

Тема 2. Конформация полипептидов

Тема 2. Конформация полипептидов.....	1
Геометрия полипептидной цепи	1
Стерические контурные диаграммы Рамачандрана	2
Расчеты потенциальной энергии.....	3
Нековалентные взаимодействия.....	3
Дипольные взаимодействия.....	4
Собственный торсионный потенциал.....	6
Общая энергия как сумма отдельных составляющих.....	6
Углы вращения, определенные экспериментально (т. е. из данных рентгенографического анализа белковых кристаллов)	7
Вопросы для зачета.....	7

Геометрия полипептидной цепи

На рис. 1 показана структурная формула участка полипептидной цепи.

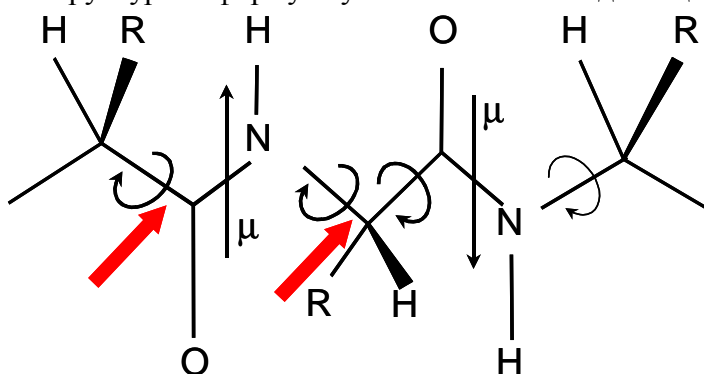
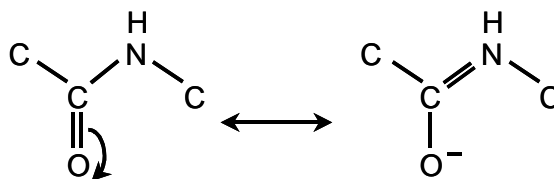


Рисунок 1. α -L-полипептидная цепь полностью-транс формы

Красные стрелки показывают связи, вокруг которых возможно вращение полипептидной цепи.

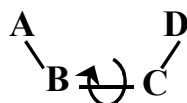
Важная особенность полипептидной структуры состоит в том, что амидная связь оказывается в плоской транс- конформации. Это обусловлено резонансом структур, который приводит к тому, что связь C–N приобретает частично характер двойной связи:



Это приводит к уменьшению расстояния между атомами примерно на 0,1 Å.

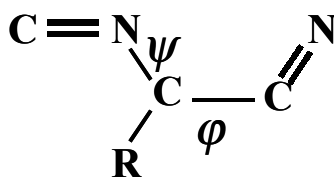
Таким образом, две связи из трех в каждом звене полипептидной цепи – одинарные (показаны красными стрелками на рис. 1). Вокруг этих связей возможно вращение участков пептидной цепи до и после каждой из таких связей.

Для количественных расчетов важно обозначить угол поворота вокруг связей. Обозначим, следуя рекомендациям IUPAC, четыре последовательных атома в цепи полимера как A, B, C, D. Угол внутреннего вращения или *торсионный угол* – это угол между плоскостями, в которых лежат атомы ABC и BCD.



В случае полипептида вращение возможно вокруг связи около азота (угол вращения обозначим как ψ) или между углеродами каждого пептидного звена(угол вращения

обозначим как φ), но невозможно в месте соединения звеньев. Это схематически показано ниже:



Тем, кто предпочитает более сложные рисунки, мы предоставим и такую возможность

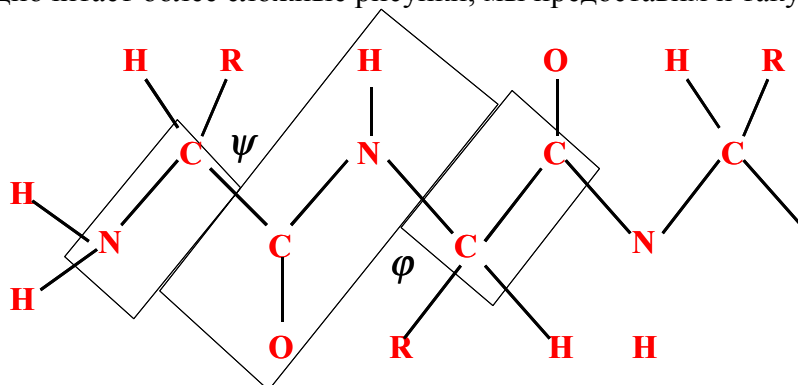


Рисунок 2. Плоскости, в которых лежат атомы полипептидной цепи.

Эти плоскости могут вращаться вокруг одинарных связей, соединяющих атомы. Угол при вращении вокруг NC-связи внутри пептидного звена обозначен как φ . Угол при вращении вокруг связи CC обозначают как ψ . Связь между пептидами – частично двойная и вращение вокруг нее не происходит.

Нетрудно понять, что углы φ и ψ могут принимать различные значения, и число возможных пространственных конфигураций для полипептидной цепи может быть бесконечно большим. Однако в реальных условиях ряд конфигураций не реализуется из-за пространственных затруднений (когда атомы мешают друг другу). Из других возможных конфигураций более вероятны те, при формировании которых происходит выигрыш энергии в результате внутримолекулярных взаимодействий. В последующих разделах пространственные ограничения и энергетика взаимодействия участков полипептидной цепи будут рассмотрены более подробно.

В таблице 1 в качестве примера даны углы φ и ψ для некоторых *регулярных* структур (т. е. таких, у которых каждый из углов постоянен во всех звеньях цепи).

Таблица 1. Примерные торсионные углы для некоторых регулярных полимеров

Структура	φ	ψ
Правая α -спираль поли-L-аланина	-57°	-47°
Левая α -спираль поли-L-аланина	$+57^\circ$	$+47^\circ$
β -структура с параллельными цепями	-119°	$+113^\circ$

По данным IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, *Biochemistry* 9:3471 (1970).

Стерические контурные диаграммы Рамачандрана

Очевидно, что атомы при изменении конформации полипептидной цепи не могут «наезжать» друг на друга. На научном языке это значит, что существует некоторое минимальное расстояние между центрами атомов, при котором их дальнейшее сближение невозможно. Эти расстояния, оцененные в основном по данным кристаллографии, приведены в таблице 1.

Таблица 2. Минимальное расстояние между атомами, входящими в состав полипептидной цепи

[По С. Ramakrishnan and G. N. Ramachandran, *Biophys. J.* 5:909 (1965); G. N. Ramachandran и сотр., *J. Mol. Biof.* 7:95 (1963)].

Пары атомов	Обычно (А)	Предельное значение (А)
C—C	3.2	3.0
C—O	2.8	2.7
C—N	2.9	2.8
C—H	2.4	2.2
O—O	2.8	2.7
O—N	2.7	2.6
O—H	2.4	2.2
N—N	2.7	2.6
N—H	2.4	2.2
H—H	2.0	1.9

Рамачандран первый рассчитал значения углов, при которых такое перекрытие не происходит. Для разных аминокислотных остатков зона допустимых значений различна. Максимальна она для молекул с небольшой величиной радикалов. Диаграмма для глицина дана на рис. 3.

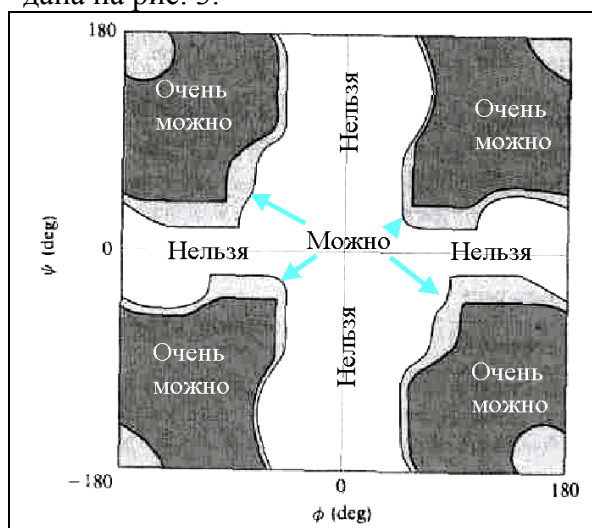


Рис 3.

Рисунок 3.

Стерическая контурная диаграмма для остатка глицина в полипептидной цепи. Темным заштрихована зона значений углов ϕ и ψ , при которых не происходит перекрытия атомов при обычных радиусах, взятых по совокупности данных. Светлым — зона значений допустимых углов ϕ и ψ при предельных (минимальных) радиусах атомов. (см. Табл. 2). По работе G. N. Ramachandran et al., *Biophys. J.* 6-849 (1966).

Расчеты потенциальной энергии

В пределах стерически дозволенных углов ϕ и ψ наиболее вероятна такая конфигурация пептидной цепи, при которой потенциальная энергия системы минимальна. Выигрыш потенциальной энергии происходит в результате целого ряда взаимодействий между атомами и атомными группами внутри полипептидной цепи. Основные из них мы и рассмотрим.

Нековалентные взаимодействия

При сближении двух атомов их электронные оболочки начинают взаимодействовать. Вначале это притяжение, связанное с дисперсионными, или *Лондоновскими* силами. Эти силы возникают в результате того, что плотность электронного облака вокруг атома как бы

пульсирует, создавая переменное электрическое поле «пульсирующего диполя». Появление диполя индуцирует перераспределение электронной плотности во второй из взаимодействующих групп атомов и создает «индуцированный диполь». Взаимодействие *диполь – индуцированный диполь* и составляет природу Лондоновских сил. Энергия такого взаимодействия очень быстро убывает с расстоянием: она обратно пропорциональна шестой степени расстояния между центрами атомов.

Если бы между атомами не действовали иные силы, помимо дисперсионных, то все атомы попадали бы друг на друга и прекратили свое существование. Этого не происходит потому, что на очень близком расстоянии между атомами начинают действовать силы отталкивания, связанные с электростатическим отталкиванием электронных облаков. Эти силы при сближении атомов возрастают очень быстро: пропорционально 9 – 12 степени расстояния.

Результирующая сила взаимодействия между атомами описывается полуэмпирическим уравнением:

$$E = a / r^m - c / r^6 \quad (2.1)$$

Где m составляет для разных пар атомов величину от 9 до 12. Характер зависимости энергии системы от расстояния между атомами (на примере взаимодействия двух молекул водорода) показан на рисунке 3.

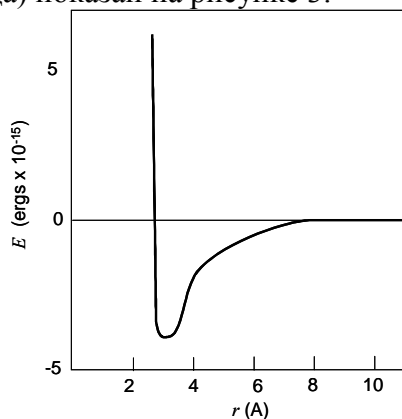


Рисунок 4

Рис. 4. Энергия несвязанного взаимодействия E между атомами или группами изображена как функция расстояния между их центрами. На примере пары водородных молекул. Nonbonded interaction energy E between atoms or groups plotted as a function of their separation. The example shown is for a pair of hydrogen molecules.

[After W. J. Moore, Physical Chemistry, 3d ed. (Englewood Cliffs, N.J.: Prentice-Hall, 1962), p. 715.]

Энергия системы минимальна при определенном расстоянии r_0 между центрами ближайших атомов водорода, принадлежащих разным молекулам. Оно складывается из радиусов взаимодействующих молекул. Эти радиусы для водорода, кислорода и метильной группы составляют, соответственно

$$E = a / r^m - c / r^6 \quad (2.1)$$

$$r_H^0 = 1,2 - 1,3; \quad r_O^0 = 1,5 - 1,6; \quad r_{CH_3}^0 = 1,95$$

Группа CH_3 обычно рассматривается как единое целое.

Дипольные взаимодействия

По своей природе – это взаимодействие электрических зарядов. Распределение электронов между атомами в молекулах не совсем равномерно, так что на одних атомах плотность электронного облака немного выше средней, а на других – ниже. В результате преобладания заряда электронного облака над зарядом ядра атом в целом имеет отрицательный парциальный заряд. Другие атомы, с меньшим сродством к электрону, имеют положительный парциальный заряд. В пептидной цепи парциальные заряды атомов имеют примерно такие значения:

Химическая связь	Атомы		Химическая связь	Атомы	
N – H	N	H	C – O	O	C
	-0,28e	+0,28		-0,39e	+0,39e

В итоге амидная группа HNCO имеет значительный дипольный момент μ с минусом у кислорода и плюсом у водорода. Это показано на рисунке 5.

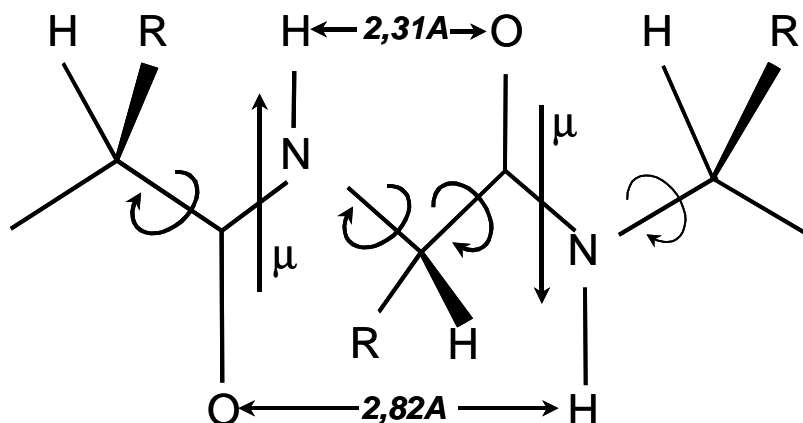


Рисунок 5. Дипольный момент амидных групп

В полностью вытянутой цепи дипольные моменты меняются направлениями по ходу цепи.

Электрический дипольный момент амидной группы составляет примерно 3,7 D. Это очень большая величина. Для сравнения приведем дипольные моменты таких заведомо полярных молекул как HCl 1,03 D; CH₃Cl 1,87 D HCN 2,93 D.

Как известно из физики, энергия взаимодействия двух диполей зависит не только от расстояния r между ними, но и от их взаимной ориентации. Аналитическим путем можно оценить силу взаимодействия между диполями амидных групп, зная среднее расстояние и задавая определенную ориентацию диполей путем изменения углов φ и ψ . Использование вычислительной техники позволяет осуществлять расчеты электрических взаимодействий «напрямую», путем суммирования кулоновской энергии взаимодействия всех близлежащих атомов.

$$E_d = \left(\sum_{ij} q_i q_j \right) / \epsilon r_{ij}, \quad (2.2)$$

Здесь q_i и q_j – парциальные заряды двух взаимодействующих атомов, r_{ij} – расстояние между ними, ϵ – электрическая постоянная.

Как ни странно, одна из трудностей при этом – правильный выбор диэлектрической константы ϵ . Хотя полипептид растворен в воде с диэлектрической константой 80, в непосредственной близости от взаимодействующими группами пептидной цепи воды может и не быть, и поэтому неправильно принимать за диэлектрическую константу макроскопическую величину для чистой воды. Обычно при расчетах используют величину ϵ между 2 и 5, и это дает неплохие конечные результаты. Это не относится к далеко расположенным группам, но их вклад в общее электростатическое взаимодействие невелик, и им можно пренебречь.

Собственный торсионный потенциал

Полноты ради следует сказать несколько слов о небольшом энергетическом вкладе так называемого *торсионного потенциала*. Его существование обусловлено тем, что вращение вокруг одинарной связи происходит все же не совсем свободно, иными словами само по себе изменение углов φ и ψ приводит к некоторому изменению энергии системы. Минимум энергии соответствует значениям углов φ и ψ приблизительно 60° , 180° и 300° ; энергетические барьеры между этими минимумами составляют, правда, всего около 1 ккал/моль. Тем не менее, эта энергия учитывается в современных компьютерных расчетах структуры полипептидов и белков.

Общая энергия как сумма отдельных составляющих

Общее изменение энергии участка пептидной цепи при изменении углов φ и ψ равно сумме трех энергий: несвязанных взаимодействий, диполь–дипольных взаимодействий и торсионного потенциала при каждом данном значении углов φ и ψ .

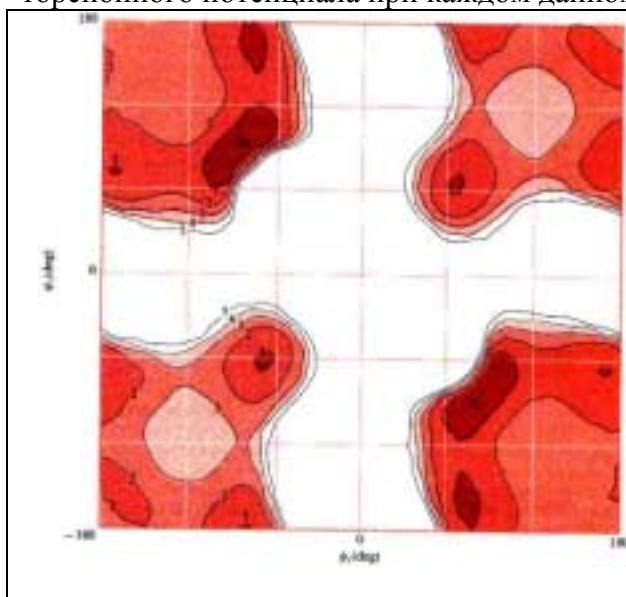


Рис. 6. Энергетическая контурная диаграмма для глицильного остатка в полипептидной цепи.

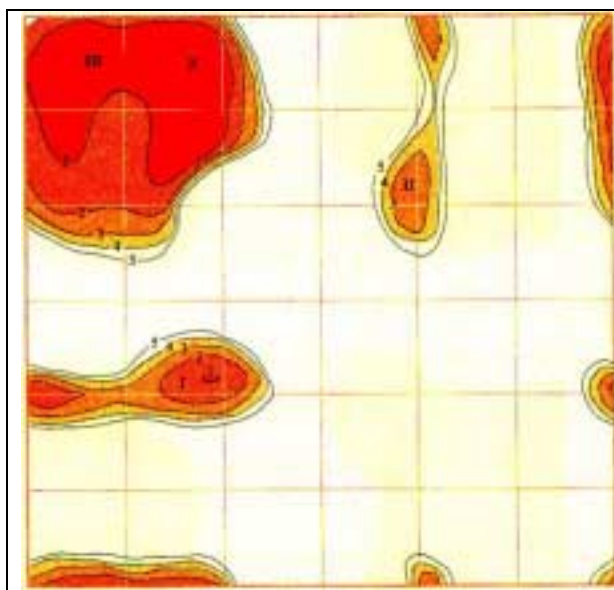
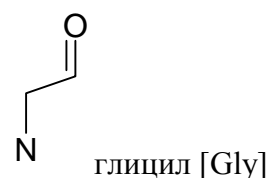
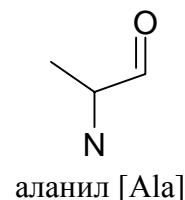


Рис. 7. Энергетическая контурная диаграмма для остатка L-аланила в полипептидной цепи, рассчитанная как сумма энергий межатомных внутри цепочечных взаимодействий остатка в полипептидной цепи.



Таким же образом были рассчитаны конформационные энергии всех аминокислотных остатков.

Углы вращения, определенные экспериментально (т. е. из данных рентгенографического анализа белковых кристаллов)

На рисунке 8 еще раз приведена энергетическая контурная диаграмма для остатка глицила в полипептидной цепи. На эту контурную диаграмму нанесены точками реальные углы ϕ и ψ в молекуле лизоцима, для которой были получена пространственная структура методом [рентгеновской кристаллографии](#).

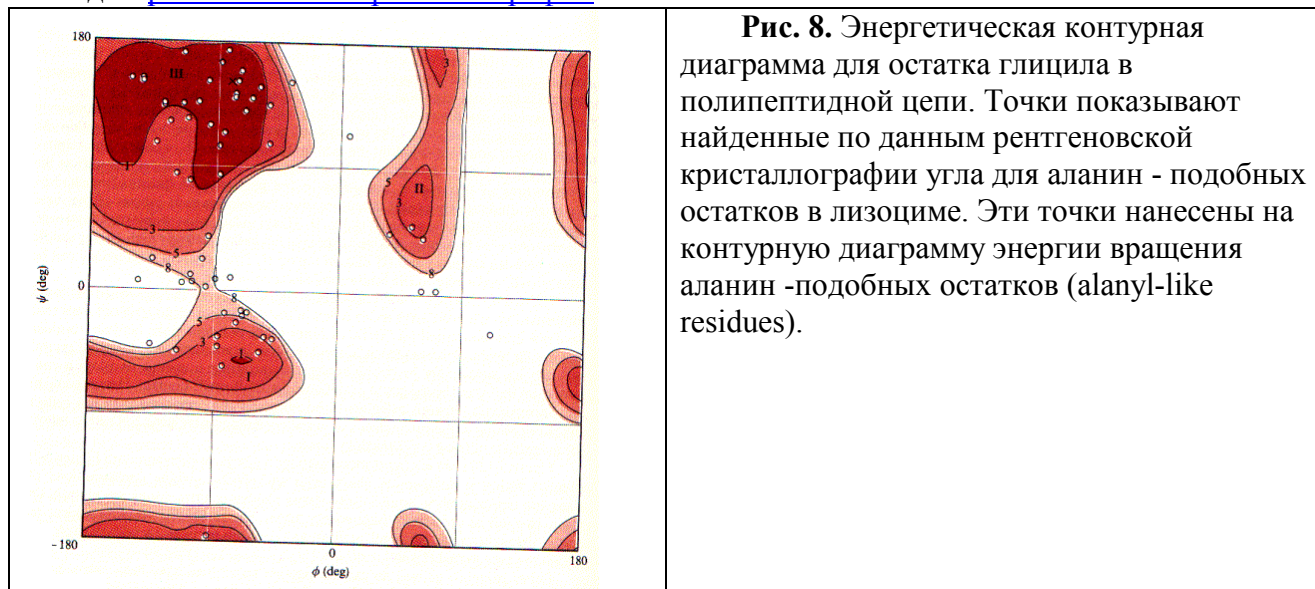


Рис. 8. Энергетическая контурная диаграмма для остатка глицила в полипептидной цепи. Точки показывают найденные по данным рентгеновской кристаллографии углы для аланин - подобных остатков в лизоциме. Эти точки нанесены на контурную диаграмму энергии вращения аланин -подобных остатков (alanyl-like residues).

Структура молекулы лизоцима приведена на следующем рисунке.

Ошибка! Ошибка связи.

Рисунок 6. Структура лизоцима. Темные (окрашенные) линии - гидрофобные аминокислоты

Вопросы для зачета

1. Вокруг каких связей в полипептидной цепи происходит вращение?
2. Что такое торсионные углы в пептидном звене. Как они обозначаются?
3. Расскажите о стерических контурных диаграммах Рамачандрана.
4. Нековалентные взаимодействия между атомами. Их природа и сила.
5. Дипольные взаимодействия. Что это такое и как их можно рассчитать?
6. Что такое собственный торсионный потенциал? Конформационная энергия пептидного остатка.
7. Энергетические контурные диаграммы. Сравнение контурных диаграмм с данными рентгеноструктурного анализа.