

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ СТРУКТУРЫ И КОНФОРМАЦИОННОЙ ЛАБИЛЬНОСТИ ПРИРОДНЫХ L-АМИНОКИСЛОТ И МОДЕЛЬНЫХ ОЛИГОПЕПТИДОВ

Кондратьев М. С., Самченко А. А., Комаров В. М.,
Кабанов А. В.

(Россия, Пущино)

В работе на базе полуэмпирических квантово-химических расчетов анализируется организация формы нейтральных аминокислот и их цвиттер-ионов, а также коротких пептидов в изолированном состоянии и в водном окружении. Особое внимание уделяется рассмотрению роли структурных и термодинамических факторов в определении предпочтительных изомерных форм аминокислот, обуславливающих спиральную организацию одинокых цепочек олигопептидов.

Введение. В настоящее время распространены представления о том, что полипептидные цепи большинства белков могут самопроизвольно сворачиваться с образованием «правильной» конформации. Исходя из обратимости процессов денатурации-ренатурации, считается, что вся необходимая информация для определения формы белка содержится в самой последовательности аминокислот [1,2]. В протеинах наиболее часто встречаются два способа укладки полипептидной цепи: α -спираль и β -складка. Они обусловлены регулярным образованием водородных связей между самими пептидными группами, а не уникальными взаимодействиями боковых цепей [1,3].

Выяснение механизма самосборки белка требует установления корреляций между свойствами вторичной структуры молекулы и конформационными возможностями ее аминокислотных остатков [4]. Для более глубокого понимания механизма фолдинга белков чрезвычайно важен детальный учет особенностей электронной структуры отдельных изомерных форм свободных

аминокислот, а также влияние высокой конформационной лабильности пептидных и боковых групп аминокислотных остатков на процесс спирализации олигопептидов.

Целью данной работы является теоретическое исследование конформационного поведения нейтральных аминокислот и их цвиттер-ионов, а также коротких пептидов в изолированном состоянии и в водном окружении. Особое внимание уделено рассмотрению роли структурных и термодинамических факторов в определении предпочтительных изомерных форм аминокислот, обуславливающих спиральную организацию одиночных цепочек олигопептидов.

Метод. Для расчетов структурных, спектроскопических и термодинамических особенностей указанных биомолекул использовалась полуэмпирическая квантово-химическая MNDO методика в варианте PM3 параметризации. Выбор такого инструмента исследований обусловлен наилучшим соотношением (для данного типа задач) точности расчета и необходимых вычислительных ресурсов. Ключи PRECISE и NOMM использовались при оптимизации геометрии всех соединений. Указанные ключи предназначены, соответственно, для стократного усиления критериев сходимости и оптимизации, по сравнению со стандартными критериями, используемыми по умолчанию в этих программах, и для отказа в расчетах от искусственной фиксации плоской структуры пептидных групп. Отключение последней поправки позволяет нам более полно учитывать лабильность самих пептидных групп, которая обусловлена известными большими внеплоскостными движениями N-H связей [5] аминокислотных групп в структуре простейших аминокислотных производных. Учитывалась, таким образом, возможность обнаружения у исследуемых соединений дополнительных устойчивых конформеров.

В ходе расчетов использовались более жесткие критерии достижения глобального минимума поверхности потенциальной энергии исследуемых молекул. Мы добивались не только получения максимальных значений теплот образования оптимизируемых структур, но и отсутствия отрицательных значений частот в рассчитанных спектрах нормальных колебаний найденных

конформеров. Этим достигалось исключение из рассмотрения большого числа промежуточных, метастабильных структур.

Для изолированных, цвиттер-ионных и гидратированных форм аминокислот, а также ряда олигопептидов были проанализированы их основные структурные характеристики. Кроме того, нами были рассмотрены другие важные параметры: теплота образования, инерциальный дефект, абсолютная энтропия, дипольный момент, а также относительное изменение Гиббсовой энергии конформера по отношению к свободной энергии изомера с наиболее глубоким минимумом потенциальной энергии.

Таблица 1. Основные геометрические параметры молекулы глицина (длины связей даны в ангстремах, величины углов – в градусах)

Длина связи	Sellers et al.	Наш расчет	Валентный угол	Sellers et al.	Наш расчет	Двугранный угол	Sellers et al.	Наш расчет
N-H	1.001	0.998	NCC	113.28	114.88	NCC=O	0	0.14
N-C	1.457	1.469	CC=O	126.41	128.84	NCCO	180	179.86
C-H	1.081	1.109	CC-O	110.62	115.14	CCOH	180	179.98
C-C	1.514	1.513	CO-H	112.28	110.03	CCNH	63.29	60.21
C=O	1.203	1.218	CNH	113.27	110.29	O-CCH	57.65	58.2
C-O	1.364	1.351	CCH	107.87	109.28			
O-H	0.966	0.952	HNH	110.29	109.24			
			HCH	107.04	106.43			
			NCH	110.27	108.31			

Результаты и обсуждение. *Нейтральные формы.*

1. Оптимизационный конформационный анализ был выполнен для всех одиночных молекул аминокислот. К сожалению, экспериментальное изучение геометрических параметров молекул аминокислот в газовой фазе затруднено, что связано с техническими трудностями возгонки образцов. Следствием этого является крайне ограниченное число соответствующих экспериментальных данных. Поэтому, в таблице 1 приведены известные [6] и рассчитанные нами основные геометрические параметры только для молекулы глицина. Сравнение представленных величин позволяет отметить хорошую корреляцию наших результатов с литературными данными, что иллюстрирует аде-

кватность выбранного нами теоретического подхода для решения этого типа задач.

2. Рассчитанные значения теплот образования изолированных нейтральных молекул аминокислот, ΔH_f° (298.15 K) приведены в таблице 2. Там же приведены известные экспериментальные данные [7–12]. Здесь также видна хорошая корреляция опытных и расчетных данных.

Таблица 2. Теоретические и экспериментальные величины теплот образования (ΔH_f°) 20 L-аминокислот

А.К.	PM3	Эксперимент	А.К.	PM3	Эксперимент
Gly	-95.968	-93.3	Glu	-193.575	
Ala	-101.1	-99.1	Asp	-188.069	
Val	-110.015	-108.78	Gln	-142.623	
Leu	-116.786	-116.34	Asn	-136.872	
Ile	-115.032		Arg	-101.733	
Phe	-71.8732	-74.8	His	-66.2796	
Tyr	-117.929		Met	-102.199	-98.83
Trp	-54.8358		Pro	-100.645	-87.52
Ser	-141.146		Tre	-146.992	
Cys	-91.0534		Lys	-110.487	

Анализ зависимости теплот образования этих соединений от химического состава боковых радикалов позволяет сгруппировать и расположить их по степени термодинамической стабильности в следующий условный ряд:

- 1) кислые аминокислоты, *Glu, Asp*, (-180/-190 ккал/моль)
- 2) амиды и ОН-содержащие, *Gln, Asp, Ser, Thr*, (-115/-143 ккал/моль)
- 3) алифатические замещенные, *Gly, Ala, Leu, Ile*, (-93/-112 ккал/моль)
- 4) циклические и гетероциклические замещенные, *Phe, Trp, Tyr, His* (-52/-70 ккал/моль).

Полученная низкая термодинамическая стабильность у гетероароматических аминокислот не противоречит известным представлениям об относительно слабой термодинамической устойчивости молекулярных систем с сопряженными связями.

3. В связи с тем, что уменьшение конформационной подвижности молекулы коррелирует с мерой ее компактности, в работе

были сделаны оценки интегрального параметра формы молекулы — величины инерциального дефекта, $\Delta' = I_c - (I_a + I_b)$. (Здесь $I_{c(a,b)}$ — главные моменты инерции молекулы) [13]. Это весьма чувствительный индикатор асимметрии формы молекулы. Следовало ожидать, что наибольшими значениями указанной величины, т.е. наименее компактными формами, будут обладать молекулы с «громоздкими» ароматическими фрагментами, а именно — молекулы триптофана, тирозина и фенилаланина (рис. 1).

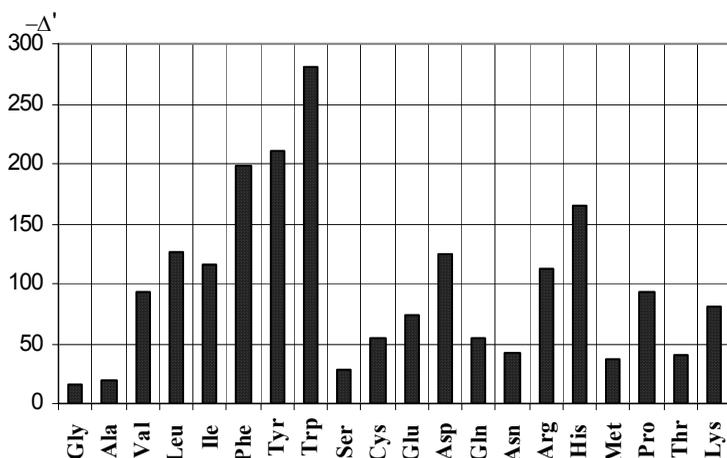


Рис. 1. Величины инерциальных дефектов ($-\Delta'$) 20 L-аминокислот

Как показал расчет, для этих аминокислот действительно характерным оказалась наибольшая величина дефекта, лежащая в области значений порядка $\Delta' = -200.0$ ($\text{u} \cdot \text{Å}^2$). В то же время для малых, «компактных» аминокислот, таких как глицин, аланин и серин величина указанного параметра оказалось не превышающей $\Delta' = -30.0$ ($\text{u} \cdot \text{Å}^2$).

4. Еще одним параметром, который также в определенной мере отражает структурные отличия молекул аминокислот, их компактность, является величина электрического дипольного момента, μ . Являясь, по сути, векторной величиной, момент μ оказывается

весьма чувствительным к изменениям структуры молекулы в зависимости от природы и размеров ее боковой группы.

Расчет показал, что, в общем случае, диапазон изменения величин дипольных моментов здесь оказывается весьма широким (табл. 3). Для относительно компактных аминокислот, типа глицина, аланина, серина и других молекул, момент μ невелик, имеет порядок $\mu \cong 1.0 \text{ D}$ (Дебай). В случае более протяженных молекул, а также молекул с заряженными группами на концах боковых радикалов, т.е. с радикалами, в составе которых есть карбоксильные или аминогруппы (типа глутамата, аспарагина и др.), значения их дипольных моментов уже как минимум в 2 раза превышают величину этого параметра в компактных молекулах, с простыми алифатическими радикалами (аланин, валин и т.п.).

Таблица 3. Величины дипольных моментов μ (Дебай) нейтральных и цвиттер-ионных форм 20 L-аминокислот

А.К.	Нейтральные	Цвиттер-ионы	А.К.	Нейтральные	Цвиттер-ионы
Gly	1.03026	10.52817	Glu	5.06432	9.60867
Ala	1.10794	10.26942	Asp	4.04556	8.52295
Val	2.19506	10.12114	Gln	6.08022	10.59024
Leu	2.43389	10.22481	Asn	3.38476	8.23761
Ile	2.26971	10.07875	Arg	2.25159	13.20473
Phe	1.09337	10.42243	His	2.93442	8.54344
Tyr	2.81399	10.24546	Met	1.05073	10.14214
Trp	3.59592	11.73135	Pro	1.58181	10.65372
Ser	0.78912	9.15332	Tre	2.03808	9.27117
Cys	1.31203	8.64691	Lys	1.33412	10.9495

5. Резонно считать, что потенциальная способность молекулярной структуры к конформационной лабильности, к различным подвижкам валентных связей, определяется спектром частот колебательно-вращательных степеней свободы молекулы и, следовательно, в определенной степени определяется ее энтропийным фактором. В своей работе мы, при анализе устойчивости изомерных форм аминокислот, всегда выполняли как расчеты спектров нормальных колебаний, так и расчеты основных вращательных спектроскопических констант этих молекул. Поэтому, естественным образом, через использование формализма статсумм, нами

были сделаны соответствующие оценки и значений абсолютных энтропий S^0 для всех изомерных форм этих молекул.

В таблице 4, в качестве примера, приведены значения частот трех самых нижних колебательных мод, а также величины абсолютных энтропий наиболее устойчивых форм 20 L-аминокислот. Важно отметить, во-первых, что в низкочастотном спектре колебаний всех оптимизированных структур отсутствуют мнимые значения частот (и это говорит об устойчивости найденных конформаций), а во-вторых, наблюдается довольно заметное различие значений абсолютных энтропий у разных молекул аминокислот. При этом, наибольшими величинами S^0 характеризуются аминокислоты с разветвленной и наиболее подвижной системой алифатических связей своих радикалов, т.е. такие аминокислоты, как аргинин и лизин (табл. 4).

Таблица 4. Значения трех самых нижних колебательных мод (ν) (cm^{-1}) и абсолютные энтропии (S^0) нейтральных и цвиттер-ионных (ZI) молекул аминокислот

А.К.	ν_1	ν_2	ν_3	S^0	ν_1 Z-I	ν_2 Z-I	ν_3 Z-I	S^0 Z-I
Gly	47.26	234.02	257.19	76.0873	86.22	259.29	410.12	75.47
Ala	40.31	168.3	225.76	83.01	60.4	178.1	242.3	82.68
Val	52.93	70.93	172.83	94.8681	43.11	85.13	181.5	93.57
Leu	38.07	52.04	99.97	102.6758	49.84	63.70	97.40	100.48
Ile	51.74	61.61	129.46	100.3409	60.64	83.30	116.16	98.77
Phe	28.79	36	46.9	108.7924	38.29	67.57	86.58	106.54
Tyr	29.22	36.76	48.05	114.8393	34.86	47.38	58.54	112.47
Trp	33.65	39.37	67.81	117.0938	36.45	49.94	67.65	115.71
Ser	37.28	88.14	202.96	88.5751	60.93	93.07	198.42	86.15
Cys	35.86	68.73	179.65	92.5332	43.21	77.05	124.98	91.23
Glu	39.96	71.82	84.17	100.7194	43.51	52.63	62.77	99.24
Asp	41.43	81.01	134.24	94.7338	43.96	70.35	82.7	93.01
Gln	48.81	85.67	122.64	99.8991	24.80	48.58	86.15	98.42
Asn	36.89	50.68	68.64	95.9226	44.99	71.6	85.21	94.61
Arg	20.88	27.3	40.48	128.2829	20.59	27.82	51.51	126.87
His	32.16	40.98	54.79	105.2406	29.56	47.50	58.71	104.37
Met	30.44	38.29	56.81	110.1749	28.41	48.97	61.88	108.49
Pro	28.76	47.69	98.88	90.711	60.10	97.10	142.76	85.602
Tre	45.61	85.65	162.6	93.9593	60.94	74.10	165.10	92.08
Lys	34.83	42.88	49.27	113.0279	40.38	51.00	55.91	111.14

Таким образом, представления о значительном вкладе в общую энтропию системы энтропии бокового аминокислотного остатка, имеющего высокую колебательно-вращательную подвижность, здесь оказываются вполне справедливыми и они позволяют достаточно четко различать все эти структуры по данной термодинамической характеристике.

В целом можно заключить, что нейтральные формы газофазных молекул аминокислот характеризуются, вообще говоря, довольно широким диапазоном значений теплот образования, величин инерциальных дефектов, энтропийных факторов и значений дипольных моментов. Все эти параметры достаточно дифференцированы и хорошо различимы для разных классов аминокислот.

Цвиттер-ионные формы.

Поскольку в реальных условиях аминокислоты функционируют как системы с разделенными зарядами, за счет влияния раствора, нами были проведены расчеты изменения всех анализируемых структурных свойств и для цвиттер-ионных состояний этих молекул (табл. 3, 4, 6).

Рассчитанные геометрические характеристики некоторых цвиттер-ионов вместе с известными экспериментальными данными приведены в таблице 5. Здесь важно отметить достаточно хорошее соответствие рассчитанных геометрических параметров этих форм с данными кристаллографических экспериментов [14], в которых, как известно, связанная вода (т.е. полярное окружение молекул аминокислот) всегда присутствует.

Оценки теплот образования изолированных цвиттер-ионных форм аминокислот показали, что величина этого параметра оказывается в среднем на 25–35 ккал/моль меньше, чем у нейтральных форм (табл. 6). Такой же результат наблюдается и в других теоретических работах, с использованием более точных, *ab initio* схем расчета [15]. Уменьшение термодинамической стабильности цвиттер-ионов аминокислот свидетельствует о несколько пониженной устойчивости таких форм в безводной, газовой фазе. В растворе же стабилизация этих форм достигается за счет наличия большого количества водородных связей ионной структуры с молекулами воды. Тем не менее, полученные нами данные

относительно изменения этого параметра в ряду исследуемых аминокислот (которые, кстати, оказались симбатными изменениям теплот аминокислот в нейтральных формах) позволяют говорить о сохранении здесь выше сделанного разделения молекул по группам стабильности в зависимости от конкретной химической структуры их боковых радикалов.

Таблица 5. Основные геометрические параметры цвиттер-ионов некоторых аминокислот

Глицин			Аланин			Серин		
Валентный угол	Эксперимент	Расчет	Валентный угол	Эксперимент	Расчет	Валентный угол	Эксперимент	Расчет
O1-C1-O2	125.5	129.0	O1-C1-O2	125	129.0	O1-C1-O2	125	129.7
O1-C1-C2	117.4	119.7	O1-C1-C2	121	119.7	O1-C1-C2	117	111.0
O2-C1-C2	117.1	111.3	O2-C1-C2	113	111.3	O2-C1-C2	117	119.0
C1-C2-N	111.8	104.9	C1-C2-C3	111	111.07	C1-C2-C3	110	110.7
			C1-C2-N	108	104.13	C2-C3-O3	112	111.1
			N-C2-C3	110	112.8	C1-C2-N	110	104.5
						N-C2-C3	111	113.0
Длина, Å	Эксперимент	Расчет	Длина, Å	Эксперимент	Расчет	Длина, Å	Эксперимент	Расчет
C1-O1	1.252	1.22	C1-O1	1.21	1.22	C1-O1	1.27	1.26
C1-O2	1.255	1.27	C1-O2	1.27	1.27	C1-O2	1.26	1.22
C1-C2	1.523	1.6	C1-C2	1.54	1.62	C1-C2	1.53	1.62
C2-N	1.474	1.49	C2-C3	1.51	1.51	C2-C3	1.51	1.52
			C2-N	1.5	1.5	C3-O3	1.42	1.41
						C2-N	1.49	1.5

По этой причине, можно сказать, что основные выводы сделанные выше относительно многих структурных свойств для нейтральных аминокислот остаются справедливыми и для случая их цвиттер-ионных форм.

Что касается наблюдаемых здесь повышенных значений электрических дипольных моментов, то это есть естественное

следствие возникающего дополнительного разделения зарядов в данных структурах.

Таблица 6. РМЗ-рассчитанные величины теплот образования (ΔH°) (ккал/моль) нейтральных и цвиттер-ионных форм 20 L-аминокислот

А.К.	Нейтральные	Цвиттер-ион	А.К.	Нейтральные	Цвиттер-ион
Gly	-95.968	-62.5298	Glu	-193.575	-164.09
Ala	-101.1	-70.4641	Asp	-188.069	-160.873
Val	-110.015	-79.5009	Gln	-142.623	-117.058
Leu	-116.786	-87.1837	Asn	-136.872	-112.037
Ile	-115.032	-85.6522	Arg	-101.733	-72.1468
Phe	-71.8732	-43.4233	His	-66.2796	-36.6984
Tyr	-117.929	-89.5306	Met	-102.199	-70.9219
Trp	-54.8358	-27.1227	Pro	-100.645	-67.634
Ser	-141.146	-112.974	Tre	-146.992	-118.217
Cys	-91.0534	-61.6912	Lys	-110.487	-80.7853

Структурные особенности конформеров аминокислот.

Как известно, в формировании пептидных связей в олигопептидах принимают участие карбоксильные и аминогруппы при C_α -атоме связывающихся аминокислот. Поэтому представлялось важным изучить исходную конформационную лабильность разных типов аминокислот и выделить у них наиболее устойчивые локальные формы (конформеры). В данной работе мы, с использованием полуэмпирической РМЗ техники, провели конформационный анализ всех 20 L-аминокислот с целью обнаружения дополнительных устойчивых конформеров с различными возможными *цис*- и *транс*- взаимными ориентациями – CO и $-C_\alpha N$ связей (рис. 2).

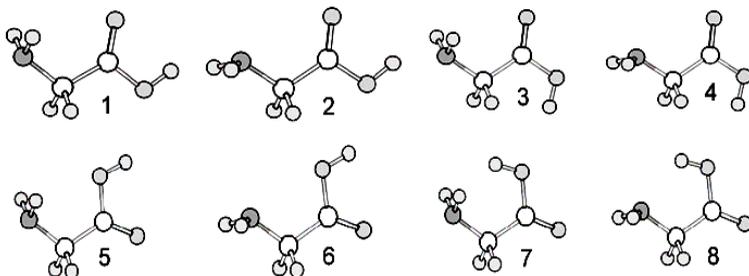


Рис. 2. Различные конформеры аминокислоты (на примере глицина)

Как показал расчет, из полученных восьми устойчивых изомерных форм одиночных аминокислот наибольшее внимание обращают на себя два типа конформеров. Один из них отвечает изомеру глобального минимума потенциальной энергии молекулы. Во всех аминокислотах это примерно однотипные структуры с *цис*-одинаковой ориентацией связей с тяжелыми атомами. Так, в аланиноподобных эта форма близка к структуре 1, рис. 2. В аминокислотах, имеющих боковой радикал с разветвленной системой валентных связей, глобальному минимуму энергии соответствует вторая форма (структура 2, рис. 2). В кислых и основных аминокислотах — это третья форма. Все они, тем не менее, по геометрическим параметрам, оказываются далекими от структуры аминокислот в α -спиралях.

Другой тип конформеров, принадлежащих виду *транс*-конформеров, хотя пространственно довольно значительно отличается от первого, однако термодинамически он оказывается всего на 1–2 ккал/моль менее стабильным. На рис. 2. это структуры 5 и 6. В тоже время структура этих конформеров уже хорошо согласуется с наблюдаемой геометрией остатков аминокислот в α -спиральных участках. Вполне возможно, что при определенных внешних условиях (т.е. начиная с некоторого размера удлиняющейся пептидной цепи и при наличии некоторого количества молекул связанной воды) энергетика этого типа конформеров может стать доминирующей. Так, что олигопептидная цепь из линейно организованной, естественным образом может легко перейти в структуру регулярной спирали.

Рассчитанные величины инерциальных дефектов и дипольных моментов всех рассмотренных конформеров оказались изменяющимися в довольно значительных пределах. Это вполне ожидаемый результат, вследствие различий в пространственной ориентации целых групп атомов в молекуле каждой аминокислоты. Наблюдается также и заметные различия значений абсолютных энтропий для различных структурных изомеров, что связано с частотными изменениями колебательно-вращательных степеней свободы молекулы при таких конформационных перестройках.

Мы оценили изменение энергии Гиббса для различных конформационных состояний аминокислот. Важно отметить, что в данном контексте ΔG следует понимать не в традиционном смысле, а как некоторую характеристику, включающую энтропийный фактор и описывающую энергетику переходов между разными конформерами. В результирующих сечениях этой поверхности свободной энергии молекул аминокислот тоже получены дополнительные локальные минимумы, отвечающие все тому же выделенному устойчивому второму типу конформеров, а именно, структурам 5 и 6, рис. 2.

Таким образом, нами выявлено существование двух особых конформаций каждой аминокислоты. Одна из них отвечает глобальному минимуму полной энергии молекулы и соответствует *цис*-ориентации C=O и C _{α} N групп. Она более энергетически выгодна в вакууме, в изолированной среде. В случае же образования пептидных связей вполне вероятно активная заселенность другой, конформации, близкой уже к *транс*-ориентации C=O и C _{α} N групп в исходной аминокислоте.

Организация структуры олигопептидов.

Для длинных олигопептидных последовательностей в (α -спиральной конформации) характерны водородные связи между витками спирали. Начиная с работ Л.Полинга, считается, что образование таких водородных связей играет главную роль в стабилизации вторичной структуры белка.

В данной работе мы провели оптимизационные конформационные расчеты модельных олигопептидных последовательностей, состоящих из 5–10 аминокислотных остатков одного типа. Сравнили энергетику вытянутых и спиральных изолированных цепочек. При этом обязательным условием начального состояния спиралей была организация межвиткового водородного связывания аминокислотных остатков по классической схеме [3]. В ходе расчетов особое внимание уделялось отсутствию отрицательных частот в спектрах нормальных колебаний получаемых оптимизированных структур олигопептидов. Тем самым мы исключали из рассмотрения появление большого количества промежуточных, метастабильных форм, характерных для таких лабильных молекулярных последовательностей.

Проведенные нами расчеты показали, что полученные изолированные α -спиральные структуры (рис. 3) с таким сравнительно небольшим числом мономерных звеньев (до 10), пока не выявляют значительного «преимущества» в энергетике, по сравнению с вытянутыми цепочками, являющимися в данном случае более устойчивыми. Увеличение длины цепи обозначило пока только тенденцию к увеличению стабильности α -спирали и «стремлению» ее энергетике к энергетике вытянутой последовательности. Высказанное суждение сходно по содержанию с мнением других авторов, работающих в данном направлении [16 и соответствующие ссылки в ней]. Положительный энергетический выигрыш образования спирали, по сравнению с линейной цепью, требует накопления значительного числа мономерных звеньев в составе молекулы. По нашим оценкам, для изолированной глициновой α -спирали, этот эффект должен реализоваться в случае последовательности, состоящей примерно из 40 остатков. В случае рассмотрения олигопептидов другого, более сложного аминокислотного состава, может проявляться уже более выраженная тенденция к образованию устойчивых спиралей. Как показали наши оценки, например, для аланиновой последовательности, количество мономерных звеньев, необходимых для образования устойчивой α -спирали, уже должно быть не в области 40, а в районе 30 остатков. Можно предположить, что в олигопептидах еще более сложной природы и с большим количеством аминокислотных остатков, энергетическое преимущество спиральных структур будет еще более явным. И, таким образом, природа аминокислотных остатков всегда будет сказываться на образовании того или иного вида вторичной структуры пептидов и белков, что, собственно, и наблюдается экспериментально [17].

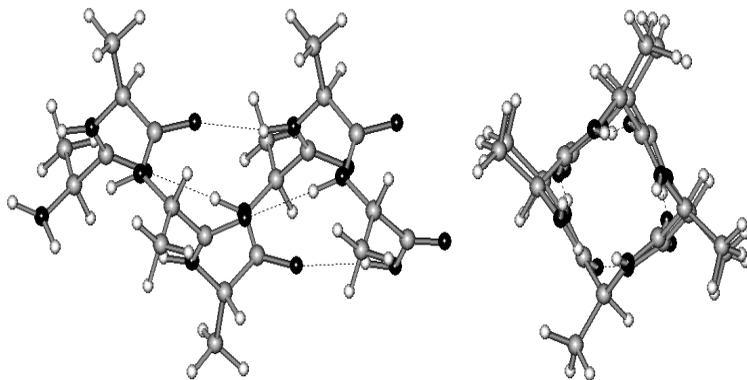


Рис. 3. Модельная α -спираль олигопептида, состоящего из 7 остатков L-аланина

Влияние молекул связанной воды на структуру цвиттер-иона.

Важнейшим фактором структурной организации биологических молекул, в том числе белков, выступает, как известно, связанная вода. Именно состав гидратной оболочки, концентрация связанной воды, во многом определяют и стабильность биомолекулы и ее пространственную перестройку [18–20]. Поэтому, в теоретическом анализе инициирующих факторов спирализации олигопептидов крайне необходима оценка роли водородных связей молекул воды в организации структуры одиночных аминокислот и, в первую очередь, их цвиттер-ионных форм. В работе, на примере цвиттер-ионных комплексов «глицин + 12H₂O» и «аланин + 12H₂O», в приближении «супермолекулы», рассмотрено влияние молекул воды первой гидратной оболочки на конформацию аминокислот. Причем в данном расчете молекулы воды учитывались явным образом, с учетом конкретного распределения их водородного связывания.

Проведенный оптимизационный конформационный расчет показал, что по отношению к изолированному цвиттер-иону его гидратированная форма претерпевает дополнительную подвижку основного торсионного угла H-C _{α} -C=O. Если в исходной форме этот угол близок к 10⁰, то при гидратации он увеличивается при-

мерно до 60⁰. Проведенное более полное сравнение геометрических параметров полученной гидратированной формы таких аминокислот с кристаллографическими экспериментальными данными из Protein Data Bank [21], для соответствующих аминокислот в структуре белков [22], выявило их довольно хорошее взаимное соответствие (рис. 4). Поэтому в целом, можно сказать, что наличие связанной воды действительно облегчает организацию аминокислотных остатков в структуре α -спирали.

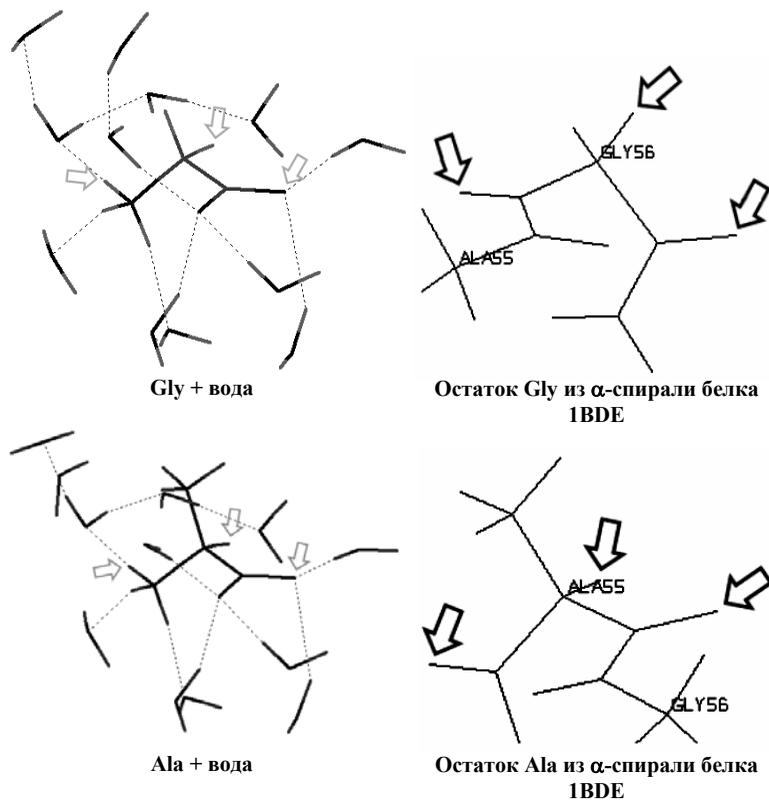


Рис. 4. РМЗ структура цвиттер-ионов в воде и структура аминокислотных остатков по данным PDB (стрелками обозначены атомы, важные для H-связывания витков спирали и атом водорода при C _{α})

Выводы.

1) Появление в структуре бокового радикала аминокислоты кислых или основных боковых групп (которые потенциально могут являться донорами или акцепторами электрона) приводит к резкому повышению (более чем на 25%) теплоты образования и, таким образом, резко меняет стабильность молекулы в целом.

2) Получены расчетные данные, которые подтверждают представления о значительном вкладе в общую энтропию молекул аминокислот энтропии боковых радикалов, имеющих высокую конформационную (торсионную) подвижность. В частности, для аргинина и лизина, имеющих в своей структуре довольно длинные алифатические цепи, значение абсолютной энтропии S^0 сравнительно велико и составляет, соответственно, 128.3 (кал/моль·К) и 113.0 (кал/моль·К). Для малых молекул аминокислот, таких как глицин и аланин, эта величина S^0 оказывается пониженной и лежит уже в области 80 (кал/моль·К).

3) Нейтральные аминокислоты характеризуются высокой лабильностью в газовой фазе (это следует из большого числа найденных устойчивых конформеров, а также из относительной малости величин энергетических барьеров для переходов между ними). Цвиттер-ионы (в вакууме) характеризуются как пониженной термодинамической стабильностью, так и меньшим числом структурных изомеров.

4) Из всего многообразия возможных изомерных форм каждой молекулы аминокислоты выделяются 2 конформера. Структура первого из них отвечает глобальному минимуму потенциальной энергии, но геометрически она обычно далека от параметров α -спирали. Второй конформер отличается по энергии примерно на 1–2 ккал/моль от первого, но уже удовлетворительно согласуется с геометрией остатка данной аминокислоты в α -спирали. Структура цвиттер-ионных форм аминокислот, рассчитанная с учетом ближайшего водного окружения, оказывается уже весьма близкой к структуре аминокислотных остатков, формирующих α -спираль.

5) Энергетическое преимущество образования α -спиральной формы изолированного олигопептида, над его «линейной» формой, требует накопления значительного числа мономерных звеньев в составе цепи. По нашим оценкам устойчивая одиночная α -спираль в газовой фазе существует при наличии в цепи не менее 40 аминокислотных звеньев.

Список литературы:

1. Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки: В 3-х т. Пер. с англ.— М.: Мир, 1994.
2. Финкельштейн А.В., Птицын О.Б. Физика белка. — М.: Книжный дом «Университет», 2002.
3. Pauling L., Corey R.B. The structure of proteins: Two hydrogen-bonded helical configurations of the polypeptide chain // Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1951. V.37. P.205–211.
4. Попов Е.М. Проблема белка. В 5-и т. Т.3. Структурная организация белка. — М.: Наука, 1997.
5. Brown, R.D., Godfrey, P.D., Kleybomer, B.K. The Conformation of Formamide // J. Molec. Spectroscopy. 1987 V.124. P.34–35.
6. Sellers H.L., Schafer L. Investigations Concerning the Apparent Contradiction between the Microwave Structure and the ab Initio Calculations of Glycine // J. Am. Chem. Soc. 1978. V.78. P.7728–7729.
7. Cox J. and Pilcher G. Thermochemistry of Organic and Organometallic Compounds. Academic Press, New York, NY, 1970.
8. Ngauv S., Sabbah R., Laffitte M. Thermodynamique de composés azotes. III. Etude thermochimique de la glycine et de la L- α -alanine // Thermochim. Acta. 1977. V.20. P.371–380.
9. Sabbah R., Laffitte M. Thermodynamique de composés azotes. IV. Etude thermochimique de la sarcosine et de la L-proline // Bull. Soc. Chim. Fr. 1978 V.1. P.50–52.
10. Sabbah R., Laffitte M. Enthalpy of formation of solid L-proline // J. Chem. Thermodyn. 1978. V.10. P.100–102.
11. Sabbah R., Minadakis C. Thermodynamique de substances soufrées. II. Etude thermochimique de la L-cysteine et de la L-methionine // Thermochim. Acta. 1981. V.43. P.269–277.
12. NIST <http://webbook.nist.gov>
13. Герцберг Г. Электронные спектры и строение многоатомных молекул. Пер. с англ.— М.: Мир, 1969.
14. Гурская Г.В. Структуры аминокислот. — М.: Наука, 1966.
15. Wright L.R., Borkman R.F. Ab Initio Self-Consistent Field Calculations on Some Small Amino Acids // J. Am. Chem. Soc. 1980. V.102. P.6207–6210.
16. Рахманинова А.Б., Миронов А.А. Изменение энтропии свободной полипептидной цепи при образовании водородных связей // Молекулярная биология. 2001. Т.35. №3. С.451–461.

17. Кантор Ч., Шиммель П. Биофизическая химия. В 3-х т. М.: Мир, 1982.
18. Papoian G.A., Ulander J., and Wolynes P.G. Role of Water Mediated Interactions in Protein-Protein Recognition Landscapes // J. Am. Chem. Soc. 2003. V.125. P.9170–9178.
19. Papoian G.A., Ulander J., Eastwood M.P., Luthey-Schulten Z., and Wolynes P.G. Water in protein structure prediction // Proc. Nat. Acad. Sci. US. 2004. V.101. P.3352–3357.
20. Levy Y. and Onuchic J.N. Water and proteins: A love-hate relationship // Proc. Nat. Acad. Sci. US. 2004. V.101. P.3325–3326.
21. Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.B. The Protein Data Bank // Nucleic Acids Research. 2000. V.28. №1. P.235–242.
22. Yao S., Azad A.A., Macreadie I.G., Norton R.S. (неопубликованные данные). 1999.

**SOME ASPECTS OF STRUCTURE AND CONFORMATION
LABILITY OF NATURAL L-AMINO ACIDS AND MODEL
OLIGOPEPTIDES**

**Kondratiev M. S., Samchenko A. A., Komarov V. M.,
Kabanov A. V.**

(Russia, Pushchino)

On the basis of semi-empirical quantum-chemical calculations the organization of the form of neutral amino acids and their zwitterions, and also of short peptides in gas phase and in water environment is discussed. A special attention is given to the role of the structural and thermodynamic factors in definition of the preferable isomeric forms of amino acids in spiral organization of single oligopeptide chains.