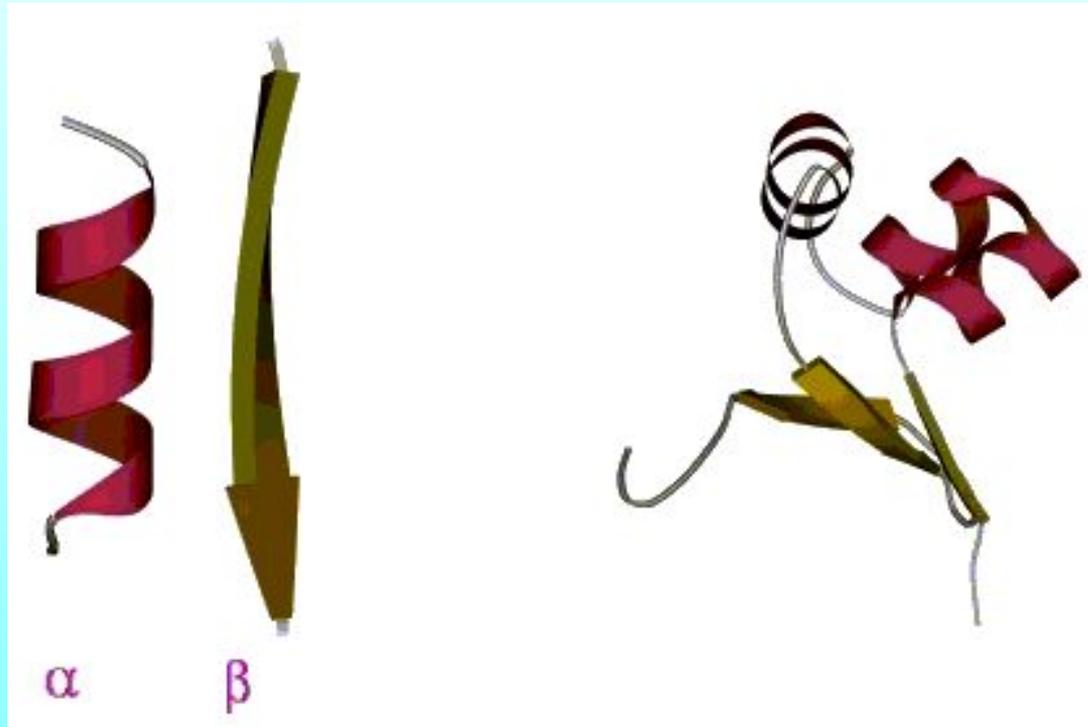
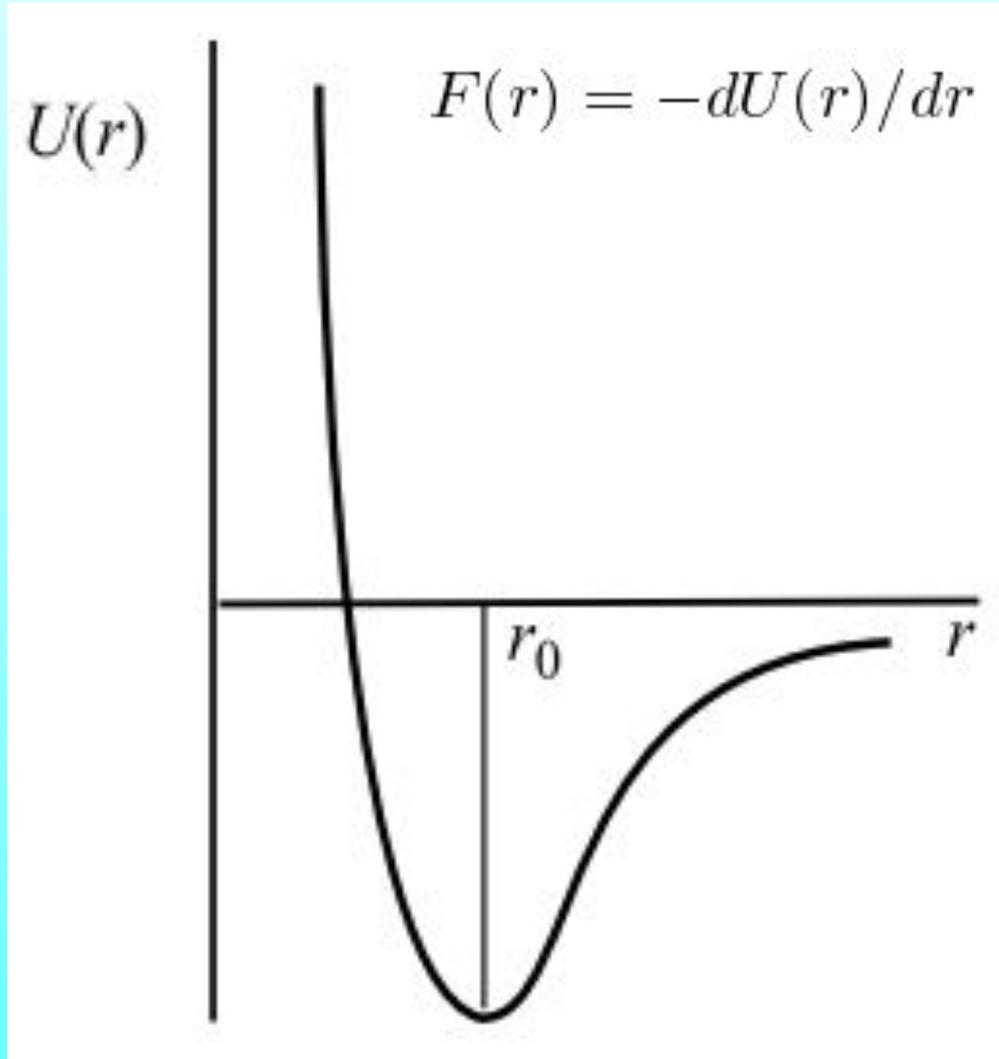


# Раздел: Молекулярная биофизика



## Тема: Взаимодействия в макромолекулах

# Типичный вид зависимости энергии взаимодействия от расстояния

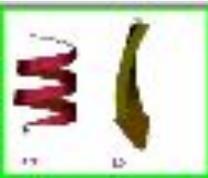


На малых расстояниях вследствие отталкивания молекул при взаимном проникновении их электронных оболочек преобладают силы отталкивания:  $dU_{\text{отт}}(r)/dr < 0$ , а на больших расстояниях превалирует притяжение:  $dU_{\text{пр}}(r)/dr > 0$ . Общий потенциал взаимодействия  $U(r)$  представляет собой 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	$\begin{array}{c} -\text{C}=\text{O} \dots \text{H}-\text{N}- \\   \end{array}$	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

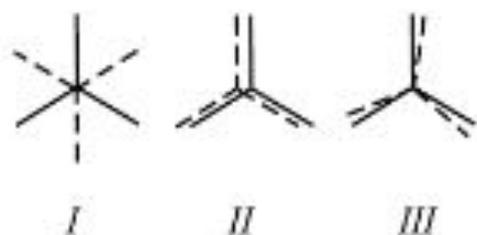


Рис. VIII.6

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

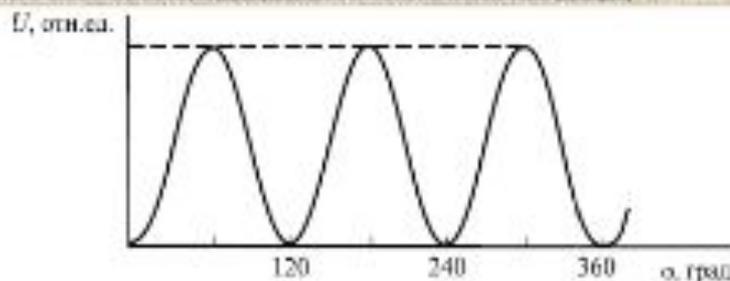


Рис. VIII.7

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;  $\epsilon$  — 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  $\text{NH}_3^+$ -группой лизина и  $\text{COO}^-$ -группой глутаминовой кислоты. Ионные связи также образуются между положительно заряженными фосфатными группами нуклеиновых кислот и катионами.

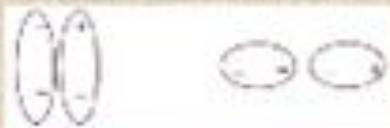
Энергия ионной связи зависит от диэлектрической проницаемости среды. Так, в воде ( $\epsilon = 80$ ) связь будет менее крепкой, чем внутри белковой глобулы ( $\epsilon = 2 \div 5$ ). Энергия ионной связи составляет от 40 до 400 кДж/моль.

**Ион-дипольные взаимодействия** возникают между ионами и молекулами или атомными группами, обладающими дипольным моментом, например, между ионами  $\text{Na}^+$  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)



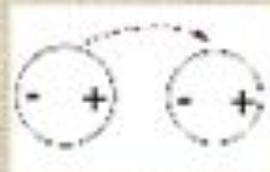
+

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  $\alpha$  – 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);  $\alpha_1$  и  $\alpha_2$  — поляризуемости групп. Энергия дисперсионных связей равна 4—40 кДж/моль.

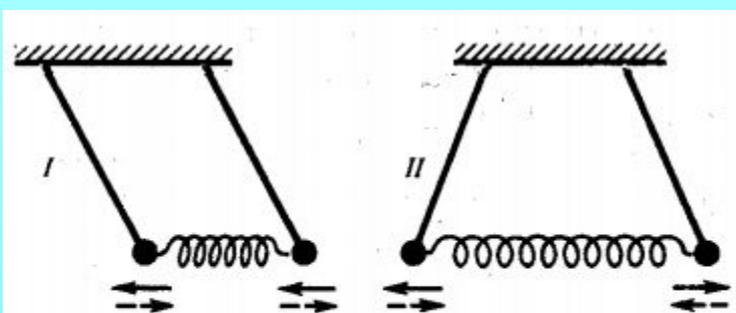
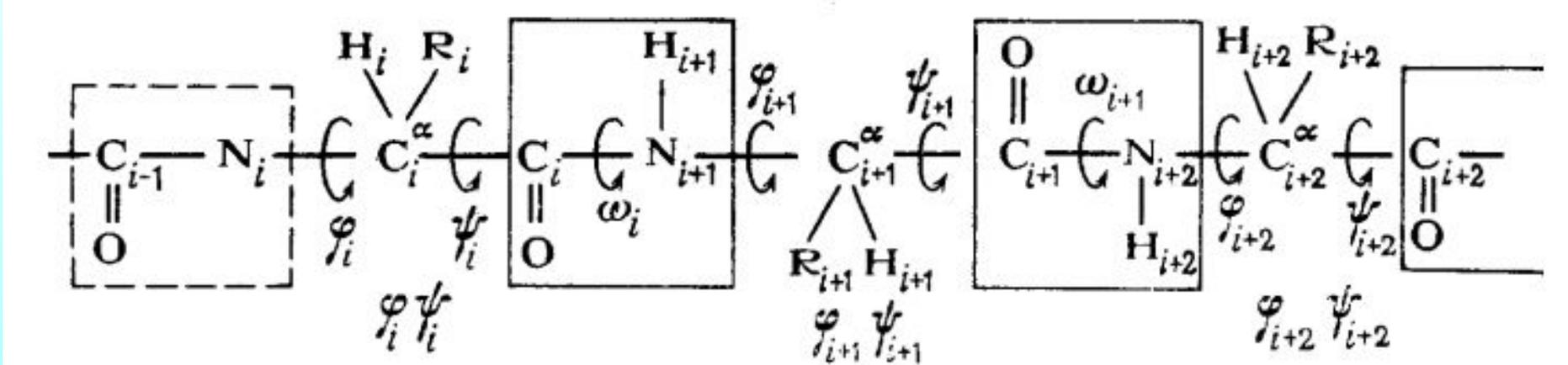


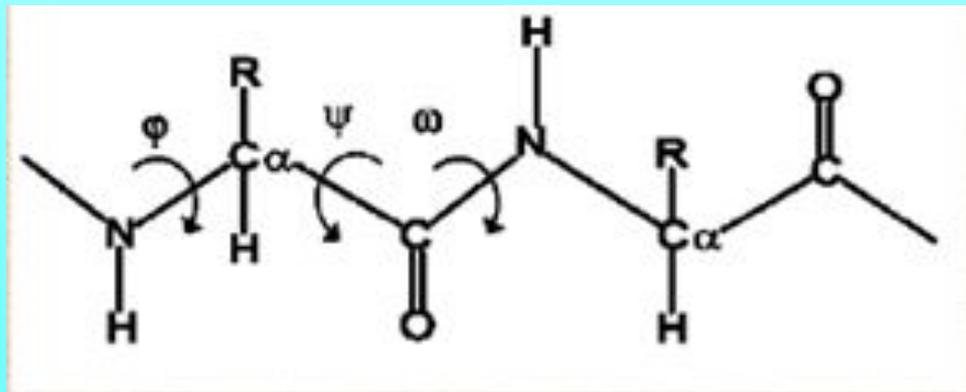
Рис. VIII.3.  
Симметричные (I) и несимметричные (II) колебания связанных маятников (по Э. В. Шпольскому, 1974)

**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.

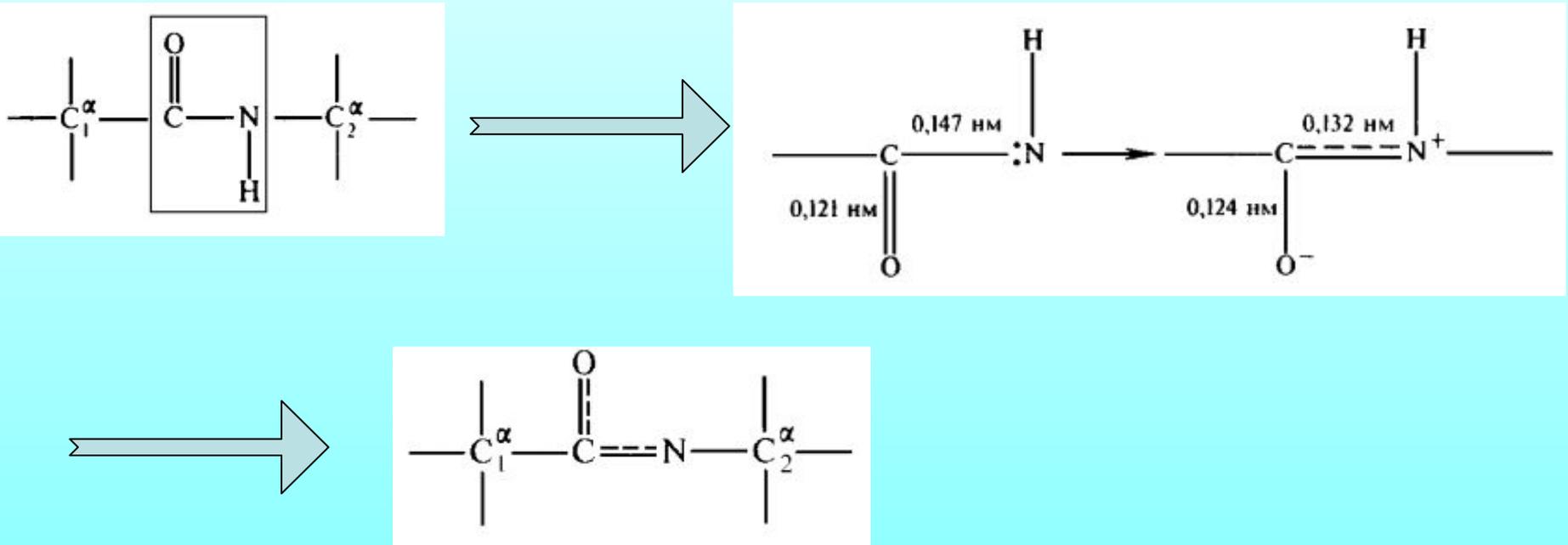
# Конформационная энергия полипептида



*Общее строение полипептидной цепи,  
характеризуется тремя углами:*

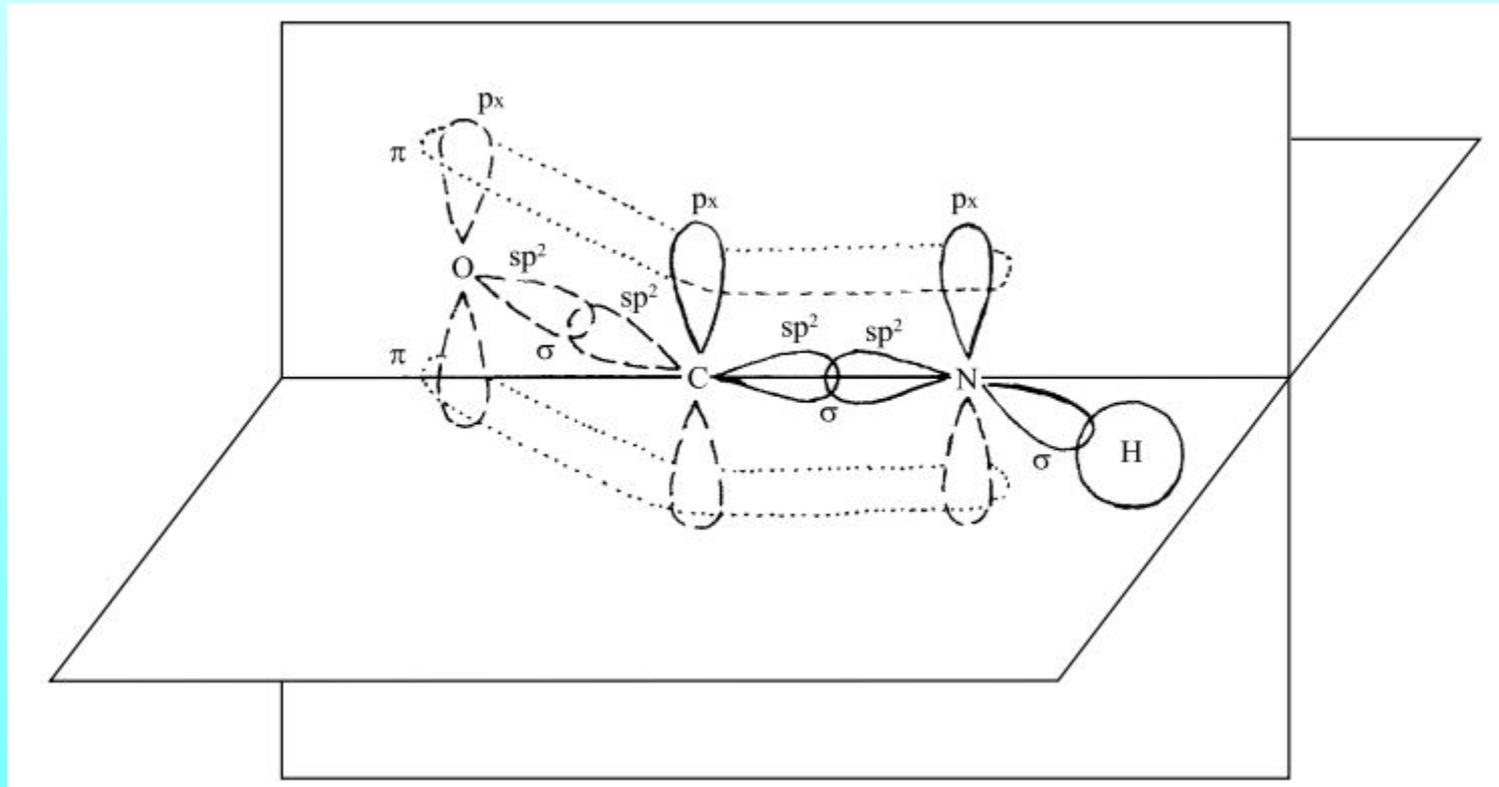


# Пептидная связь – $\omega$ - угол

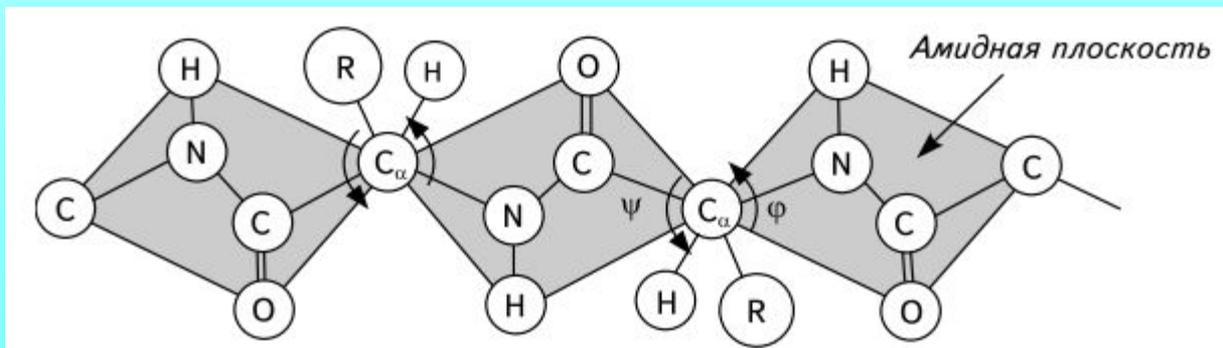
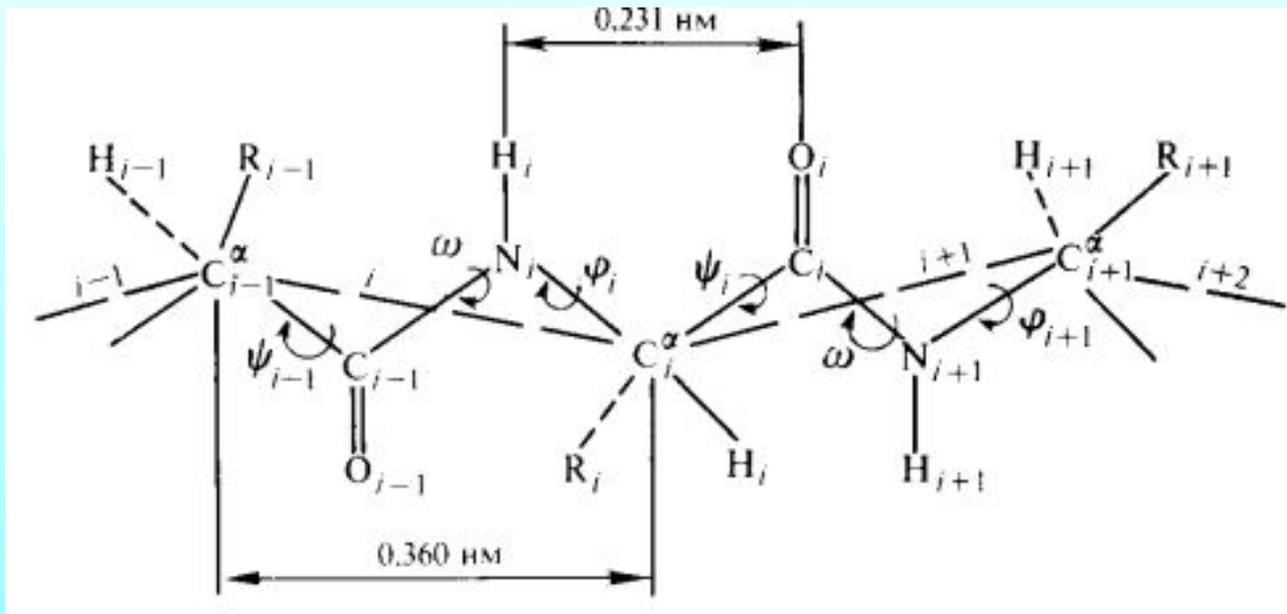


Однако, двойной характер пептидной связи препятствует вращению вокруг нее:  $\omega = \text{const} = 180^\circ$ . В полипептидной цепи имеет место только попарное кооперативное взаимодействие при вращении вокруг единичных связей при одном  $\alpha$ -атоме аминокислот.

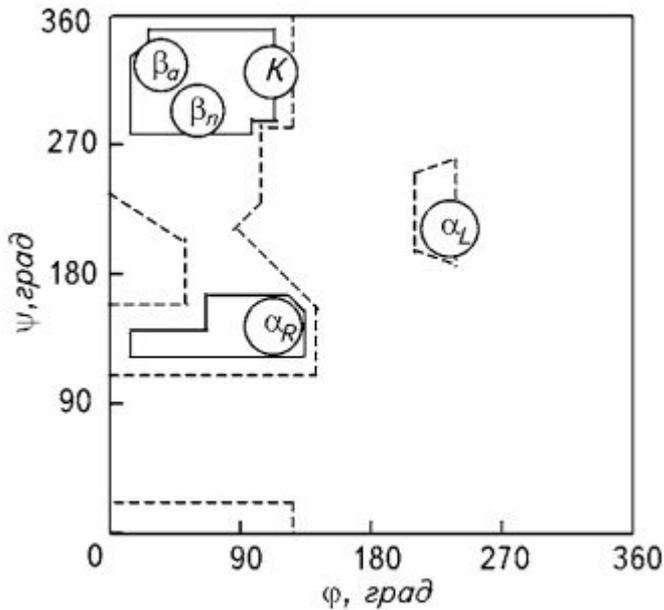
# Электронная конфигурация полипептидной цепи



# Пространственная конфигурация полипептидной цепи



Таким образом, пространственная конфигурация полипептидной цепи будет зависеть от кооперативного взаимодействия  $\phi$  и  $\psi$  углов у альфа атома углерода.



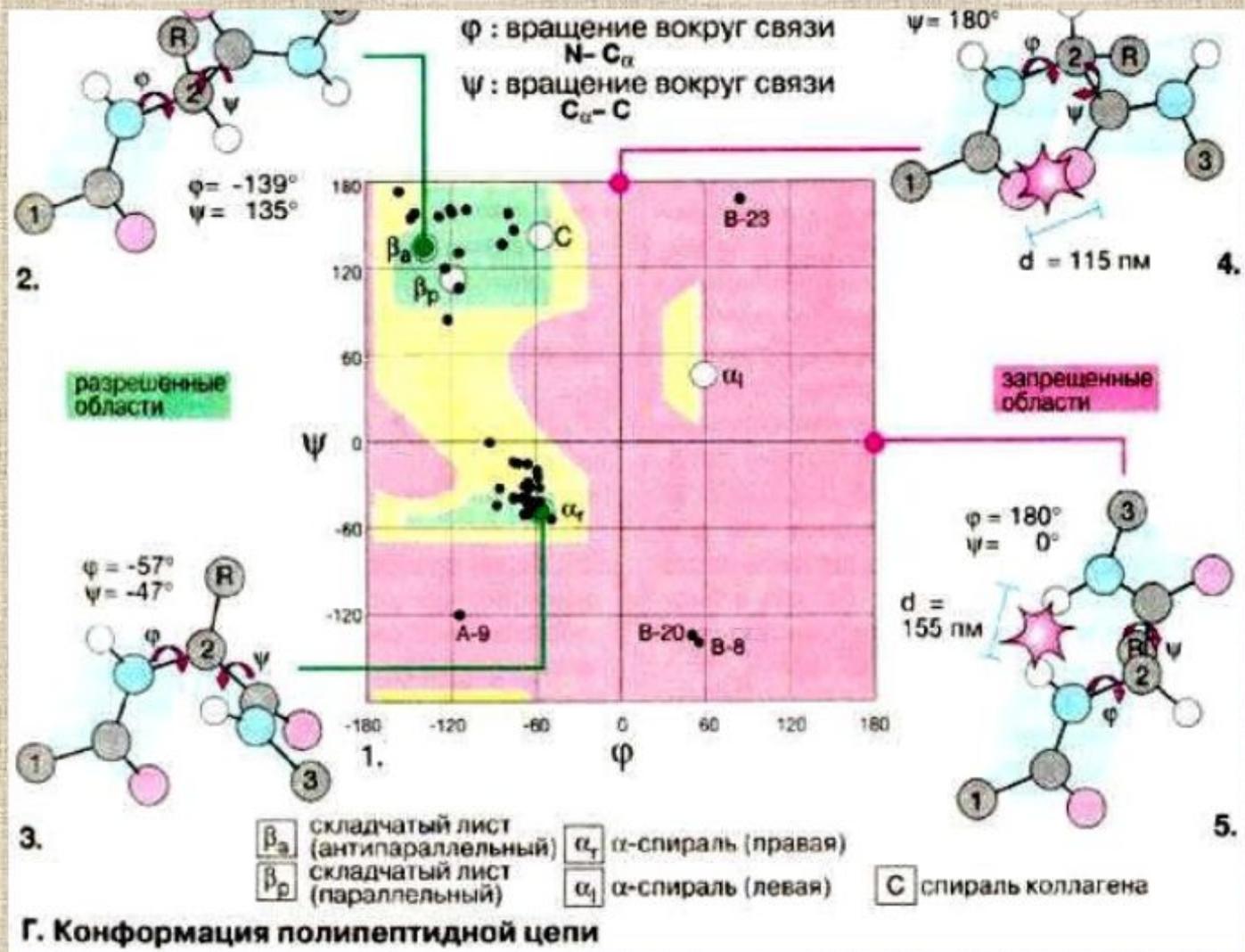
Стерическая карта Рамачандрана для поли-L-аланина.

Сплошные линии обозначают границы полностью разрешенных областей; пунктирные - частично разрешенных. На карте указаны области значений углов  $\psi$  и  $\phi$  для параллельной ( $\beta_{п.}$ ) и антипараллельной ( $\beta_a$ )  $\beta$ -форм, спирали белка коллагена (К), правой ( $\alpha_R$ ) и левой ( $\alpha_L$ )  $\alpha$ -спиралей.

Не все значения углов  $\psi$  и  $\phi$  допустимы вследствие возможного стерического несоответствия двух соседних аминокислотных остатков. Индийский ученый Г. Рамачандран рассчитал допустимые значения углов  $\psi$  и  $\phi$  (углы отсчитываются от плоской транс-конформации полипептидной цепи) и построил стерические карты, на которых по оси абсцисс откладываются значения углов  $\phi$  от 0 до  $360^\circ$ , а по оси ординат - значения углов  $\psi$ . 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 ( $\phi$ ,  $\psi$ ) "разрешенные" и "запрещенные" конформации остатка называются **картами Рамачандрана**.



# Конформационная энергия полипептида

## Общее выражение для конформационной энергии

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

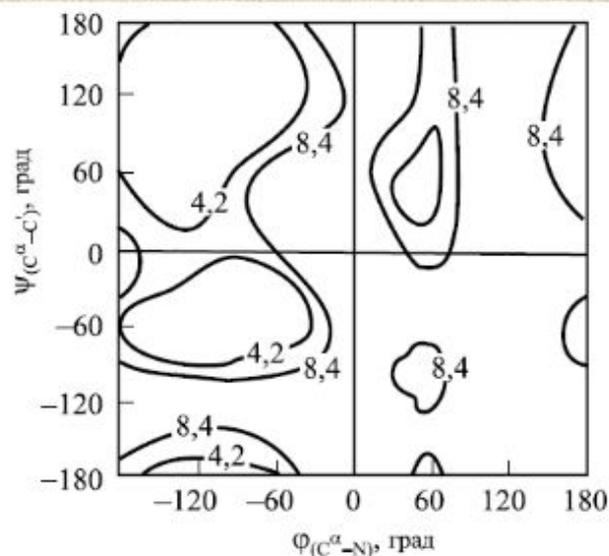


Рис. IX.9

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

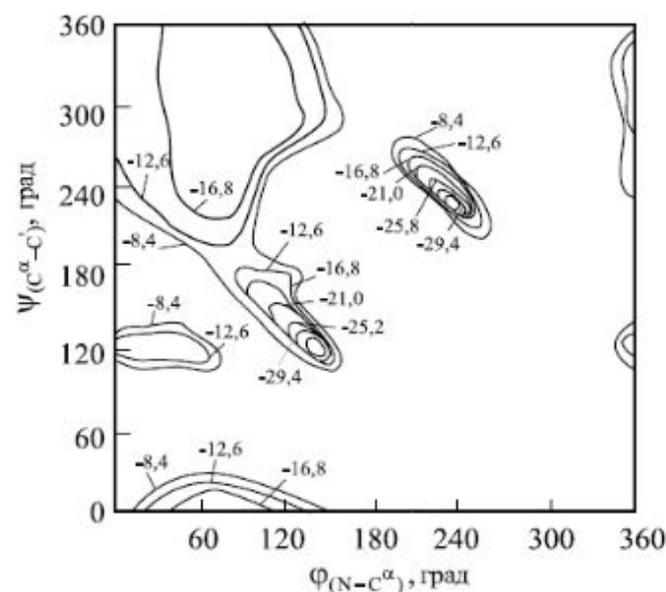
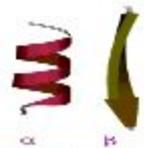


Рис. IX.10

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  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -структур – также гидрофобные области

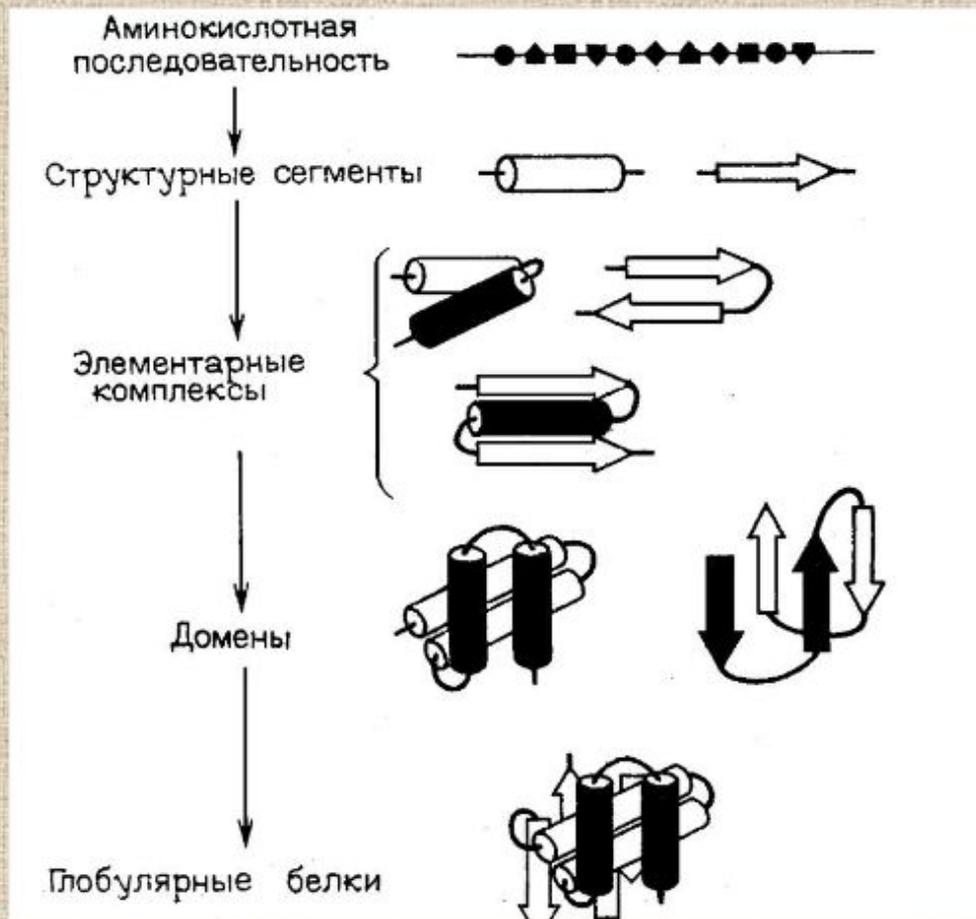
Внутримолекулярные водородные связи между пептидами максимально насыщены.

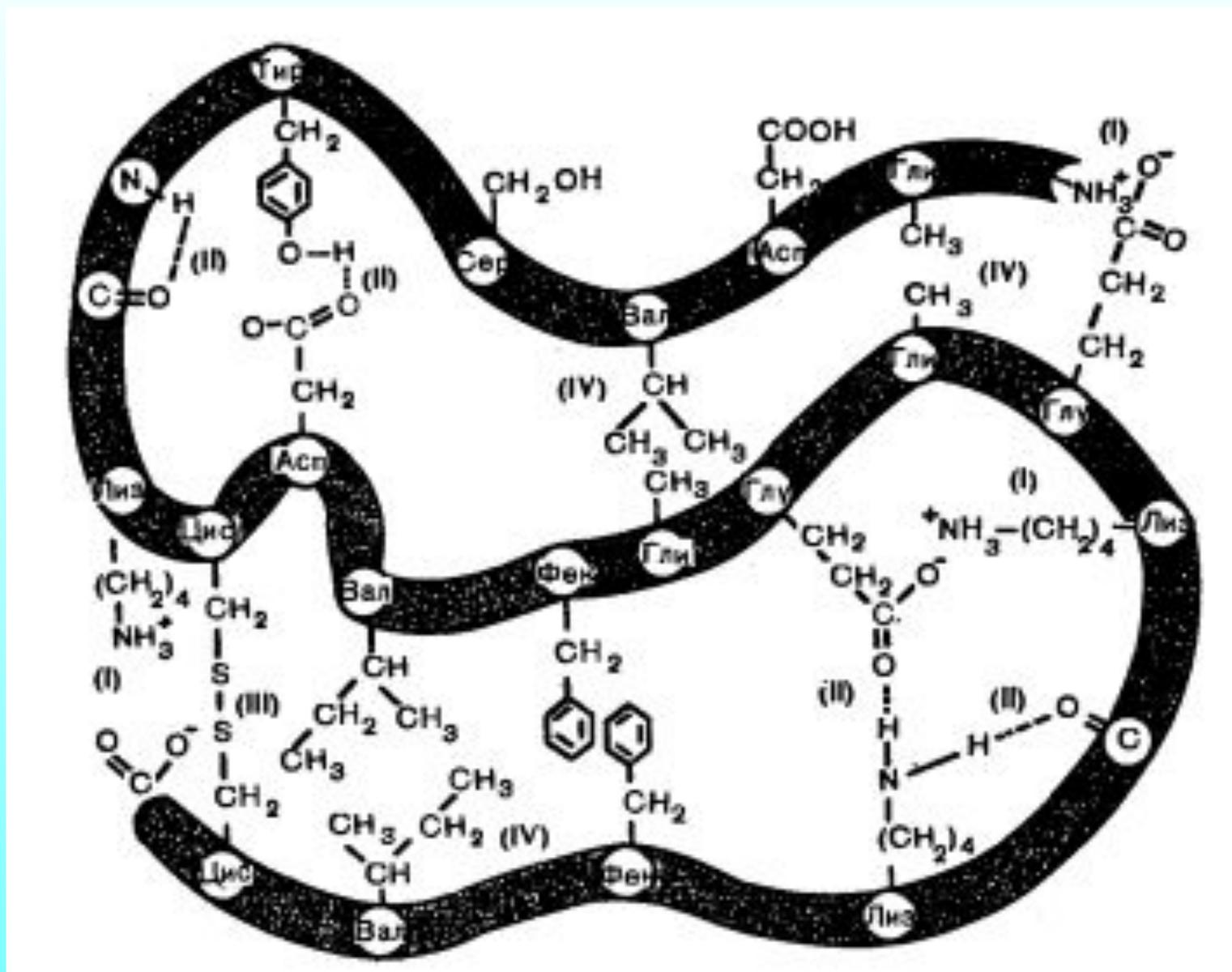
Статистические данные о частоте появления а.о. в  $\alpha$ - и  $\beta$ -структурах.



# Предсказание пространственной организации белков

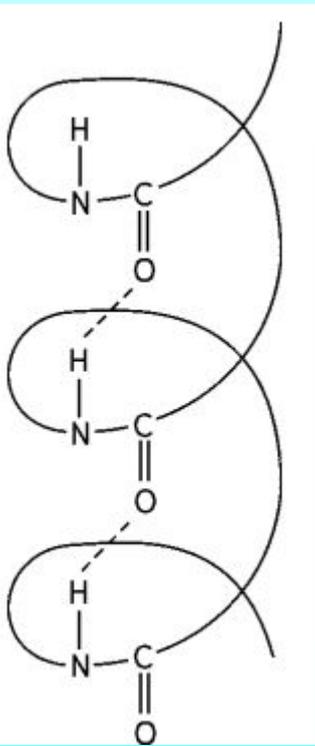
Иерархия  $\approx$  последовательность стадий сворачивания белка



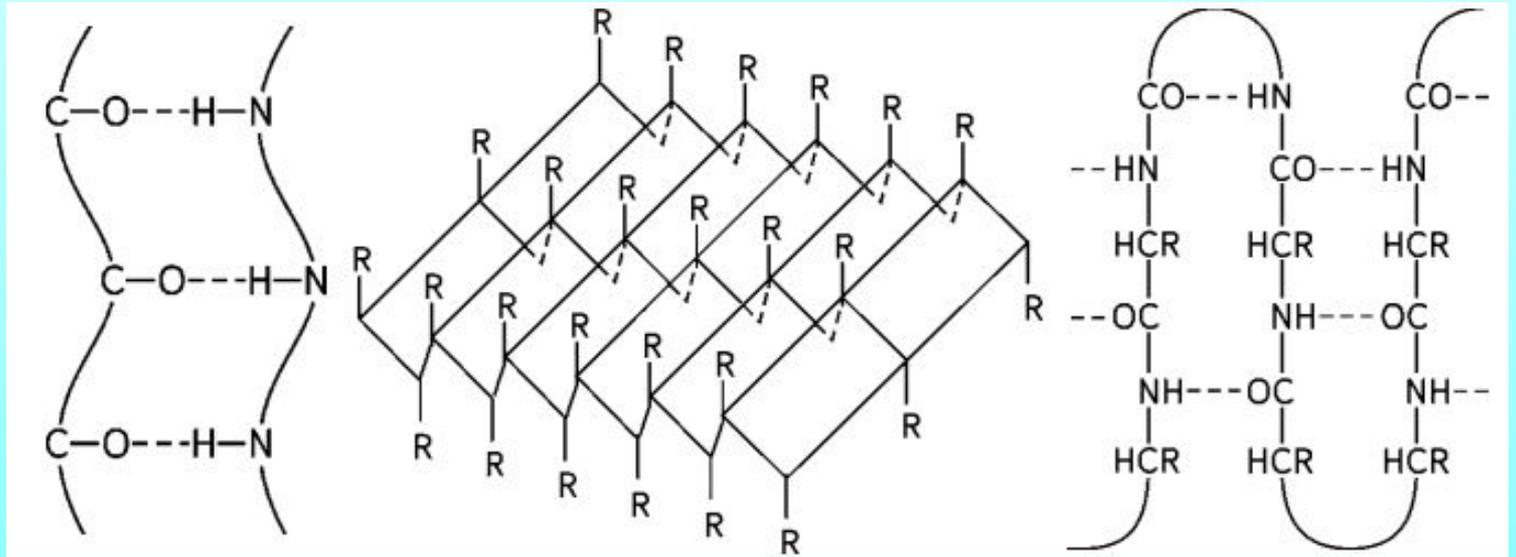


Связи и взаимодействия, стабилизирующие пространственную структуру белков: I — ионная; II — водородная; III — дисульфидная; IV — область гидрофобных взаимодействий между неполярными группами.

# Вторичная структура полипептида

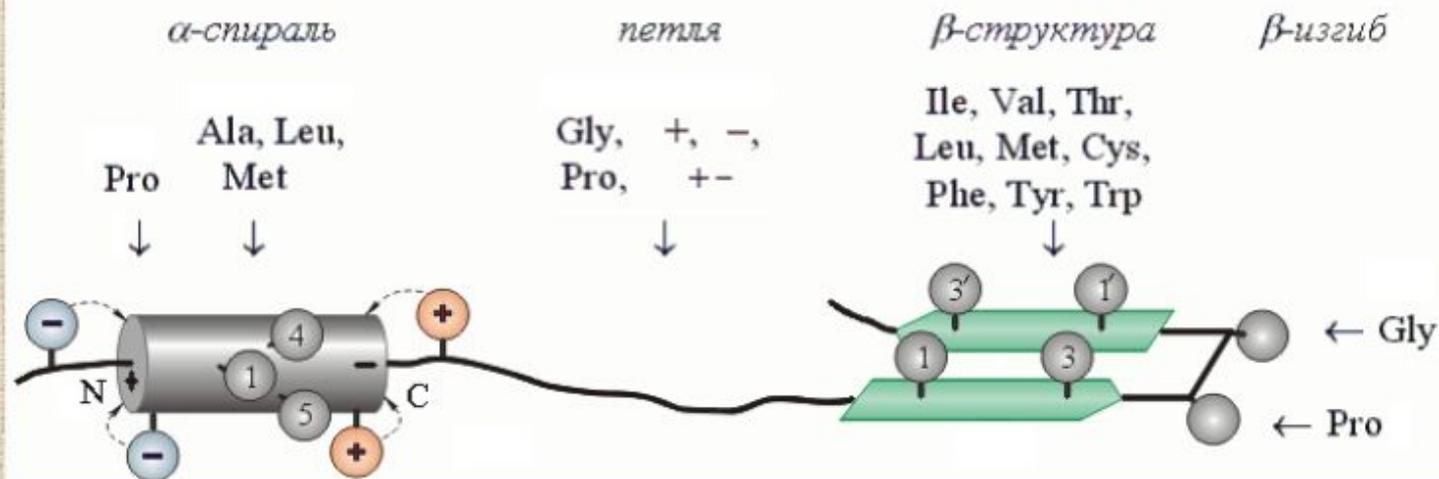


А-спираль



β – формы

# Предсказание пространственной организации белков



Шаблоны  $\alpha$ -спирали, петли,  $\beta$ -структуры и  $\beta$ -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  $\alpha$ - и  $\beta$ -структуру порядок чередования гидрофобных групп в цепи (см. нумерованные группы). Такого типа чередование приводит также к образованию гидрофобных и полярных поверхностей  $\alpha$  а-спиралей и  $\beta$ -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.

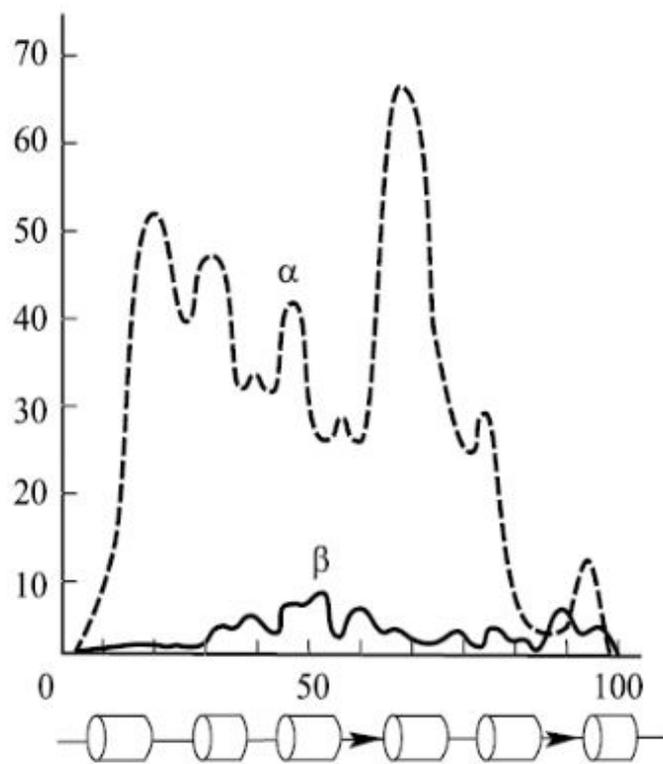


Рис. IX.15

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  $\alpha$ -спирального (пунктир) и  $\beta$ -структурного (сплошная линия) состояния для каждого остатка цепи. Внизу показана экспериментальная локализация  $\alpha$ -спиралей (цилиндры) и  $\beta$ -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.

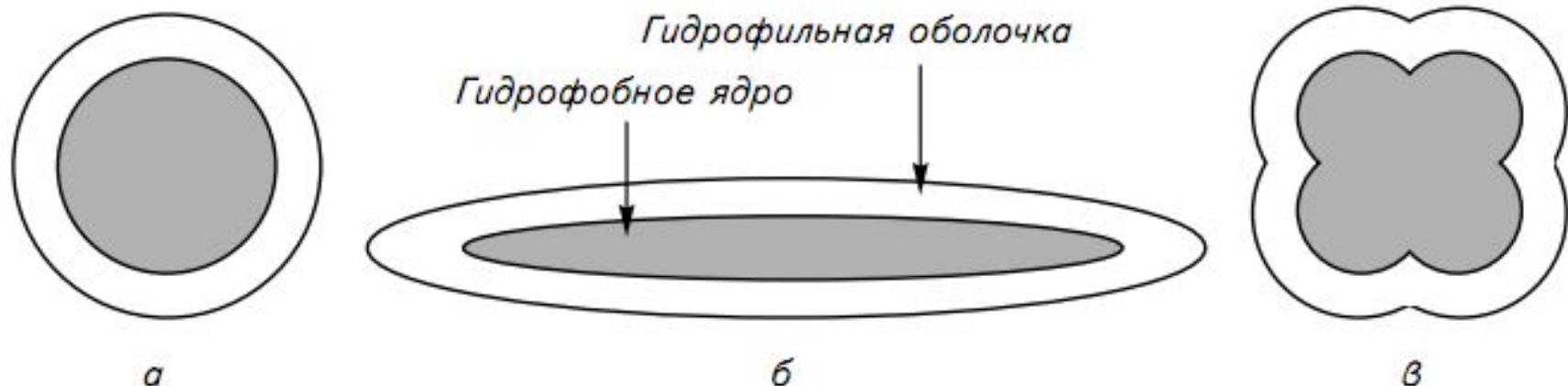
В целом  $\Delta F$  повышается

### Особенности взаимодействия макромолекул с водой:

А) Гидрофобные взаимодействия в целом стабилизируют макромолекулы.

Б) Молекулы воды распределены в глобуле неоднородно:

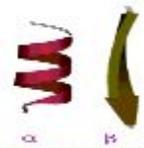
- Снаружи имеются локальные полярные центры гидратации, где молекулы сильнее связаны по сравнению с тонкой гидратной оболочкой на поверхности глобулы
- Около поверхности белка удерживается до 2-3 слоев воды
- Имеется фракция прочно связанной воды, которая фиксируется на малоподвижных элементах белковой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

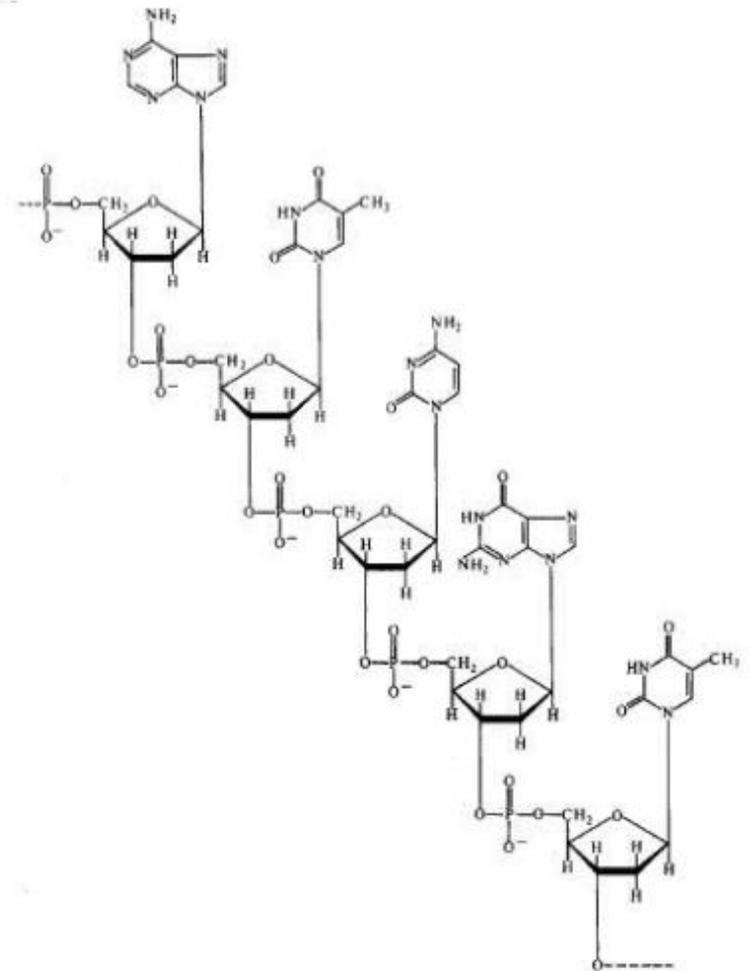
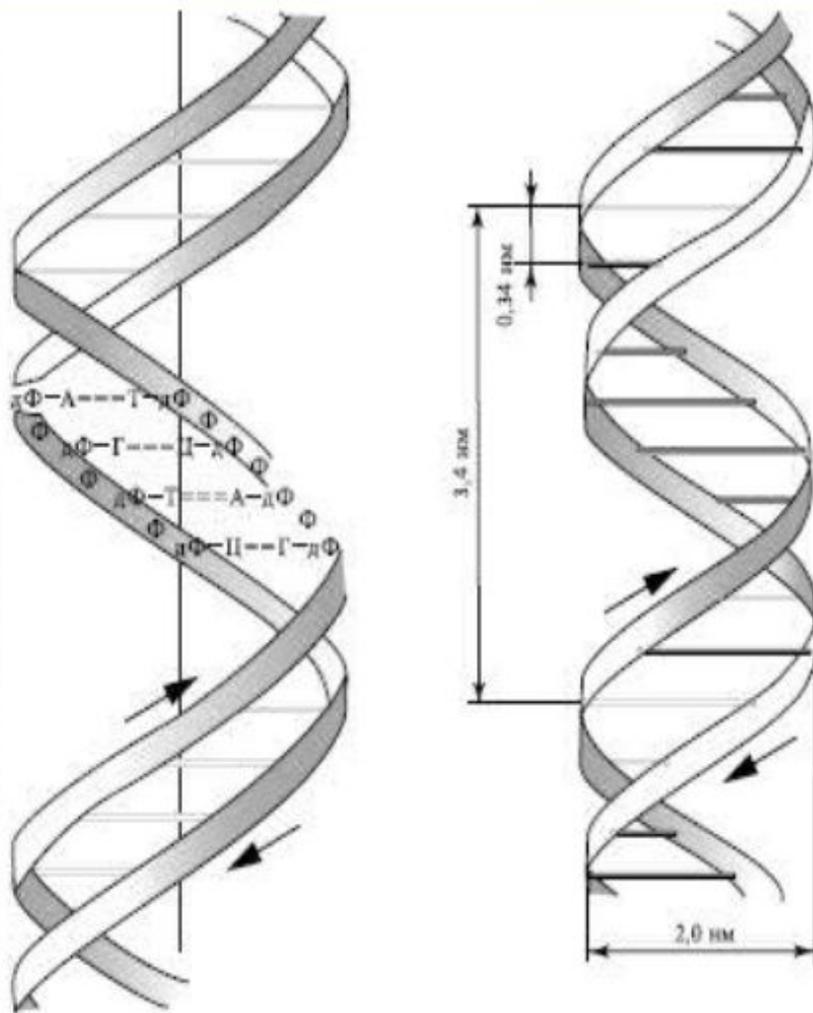
Методы построения упрощенных физических моделей, основанные на экспериментальных данных и отражающие совокупность свойств целостной молекулы ДНК

- 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



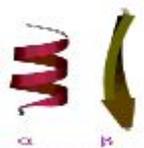
A

B

B

Рис. IX.16

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



## ❖ Описание цепи ДНК – 6 углов

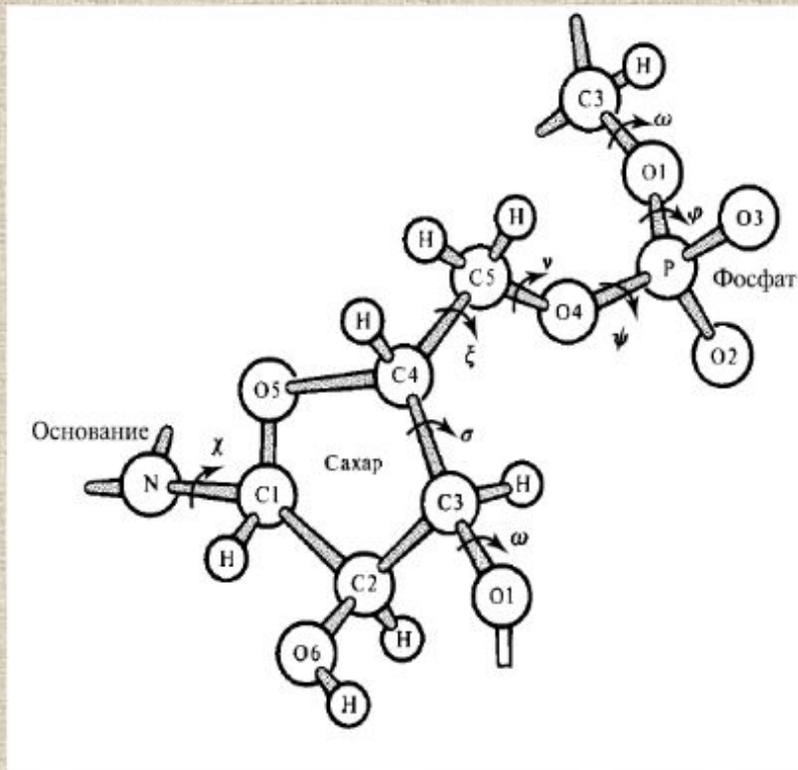


Рис. IX.18

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  $\chi$  (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

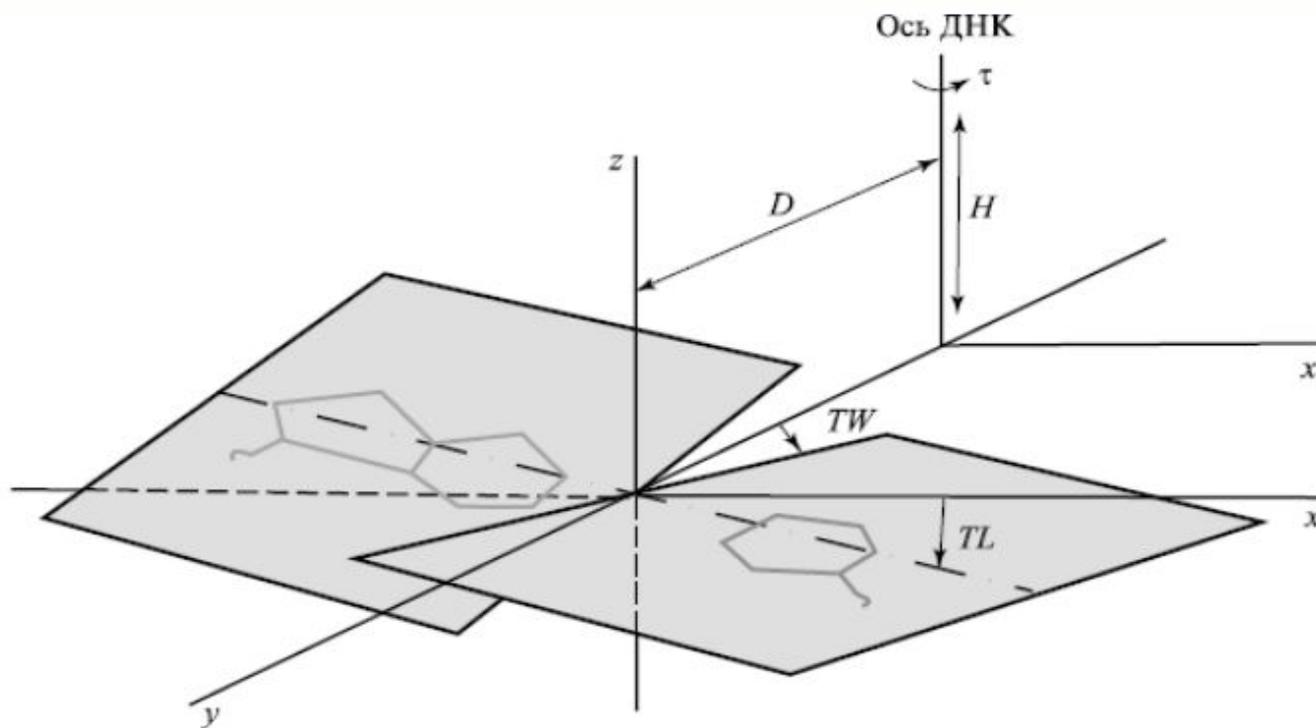


Рис. IX.19

Пять параметров Арнотта, задающих расположение оснований в регулярной двойной спирали: поворот пар  $\tau$ , 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

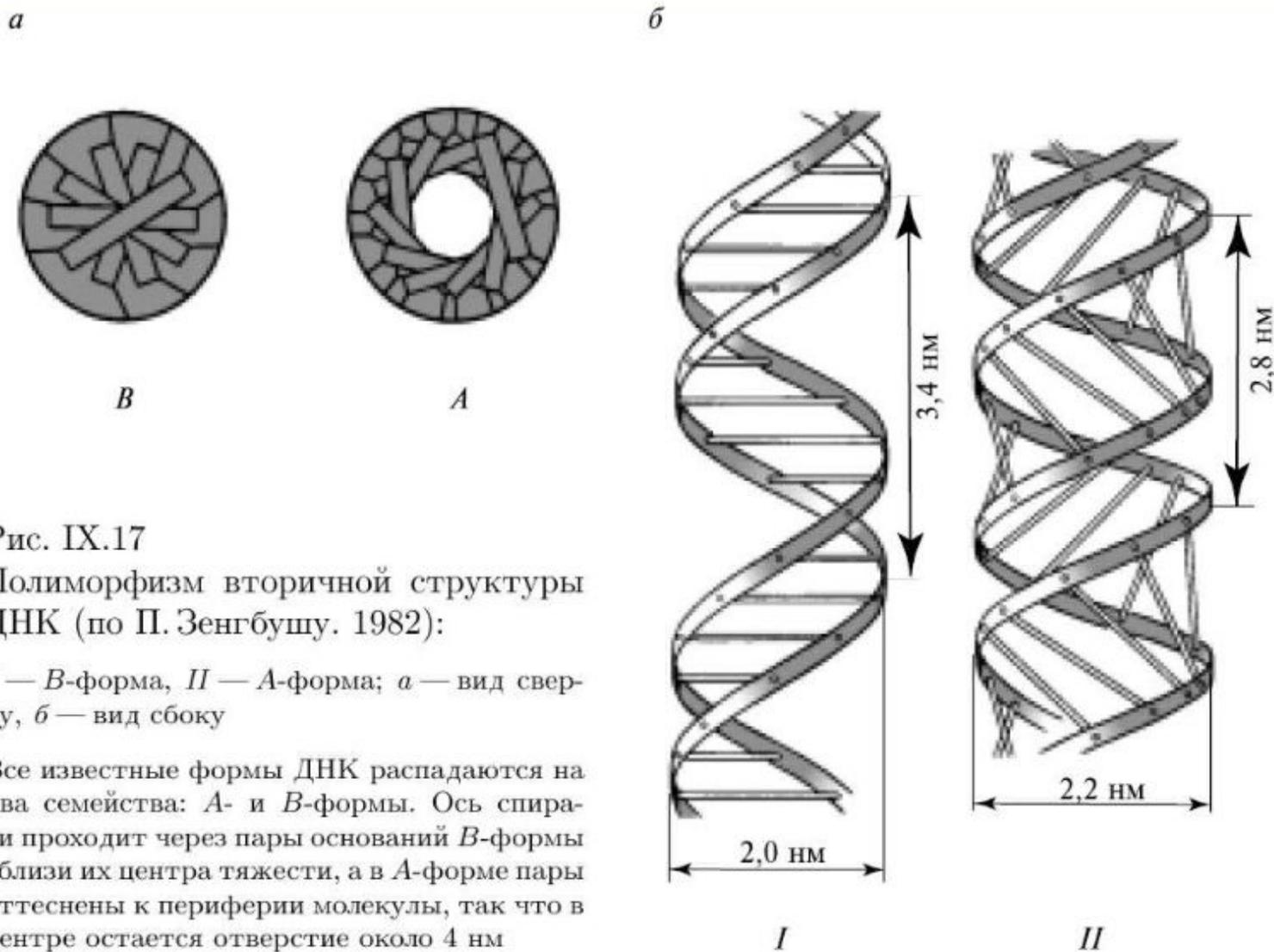


Рис. IX.17

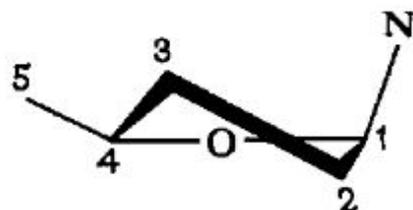
Полиморфизм вторичной структуры ДНК (по П. Зенгбушу. 1982):

*I* — *B*-форма, *II* — *A*-форма; *a* — вид сверху, *б* — вид сбоку

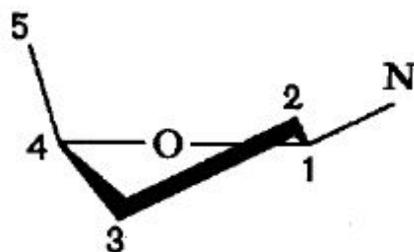
Все известные формы ДНК распадаются на два семейства: *A*- и *B*-формы. Ось спирали проходит через пары оснований *B*-формы вблизи их центра тяжести, а в *A*-форме пары отеснены к периферии молекулы, так что в центре остается отверстие около 4 нм

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

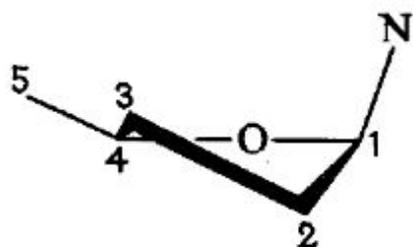
С3-эндо



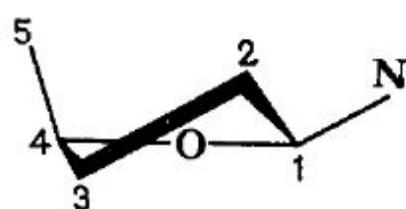
С3-экзо



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.

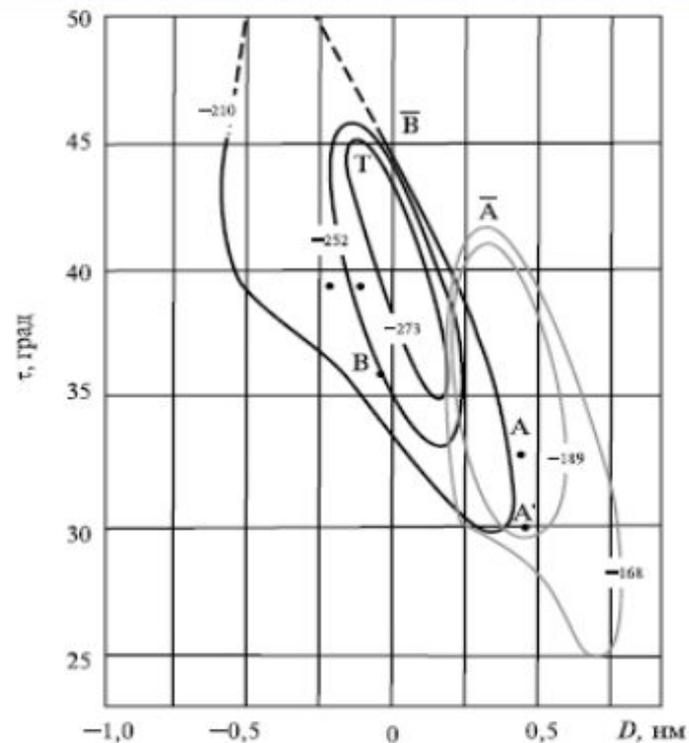
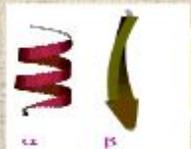


Рис. IX.21

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

Черными линиями обозначены семейства форм с С2-эндо-сахарами (В-форма), цветными линиями — с С3-эндо-сахарами (А-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  $\alpha$ -спирали, петли,  $\beta$ -структуры?

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

5. Какие параметры используют для описания пространственной структуры ДНК?