. **4**(3):p. 435-447.

[13] Essman, U., et al., LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations. *Journal of Computational Chemistry*, 1997. **18**(12): p. 1463-1472.

[14] <https://www.pymol.org/pymol>