



УДК 577.322.5:543.422.25

УТОЧНЕНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ НЕЙРОТОКСИНА II ИЗ ЯДА *Naja naja oxiana*

© 1995 г. А. П. Голованов, А. С. Арсеньев*

Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117871, ГСП-7, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 02.11.94 г.

Путем минимизации конформационной энергии с ограничениями, полученными из экспериментальных данных ^1H -ЯМР, рассчитан набор из 19 пространственных моделей нейротоксина II *Naja naja oxiana*. Среднее попарное среднеквадратичное отклонение положений атомов в полученном наборе структур составило 0,86 Å для тяжелых атомов основной цепи и 1,48 Å для всех тяжелых атомов. Для объяснения относительно медленных скоростей дейтерообмена амидных протонов Val45 и Leu51, экспонированных согласно рассчитанным структурам в растворитель, предложена модель димера нейротоксина II. Полученные модели как мономерной, так и димерной формы нейротоксина II в дальнейшем могут быть использованы для детального изучения его функциональных, гидрофобных и электростатических свойств.

Ключевые слова: нейротоксин, пространственная структура, ЯМР, конформационная энергия.

Анализ известных трехмерных структур белков необходим для детального понимания основ пространственной укладки и функционирования белковых молекул. Очень удобными объектами для такого анализа являются постсинаптические нейротоксины (см., например, обзоры [1, 2]). Эти нейротоксины блокируют синаптическую передачу сигнала путем специфичного связывания с никотиновым ацетилхолиновым рецептором. Нейротоксины, выделенные из ядов змей, образуют семейство белков, обладающих сходной структурой. Существуют два класса нейротоксинов. Короткие нейротоксины состоят из 60 - 62 аминокислотных остатков и содержат 4 дисульфидные связи. Длинные нейротоксины состоят из 70 - 74 остатков и содержат 5 дисульфидных связей. В настоящее время известно более 100 аминокислотных последовательностей нейротоксинов длинного и короткого типа, множество работ посвящено изучению механизмов их функционирования (см. обзоры [3 - 5]).

Детальное пространственное строение известно для нескольких нейротоксинов длинного и короткого типа. Хотя общая укладка полицептидной цепи всех нейротоксинов очень схожа, даже небольшие отличия в конформации и/или конформационной подвижности между нейротоксинами могут объяснить заметные различия в кинетике связывания с рецептором и в токсичности [6]. Пространственные структуры, полученные методом

рентгеноструктурного анализа, опубликованы для нейротоксинов короткого типа (эрабутоксина *a* и *b* [7 - 11]) и длинного типа (α -кобротоксина [12, 13] и α -бунгаротоксина [14]). По данным спектроскопии ЯМР, в растворе были получены пространственные структуры α -бунгаротоксина [15, 16] и α -кобротоксина [17], а также коротких токсинов: α -нейротоксина *Dendroaspis polylepsis polylepsis* [18, 19], токсина α *Naja nigricollis* [20] и кобротоксина [21, 22]. В нашей предыдущей работе [23] методом дистанционного геометрического алгоритма на основании данных спектроскопии ^1H -ЯМР рассчитана пространственная структура короткого нейротоксина II (NtII) *Naja naja oxiana*. Полученная структура хорошо согласовывалась с интенсивностями ядерного эффекта Оверхаузера, с величинами вицинальных констант спин-спинового взаимодействия протонов NH-C $^{\alpha}$ H и C $^{\alpha}$ H-C $^{\beta}$ H, а также с наблюдаемыми скоростями обмена протонов амидных групп NH на дейтерий растворителя. Однако для двух амидных протонов остатков Val45 и Leu51 замедленная скорость дейтерообмена не может быть объяснена исходя из полученной в [23] пространственной структуры NtII, поскольку в этой структуре они экспонированы в растворитель. Поэтому было сделано предположение об образовании симметричного димера NtII, в котором протоны остатков Val45 и Leu51 участвуют в межмолекулярных водородных связях [23].

Целью настоящей работы было уточнение набора структур NtII путем минимизации их

Сокращения: NtII - нейротоксин II; СКО - среднеквадратичное отклонение.

* Автор для переписки.

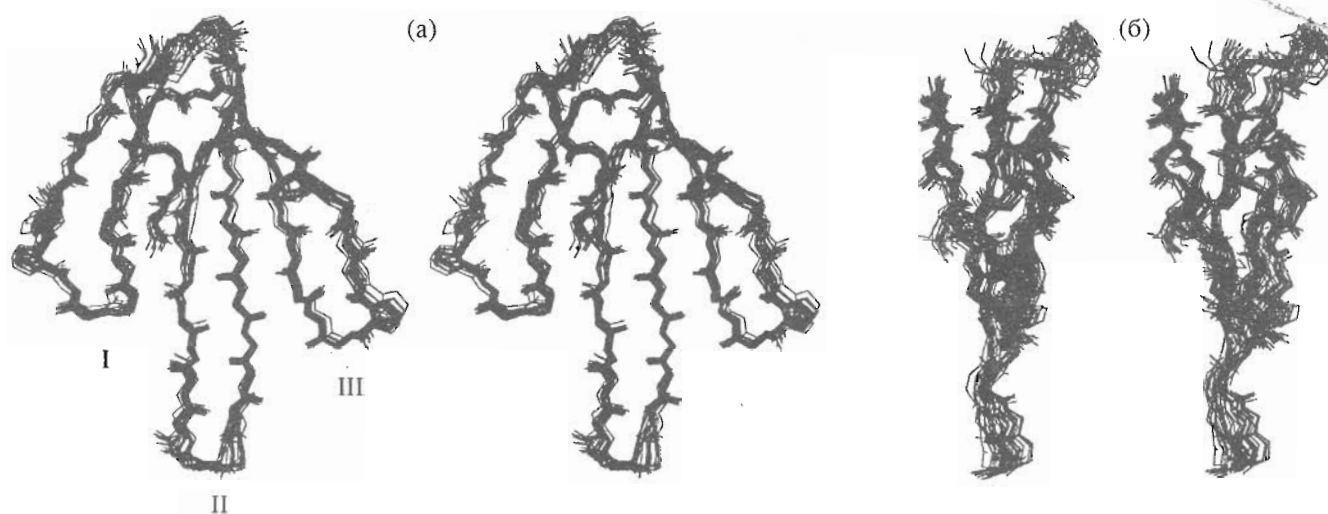


Рис. 1. Стереоразложение набора из 19 структур NtII, полученных в результате минимизации конформационной энергии и совмещенных по тяжелым атомам основной цепи. Показаны только тяжелые атомы основной цепи. а – вид спереди, б – вид сбоку. Римскими цифрами указана нумерация петель.

конформационной энергии и построение пространственной модели димера.

Минимизация конформационной энергии набора структур NtII, полученных в предыдущей работе [23], позволила оптимизировать пространственную структуру не только по ограничениям на попарные межпротонные расстояния, но и по энергетическим членам. Из результатов статистического анализа наборов структур до и после минимизации конформационной энергии (табл. 1) можно заметить некоторое увеличение среднего попарного среднеквадратичного отклонения (СКО) координат атомов для набора струк-

тур NtII после минимизации энергии, что может быть связано с устранением излишней “зажатости” набора структур. Заметно уменьшение количества и величины нарушений радиусов Ван-дер-Ваальса, а также нарушений ограничений на значения двугранных углов. Полученный набор структур NtII имеет низкую конформационную энергию и хорошо согласуется с экспериментальными данными (табл. 1).

Стереоразложение набора структур NtII, полученных в результате минимизации энергии, показано на рис. 1 и 2. Основная цепь молекулы образует плоский диск. На верху молекулы (ориентация

Таблица 1. Конформационная энергия и остаточные нарушения ограничений для 19 структур NtII до минимизации конформационной энергии и после. Показаны средние величины и их стандартные отклонения

Параметр	До минимизации	После минимизации
Энергия ЕСЕРР/2, ккал/моль	725.49 ± 350.72	-291.62 ± 19.73
Нарушения ограничений сверху		
Число нарушений >0.2 Å	11.0 ± 3.4	14.90 ± 2.17
Максимальное нарушение, Å	0.35 ± 0.08	0.33 ± 0.02
Сумма нарушений, Å	7.9 ± 1.9	9.92 ± 0.87
Нарушение радиусов Ван-дер-Ваальса		
Число нарушений >0.2 Å	1.2 ± 1.1	0.32 ± 0.57
Максимальное нарушение, Å	0.21 ± 0.05	0.16 ± 0.07
Сумма нарушений, Å	4.1 ± 1.1	0.56 ± 0.19
Нарушение ограничений на углы φ, ψ, χ ¹		
Число нарушений >5°	0.9 ± 0.6	0.42 ± 0.49
Максимальное нарушение, град	5.9 ± 1.8	4.97 ± 0.87
Сумма нарушений, град	34.0 ± 10.6	13.64 ± 2.52
Попарное среднеквадратичное отклонение положения тяжелых атомов, Å		
Основная цепь	0.53 ± 0.12	0.86 ± 0.16
Все атомы	1.18 ± 0.13	1.48 ± 0.19

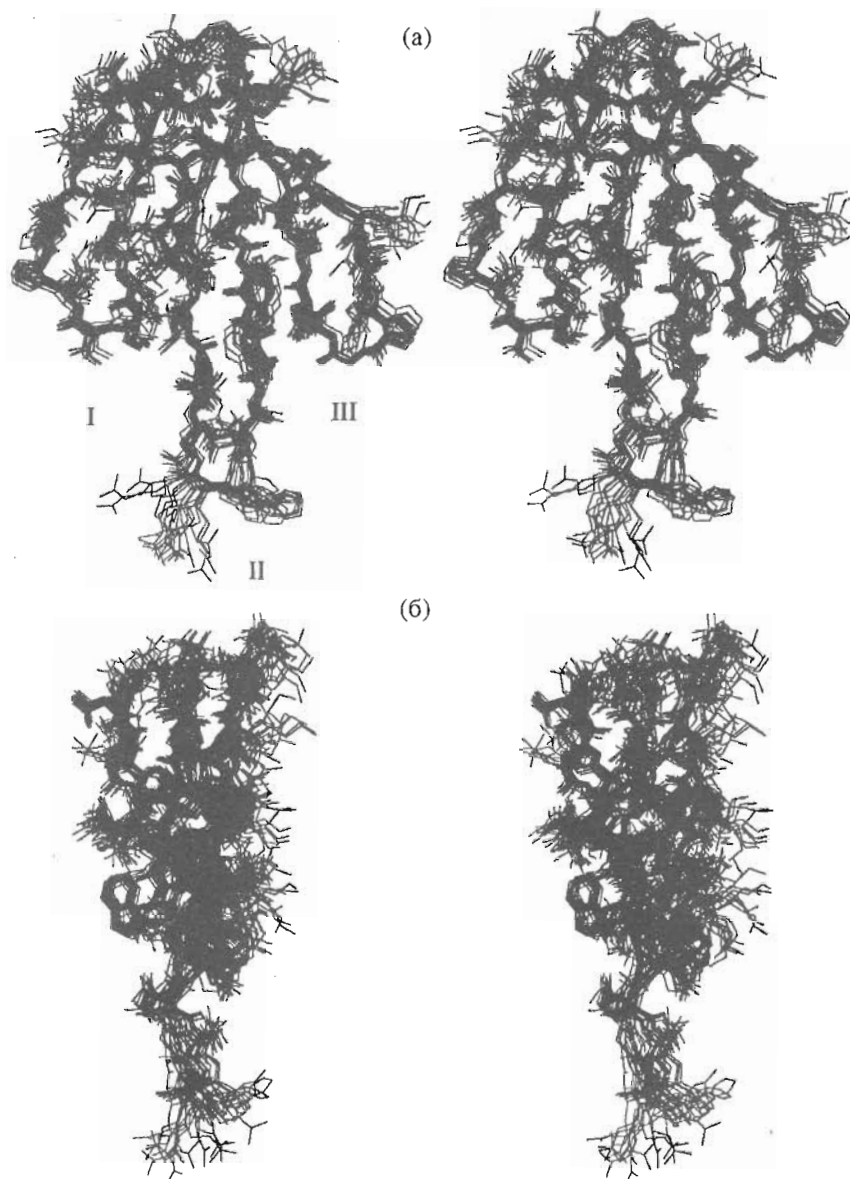


Рис. 2. Стереобразное изображение набора из 19 структур NtII, полученных в результате минимизации конформационной энергии и совмещенных по всем тяжелым атомам. Показаны все тяжелые атомы. а – вид спереди, б – вид сбоку. Римскими цифрами обозначена нумерация петель.

как на рис. 1) расположено ее ядро, из которого вниз выходят три петли. Вторичная структура образована двухцепочечной (остатки 1 - 5 и 13 - 17) и трехцепочечной (остатки 22 - 30, 33 - 41 и 50 - 54) антипараллельными β -структурами. Такая укладка полипептидной цепи характерна для всего семейства коротких нейротоксинов.

Минимизация конформационной энергии устранила излишнюю “зжатость” набора структур, что отразилось в увеличившейся дисперсии величин двугранных углов ϕ и ψ (рис. 3 в сравнении с рис. 8 в [23]). Все двугранные углы ϕ и ψ расположены в стерически разрешенных областях карты Рамачандрана (рис. 4). Остатки Gly (19, 33, 39, 41

и 48) попадают в стерически запрещенную для остатков другого типа область (рис. 3, 4). Все перечисленные остатки глицина, кроме Gly19, являются консервативными в семействе нейротоксинов короткого типа. Так как остатки глицина имеют меньшие по сравнению с другими остатками стерические ограничения, их роль заключается, видимо, в обеспечении необходимого направления хода основной цепи в положениях 33, 39, 41 и 48 молекулы, а также необходимой подвижности.

Низкие ($< 1.5 \text{ \AA}$) средние локальные значения СКО практически для всей молекулы (рис. 5) свидетельствуют о хорошо определенной структуре. Увеличенные значения СКО для N-концевого

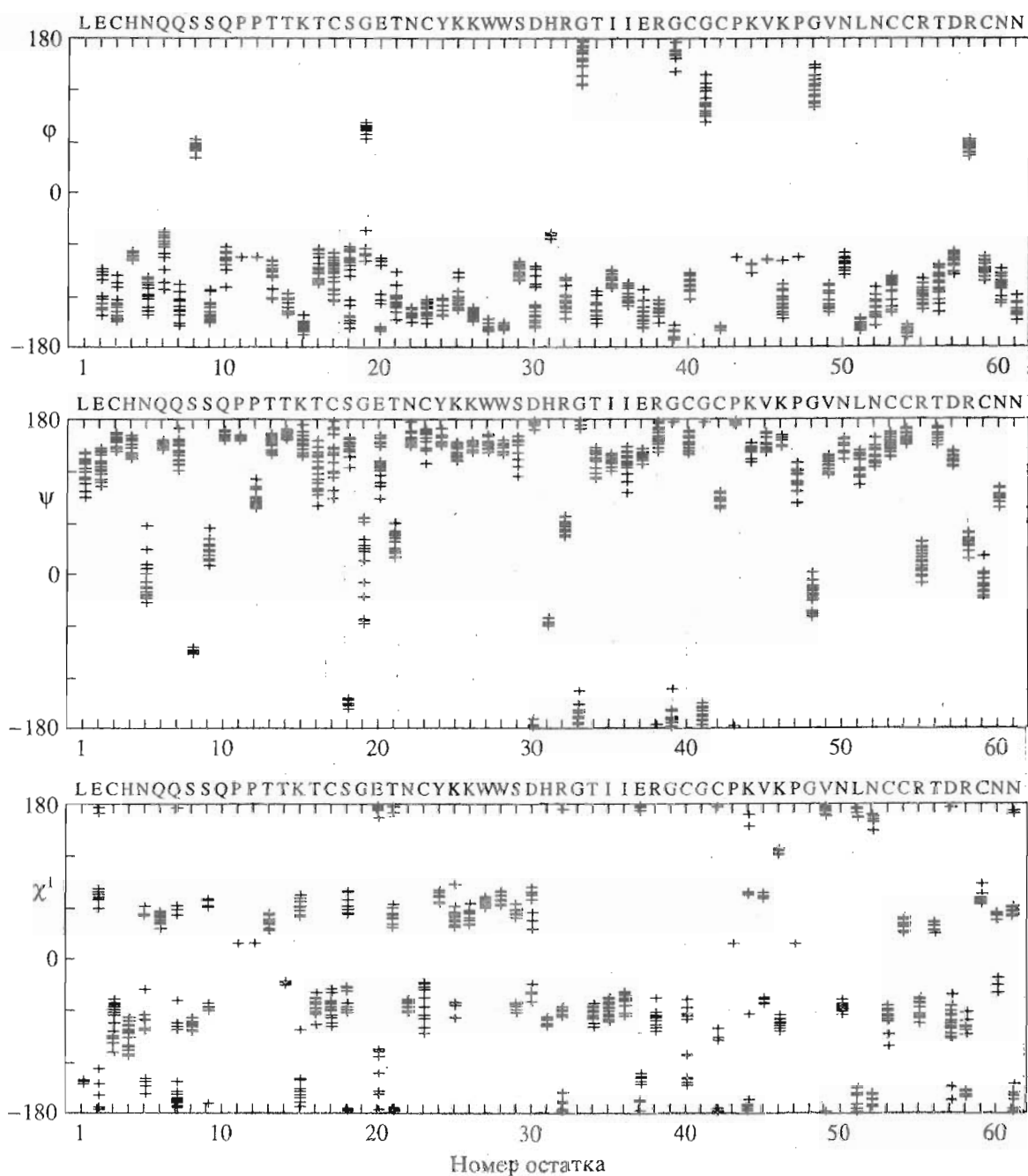


Рис. 3. Величины двугранных углов ϕ , ψ и χ^1 аминокислотных остатков в полученном наборе структур NtII. Вверху в однобуквенном коде показана аминокислотная последовательность белка.

остатка, а также петлевых участков 8 - 9, 17 - 21, 29 - 34 и 44 - 47 наблюдались и для других гомологичных нейротоксинов короткого типа (см., например, [19, 20]) и объяснялись увеличенной подвижностью петлевых участков в растворе.

Образование димеров NtII

Система водородных связей для энергетически оптимизированного набора конформаций NtII аналогична полученной ранее (см. [23]). Внутри-

молекулярные водородные связи были идентифицированы для всех, кроме трех медленно обменивающихся амидных протонов (Val45, Lys46 и Leu51). Сигналы от этих протонов сохранялись в спектрах TOCSY спустя 2 ч после растворения образца NtII в D_2O при 20°C [23]. Медленный обмен амидного протона остатка Lys46 можно объяснить его низкой доступностью для растворителя. Амидные протоны двух других остатков экспонированы в растворитель. Интересно, что не нашедшие объяснения медленные скорости дейтериеобмена

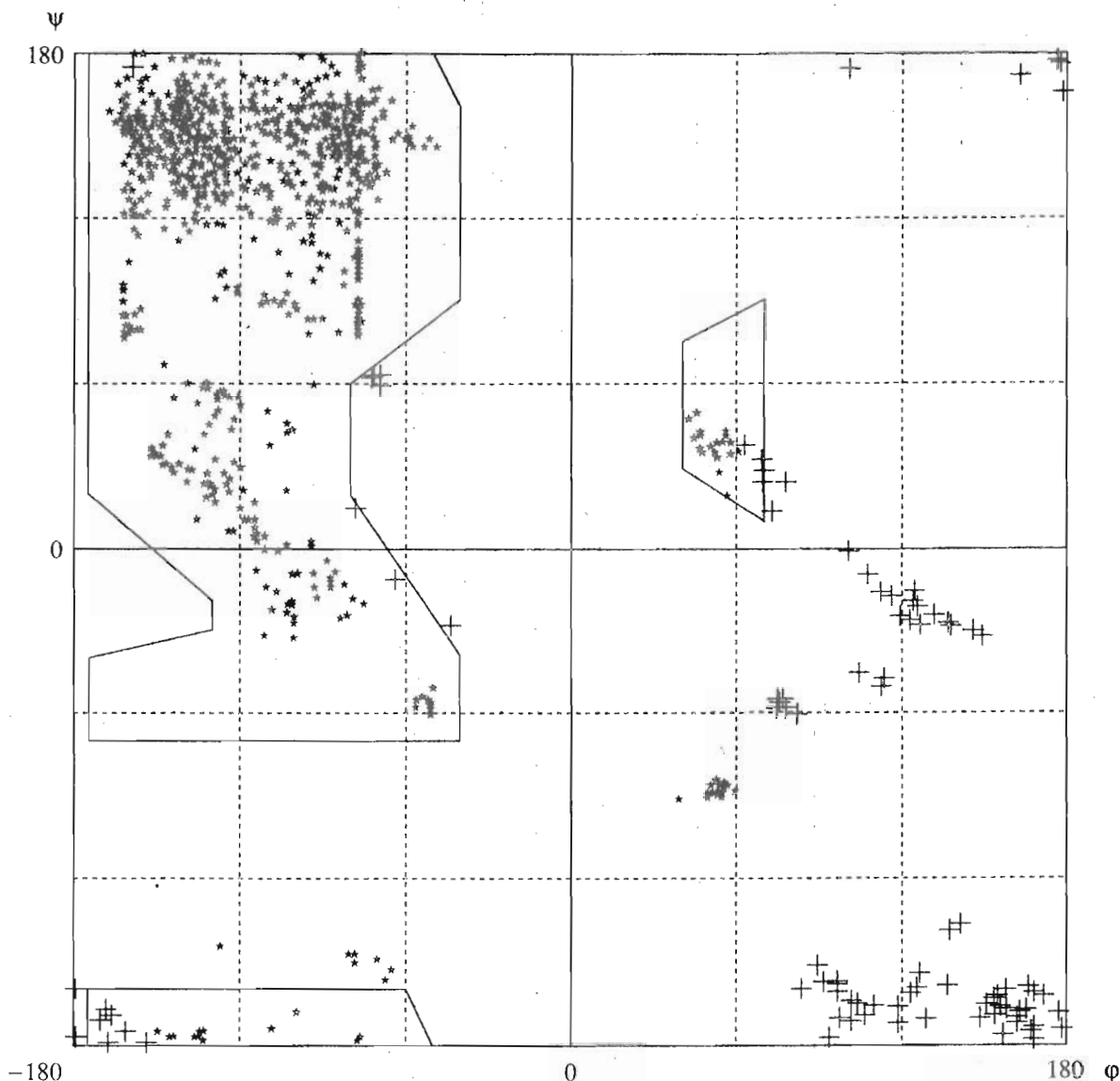


Рис. 4. Карта Рамачандрана для 19 структур NtII. Символами "+" показаны остатки Gly.

амидных водородов наблюдались для остатков в гомологичных фрагментах α -нейротоксина *D. p. polylepis* [18, 19] и кардиотоксинов СТХIIа и СТХIIб *Naja mossaambica mossaambica* [24, 25].

Для объяснения медленных скоростей обмена амидных протонов Val45 и Leu51 нами предлагается модель димера NtII. Как уже упоминалось ранее [23], в спектрах NOESY не было обнаружено межмолекулярных кросс-пиков ЯЭО. Это может произойти, если участки, по которым происходит димеризация, невелики и симметричны. В этом случае межмолекулярные контакты ЯЭО в спектре NOESY нельзя отличить от внутримолекулярных [23].

Для создания модели димера две идентичные структуры NtII, обладающие наименьшей конформационной энергией, были связаны цепочкой

из 17 псевдоаминокислотных остатков (остатки Dum из аминокислотной библиотеки программы FANTOM [26]) от С-конца первой молекулы к N-концу второй. Данная процедура позволяет проводить минимизацию конформационной энергии димера как одной целой молекулы. Псевдоаминокислотные остатки Dum (имеющие такую же геометрию, как у остатков Gly) при минимизации не участвуют в физических взаимодействиях и не вносят вклада в конформационную энергию.

На первом этапе минимизации все взаимодействия между атомами были "выключены", структура мономеров зафиксирована, а на расстояния между парами атомов, образующими межмолекулярные водородные связи (Leu51' HN...O Cys53'; Leu51' HN...O Cys53; Val45 HN...O Cys42'; Val45' HN...O Cys42), наложены ограничения сверху

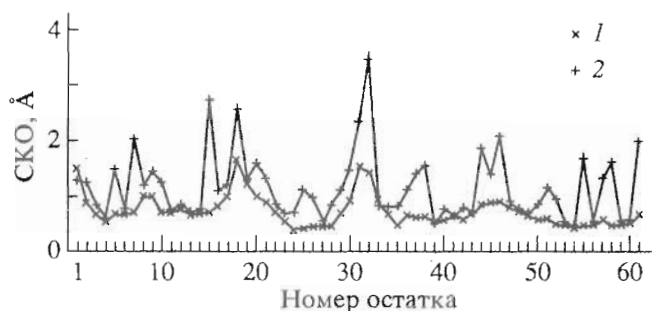


Рис. 5. Зависимость среднего СКО положения атомов в наборе структур от номера аминокислотного остатка NIII. СКО вычислялись для атомов N, C α и C' основной цепи (1) или для тяжелых атомов боковой цепи аминокислотных остатков (2) после совмещения набора структур по атомам основной цепи.

(2.5 Å). Такая система водородных связей была выбрана для обеспечения симметрии димера. На втором этапе минимизации энергии все взаимодействия между мономерами были "включены", однако структура обоих мономеров оставалась фиксированной.

На третьем этапе все взаимодействия были "включены" и структура мономеров могла меняться. При этом список ограничений включал в себя все экспериментальные ограничения на парные межпротонные расстояния и двугранные углы (из данных ЯМР [23]), а также ограничения на наибольшую длину межмолекулярных водородных связей.

Полученная модель димера (рис. 6) обладает низким значением конформационной энергии и хорошо согласуется с экспериментальными данными ЯМР. Общая энергия димера сравнима с энергией мономера, умноженной на 2 (табл. 2). Разница между энергией димера, рассчитанной для всех взаимодействующих пар атомов, и для пар атомов, находящихся на расстояниях ближе 8 Å, показывает (табл. 2), что дальние электростатические взаимодействия дают значительный вклад

в энергию. В процессе димеризации несколько аминокислотных остатков (Cys42, Lys44, Val45, Pro47, Leu51, Cys53 и Arg55) значительно уменьшают площадь поверхности, доступную растворителю. Большая часть этих остатков является гидрофобной, что также может быть важным для образования димера.

Анализ пространственной структуры

Как показывает анализ полученного набора структур, два участка β -структуры NIII (петли I и II, см. рис. 1) связаны между собой двумя водородными связями: одна связь — между атомами основной цепи (Ser8 NH...O' Ile36), а другая — с участием атомов боковой цепи (Ile36 NH...O' Ser8). Известно [27], что замена остатка Ser8 на Gly в эрабутоксине *a* приводит к сильному снижению сродства токсина к ацетилхолиновому рецептору, а также к структурным изменениям молекулы. Видимо, данная замена разрушает связывание первой и второй петли дополнительными водородными связями и увеличивает подвижность этих петель друг относительно друга, что приводит к искажению структуры.

Остаток Ser8 является консервативным в семействе коротких нейротоксинов. Примерно для 80% токсинов длинного типа в положении 8 находится остаток Thr [4]. Кардиотоксины, имеющие сходную структуру, но не действующие на ацетилхолиновый рецептор (см. обзор [5]), не имеют остатков Ser или Thr в первой петле, и эта петля не зафиксирована относительно второй [25]. Вероятно, фиксация первой петли нейротоксинов относительно второй важна для их связывания с ацетилхолиновым рецептором. Недавние исследования комплекса α -бунгаротоксина с пептидным фрагментом α -субъединицы ацетилхолинового рецептора подтверждают, что связывание пептида происходит одновременно в районе первой и второй петли [28].

Таблица 2. Конформационная энергия E (потенциалы ECEPP/2) мономера и димера NIII*

Вариант расчета**	E	E_{el}	$E_{НВ}$	E_{NB}	E_d	E_t
Мономер (а)	-328.3	34.8	-85.1	-362.9	14.8	1.4
(б)	-365.3	-27.3	-85.1	-337.9	14.8	1.4
Димер (а)	-532.4	160.1	-176.7	-746.3	37.4	6.2
(б)	-708.7	-77.1	-176.7	-685.4	37.4	6.2

* Показаны вклады в энергию: E_{el} — электростатических взаимодействий; $E_{НВ}$ — водородных связей; E_{NB} — взаимодействий Леннарда — Джонса; E_d — псевдоэнергетического термина, штрафующего нарушения экспериментальных ограничений на межпротонные расстояния; E_t — псевдоэнергетического термина, штрафующего нарушения ограничений на торсионные углы.

** (а) — энергия рассчитывалась для всех пар взаимодействующих атомов; (б) — энергия рассчитывалась только для пар атомов, находящихся на расстоянии не более 8 Å. Все величины энергии указаны в ккал/моль.

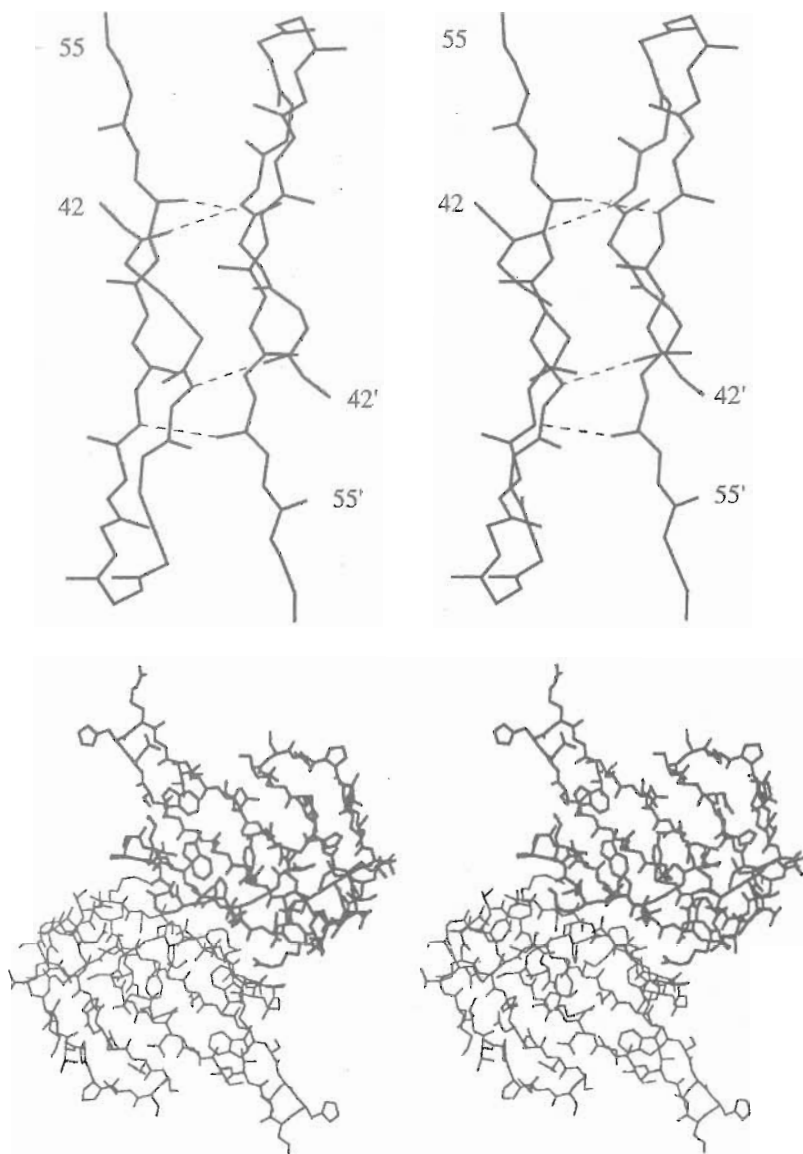


Рис. 6. Стереизображение димера NiII. Вверху показана область контакта двух мономеров (остатки 42 - 55) и межмолекулярные водородные связи. Внизу изображены все тяжелые атомы димера.

Большинство идентифицированных водородных связей NiII носит внутримолекулярный характер. Димеризация токсина сопровождается образованием четырех дополнительных межмолекулярных водородных связей. Кроме того, значительно уменьшается площадь экспонированной в растворитель поверхности боковых цепей гидрофобных остатков на участке 42 - 53. Поскольку значительная часть этих остатков консервативна в семействе нейротоксинов, можно предположить, что образование димеров свойственно в разной степени всем нейротоксинам. В настоящее время известно, что симметричные димеры образуют кардиотоксин [29], α -кобротоксин и α -бунгаротоксин в кристаллах [13], а также длинный нейрональный бунгаротоксин в раство-

ре [30]. Хотя кардиотоксин и нейрональный бунгаротоксин не принадлежат к классу нейротоксинов, однако все эти токсины имеют очень похожую пространственную структуру и высокую степень подобия первичных структур.

Следует отметить, что для NiII межмолекулярные контакты ЯЭО не были обнаружены, тогда как для нейронального бунгаротоксина наблюдались многочисленные межмолекулярные контакты [30]. Можно предположить, что этот факт связан с разной прочностью димеров и различающимся размером области контакта мономеров для этих токсинов. В случае менее прочных димеров симметрия и малая область контакта не позволяют различить меж- и внутримолекулярные кросс-пики ЯЭО, и о наличии димера в данном

случае будет свидетельствовать только замедленная скорость дейтерообмена амидных водородов, экспонированных на поверхности мономера. Стабильность димеров при прочих равных условиях будет определяться гидрофобными свойствами аминокислотных остатков в районе контакта мономеров (остатки 42 - 53 NII).

Полученный в настоящей работе набор структур NII будет в дальнейшем использован для детального изучения гидрофобных и функциональных свойств этой молекулы.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Отнесение сигналов в спектрах ЯМР, ограничения на попарные межпротонные расстояния и торсионные углы, а также расчет пространственной структуры NII методом дистанционного геометрического алгоритма были описаны ранее [23]. Полученный набор из 19 структур (депонированный в Protein Data Bank [31] под именем 1NOR) был использован в качестве стартового и подвергнут энергетической минимизации с потенциалами ECEPP/2 [32] в пространстве торсионных углов с помощью программы FANTOM (версия 3.1) [26]. Ограничения на попарные межпротонные расстояния и торсионные углы, полученные по данным спектроскопии ЯМР (идентичные используемым ранее [23]), учитывались в виде псевдоэнергетических термов. Эта псевдоэнергия масштабировалась таким образом, что нарушения в 0.2 Å для ограничений на межатомные расстояния и 2.5 Å для ограничений на торсионные углы соответствовали $kT/2$ (k – константа Больцмана, T – абсолютная температура). В отличие от предыдущих расчетов методом дистанционного геометрического алгоритма [23] с помощью программы DIANA [33] дистанционные ограничения на водородные связи (за исключением расчета димера NII) не вводились, так как энергия водородных связей рассчитывалась непосредственно в процессе минимизации. Это позволило избежать излишней “зажатости” набора структур в случае неточно заданных ограничений на водородные связи.

В процессе минимизации конформационной энергии список взаимодействующих пар атомов, расположенных на расстоянии меньше 8 Å, обновлялся после каждых 50 итераций. Значение константы диэлектрической проницаемости было равно расстоянию между атомами, выраженному в ангстремах. Площадь поверхности атомов, доступная растворителю, рассчитывалась в помощью программы FANTOM. Все вычисления выполнялись на компьютере Sun SparkStation IPC.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Changeux J.-P.* // Trends Pharmacol. Sci. 1990. V. 11. P. 485 - 492.
2. *Stroud R.M., McCartney M.P., Shuster M.* // Biochemistry. 1990. V. 29. P. 11009 - 11023.
3. *Endo T., Tamiya N.* // Pharmacol. Ther. 1987. V. 34. P. 403 - 451.
4. *Endo T., Tamiya N.* // Snake Toxins / Ed. A.L. Harvey. N.Y.: Pergamon Press, 1991. P. 165 - 222.
5. *Rees B., Bilwes A.* // Chem. Res. Toxicol. 1993. V. 6. P. 385 - 406.
6. *Endo T., Nakanishi M., Furukawa S., Juobert F.J., Tamiya N., Hayashi K.* // Biochemistry. 1986. V. 25. P. 395 - 404.
7. *Tsernoglou D., Petsko G.A.* // FEBS Lett. 1976. V. 68. P. 1 - 14.
8. *Tsernoglou D., Petsko G.A.* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1977. V. 74. P. 971 - 974.
9. *Low B.W., Preston H.S., Sato A., Rosen L.S., Searl J.E., Rudko A.D., Richardson J.S.* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1976. V. 73. P. 2991 - 2994.
10. *Corfield P.W.R., Lee T.J., Low B.W.* // J. Biol. Chem. 1989. V. 264. P. 9239 - 9242.
11. *Smith J.L., Corfield P.W.R., Hendrickson W.A., Low B.W.* // Acta Crystallogr. A. 1988. V. 44. P. 357 - 368.
12. *Walkinshaw M.D., Saenger W., Maelicke A.* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1980. V. 77. P. 2400 - 2404.
13. *Betzel C., Lange G., Pal G.P., Wilson K.S., Maelicke A., Saenger W.* // J. Biol. Chem. 1991. V. 266. P. 21530 - 21536.
14. *Love R.A., Stroud R.M.* // Protein Eng. 1986. V. 1. P. 37 - 46.
15. *Basus V.J., Billiter M., Love R.A., Stroud R.M., Kuntz I.* // Biochemistry. 1988. V. 27. P. 2763 - 2771.
16. *Basus V.J., Scheek R.M.* // Biochemistry. 1988. V. 27. P. 2772 - 2775.
17. *Le Goas R., La Plante S.R., Mikou A., Delsuc M.A., Guittet E., Robin M., Charpentier I., Lallemand J.Y.* // Biochemistry. 1992. V. 31. P. 4867 - 4875.
18. *Labhardt A.M., Hunziker-Kwik E.H., Wüthrich K.* // Eur. J. Biochem. 1988. V. 177. P. 295 - 305.
19. *Brown L.R., Wüthrich K.* // J. Mol. Biol. 1992. V. 227. P. 1118 - 1135.
20. *Zinn-Justin S., Roumestand C., Gilquin B., Bontems F., Ménez A., Toma F.* // Biochemistry. 1992. V. 31. P. 11335 - 11347.
21. *Yu C., Lee C.-S., Chuang L.-C., Shei Y.-R., Wang C.Y.* // Eur. J. Biochem. 1990. V. 193. P. 789 - 799.
22. *Yu C., Bhaskaran R., Chuang L.-C., Yang C.-C.* // Biochemistry. 1993. V. 32. P. 2131 - 2136.
23. *Golovanov A.P., Lomize A.L., Arseniev A.S., Utkin Yu.N., Tsetlin V.I.* // Eur. J. Biochem. 1993. V. 213. P. 1213 - 1223.
24. *Otting G., Steinmetz W., Bougis P.E., Rochat H., Wüthrich K.* // Eur. J. Biochem. 1987. V. 168. P. 609 - 620.
25. *Steinmetz W.E., Bougis P.E., Rochat H., Redwine O.D., Braun W., Wüthrich K.* // Eur. J. Biochem. 1988. V. 172. P. 101 - 116.

26. Schaumann T., Braun W., Wüthrich K. // *Biopolymers*. 1990. V. 29. P. 679 - 694.
27. Pillet L., Trémeau O., Ducancel F., Drevet P., Zinn-Justin S., Pinkasfeld S., Boulain J.-C., Ménez A. // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 909 - 916.
28. Basus V.J., Song G., Hawrot E. // *Biochemistry*. 1993. V. 32. P. 12290 - 12298.
29. Rees B., Bilwes A., Samama J.P., Moras D. // *J. Mol. Biol.* 1990. V. 214. P. 281 - 297.
30. Oswald R.E., Sutcliffe M.J., Bamberger M., Loring R.H., Braswell E., Dobson C.M. // *Biochemistry*. 1991. V. 30. P. 4901 - 4909.
31. Bernstein C., Koetzle T.F., Williams G.J.B., Meyer E.F., Brice M.D., Rodgers J.R., Kennard O., Shimanouchi T., Tashumi M. // *J. Mol. Biol.* 1977. V. 112. P. 535 - 542.
32. Némethy G., Pottle M.S., Scheraga H.A. // *J. Phys. Chem.* 1983. V. 87. P. 1883 - 1887.
33. Güntert P., Qian Y.Q., Otting G., Müller M., Gehring W., Wüthrich K. // *J. Mol. Biol.* 1991. V. 217. P. 531 - 540.

Refinement of the Spatial Structure of Neurotoxin II from *Naja naja oxiana* Venom

A. P. Golovanov and A. S. Arseniev¹

*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117871 Russia*

Abstract – A set of 19 conformations of the neurotoxin II from *Naja naja oxiana* was determined by conformational energy minimization using constraints derived from experimental ¹H NMR data. The pairwise average root-mean-square deviations were 0.86 Å for the backbone heavy atoms and 1.48 Å for all heavy atoms of these conformations. A model of the neurotoxin II dimer is proposed to account for the relatively slow deuterium exchange rates of the Val45 and Leu51 amide protons, which are exposed to the solvent in the calculated conformations of monomeric neurotoxin II. Both the monomeric and dimeric models of neurotoxin II may be useful for detailed studies of the functional, hydrophobic, and electrostatic properties of this molecule.

Key words: neurotoxin, spatial structure, NMR, conformational energy.

¹To whom correspondence should be addressed.