

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИНАМИКА ОЛИГОПЕПТИДОВ. 4. ДИНАМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЧАСТО И РЕДКО ВСТРЕЧАЮЩИХСЯ ДИПЕПТИДНЫХ ФРАГМЕНТОВ БЕЛКОВ

© 2002 г. К.В. Шайтан, А.А. Беляков

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119899, Москва, Воробьевы горы

Поступила в редакцию 03.10.01 г.

Показано существование определенных различий в динамической организации часто и редко встречающихся дипептидных фрагментов в глобулярных и мембранных белках. Проанализирована частота встречаемости динамически изоморфных и коллективных степеней свободы в этих фрагментах. Проведена топологическая классификация карт уровней свободной энергии для пар углов из основной цепи и боковых остатков.

Ключевые слова: молекулярная динамика, пептиды, энергетическая поверхность, структура белков.

В статье продолжена серия работ по сравнительному изучению относительно простых пептидов методами молекулярной динамики с целью установления основных физико-химических закономерностей или правил, определяющих конформационную подвижность аминокислотных остатков [1–5], развиты и детализированы результаты работы [6], в которой были установлены статистические закономерности встречаемости пар аминокислотных остатков в различных группах белков.

Имеющиеся предпочтения в совместной встречаемости аминокислотных остатков в белках [6] могут быть определенным образом связаны с рельефом гиперповерхности потенциальной энергии полипептидной цепи. Существование особенностей такого рельефа для определенных последовательностей природных аминокислотных остатков отмечалось нами ранее для 20 природных дипептидов [2–5], содержащих глицин. Отличительной особенностью динамического поведения этих структур являлось формирование определенными двугранными углами нелинейных коллективных мод и существование большого числа динамически изоморфных конформационных степеней свободы. Причем минимальные вариации в химической структуре природных аминокислот в значительной степени изменяют характер взаимодействия и индивидуальное поведение конформационных мод [5]. Складывается впечатление, что в природных аминокислотных ос-

татах характер межатомных взаимодействий и их интенсивности таковы, что формируется достаточно симметричная структура энергетической поверхности [7,8]. Возможно, это имеет какое-то значение для кинетики сворачивания белков в уникальную третичную структуру и для обеспечения достаточной подвижности по функционально значимым степеням свободы в плотной белковой глобуле. В настоящей работе расширен класс изучаемых дипептидов. Рассматривается динамика часто и редко встречающихся дипептидных фрагментов глобулярных и мембранных белков. Как и в предыдущих работах, дипептидные фрагменты в целях исключения краевых эффектов модифицировались с С-конца метиламином, а с N-конца – ацетиллом. Условия расчета молекулярно-динамических траекторий подробно описаны в предыдущих работах. Мы использовали тяжелоатомную модель, потенциалы AMBER84. Одновременно были включены столкновительный термостат и термостат Берендсена со специально подобранными параметрами. Эффективная температура составляла порядка 2500 К. Эти условия обеспечивают хорошие эргодические свойства траекторий длиной 5 нс (шаг интегрирования 1 фс). Отметим, что использование высоких температур является в данном случае чисто математическим приемом, ускоряющим переходы через потенциальные барьеры. Это никак не сказывается на стабильности молекулы, так как использование параболических по-

Таблица 1. Часто и редко встречающиеся пары аминокислот в глобулярных и мембранных белках

Пары аминокислот	Частота встречаемости пар аминокислот	
	Гидрофильные белки	Гидрофобные белки
QQ	+1,37	+2,49
NW	+1,22	+1,58
AA	+1,25	+1,36
EE	+1,26	+1,60
SS	+1,21	+1,37
RH	+1,28	+1,24
YC	+1,31	+1,28
MM	+1,35	+1,32
EF	-1,25	-1,75
HN	-1,25	-1,50
DH	-1,35	-1,35
TK	-1,39	-1,33
PC	-1,64	-1,34
CN	-1,76	-1,29

тенциалов для валентных связей делает невозможным процесс диссоциации.

Часто и редко встречающиеся дипептидные фрагменты белков определяли следующим образом. В качестве исходного материала использовали две выборки первичных структур из банка SwissProt. Первая выборка формировалась из гидрофобных, преимущественно мембранных белков, вторая из гидрофильных цитоплазматических белков. При отборе белков близкие гомологи включали лишь однажды. Последовательности аминокислот сканировались от N-конца к С-концу с шагом в одну аминокислоту. В результате получались матрицы относительных частот встречаемости аминокислотных пар [6]. Относительная частота встречаемости определяется как отношение час-

тоты встречаемости пары к произведению частот встречаемости каждой из аминокислот. В табл. 1 приведены две серии дипептидов: пары, встречающиеся наиболее часто среди первых 40 пар как в гидрофильных, так и в гидрофобных белках, и пары, встречающиеся наиболее редко среди последних 40 пар в обеих группах. Знак «минус» в табл. 1 означает, что для получения значения частоты встречаемости нужно возвести модуль значения, приведенного в таблице, в степень -1 .

Отметим, что рекордсменами по относительной частоте встречаемости в мембранных белках являются пары CC (+2,87), HH (+2,63). В глобулярных – CH (+1,50), HW (+1,49). Наиболее редко в мембранных белках встречаются пары EF и CP (–1,75), FK (–1,73). Соответственно в глобулярных – CN (–1,76), PC (–1,64) и EC (–1,62). Таким образом, максимальное различие в относительных частотах встречаемости составляет порядка 5 (для пар CC в гидрофобных белках и CN – в гидрофильных) [6].

Расчет молекулярной динамики дипептидов проводился при постоянной температуре, которая поддерживалась специально подобранным термостатом, использующим столкновительную виртуальную среду и берендсеновское трение [9,10]. Необходимость использования столкновительной динамики [10] связана с тем, что применение только метода Берендсена [9], использующего нелинейное знакопеременное трение, на траекториях длиной уже в несколько сотен пикосекунд выводит систему в динамический режим, в котором наблюдается резко неравновесное распределение энергии по степеням свободы [1,10]. В реальных системах движение торсионных углов активируется в значительной мере вследствие перераспределения энергии при столкновениях с молекулами среды. Столкновительный термостат позволяет моделировать этот процесс путем введения виртуальных частиц с определенной массой, заданной частотой столкновений с атомами молекулы и максвелловским распределением по скоростям [10–12]. В данной работе было установлено, что хорошая эргодичность траекторий при длине 5 нс с включенным термостатом Берендсена достигается при частоте соударений с виртуальными частицами столкновительного термостата 100 ударов в пикосекунду на атом и температуре 2500 К.

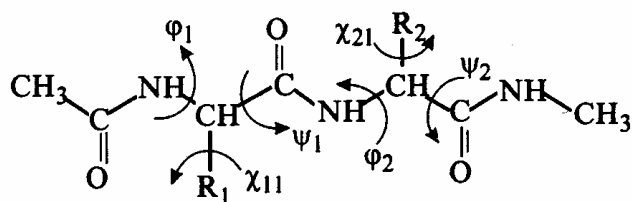


Рис. 1. Структура модифицированного дипептида и обозначения торсионных углов.

Таблица 2. Группы динамического изоморфизма торсионных углов

	φ_1	ψ_1	φ_2	ψ_2	χ_{11}	χ_{21}
Часто встречающиеся фрагменты						
AA	2	1	1	1		
EE	1	4	4	3	4	4
MM	2	2	3	2	4	3
NW	3	4	4	3	4	6
QQ	2	1	2	2	3	3
RH	3	5	5	1	4	5
SS	1	1	1	2	2	1
YC	3	2	2	2	6	2
Редко встречающиеся фрагменты						
CN	2	2	3	1	3	4
DH	3	2	3	2	4	5
EF	1	3	3	1	4	5
HN	3	3	3	2	5	4
PC	2	1	3	2	1	2
TK	4	3	3	1	7	3

Для всех дипептидов, приведенных в табл. 1 и 2, были рассчитаны серии автокорреляционных функций торсионных углов φ_1 , φ_2 , ψ_1 , ψ_2 , χ_{11} , χ_{21} и кросскорреляционные функции для пар углов, которые брались в виде [2–5]:

$$f(\tau) = \int_{t=0}^{T-\tau} \exp(i(x(t) - x(t+\tau))) \times \exp(-i(y(t) - y(t+\tau))) dt - \int_{t=0}^{T-\tau} \exp(i(x(t) - x(t+\tau))) \times \exp(-i(y(t) - y(t+\tau))) dt, \quad (1)$$

где x и y – значения торсионных углов; T – длина траектории. Обозначения двугранных углов ясны из рис. 1. На графиках, если не оговорено особо, изображаются вещественные части корреляционных функций (1).

Сравнительный анализ автокорреляционных функций выявляет, как и в случае дипептидов, содержащих глицин, динамически изоморфные степени свободы, поведение которых совпадает друг с другом с высокой степенью точности (рис. 2,3).

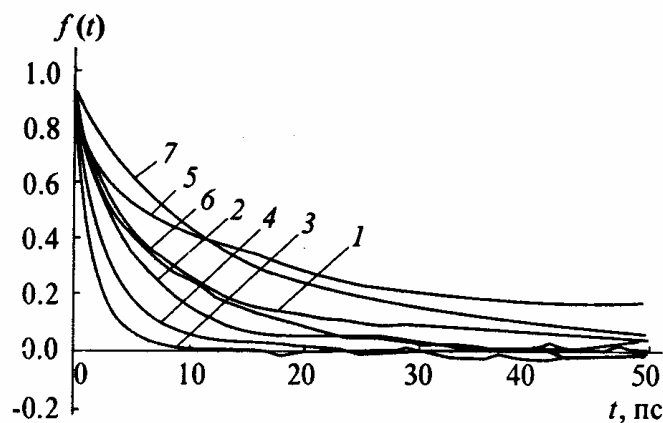


Рис. 2. Характерные типы автокорреляционных функций торсионных углов. Номера кривых соответствуют данным, представленным в табл. 2. Показаны примеры углов в дипептидах: 1 – $RH\psi_2$; 2 – $PC\psi_2$; 3 – $CN\chi_{11}$; 4 – $HN\chi_{21}$; 5 – $RH\phi_2$; 6 – $YC\chi_{11}$; 7 – $TK\chi_{11}$.

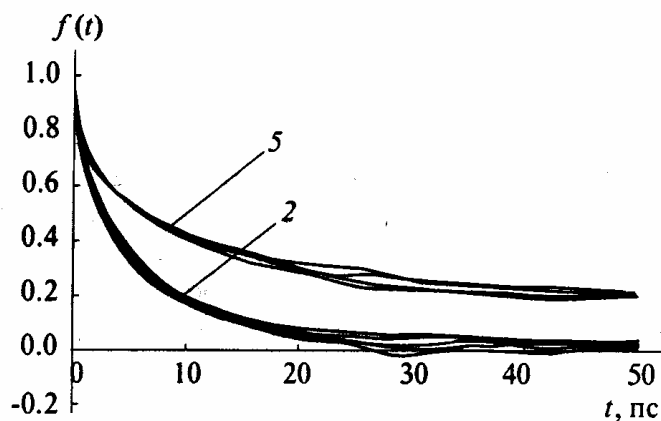


Рис. 3. Примеры динамического изоморфизма для торсионных углов. Выбраны автокорреляционные функции типа 2 (углы $MM\psi_2$, $QQ\phi_1$, $SS\chi_{11}$, $YC\psi_1$, $CN\phi_1$, $DH\psi_2$) и типа 5 (углы $RH\psi_1$, $RH\phi_2$, $EF\chi_{21}$, $HN\chi_{11}$).

В табл. 2 приведена классификация динамически изоморфных двугранных углов в часто и редко встречающихся дипептидных фрагментах. Каждой цифрой обозначен отдельный динамически изоморфный тип. Этот результат подтверждает высказанную ранее гипотезу о динамической симметрии природных аминокислотных остатков [2–5]. Обращает внимание практически двукратное превышение средней частоты встречаемости автокорреляционных функций типа «3» для редких пар по сравнению с часто встречающимися парами. Наоборот, для часто встречающихся пар средняя частота

Таблица 3. Кросскорреляции торсионных углов в дипептидах

	$\varphi_1-\chi_{11}$	$\psi_1-\chi_{11}$	$\varphi_2-\chi_{21}$	$\psi_2-\chi_{21}$
Часто встречающиеся фрагменты				
EE	+	+	-	+
MM	+	-	-	-
NW	+	-	+	+
QQ	-	-	+	-
RH	+	+	+	-
SS	+	-	+	-
YC	+	+	-	-
Редко встречающиеся фрагменты				
CN	-	+	+	-
DH	-	-	+	+
EF	-	-	+	+
HN	-	+	-	-
PC	-	-	-	-
TK	+	+	-	+

встречаемости автокорреляционных функций вида «4» значительно выше. Существенные различия есть и в средней частоте встречаемости автокорреляционных функций типов «5», «6» и «7». Различия по средней частоте встречаемости «1» и «2» для часто и редко встречающихся пар лежат в пределах 15–20%.

Очень высокая степень динамического изоморфизма в редко встречающихся димерах наблюдается для угла φ_2 . Напомним, что в димерах, где первым остатком (с N-конца) являлся глицин, аналогичная ситуация наблюдалась для угла φ_1 [3,5].

Отметим также, что характерные времена корреляций двугранных углов в часто встречающихся парах в среднем выше, чем в редко встречающихся. Т.е. дипептиды, встречающиеся часто в основных последовательностях, несколько дольше «помнят» свои динамические состояния. Это, по-видимому, может указывать на более регулярный характер устройства энергетической поверхности для этих дипептидов.

Анализ кросскорреляционных функций обнаруживает также существенные различия между часто и редко встречающимися дипептидными фрагментами. В часто встречающихся парах имеется корреляции по углам $\varphi_1-\chi_{11}$, как

и для большинства дипептидов, содержащих глицин [2–5]. В редко встречающихся парах такая корреляция обычно отсутствует (табл. 3). По остальным углам нет особых закономерностей по наличию кросскорреляций в обеих группах. Однако среднее число коллективных степеней свободы (т.е. попарно скоррелированных углов) в часто встречающихся дипептидных фрагментах примерно на 30% больше, чем в редко встречающихся. Это подтверждает ранее сделанный вывод о более регулярном устройстве энергетической поверхности в более часто встречающихся парах.

Обращает также внимание преобладающая корреляция в часто встречающихся дипептидных фрагментах между двугранными углами с автокорреляционными функциями типа «3» и «4» и преобладающее отсутствие корреляции в аналогичных случаях в редко встречающихся фрагментах. Наблюдается также преобладающее отсутствие кросскорреляции между двугранными углами с автокорреляционными функциями типа «2» и «3» в обеих группах дипептидных фрагментов, а также наличие корреляции между степенями свободы типа «3» и «5» в редко встречающихся фрагментах.

Сравнительный анализ строения соответствующих областей энергетической поверхности проводится далее с использованием метода карт уровней свободной энергии или двумерной плотности вероятности реализации состояний с фиксированными парами двугранных углов [1–5]. Данный метод использует идеи анализа стохастической динамики с помощью сечений Пуанкаре [13].

Двумерные плотности вероятности вычисляются из траектории следующим образом:

$$P(\alpha_n, \alpha_m) = \int \dots \int P(\alpha_1, \dots, \alpha_i, \dots, \alpha_N) \prod d\alpha_i (i \neq n, m), \quad (2)$$

где α_i – набор динамических переменных; $P(\alpha_1, \dots, \alpha_i, \dots, \alpha_N)$ – плотность вероятности обнаружить систему в заданной точке конфигурационного пространства. Интеграл (2) представляет собой статистическую сумму молекулы с фиксированными значениями обобщенных координат α_n и α_m . Следовательно, $F = -k_B T \ln P(\alpha_n, \alpha_m)$ – с точностью до аддитивной постоянной есть свободная энергия молекулы при соответствующих фиксированных значениях координат [14]. В зависимости от условий, налагаемых на систему при вычисле-

нии траектории (постоянные температура и давление или – температура и объем), смысл величины свободной энергии меняется соответствующим образом. Множество значений переменных (α_n, α_m), соответствующих постоянным значениям $P(\alpha_n, \alpha_m)$, образуют карту уровней свободной энергии молекулы (или сечения Пуанкаре). Отметим, что эти карты отличаются от привычных карт Рамачандрана и карт уровней потенциальной энергии, так как включают в себя и энергетические и энтропийные характеристики соответствующих областей конфигурационного пространства.

Ниже проведен анализ карт уровней поверхностей свободной энергии с целью выявления связей между наличием кросскорреляций в динамике углов и особенностями структуры энергетических поверхностей. Из результатов анализа следует, что необходимым условием наличия кросскорреляций является существование узких перешейков между локусами – минимумами свободной энергии (рис. 4–8). Кроме того, следует иметь ввиду следующее. Перешеек, значительно расширяющийся при не слишком

высоких значениях энергии, приводит к смазыванию кросскорреляций. Если глубина соседних локусов существенно превышает глубину перешейка, то это также не способствует заметной кросскорреляции при относительно низких температурах. Физически это вполне понятно, так как вклад в кросскорреляционные функции вносят траектории со значительным одновременным изменением обоих углов.

Анализ всей совокупности карт уровней свободной энергии показывает, что имеется относительно небольшое число топологически разных типов карт, которым могут быть сопоставлены определенные символы (иероглифы) с той же топологией. В табл. 4 приведены соответствующие топологические типы с указанием частоты встречаемости для различных групп дипептидных фрагментов. Следует иметь ввиду, что топологический тип карты в принципе может меняться при изменении уровня энергии (температуры). В данной работе эффективная температура составляла 2500 К, при которой большинство конформационных степеней свободы в достаточной степени расторможены. Поэтому приведенные в таблице топологические типы карт отражают общее, не слишком

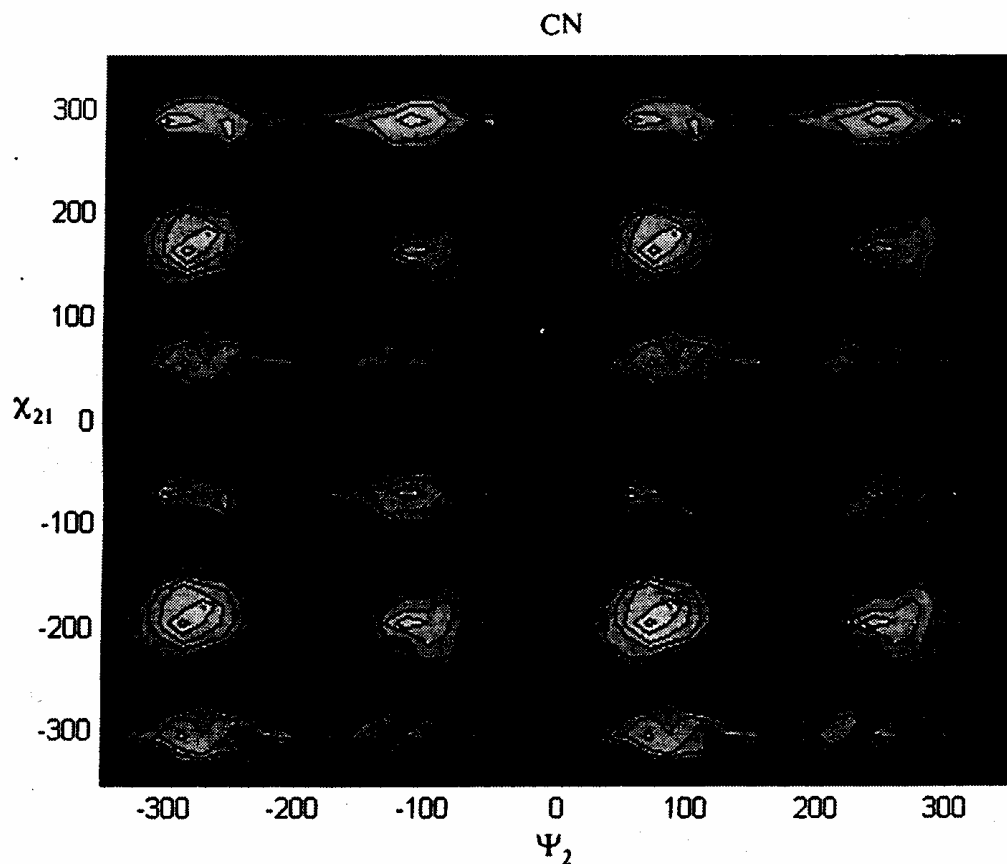


Рис. 4. Карта уровней поверхности свободной энергии цистеиласпарагина. Редко встречающийся фрагмент. Топологический тип О. Кросскорреляция отсутствует. Типы автокорреляционных функций 1 и 4 для углов Ψ_2 и χ_{21} соответственно.

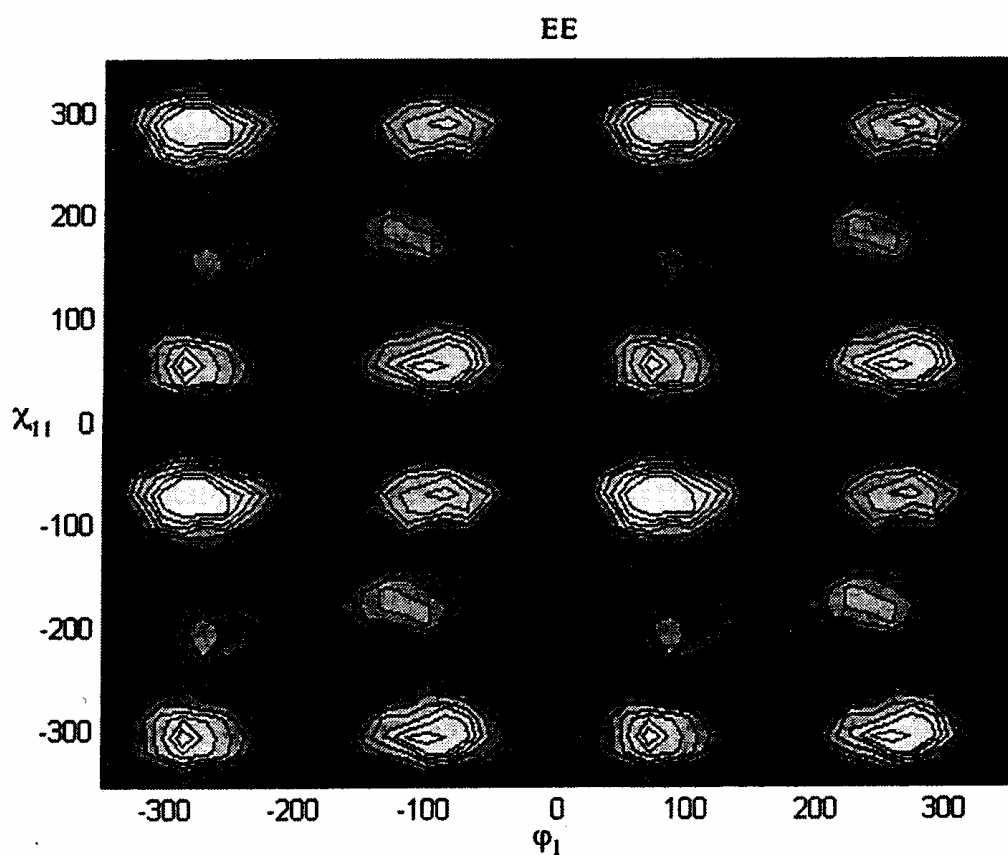


Рис. 5. Карта уровней поверхности свободной энергии глутамилглутамата. Часто встречающийся фрагмент. Топологический тип Н. Имеется кросскорреляция. Типы автокорреляционных функций 1 и 4 для углов ϕ_1 и χ_{11} .

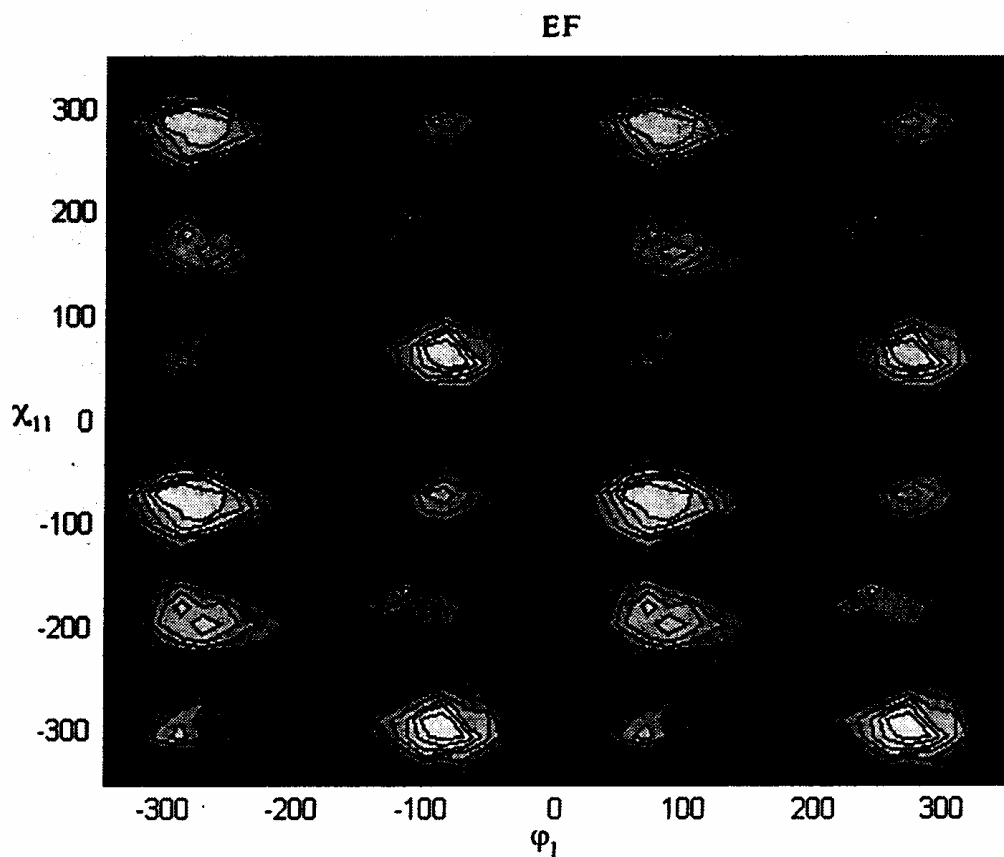


Рис. 6. Карта уровней поверхности свободной энергии глутамилфенилаланина. Редко встречающийся фрагмент. Топологический тип Н. Кросскорреляция отсутствует. Типы автокорреляционных функций 1 и 4 для углов ϕ_1 и χ_{11} .

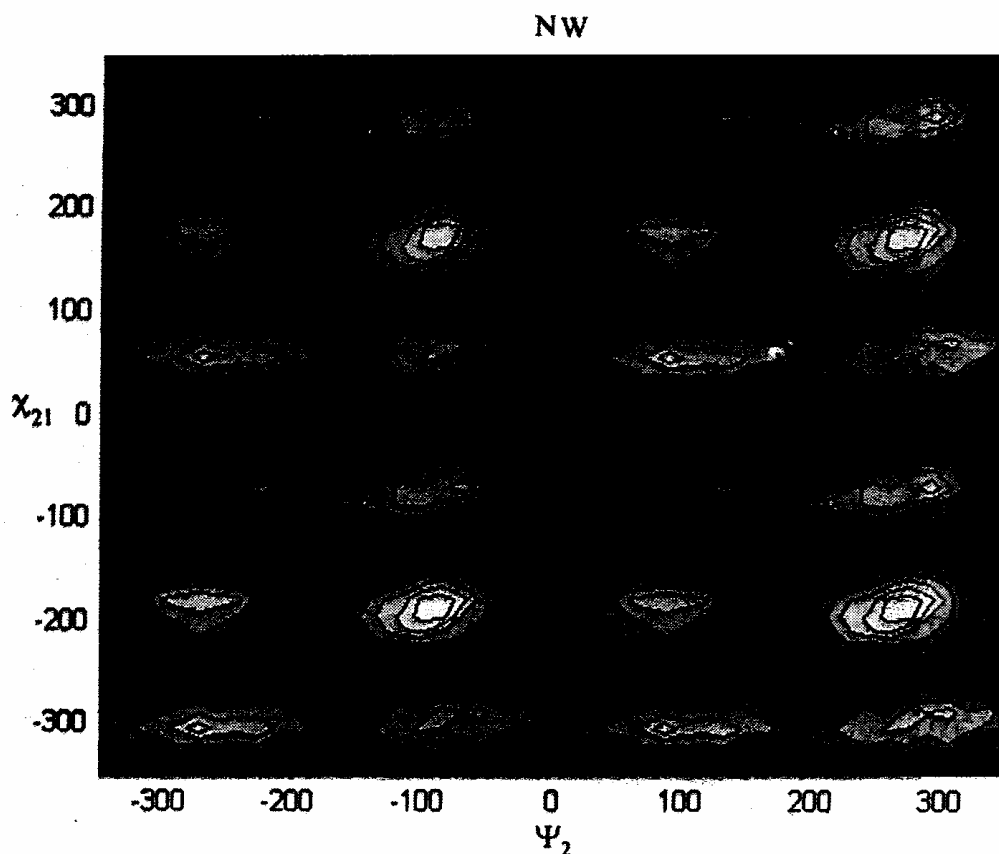


Рис. 7. Карта уровней поверхности свободной энергии аспарагилтриптофана. Часто встречающийся фрагмент. Топологический тип G. Имеется кросскорреляция. Типы автокорреляционных функций 3 и 6 для углов ψ_2 и χ_{21} .

детализированное, строение соответствующих участков энергетической поверхности. Отметим также, что топологический тип карты непосредственно не связан с наличием динамической корреляции данной пары углов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ВЫВОДЫ

Существование предпочтений парной встречаемости ряда аминокислотных остатков друг с другом в различных классах белков коррелирует и с динамическим поведением соответствующих дипептидов. Т.е. особенности устройства энергетической поверхности дипептидных фрагментов, по-видимому, влияют на вероятность использования этих «заготовок» в белковых структурах.

На выборке часто и редко встречающихся дипептидных фрагментов белков, так же как и для дипептидов, содержащих в качестве первого остатка глицин, наблюдается обнаруженный нами ранее динамический изоморфизм, обусловленный, по-видимому, геометрически подобным устройством соответствующих участков энерге-

Таблица 4. Топологические типы карт уровней свободной энергии

	$\Phi_1-\chi_1$	$\Psi_1-\chi_1$	$\Phi_2-\chi_2$	$\Psi_2-\chi_2$
Часто встречающиеся				
EE	H	H	H	H
MM	H	H ₀	H	H ₀
NW	H	O	H	G
QQ	H	H ₀	H	O
RH	Z	H ₀	H	O
SS	H	G	H	G
YC	H	H	H	O
Редко встречающиеся				
CN	H	O	H	O
DH	H	Z	H	O
EF	H	H	H	H ₀
HN	H	O	H	O
PC	*	*	H	O
TK	**	**	Z	H ₀

Примечание. Символ H₀ означает топологический тип H, сдвинутый на карте по фазе на 180° к центру; * и ** – особые типы карт, отвечающие значительной локализации углов и обусловленные особенностями химического строения пролина и треонина.

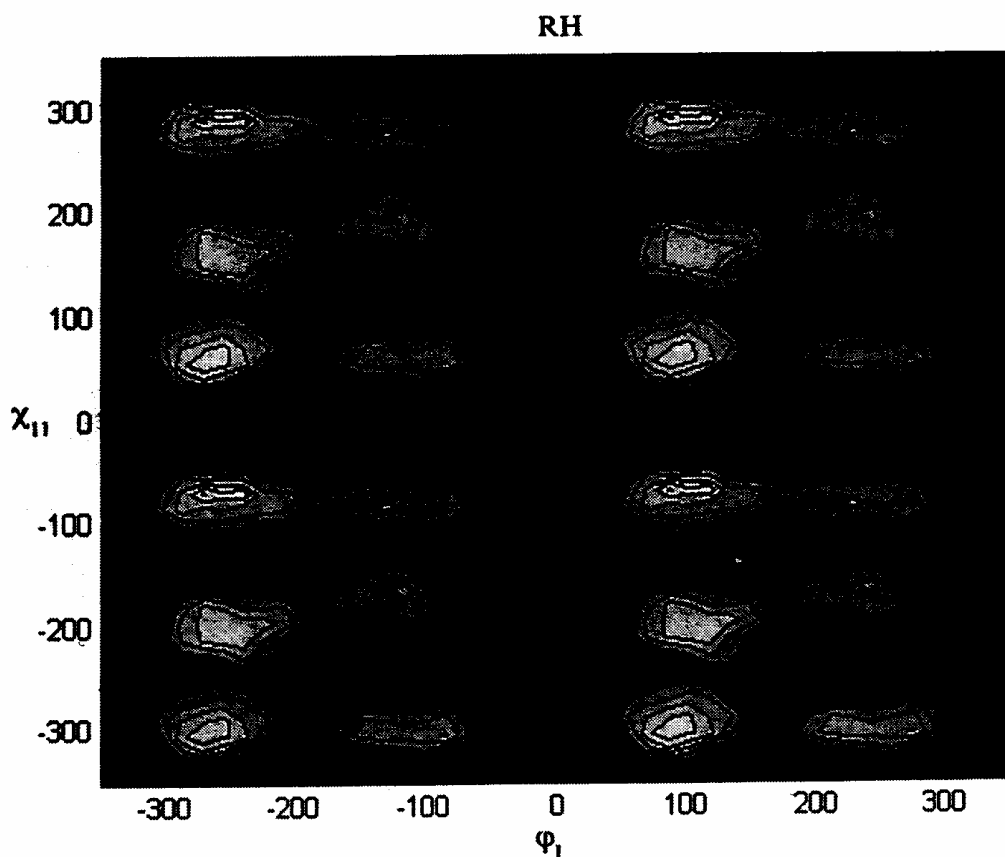


Рис. 8. Карта уровней поверхности свободной энергии аргинилгистидина. Часто встречающийся фрагмент. Топологический тип Z. Имеется кросскорреляция. Типы автокорреляционных функций 3 и 4 для углов φ_1 и χ_{11} соответственно.

тической поверхности. Причем частота встречаемости различных типов динамически изоморфных степеней свободы существенно различна для часто и редко встречающихся дипептидных фрагментов. Это также указывает на корреляцию между определенными особенностями строения энергетической поверхности дипептидов с частотой их встречаемости в белковых структурах. Не противоречат этому и систематически большие времена автокорреляций углов главной цепи в часто встречающихся дипептидных фрагментах по сравнению с редко встречающимися. С этими же обстоятельствами связаны, по-видимому, и определенные различия между динамическими корреляциями двугранных углов в часто и редко встречающихся дипептидных фрагментах. Так, например, для пары углов φ_1 - χ_{11} в часто встречающихся парах характерно наличие кросскорреляций, для редко встречающихся – ее отсутствие.

На множестве карт уровней свободной энергии для пар углов основной цепи и ближайшего угла боковой цепи (χ_1) наблюдается лишь не-

сколько (5–6) топологических типов. Наиболее распространенный тип – Н. Это свидетельствует также о достаточно симметричном устройстве гиперповерхности потенциальной энергии рассматриваемых молекул. Отметим, что топологический тип G не был обнаружен на картах свободной энергии для редко встречающихся дипептидных фрагментов. Наличие динамической кросскорреляции между двугранными углами не связано напрямую с топологическим типом карты уровней. Здесь наиболее важным обстоятельством является наличие выделенных вероятных путей конформационных перестроек с одновременным изменением нескольких углов.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 01-04-49302), Минпромнауки, Правительства Москвы (гранты Москвы 2001 г. №№ 1.1.144 и 1.2.45).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шайтан К.В., Балабаев Н.К., Лемак А.С., Ермолаева М.Д., Ивайкина А.Г., Орлов М.В., Гельфанд Е.В. // Биофизика. 1997. Т. 42. С. 45.

2. Шайтан К.В., Ермолаева М.Д., Балабаев Н.К., Лемак А.С., Орлов М.В. // Биофизика. 1997. Т. 42. С. 547.
3. Шайтан К.В., Ермолаева М.Д., Сарайкин С.С. // Изв. РАН. Сер. физ. 1997. Т. 61. С. 1680.
4. Шайтан К.В., Ермолаева М.Д., Сарайкин С.С. // Биофизика. 1999. Т. 44. С. 14.
5. Shaitan K.V., Ermolaeva M.D., Saraikin S.S. // Ferroelectrics. 2000. V. 220. P. 205.
6. Шайтан К.В., Муковский А.Я., Беляков А.А., Сарайкин С.С. // Биофизика. 2000. Т. 45. С. 389.
7. Шайтан К.В. // Биофизика. 1994. Т. 39. С. 949.
8. Shaitan K.V. // Macromolecular Symp. 1996. V. 106. P. 321.
9. Berendsen H.J.C., Postma J.P.M., van Gunsteren W.F., DiNola A., Haak J.R. // J. Chem. Phys. 1984. V. 81. P. 3684–3690.
10. Lemak A.S., Balabaev N.K. // Molecular Simulation. 1994. V. 13. P. 177.
11. Bercowitz M., McCammon J.A. // Chem. Phys. Lett. 1982. V. 90. P. 215–217.
12. Brooks III C.L., Brunger A., Karplus M. // Biopolymers. 1985. V. 24. P. 843.
13. Лухтенберг А., Либерман М. Регулярная и стохастическая динамика. М.: Мир. 528 с.
14. Гиббс Дж.В. Основные принципы статистической механики. М.-Л.: ОГИЗ Гостехиздат, 1946. 203 с.

Molecular Dynamics of Oligopeptides. 4. The Dynamic Properties of Frequently and Rarely Occurring Dipeptide Fragments of Proteins

K.V. Shaitan and A.A. Belyakov

Lomonosov Moscow State University, Vorob'evy Gory, Moscow, 119899 Russia

The existence of differences in the dynamic organization of frequently and the rarely occurring dipeptide fragments in globular and membrane proteins was shown. The dynamic isomorphism and the collective degrees of freedom in these fragments were analyzed. A topological classification of the maps of the levels of free energy for pairs of dihedral angles of the main chain and side residues was carried out.

Key words: molecular dynamics, peptides, energy surface, protein structure