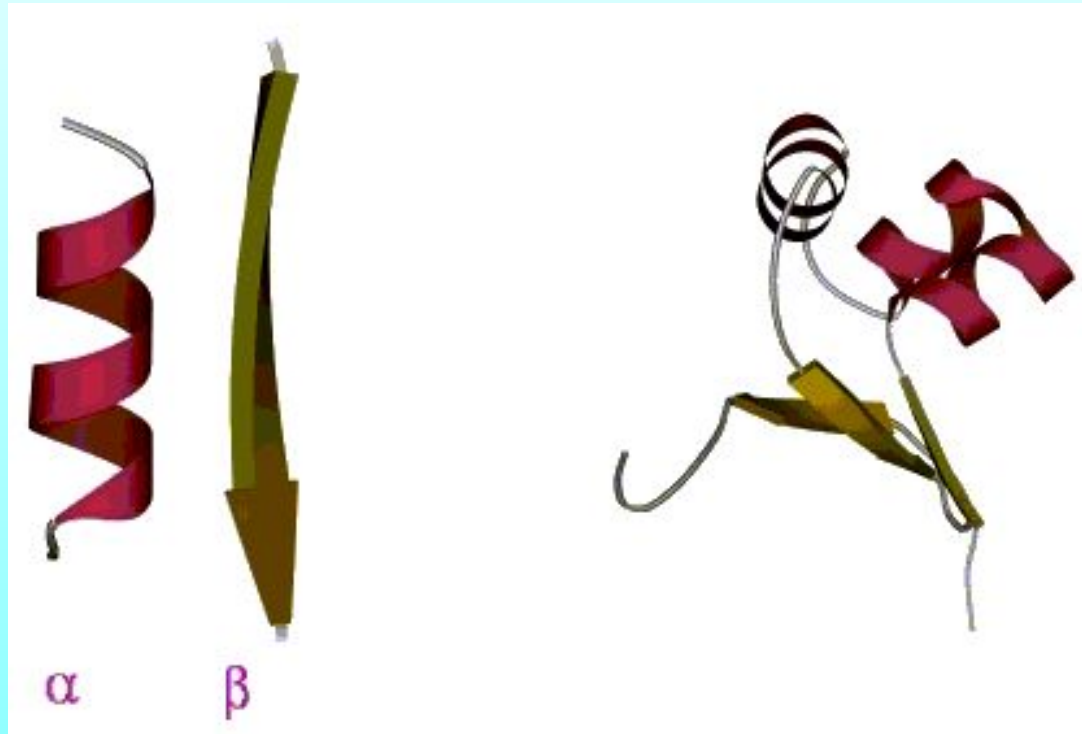
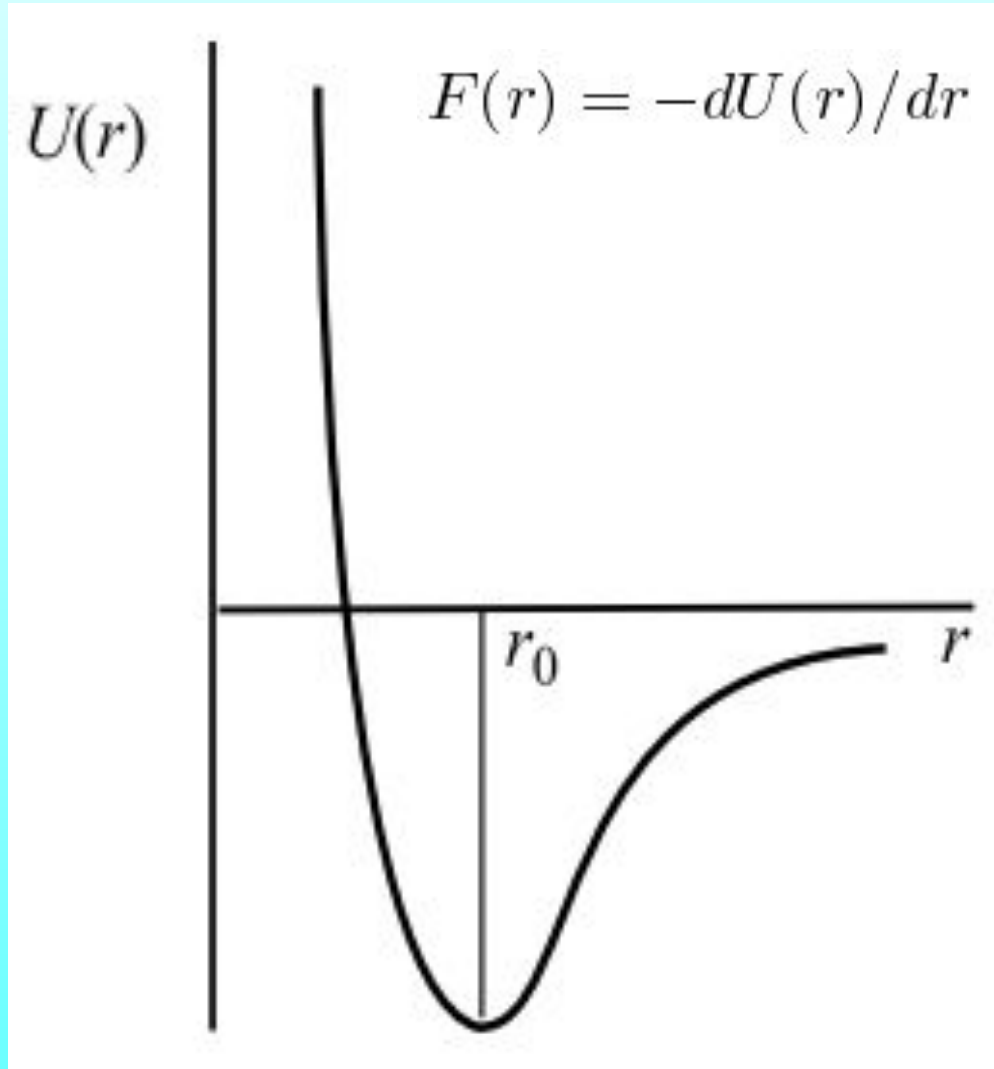


Раздел: Молекулярная биофизика



Тема: Взаимодействия в макромолекулах

Типичный вид зависимости энергии взаимодействия от расстояния



На малых расстояниях вследствие отталкивания молекул при взаимном проникновении их электронных оболочек преобладают силы отталкивания: $dU_{\text{отт}}(r)/dr < 0$, а на больших расстояниях превалирует притяжение: $dU_{\text{пр}}(r)/dr > 0$. Общий потенциал взаимодействия $U(r)$ представляет собой алгебраическую сумму: $U(r) = U_{\text{отт}}(r) - U_{\text{пр}}(r)$. Минимум на кривой $U(r)$ при $r = r_0$ соответствует равновесному положению, в котором силы притяжения уравновешиваются силами отталкивания.

Типы связей и взаимодействий в биологически важных молекулах

Связи (взаимодействия)	Примеры	Энергия взаимодействия, кДж/моль	Зависимость силы взаимодействия от расстояния (r)
1. Ковалентные	а) связи, определяющие первичную структуру б) —S—S—связи	146—680 210	Простой зависимости нет
2. Ионные	$\begin{array}{c} \text{COO—} \\ \text{COO—} \end{array} \curvearrowright \text{Ca}^{2+}$	40—400	$\frac{q_1 q_2}{4\pi \epsilon_0 \epsilon r^2}$
3. Ион-дипольные	$\text{Na}^+(\text{H}_2\text{O})_n$	4—40	$\frac{qD}{4\pi \epsilon_0 \epsilon r^2}$
4. Дисперсионные	Взаимодействие осциллирующих диполей	4—40	$\frac{3}{4} \frac{I\alpha^2}{r^6}$
5. Водородные	—C=O...H—N—	8—25	Простой зависимости нет
6. Гидрофобные взаимодействия	Формирование липидного бислоя и неполярных областей в белке	4—8,5	То же

Водородные связи образуются между группами, содержащими атом водорода (O—H, N—H, F—H, Cl—H), и атомами O, N, F, Cl за счет электростатических и ван-дер-ваальсовых взаимодействий. Водородная связь является направленной и образуется только в том случае, если все три атома, участвующие в ее образовании, лежат на одной прямой. Энергия водородных связей составляет от 4 до 30 кДж/моль. Как мы увидим в дальнейшем, водородные связи во многом определяют строение и свойства воды, играют важнейшую роль в формировании структуры белков и ДНК.



Конформационная энергия полипептида

Потенциал внутреннего вращения для молекулы этана

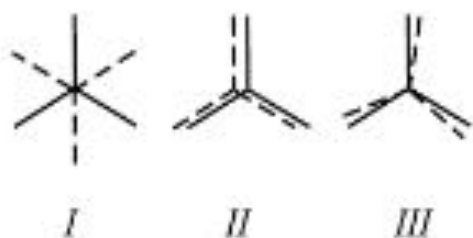


Рис. VIII.6
Расположение СН-связей этана в транс- (*I*), цис- (*II*) и промежуточной (*III*) конформациях (проекция на плоскость, перпендикулярную С-С-связям)

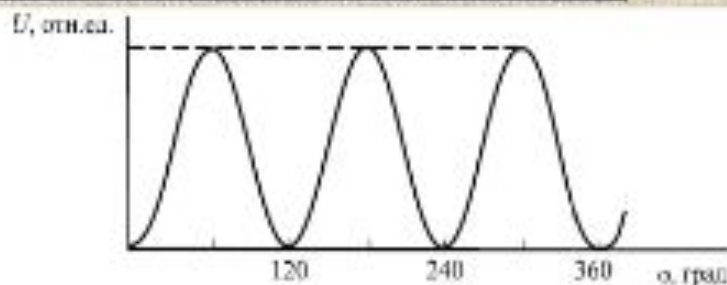


Рис. VIII.7
Зависимость потенциальной энергии внутреннего вращения в этане от угла поворота
Значения углов 0, 120° и т. д. соответствуют случаю *I* рис. VIII.6, значения углов 60°, 180° и т. д. — случаю *II* рис. VIII.6

Общая конформационная энергия полимера зависит от взаимных углов поворота звеньев вокруг единичных связей

$$U(\varphi) = \frac{U_0}{2}(1 - \cos 3\varphi)$$

Потенциал внутреннего вращения (U_0 - высота барьера)

Система, где энергия составляющих элементов зависит от их взаимодействия друг с другом, называется **кооперативной.**

Ионные связи образуются между заряженными атомами. Энергия ионной связи определяется по формуле:

$$W_{\text{ион}} = -\frac{q_1 q_2}{4\pi\epsilon_0 \epsilon r}, \quad (6.1.1)$$

где q_1 и q_2 — заряды взаимодействующих ионов; $\epsilon_0 = 8,85 \cdot 10^{-12}$ Ф/м — электрическая постоянная; ϵ — относительная диэлектрическая проницаемость среды; r — расстояние между ионами.

Многие боковые группы аминокислот, входящих в состав белков, заряжены. Между противоположно заряженными группами возникают ионные связи, или солевые мостики, например, между NH_3^+ -группой лизина и COO^- -группой глутаминовой кислоты. Ионные связи также образуются между положительно заряженными фосфатными группами нуклеиновых кислот и катионами.

Энергия ионной связи зависит от диэлектрической проницаемости среды. Так, в воде ($\epsilon = 80$) связь будет менее крепкой, чем внутри белковой глобулы ($\epsilon = 2 \div 5$). Энергия ионной связи составляет от 40 до 400 кДж/моль.

Ион-дипольные взаимодействия возникают между ионами и молекулами или атомными группами, обладающими дипольным моментом, например, между ионами Na^+ и молекулами воды. Энергия ион-дипольных взаимодействий составляет от 4 до 40 кДж/моль.

Атомы, находящиеся на небольшом расстоянии друг от друга, взаимодействуют за счет **ван-дер-ваальсовых связей**, которые включают ориентационные, индукционные и дисперсионные взаимодействия.

Вторичная структура белка – силы Ван-дар-Ваальса

Ориентационные взаимодействия
(полярные группы, постоянные диполи)



+

Индукционные взаимодействия
(полярная группа с неполярной, постоянный диполь с наведенным)



+

Дисперсионные взаимодействия
(неполярные группы, мгновенные диполи)



$$\Delta x \cdot \Delta p \cong h$$

Глубина энергетического минимума – 1-3 ккал/моль, $r_0 \approx 2-4 \text{ \AA}$

$$U_{\text{ориент}}(r) \sim \frac{1}{r^6}$$

$$U_{\text{отп}}(r) \sim \frac{1}{r^{12}}$$

$$U_{i,k}(r) = \frac{A}{r_{i,k}^6} + \frac{B}{r_{i,k}^{12}}$$

Ориентационные (диполь-дипольные) связи возникают между молекулами, обладающими дипольным моментом (см. § 9.1). Энергия диполь-дипольного взаимодействия равна:

$$W_{\text{дд}} = -\frac{p_1^2 p_2^2}{6\pi\epsilon_0\epsilon k T r^6}, \quad (6.1.2)$$

где p_1 и p_2 — дипольные моменты взаимодействующих молекул; k — постоянная Больцмана; T — температура.

Молекула, имеющая постоянный дипольный момент, способна индуцировать его в соседней молекуле. Энергия *индукционного взаимодействия* равна:

$$W_{\text{инд}} = -\frac{\alpha p^2}{2\pi\epsilon_0\epsilon r^6}, \quad (6.1.3)$$

где α – поляризуемость молекулы или атомной группы [см. (9.3.4)].

Энергия ориентационных и индукционных связей составляет 0,4—4 кДж/моль. Формулы (6.1.2) и (6.1.3) справедливы только для точечных диполей.

Дисперсионные взаимодействия возникают между нейтральными или неполярными группами и имеют квантово-механическую природу. Их энергия определяется следующим образом:

$$W = -\frac{2I_1I_2}{3(I_1 + I_2)} \cdot \frac{\alpha_1\alpha_2}{r^6}, \quad (6.1.4)$$

где I_1 и I_2 — потенциалы ионизации групп (см. § 15.1); α_1 и α_2 — поляризуемости групп. Энергия дисперсионных связей равна 4—40 кДж/моль.

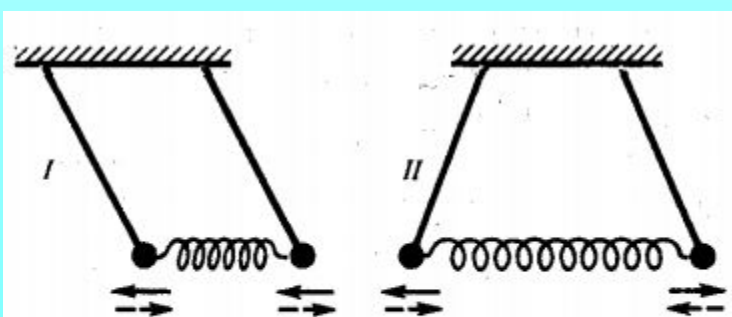
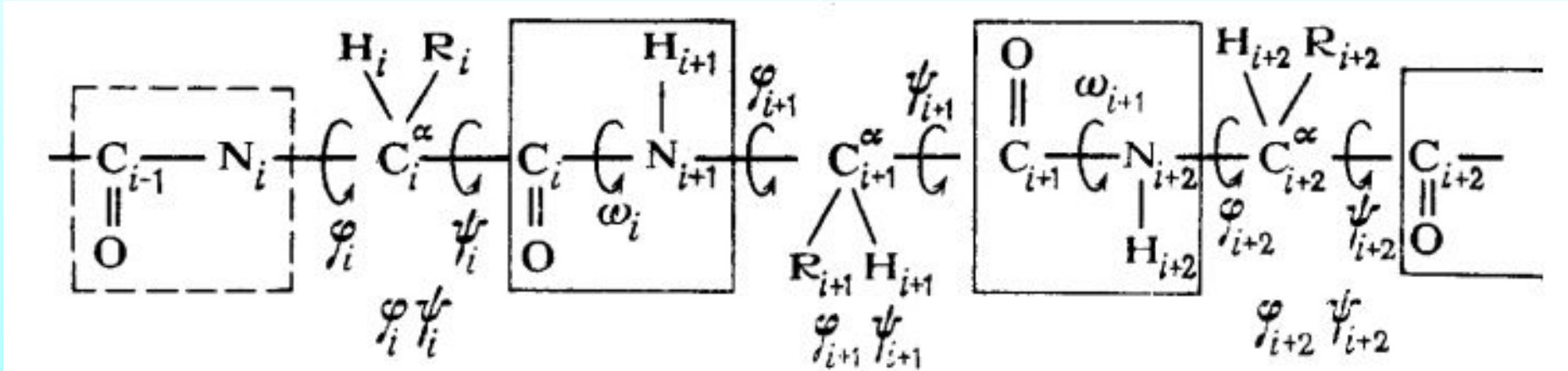


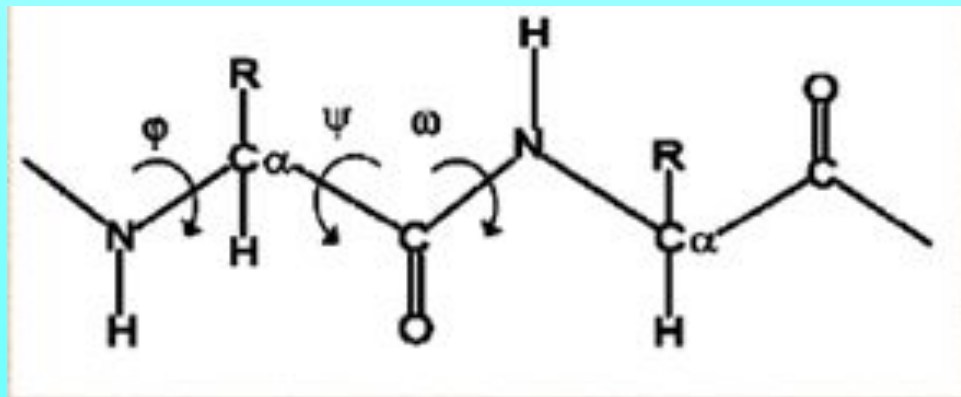
Рис. VIII.3.
Симметричные (I) и несимметричные (II) колебания связанных маятников (по Э. В. Шпольскому, 1974)

Гидрофобные взаимодействия способствуют отталкиванию друг от друга неполярных незаряженных групп и молекул воды. Эти силы определяют формирование структуры биологических мембран и глобулярных белков. Подробнее о гидрофобных взаимодействиях будет рассказано ниже.

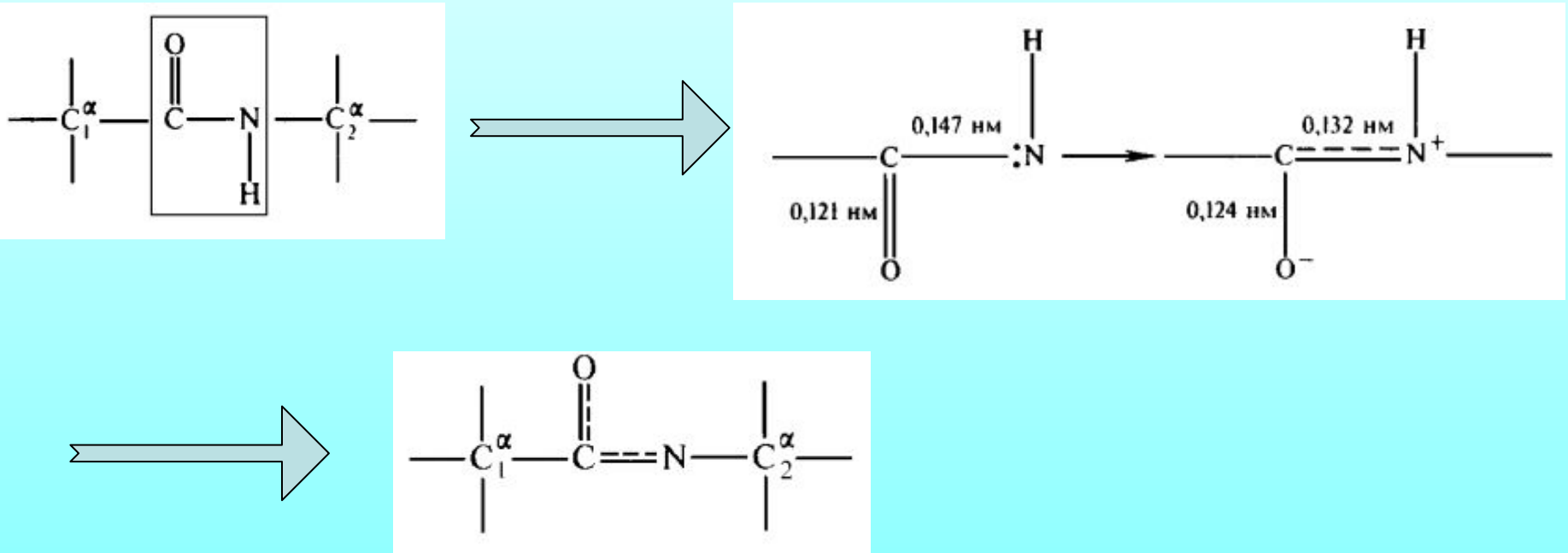
Конформационная энергия полипептида



*Общее строение полипептидной цепи,
характеризуется тремя углами:*

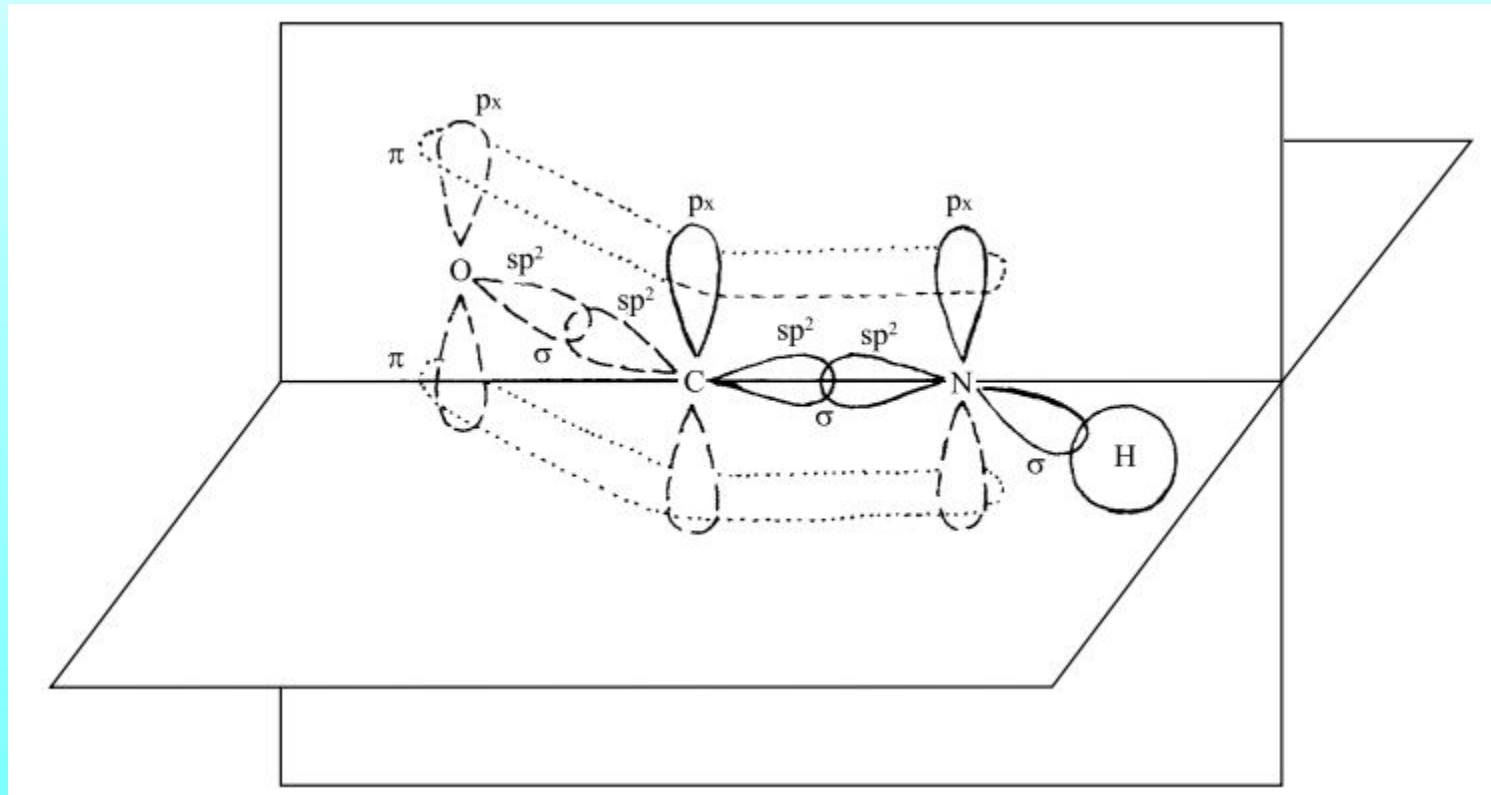


Пептидная связь – ω - угол

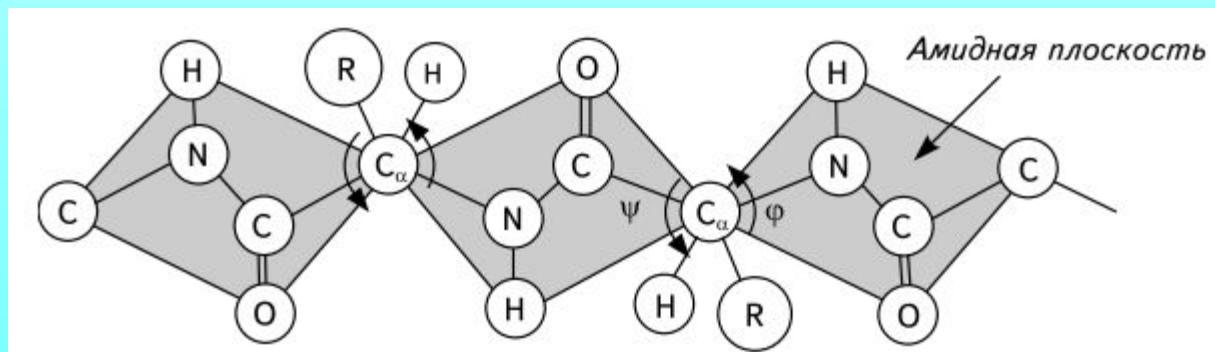
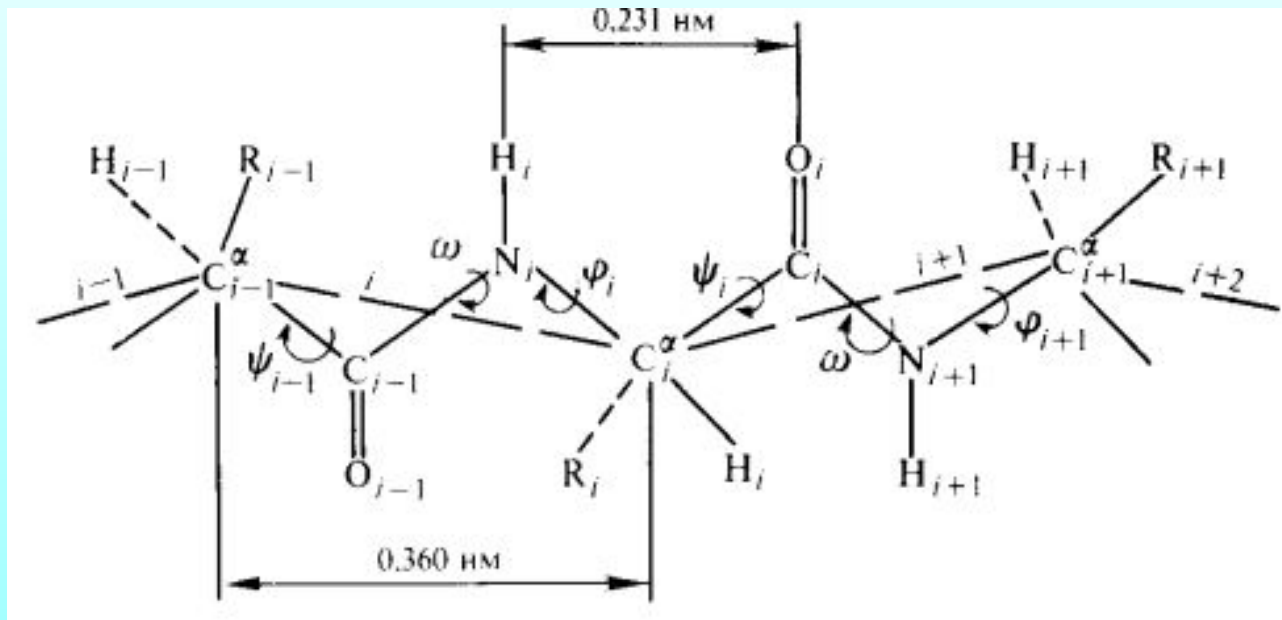


Однако, двойной характер пептидной связи препятствует вращению вокруг нее: $\omega = \text{const} = 180^\circ$. В полипептидной цепи имеет место только попарное кооперативное взаимодействие при вращении вокруг единичных связей при одном α -атоме аминокислот.

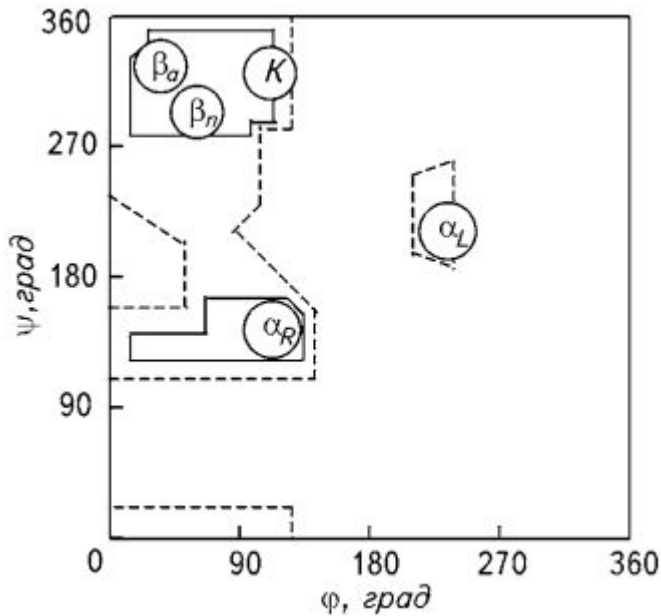
Электронная конфигурация полипептидной цепи



Пространственная конфигурация полипептидной цепи



Таким образом, пространственная конфигурация полипептидной цепи будет зависеть от кооперативного взаимодействия ϕ и ψ углов у альфа атома углерода.



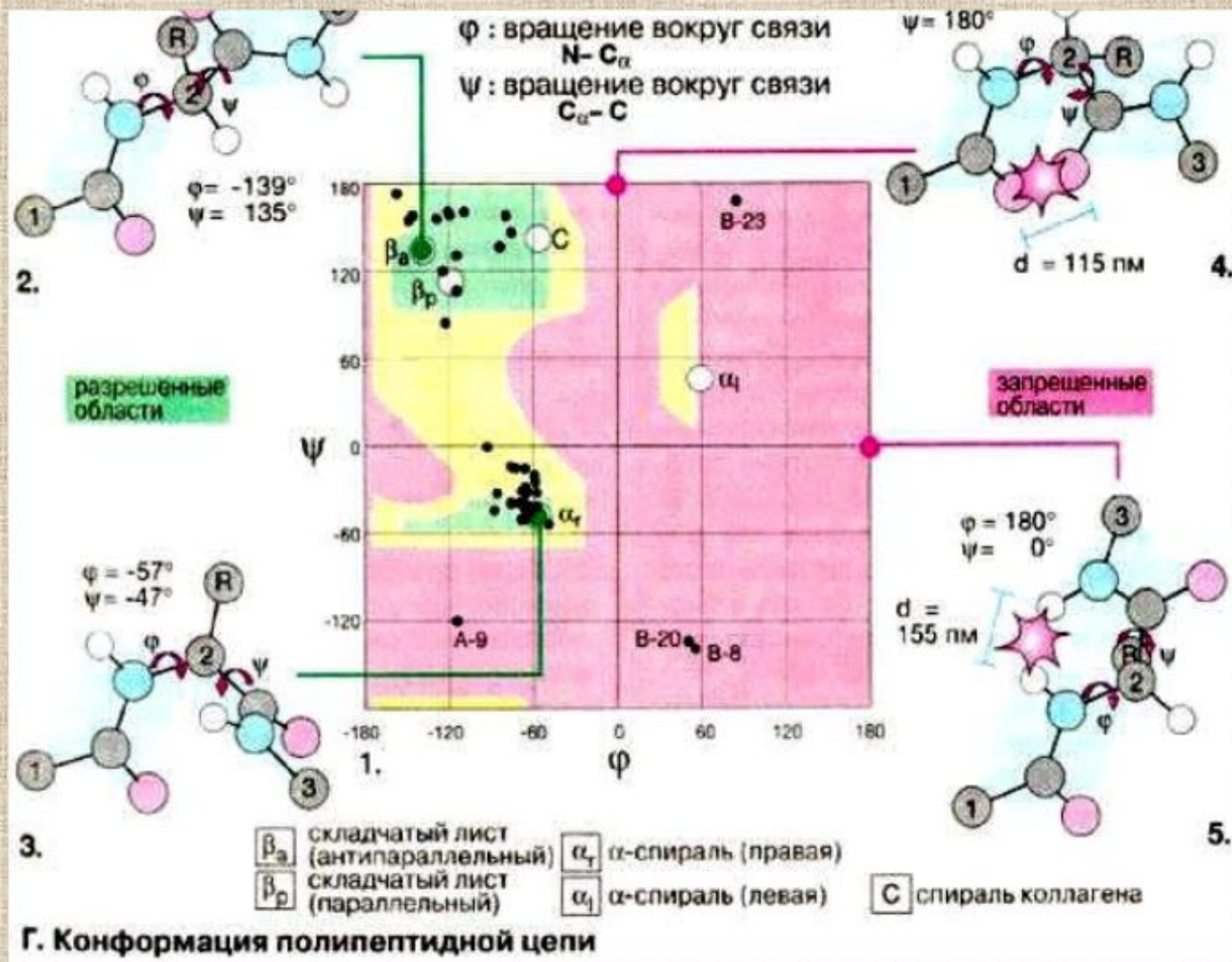
Стерическая карта Рамачандрана для поли-L-аланина.

Сплошные линии обозначают границы полностью разрешенных областей; пунктирные - частично разрешенных. На карте указаны области значений углов ψ и ϕ для параллельной ($\beta_{п.}$) и антипараллельной (β_a) β -форм, спирали белка коллагена (К), правой (α_R) и левой (α_L) α -спиралей.

Не все значения углов ψ и ϕ допустимы вследствие возможного стерического несоответствия двух соседних аминокислотных остатков. Индийский ученый Г. Рамачандран рассчитал допустимые значения углов ψ и ϕ (углы отсчитываются от плоской транс-конформации полипептидной цепи) и построил стерические карты, на которых по оси абсцисс откладываются значения углов ϕ от 0 до 360° , а по оси ординат - значения углов ψ . На карте отмечаются полностью разрешенные (при обычных межатомных расстояниях) и частично разрешенные (при минимальных межатомных расстояниях) области значений этих углов.

Конформационная энергия полипептида

Изображенные в координатах (ϕ , ψ) "разрешенные" и "запрещенные" конформации остатка называются **картами Рамачандрана**.



Конформационная энергия полипептида

Общее выражение для конформационной энергии

$$U(\varphi, \psi) = \sum_{i,k} U_{i,k}(\varphi, \psi) + \frac{U_{\varphi}^0}{2} (1 - \cos 3\varphi) + \frac{U_{\psi}^0}{2} (1 - \cos 3\psi) + U_{\text{эл.стат}}$$

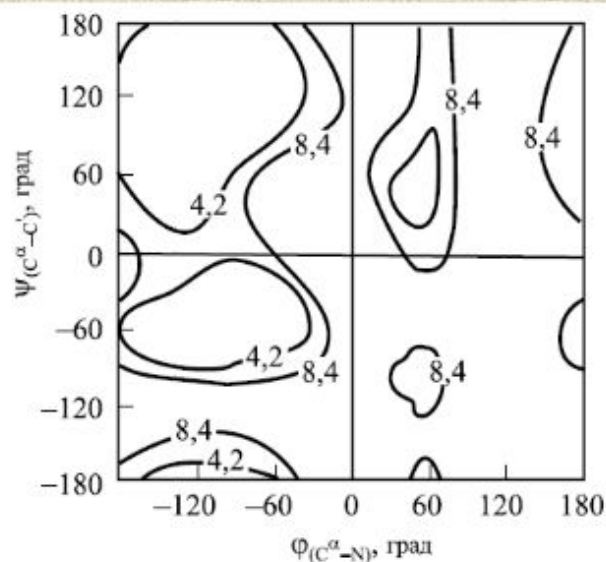


Рис. IX.9

Диаграмма потенциальной поверхности молекулы метиламида-N-ацетил-L-аланина (цифрами указана энергия конформации, кДж/моль) (по Е. М. Попову, 1981)

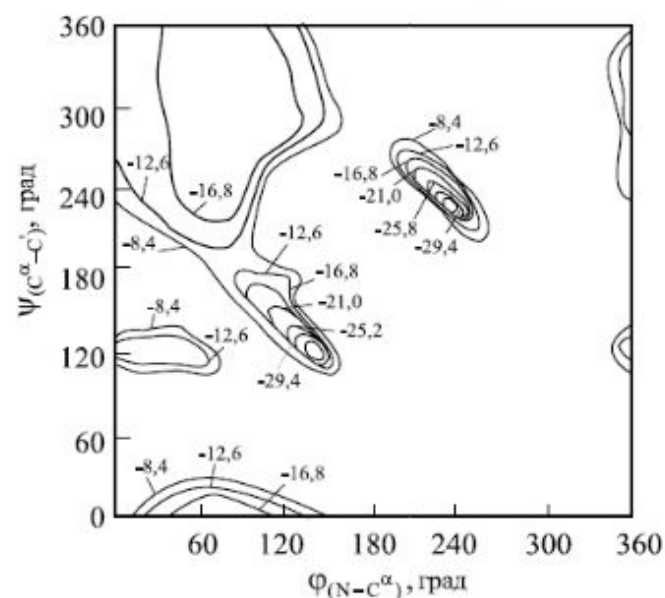
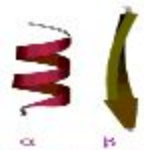


Рис. IX.10

Карта конформационной энергии поли-L-аланина (энергии конформации указаны так же, как на рис. IX.9) (по А. G. Walton, J. Blackwell, 1973)



Предсказание пространственной организации белков

? В какой степени уникальность конформации белка определяется первичной аминокислотной последовательностью ?

1) Насколько детерминирован процесс укладки цепи в нативную форму?

2) Возможна ли укладка случайной последовательности остатков в структуру, подобную нативной структуре белка?

3) Каким образом возникли и были закреплены в ходе эволюции существующие природные первичные последовательности аминокислотных остатков?

Методы предсказания вторичной и третичной структуры белка на основе аминокислотной последовательности

Эмпирический

Физическое
моделирование



Предсказание пространственной организации белков

Эмпирические правила, отражающие связь первичной структуры со вторичной и третичной

Полярные группы – на поверхности
Неполярные – внутри глобулы

На поверхности α -спиралей и β -структур – также гидрофобные области

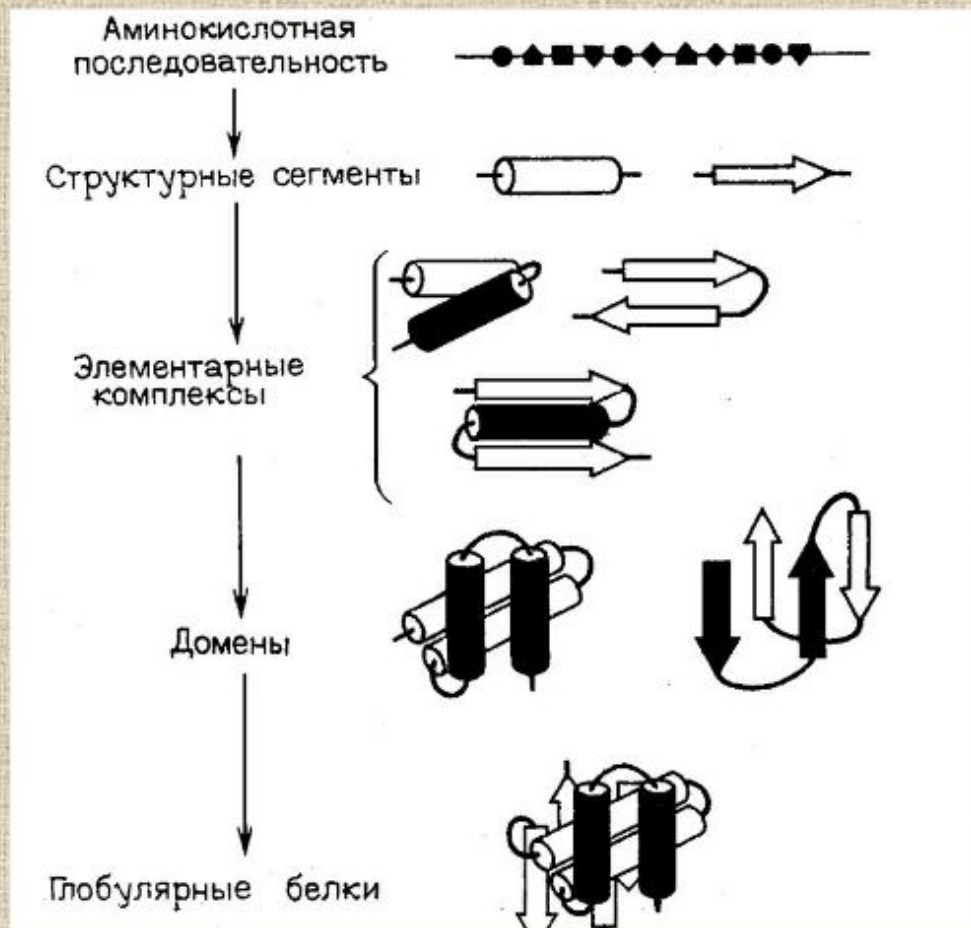
Внутримолекулярные водородные связи между пептидами максимально насыщены.

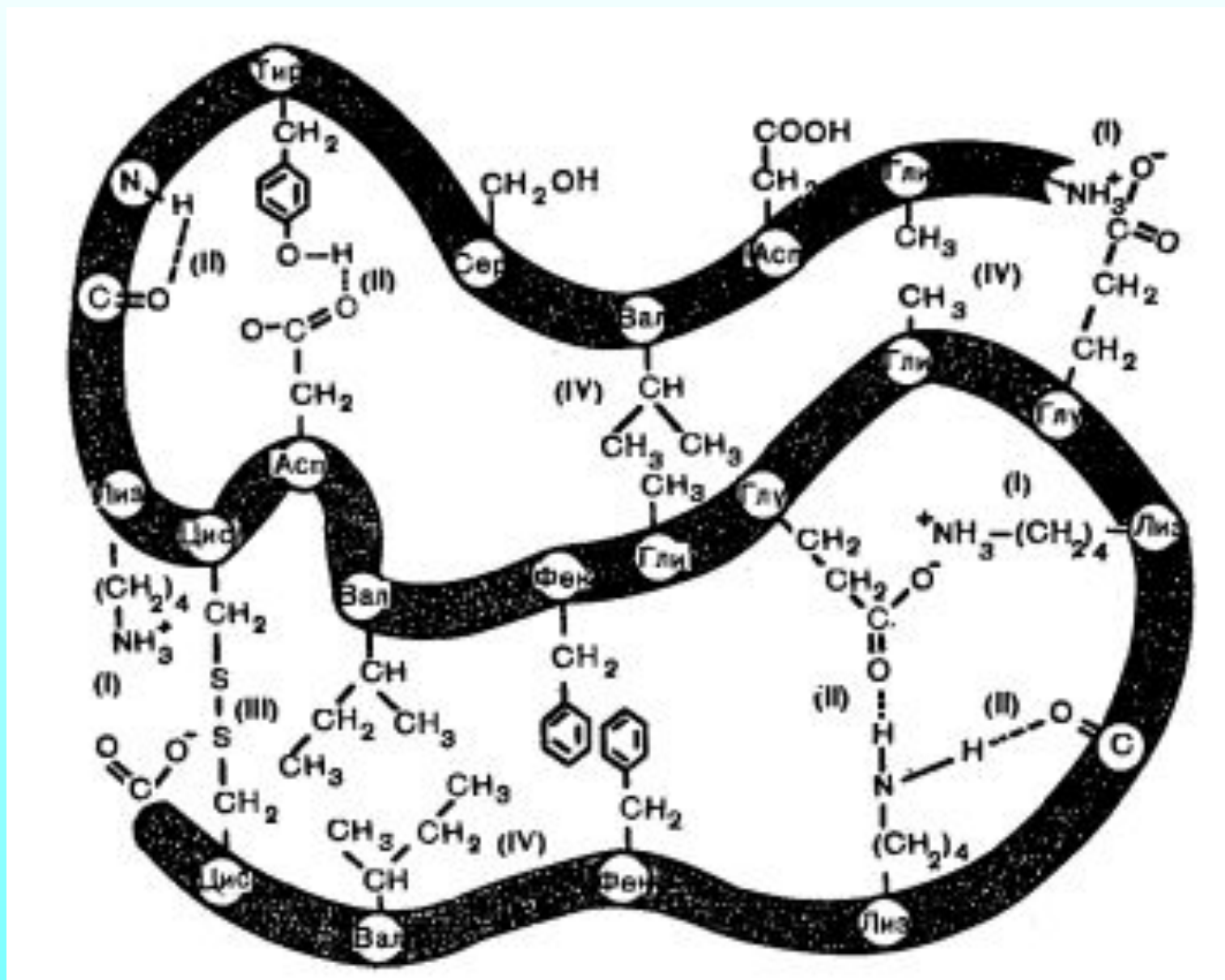
Статистические данные о частоте появления а.о. в α - и β -структурах.



Предсказание пространственной организации белков

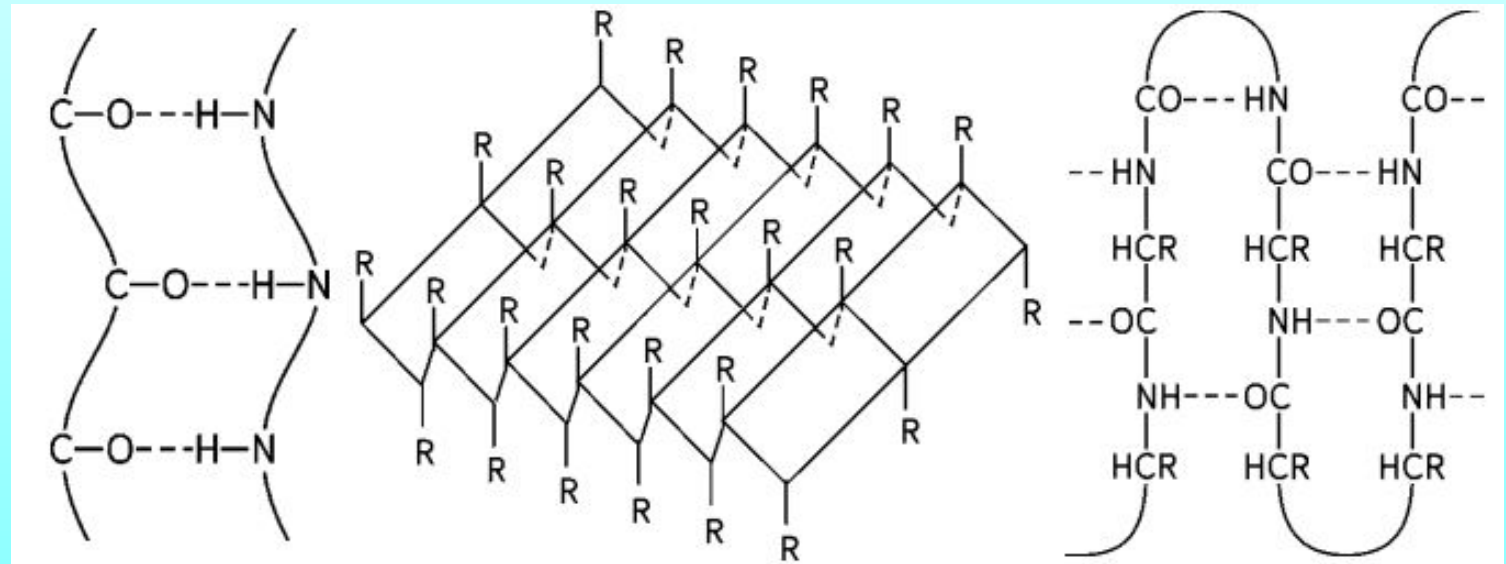
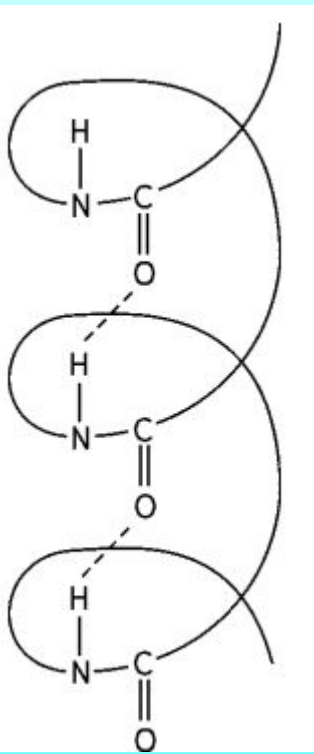
Иерархия \approx последовательность стадий сворачивания белка





Связи и взаимодействия, стабилизирующие пространственную структуру белков: I — ионная; II — водородная; III — дисульфидная; IV — область гидрофобных взаимодействий между неполярными группами.

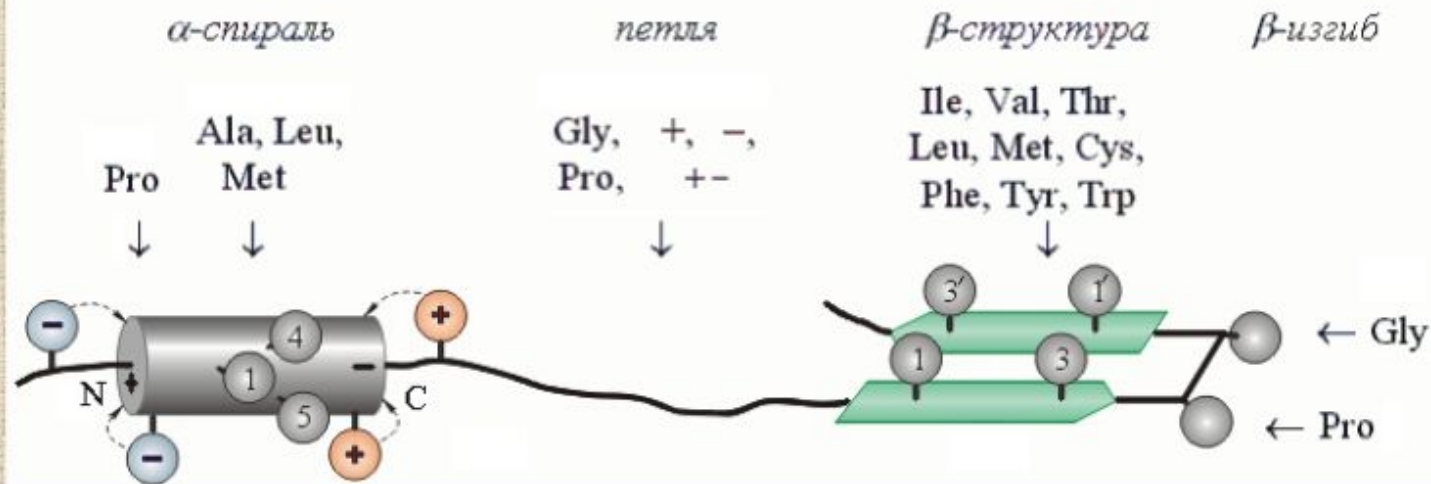
Вторичная структура полипептида



β – формы

A-спираль

Предсказание пространственной организации белков



Шаблоны α -спирали, петли, β -структуры и β -изгиба — те остатки, которые стабилизируют их или их отдельные части.

"+" означает все положительно заряженные аминокислоты,

"-" — все отрицательно заряженные,

"+ -" — все аминокислоты с диполем в боковой цепи.

Показан также стабилизирующий α - и β -структуру порядок чередования гидрофобных групп в цепи (см. нумерованные группы). Такого типа чередование приводит также к образованию гидрофобных и полярных поверхностей α а-спиралей и β -тяжей.



Предсказание пространственной организации белков

Метод физического моделирования

Позапанная оценка взаимодействия валентно несвязанных атомов между собой и с растворителем

На первом этапе расчета – оценивают набор низкоэнергетических состояний свободных остатков.

Расчет низкоэнергетических состояний ди- и три-пептидов.

Конформационный анализ более сложных олигопептидов методом последовательного увеличения цепи на один остаток.

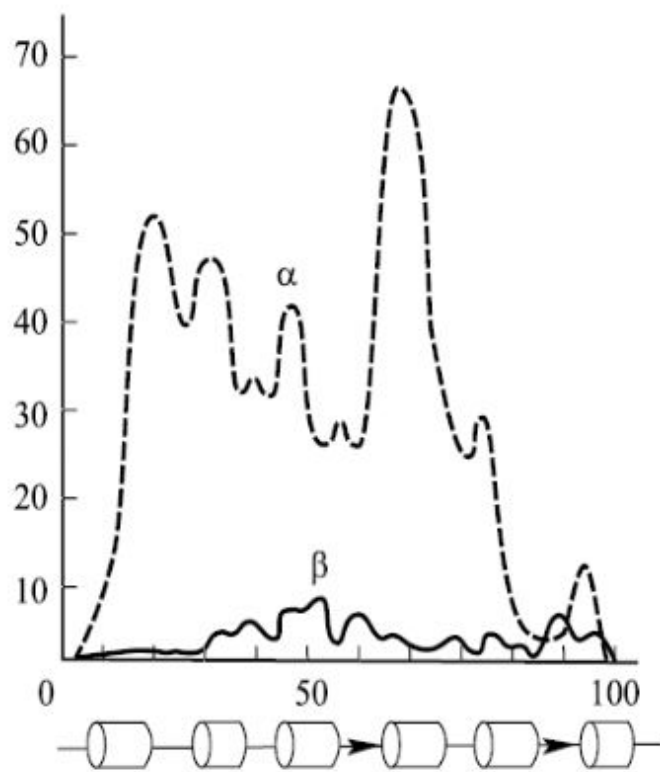


Рис. IX.15

Вторичная структура развернутой цепи кальций-связывающего белка мышц карпа на 1-й стадии самоорганизации (по О. Б. Птицыну, А. В. Финкельштейну, 1979)

Ось абсцисс — номера остатков в белковой цепи, оси ординат — вероятность α-спирального (пунктир) и β-структурного (сплошная линия) состояния для каждого остатка цепи. Внизу показана экспериментальная локализация α-спиралей (цилиндры) и β-участков (стрелки)



Состояние воды в биополимерах

Гидрофобные взаимодействия, определяющие общую топологию белковой молекулы, имеют чисто термодинамическую природу.

$$\Delta F = \Delta U - T\Delta S, \text{ где } \Delta S > 0.$$

Неполярные углеводороды, встраиваясь, повышают энтропию воды → выгодно.

$$\Delta U > |T\Delta S|.$$

Но замена водородных связей на ван-дер-ваальсовы → невыгодно.

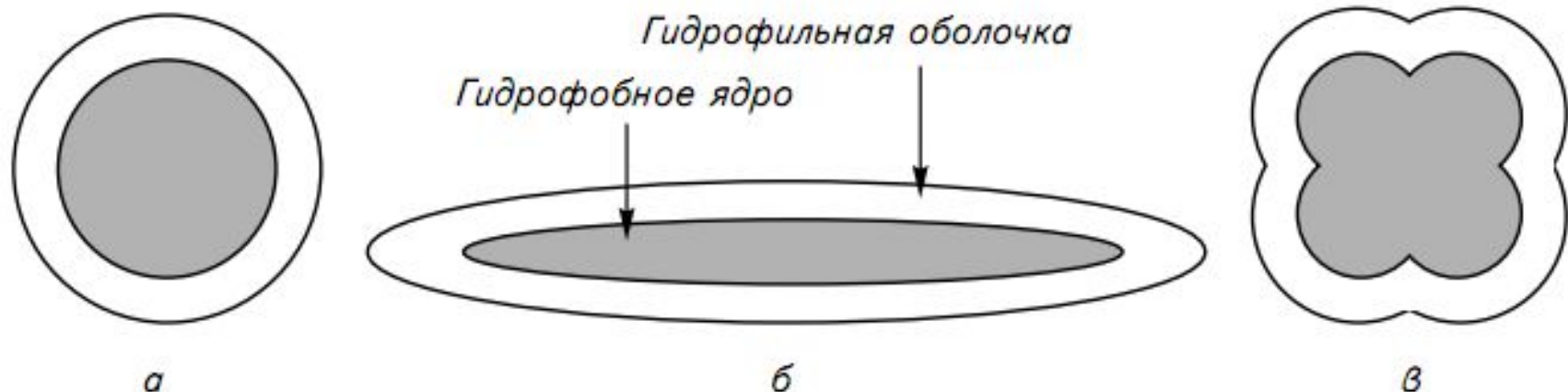
В целом ΔF повышается

Особенности взаимодействия макромолекул с водой:

А) Гидрофобные взаимодействия в целом стабилизируют макромолекулы.

Б) Молекулы воды распределены в глобуле неоднородно:

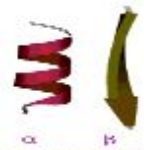
- Снаружи имеются локальные полярные центры гидратации, где молекулы сильнее связаны по сравнению с тонкой гидратной оболочкой на поверхности глобулы
- Около поверхности белка удерживается до 2-3 слоев воды
- Имеется фракция прочно связанной воды, которая фиксируется на малоподвижных элементах белковой структуры.



Различные формы белковой глобулы:

a — сфера ($b = b_s$); *б* — эллипсоид ($b > b_s$); *в* — надмолекулярные структуры ($b < b_s$)

Форма глобулы определяется соотношением числа полярных и неполярных аминокислотных остатков. Если в белке $b = b_s$ (где b — отношение числа полярных остатков к неполярным; b_s — отношение объема гидрофильной фазы к объему гидрофобного ядра), то глобула будет стремиться образовать сферу. При $b > b_s$, то есть полярных остатков больше, чем необходимо, чтобы покрыть сферическое гидрофобное ядро, глобула примет вытянутую форму. При $b < b_s$ полярных остатков не хватает и части гидрофобного ядра приходится контактировать с водой. Во избежание этого несколько таких молекул образуют комплекс друг с другом. На рис. 6.4.9 приведены возможные формы белковых глобул в зависимости от параметра b .



Теоретические методы изучения структуры ДНК

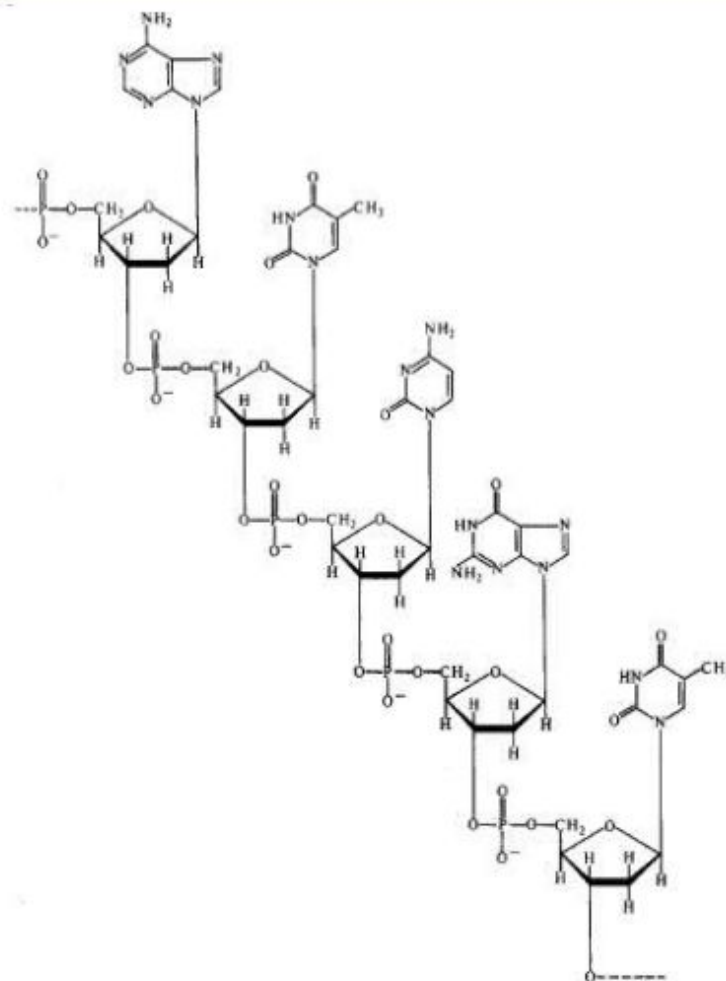
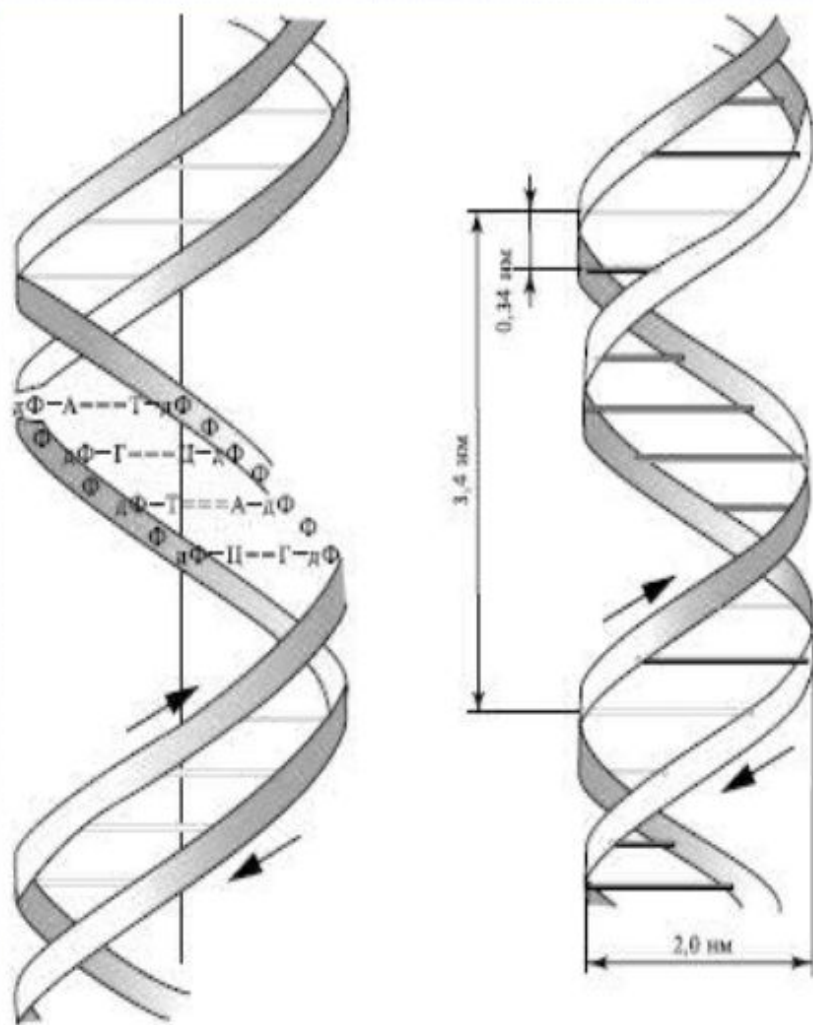
Методы построения упрощенных физических моделей, основанные на экспериментальных данных и отражающие совокупность свойств целостной молекулы ДНК

- Модель гибкого стержня
- Модель спираль-клубок

Методы конформационного анализа и квантовой химии

Учитывают, что двойная спираль ДНК, обладая общей жесткостью по длине спирали, представляет собой вместе с тем своего рода шарнирное устройство (степени свободы вокруг единичных химических связей).

Пространственная организация нуклеиновых кислот

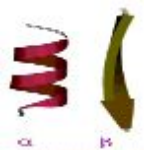


A

B

B

Рис. IX.16
Строение ДНК. А, Б — двойная спираль, В — участок цепи ДНК



❖ Описание цепи ДНК – 6 углов

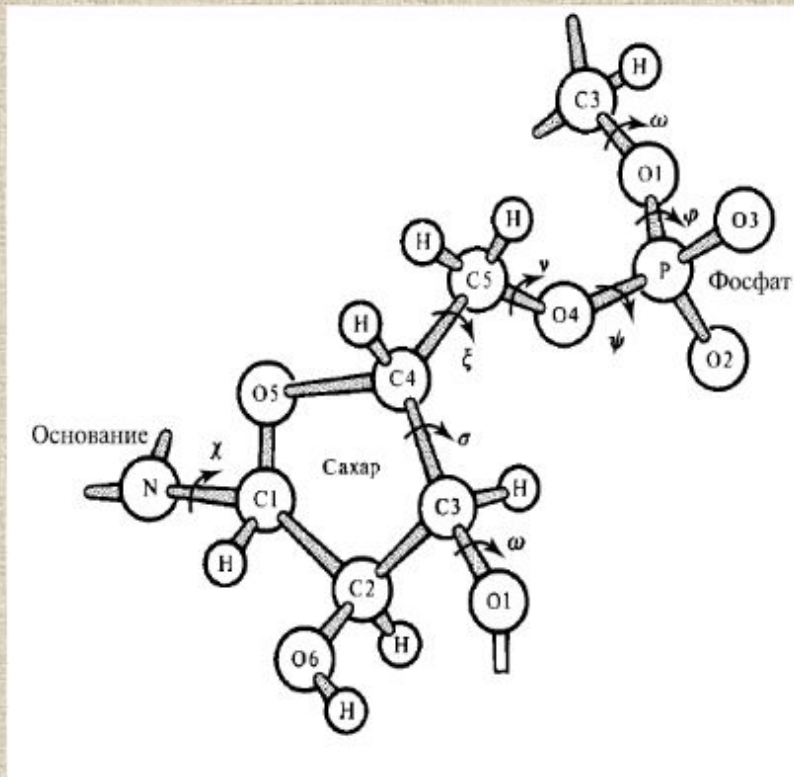


Рис. IX.18

Обозначения атомов и двугранных углов повторяющейся единицы сахарофосфатной цепи

Конформация мономера нуклеиновой кислоты задается конформацией сахарного кольца, пятью углами вращения вокруг единичных связей в сахарофосфатной цепи $\xi, \nu, \phi, \omega, \theta$. одним углом χ (N-C1, гликозидная связь), определяющим ориентацию основания относительно сахарного кольца

Число степеней свободы для цепи ДНК на порядок больше, чем для полипептида

❖ Описание цепи ДНК – 6 углов и 5 параметров

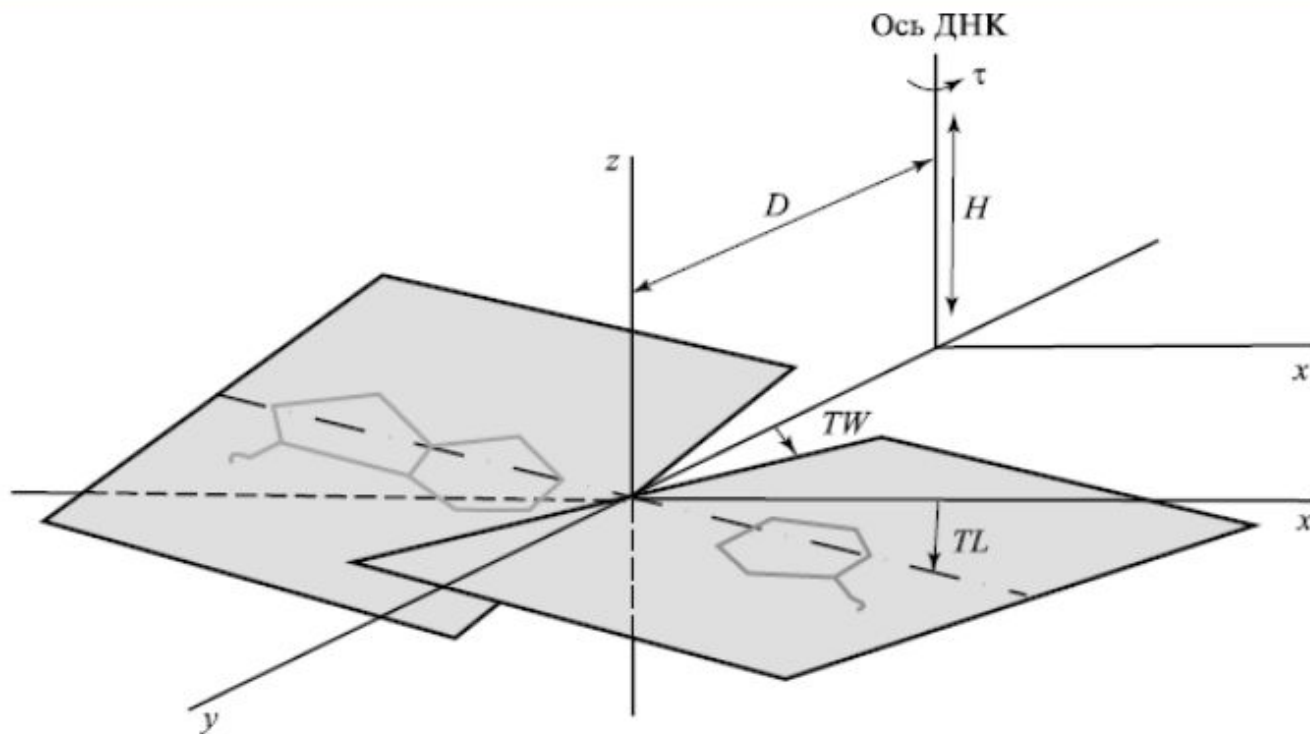


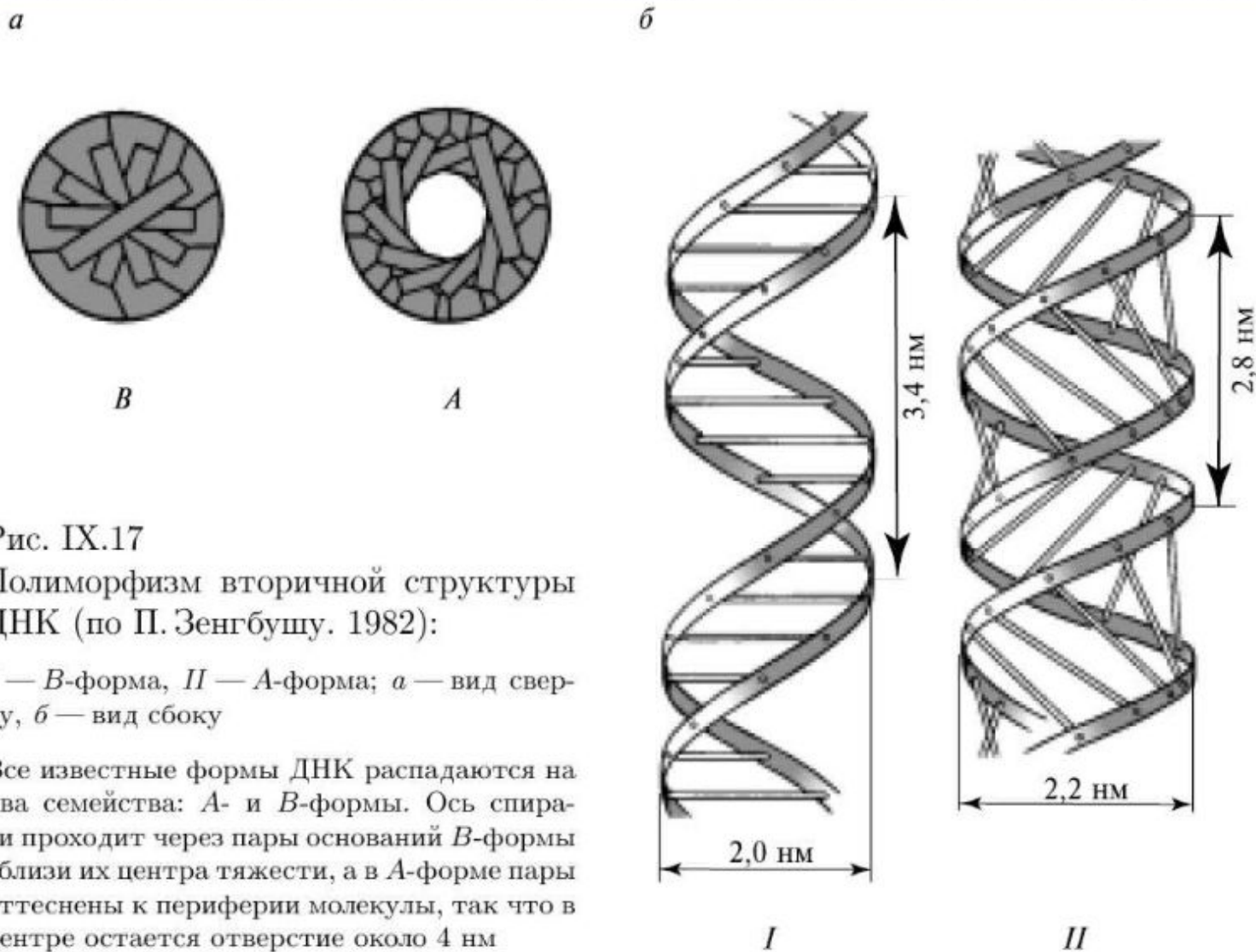
Рис. IX.19

Пять параметров Арнотта, задающих расположение оснований в регулярной двойной спирали: поворот пар τ , расстояние от оси спирали D , наклон TL , «пропеллер» оснований в паре TW , проекция повторяющейся единицы на ось спирали H по В. И. Иванову, 1980)

Число степеней свободы для цепи ДНК на порядок больше, чем для полипептида

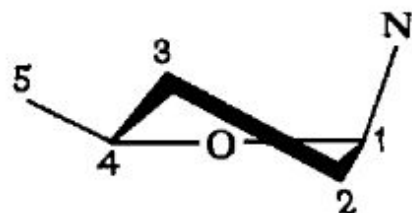


Пространственная организация нуклеиновых кислот

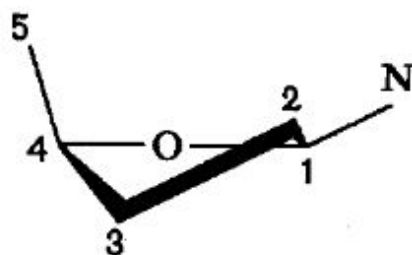


❖ Основная причина различий А и В-форм ДНК – альтернативная геометрия сахарного кольца

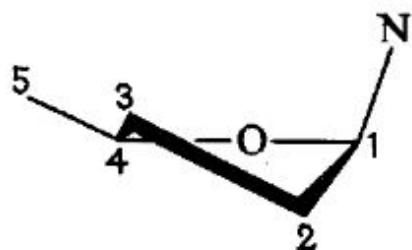
С3-эндо



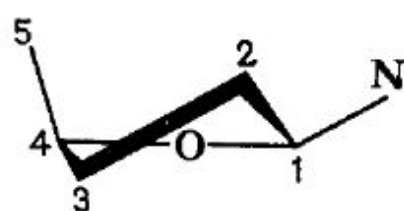
С3-экзо



С2-экзо



С2-эндо



Четыре наиболее устойчивые конформации сахарного кольца в нуклеотиде (по В. И. Иванову, 1980)

В В-формах присутствует С2-эндо- (С3-экзо) сахар; в А-формах — С3-эндо. При изменении геометрии сахара от С2-эндо (S-тип) к С3-эндо (N-тип) связи С4-С5 и N-С1, занимающие вначале почти экваториальное и меридиональное положения соответственно меняют свою ориентацию на противоположную.

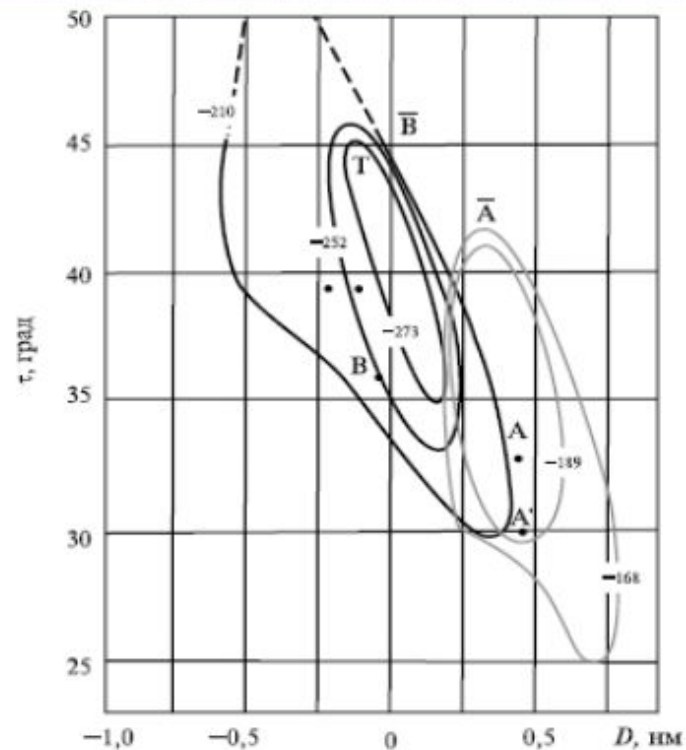


Рис. IX.21

Карта (D, τ) для канонических семейств спиралей нуклеиновой кислоты (по В. И. Иванову, 1980)

Черными линиями обозначены семейства форм с C2-эндо-сахарами (B-форма), цветными линиями — с C3-эндо-сахарами (A-форма). Линии уровней маркированы величинами энергии в кДж/моль. Верхние части некоторых «оврагов» изображены точками, чтобы выделить области, в пределах которых спирали имеют очень узкий сахарный желоб (тот, в который входят гликозидные связи)



Вопросы для самоконтроля по теме

1. Что такое «карта Рамачандрана»?

2. Какова причина наличия «запрещенных зон» на картах Рамачандрана?

3. Какие существуют методы для предсказания вторичной и третичной структуры полипептида по первичной последовательности аминокислот?

4. Что такое шаблон α -спирали, петли, β -структуры?

5. Чем различаются вторичные структуры А и В форм ДНК?
В чем причина различий?

5. Какие параметры используют для описания пространственной структуры ДНК?