

© 1996 г. М.Д. ЕРМОЛАЕВА, К.В. ШАЙТАН

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ГИПЕРПОВЕРХНОСТЕЙ УРОВНЕЙ КОНФОРМАЦИОННОЙ ЭНЕРГИИ И ДИНАМИКА ПОЛИАЛАНИНА

Рассматриваются элементы строения гиперповерхностей уровней потенциальной энергии три- и декааланина. Изучаются области притяжения правой α -спирали в конфигурационном пространстве. Результаты обсуждаются в связи с проведенными здесь же расчетами молекулярной динамики процесса разрушения α -спирали.

Функционирование белков, как известно, связано с их конформационной подвижностью [1–4]. Отдельные сценарии для быстрых конформационных переходов в пикосекундной и субнаносекундной областях хорошо прослеживаются методами молекулярной динамики [5–8]. Прогноз возможных сценариев и исследование более медленных структурных перестроек требует развития новых, в том числе качественных, подходов, основанных на анализе строения гиперповерхностей уровней конформационной энергии (ГПКФ) и областей притяжения локальных минимумов энергии [4,9–11]. Как известно, поверхность потенциальной энергии жестких (квазикристаллических) систем подобна многомерному параболоиду, а гиперповерхности уровней энергии топологически эквивалентны гиперсфере [12]. Для систем с конформационными степенями свободы, а также для систем с большим количеством водородных связей (т.е. в тех случаях, когда межатомные потенциальные функции имеют как локальные минимумы, так и локальные максимумы) строение гиперповерхностей уровней потенциальной энергии кардинально отлично от случая жестких молекулярных систем. В пространстве конфигураций имеется большое число притягивающих локусов, соединенных сетью трубок с более низкой размерностью. Такое строение гиперповерхности уровня потенциальной энергии, на которой разыгрываются сценарии динамического поведения макромолекулы, принципиально важно и для ее функционирования [4,9,10]. В настоящее время прямое изучение особенностей строения гиперповерхностей уровней конформационной энергии макромолекул трудно реализуемо и необходимо накопление определенного опыта на примере более простых систем (фрагментов макромолекул) и выработка на этой основе более детальных представлений о ГПКФ биомacroмолекул.

Рассмотрим n -мерное конфигурационное пространство внутренних степеней свободы молекулы $(g_1, g_2, g_3, \dots, g_n)$. Множество точек конфигурационного пространства, в которых молекула имеет постоянную конформационную энергию $U(g_1, g_2, g_3, \dots, g_n) = E$, образует многомерную гиперповерхность уровня E конформационной энергии. Эта ГПКФ ограничивает классически доступную область конфигурационного пространства молекулы с полной энергией E .

Основываясь на строении ГПКФ, можно предсказывать энергетически возможные конформационные состояния и переходы и оценивать их вероятности, сопоставляя их с соответствующими объемами конфигурационного пространства [13]. Хорошо известны двумерные проекции гиперповерхностей уровней конформационной энергии пептидов без учета дальних атом-атомных взаимодействий на плоскость углов ϕ и ψ одного аминокислотного остатка – карты уровней потенциальной энергии или карты Рамачандрана [1,14–17]. Ранее, при построении карт Рамачандрана обычно делались значительные упрощения модели, не учитывались дальние ван-дер-ваальсовы, водородные и электростатические вза-

имодействия, играющие ключевую роль в формировании вторичной и третичной структур белка. В настоящее время широко используется построение несколько видоизмененных карт потенциальной энергии. В некоторых работах учитываются не только ближние, но и дальние взаимодействия, а также взаимодействие с растворителем. При этом, естественно, делаются различные предположения и упрощения. Например, в [18] боковые радикалы аминокислот или аминокислотный остов полипептида (в зависимости от целей расчетов) принимаются жесткими, не имеющими внутренних степеней свободы. Принципиально важно, однако, что в рамках такого подхода игнорируется реальная представительность той или иной области конфигурационного пространства, определяемая относительным временем нахождения в ней системы при спонтанных тепловых движениях.

Как мы уже отмечали, полное и корректное построение гиперповерхностей уровней конформационной энергии макромолекулы весьма трудоемко ввиду вычислительных трудностей. Для построения гиперповерхностей необходимо рассчитать энергию большого количества точек конфигурационного пространства. Действительно, пусть молекула имеет n внутренних степеней свободы, тогда ее конфигурационное пространство имеет размерность n . Если значение каждого торсионного угла измеряется с точностью до 10 градусов, то в конфигурационном пространстве молекулы имеется 36^n точек. Даже для простых макромолекул число степеней свободы более 10 и требуется огромное количество вычислений. Расчеты несколько упрощаются тем, что суммарный объем разрешенных областей конфигурационного пространства с приемлемой энергией значительно меньше объема всего конфигурационного пространства.

В случае большого количества степеней свободы представляет также интерес построение участков гиперповерхностей уровней конформационной энергии вблизи локальных минимумов энергии и расчет областей притяжения этих минимумов энергии. Область притяжения локального минимума энергии – это множество точек конфигурационного пространства, попав в которые, молекула в условиях сильного трения неизбежно придет к этому минимуму. В данной работе мы разрабатываем методы изучения строения гиперповерхностей уровней конформационной энергии и областей притяжения локальных минимумов энергии биомacroмолекул с учетом всех имеющихся взаимодействий. Этот метод в сочетании с молекулярной динамикой применяется для анализа конформационной подвижности полиаланина и процессов формирования его вторичной структуры.

Описание модели. Ниже рассматриваем молекулу как механическую систему, состоящую из взаимодействующих материальных точек (обобщенных атомов – атомов С, О или N, вместе со связанными с ними атомами H). Валентные связи и валентные углы считаются жесткими, недеформируемыми. Молекула имеет внутреннюю подвижность только за счет изменения торсионных углов (т.е. углов вращения вокруг химических связей).

Потенциальная энергия молекулы рассчитывается как сумма энергий, связанных с торсионными углами, ван-дер-ваальсовыми и электростатическими взаимодействиями и водородными связями соответственно:

$$U(r) = U_{\Phi} + U_L + U_{el} + U_{hb}. \quad (1)$$

Энергия торсионных углов задается как

$$U_{\Phi} = \sum_{\Phi} K_{\Phi} [\cos(n\Phi - \delta) + 1], \quad (2)$$

где n – кратность торсионного барьера; δ – сдвиг фазы; константы K_{Φ} определяют высоты потенциальных барьеров двугранных углов Φ .

Ван-дер-ваальсовы взаимодействия атомов, разделенных тремя и более валентными связями, описываются с помощью потенциалов Леннарда-Джонса:

$$U_L = \sum_{i < j} \left[\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right]. \quad (3)$$

Параметры потенциала A и B зависят от типов атомов i и j , участвующих во взаимодействии; r_{ij} – расстояние между этими атомами.

Электростатические взаимодействия задаются кулоновским потенциалом

$$U_{el} = \sum \frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}}, \quad (4)$$

где q_i, q_j – парциальные заряды на атомах, ϵ – диэлектрическая проницаемость среды.

Функциональный вид потенциала водородной связи аналогичен потенциалу ван-дер-ваальсовых взаимодействий:

$$U_{hb} = \sum_{i < j} \left[\frac{A'_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B'_{ij}}{r_{ij}^{10}} \right]. \quad (5)$$

Параметры потенциала A, B, A', B' рассчитываются по формулам [6]:

$$B_{ij} = \frac{3}{2} \left(\frac{1}{4\pi\epsilon_0} \right)^{1/2} \frac{ehm_e^{-1/2}\alpha_i\alpha_j}{(\alpha_i/N_i)^{1/2} + (\alpha_j/N_j)^{1/2}}, \quad (6)$$

$$A_{ij} = 1/2 B_{ij} (R_i + R_j)^6, \quad (7)$$

$$A' = -5E_{\min} r_{\min}^{12}, \quad (8)$$

$$B' = -6E_{\min} r_{\min}^{10}, \quad (9)$$

где i, j – два атома, не связанные валентными связями и валентными углами; ϵ_0 – диэлектрическая постоянная для вакуума; e – заряд электрона; h – постоянная Планка; m_e – масса покоя электрона; α_i – поляризуемость; N_i – эффективное число электронов; R_i – ван-дер-ваальсовый радиус; $E_{\min}$ – минимальная энергия водородной связи; $R_{\min}$ – расстояние между атомами при минимальной энергии водородной связи. Значения $\alpha_i, N_i, R_i, E_{\min}, R_{\min}$, парциальные заряды на обобщенных атомах, а также параметры валентных расстояний, валентных углов, торсионных углов были взяты в соответствии с величинами, используемыми в комплексе молекулярной динамики [19]. Все расчеты проводились для молекулы в вакууме, т.е. влияние растворителя не учитывалось.

Эффективная температура молекулы определялась по формуле:

$$T = \frac{2\langle E \rangle}{nk_B}, \quad (10)$$

где n – число степеней свободы молекулы, а k_B – константа Больцмана.

Вычислительные методы. Проекция гиперповерхностей уровней конформационной энергии рассчитывались при помощи следующего алгоритма. С помощью датчика случайных чисел произвольным образом выбирается точка в n -мерном конфигурационном пространстве внутренних степеней свободы молекулы. Таким образом, имеем n чисел – значений торсионных углов, которые полностью задают относительное расположение атомов молекулы, т.е. ее конформацию. Каждая конформация молекулы имеет определенную потенциальную (конформационную) энергию, которая является функцией торсионных углов. Для расчета декартовых координат атомов использовался метод Эйринга [16]. Далее происходит минимизация функции потенциальной энергии, т.е. поиск ближайшего локального минимума. Для минимизации функции потенциальной

энергии применялся метод наибольшего градиента. Один шаг минимизации заключается в последовательной минимизации функции по каждой переменной.

Если конформационная энергия молекулы в локальном минимуме оказывается выше ранее выбранного значения, то весь процесс начинается сначала. Если же энергия молекулы оказывается меньше фиксированного уровня, то ее значение и значения соответствующих торсионных углов запоминаются. Затем делается «случайный шаг» от локального минимума, т.е. значения торсионных углов меняются произвольным образом при помощи датчика случайных чисел. Если после такого шага энергия соответствующей конформации молекулы меньше заданного значения, то соответствующие значения энергии и торсионных углов также запоминаются. В противном случае торсионные углы принимают прежние значения. После определенного количества таких возвратов начинается поиск нового локального минимума. Для построения проекции гиперповерхности потенциальной энергии множество полученных точек проектируется на плоскость выбираемых двух переменных.

Для построения сечений области притяжения локального минимума энергии перебираются точки конфигурационного пространства вблизи этого минимума, из каждой такой точки производится минимизация. Если после минимизации молекула попадает в данный минимум, то точка принадлежит области притяжения этого минимума.

В данной работе рассчитывались области притяжения правой α -спирали декааланина. В качестве критерия α -спирали использовалось соотношение:

$$d_1^2 + \frac{d_2^2}{4} < 0,4, \quad (11)$$

где d_1^2 – среднее квадратичное отклонение торсионных углов в радианах от соответствующих значений для правой α -спирали, а d_2^2 – среднее квадратичное отклонение расстояния между витками в ангстремах от оптимального значения. Для изучения динамики процесса разрушения правой α -спирали использовалось визуальное наблюдение при помощи комплекса программ ПУМА [19].

Результаты. На рис.1 изображены проекции гиперповерхностей уровней конформационной энергии на плоскость торсионных углов ϕ и ψ второго аминокислотного остатка триаланина. На рис.2 представлены область притяжения правой α -спиральной конформации декааланина в случае, когда в качестве исходных выбирались лишь конформации, полученные при одинаковых вариациях для всех углов ϕ и ψ в мономерных звеньях, а также область притяжения в случае неупорядоченных структур.

Были рассчитаны также сечения области притяжения правой α -спирали декааланина в случае, когда все торсионные углы, кроме двух, отложенных по осям, имеют значения, оптимальные для α -спирали. Типичное сечение области притяжения в этом случае изображено на рис. 3 (жирная линия). Типичная область притяжения правой α -спирали в случае, когда все углы, кроме тех, которые отложены по осям, имеют значения вблизи границы области притяжения для неупорядоченных структур, ограничена пунктирной линией на рис. 3. Сплошной линией на рис.3 отмечены границы области притяжения правой α -спирали в случае, когда все углы, кроме тех, которые отложены по осям, имеют значения на расстоянии около $1/3$ от границы области притяжения, ограниченной пунктирной линией на рис. 2. Рис. 4 иллюстрирует этапы разрушения α -спиральной конформации декааланина в вакууме при 700 К.

Обсуждение результатов и выводы. При низкой температуре в конфигурационном пространстве триаланина имеется единственная классически доступная или «разрешенная» область (рис.1). При повышении температуры (т.е. энергии молекулы) «разрешенных» областей становится больше, открываются новые пути для перемещения фигуративной точки в конфигурационном пространстве. При относительно низких температурах фигуративная точка перемещается по одной



Рис.1. Проекция гиперповерхностей уровней конформационной энергии триаланина на плоскость торсионных углов ϕ и ψ второго аминокислотного остатка при эффективных температурах 80, 330, 1500 K

из «разрешенных» областей конфигурационного пространства. Однако переход между соответствующими подпространствами невозможен. При дальнейшем повышении температуры между разрешенными областями возникает мостик, обеспечивающий соответствующий конформационный переход. Даже при высоких температурах область вблизи точки $(0^\circ, 0^\circ)$ остается запрещенной в связи со стерическими затруднениями. Наиболее глубокий минимум на карте триаланина находится в области, соответствующей α -спирали, хотя триаланин является коротким пептидом и не может образовать полноценного витка α -спирали. По-видимому, стабилизация правой α -спиральной конформации в вакууме осу-

ществляется не только водородными связями между витками, но и ван-дер-ваальсовыми и электростатическими взаимодействиями внутри витков α -спирали.

Строение области притяжения правой α -спирали декаланина характеризуется протяженными областями (или долинами), вытянутыми в направлениях, определяемых одинаковыми вариациями углов ϕ и ψ в нескольких мономерных звеньях (рис. 2). Сравнение набора различных проекций областей притяжения правой α -спирали показывает, что данная область имеет весьма сложную геометрию (рис. 2–3). Область притяжения правой α -спирали в конфигурационном пространстве вытянута в долины или трубки, попав в которые, система неизбежно сворачивается в α -спираль.

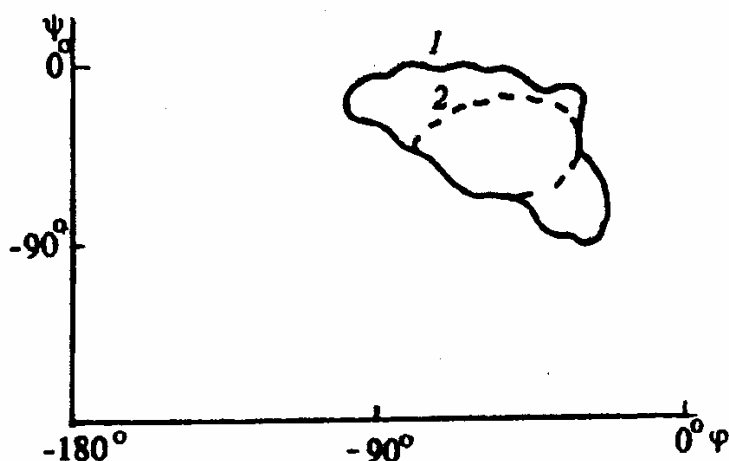


Рис.2. Области притяжения правой α -спиральной конформации декаланина в вакууме. Сплошной линией (1) отмечена область притяжения в случае, когда в качестве исходных выбирались конформации, полученные при одинаковых вариациях для всех углов ϕ и ψ в мономерных звеньях. Пунктирной линией (2) ограничена область притяжения α -спиральной конформации при случайной вариации торсионных углов

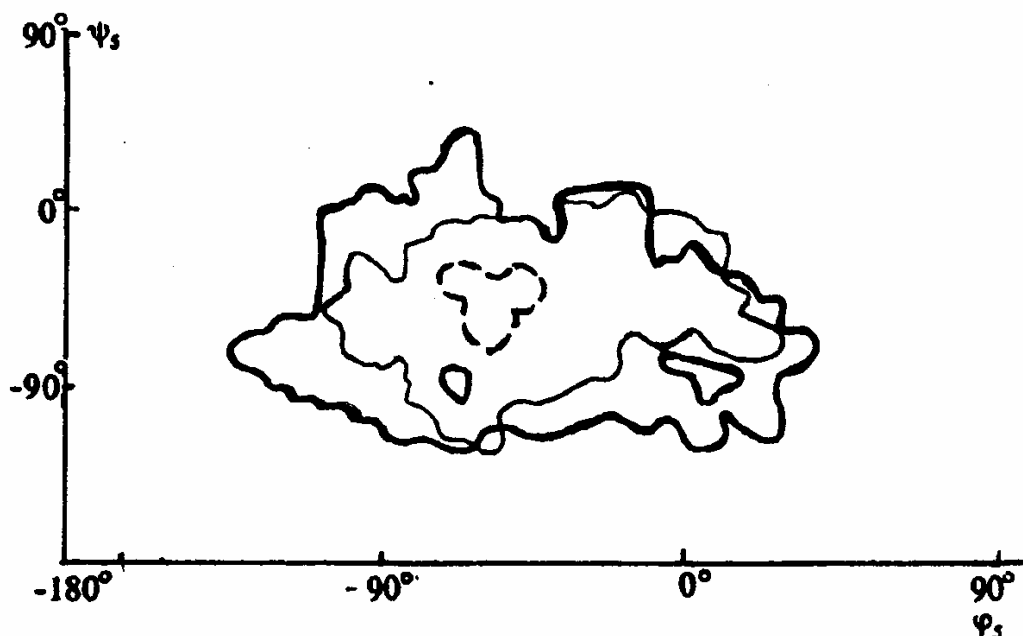


Рис.3. Области притяжения правой α -спиральной конформации декааланина в вакууме. Жирной линией отмечена область притяжения в случае, когда все торсионные углы, кроме двух (ϕ_3 и ψ_3), отложенных по осям, имеют значения, оптимальные для α -спирали; сплошной линией – когда не показанные на рисунке углы в окрестности области притяжения имеют случайные значения, лежащие в среднем на $1/3$ радиуса области притяжения (рис.2,2). Пунктирной линией ограничена область притяжения в случае, когда все углы, кроме двух, имеют случайные значения вблизи границы области притяжения, отвечающей неупорядоченной структуре (рис.2,2)

Этот результат интересен с точки зрения механизмов и динамики сворачивания полипептидной цепи. Фактически, речь идет о том, что, по-видимому, имеется, как минимум, два механизма образования α -спирали для короткого пептида. Первый связан с попаданием фигуративной точки при случайном блуждании в конфигурационном пространстве олигопептида в очень узкую область (рис.2). Второй механизм связан с существенно более быстрым и эффективным процессом сворачивания из весьма обширной группы специально приготовленных состояний. Размерность множества этих состояний меньше, чем размерность конфигурационного пространства. Однако если система блуждая пересекает вышеозначенную гиперповерхность (рис.2), то она, фактически, попадает в ущелье,

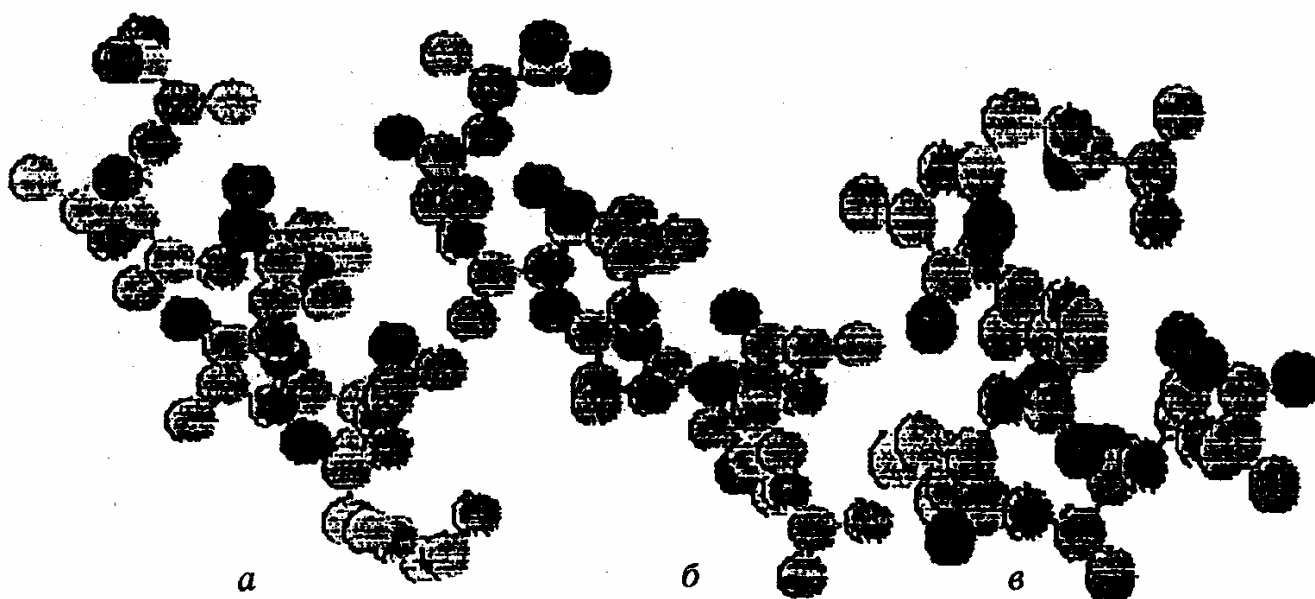


Рис.4. Стадии разрушения правой α -спиральной конформации декааланина в вакууме: а – исходная α -спиральная конформация, б – «расплавленное» состояние, в – необратимо разрушенная α -спираль

ведущее к правой α -спирали. Этот результат коррелирует с расчетами сворачивания модельной полипептидной цепи [20], в которых показано, что преодоление парадокса Левинталя возможно за счет перехода системы в относительно обширное множество состояний, из которых быстро и однозначно формируется нативная конформация.

Выводы о сложном строении области притяжения правой α -спирали подтверждаются также результатами моделирования динамики разрушения этой структуры. Моделирование внутренней подвижности декаланина в вакууме показало, что разрушение α -спирали происходит следующим образом: вначале происходит плавление (рис.4,а,б). На этой стадии молекула сохраняет вытянутую спиральную форму и процесс разрушения еще обратим. Затем происходит необратимая стадия – резкий излом структуры и образование новых водородных связей (рис.4,в).

Расчет сечения области притяжения в случае, когда все торсионные углы, кроме двух, имеют значения, оптимальные для α -спирали, показал, что в вакууме α -спираль значительно более устойчива на «излом», чем на «расплавление» (рис.3, жирная линия). Область притяжения также достаточно велика в случае, когда все углы, кроме двух, имеют значения вблизи границы области притяжения α -спирали (рис.3, сплошная линия). Следовательно, одновременный «излом» и «расплавление» α -спирали практически не усиливают разрушающее действие друг друга.

Таким образом, необратимое разрушение α -спирали происходит при образовании водородных связей, не свойственных α -спиральной конформации. При этом молекула попадает в новый локальный минимум потенциальной энергии. Следовательно, для окончательного разрушения α -спиральной конформации необходимо, чтобы произошел ее «излом». Молекула декаланина в вакууме достаточно устойчива на «излом» и для его осуществления молекула должна преодолеть энергетический барьер. Этот барьер имеет две составляющие, связанные с энергиями водородных связей и напряжением торсионных углов. Стабильность системы водородных связей в α -спирали связана с их кооперативностью: разрыв одной из водородных связей сопровождается разрушением еще нескольких соседних. Пока водородные связи не разрушены, значения торсионных углов не могут значительно измениться из-за геометрических ограничений. С другой стороны, даже если водородные связи разрушены, α -спиральная конформация стабилизируется за счет торсионных взаимодействий. Поэтому для разрушения α -спирали необходимо, чтобы вначале произошло ее «расплавление». При этом водородные связи между витками частично разрушаются, изменяется расстояние между витками (при увеличении длины водородной связи на 1 Å ее энергия уменьшается примерно в семь раз). α -Спиральная конформация на этом этапе стабилизируется, как уже отмечалось, за счет энергий торсионных углов. Если температура системы достаточно велика, то такое расплавленное состояние является достаточно вероятным и становится возможным изменение значений хотя бы нескольких торсионных углов, вследствие чего и происходит «излом» α -спирали. Затем быстро образуются новые водородные связи, что фактически означает завершение процесса необратимого разрушения α -спиральной конформации.

В заключение авторы выражают благодарность Российскому фонду фундаментальных исследований и Сибирскому торговому банку за финансовую поддержку (грант № 95-04-12197а). Авторы признательны также Н.К.Балабаеву за содействие в проведении молекулярно-динамических расчетов и участникам семинара кафедры биофизики Биологического факультета МГУ за полезные обсуждения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Волькенштейн М.В. Биофизика. М.: Наука, 1988. 591 с.

2. Блюменфельд Л.А. Проблемы биологической физики. М.: Наука, 1977. 336 с.
3. Рубин А.Б. Биофизика. М.: Высшая школа, 1987. Т.1. 320 с.
4. Шайтан К.В. // Биофизика. 1994. Т.39. С.949.
5. Brooks C.L., Karplus M., Pettitt B.M. Proteins: A Theoretical Perspective of Dynamics, Structure and Thermodynamics. Adv.chem.phys. V.71/Eds. I.Prigogine, S.A.Rice. N.Y.: J.Wiley & Sons, 1988. 259 с.
6. Brooks B.R., Brucoleri R.E., Olafson B.D., States D.J., Swaminathan S., Karplus M. // J.Computational Chemistry. 1983. V.4, №2. P.187.
7. Балабаев Н.К., Лемак А.С., Шайтан К.В. // Молекуляр. биология. 1996. Т.30, №6.
8. Mazur A.K., Abagyan R.A. //J. Biomol. Struct. Dyn. 1989. V.6. P.833.
9. Шайтан К.В. // Молекуляр. биология. 1994. Т.28. С.670.
10. Шайтан К.В. // Там же. 1992. Т.26. С.264.
11. Ermolaeva M.D., Shaitan K.V. // Bioferroelectricity and Related Phenomena. Proc. of the Pushchino workshops. Pushchino, 1995. P.43.
12. Марадудин А. Дефекты и колебательный спектр кристаллов. М.: Мир, 1968. 432 с.
13. Гиббс Дж.В. Основные принципы статистической механики. М.-Л.: ОГИЗ Гостехиздат, 1948. 203 с.
14. Шульц Г., Ширмер Р. Принципы структурной организации белков. М.: Мир, 1982. 354 с.
15. Кантор Ч., Шиммел П. Биофизическая химия. М.: Мир, 1984. Т.1. С.336.
16. Дашевский В.Г. Конформации органических молекул. М.: Химия, 1974.
17. Китайгородский А.И. Конформационные расчеты сложных молекул. Минск, 1970.
18. Gelin B., Karplus M. //Biochemistry. 1979. V.18. P.1256.
19. Балабаев Н.К. и др. PUMA – Комплекс программ моделирования молекулярной динамики биологических макромолекул. Пушкино: НИВЦ АН СССР, 1989.
20. Sall A., Shakhnovich E., Karplus M. // Nature. №369. P.248.

Биологический факультет Московского
государственного университета им. М.В. Ломоносова

Поступила в редакцию
03.03.19

STRUCTURAL FEATURES OF THE HYPERSURFACES OF CONFORMATION ENERGY LEVELS AND THE DYNAMICS OF POLYALANINE

M.D. ERMOLAEVA, K.V. SHAITAN

Biological Department M.V. Lomonosov Moscow State University

The structural features of the hypersurfaces of potential energy levels of tri- and decaalanine are considered. The areas of attraction of the right α -helix in configurational space are studied. The results are considered in connection with the calculations of the molecular dynamics of the disruption of the α -helix.