
Связь стабильности α -спиралей с ее аминокислотным составом

Я. А. Орлов¹ и Н. К. Победин¹

¹Физтех-школа физики и исследований им. Ландау.

Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)

Получено: 15 мая 2024 г.

Keywords and phrases: α -спираль, молекулярная динамика, искусственные белки

1. Введение

Инженеринг белковых структур предоставляет неограниченные возможности для задач молекулярной биологии, а как следствие генетики и медицины. Возможности инженеринга определяются результатами исследований конформации белка. Минимальной структурной единицей конформации являются вторичные структуры и, в частности, α -спиралей.

В работе исследуется связь стабильности α -спиралей с их аминокислотным составом, методами молекулярной динамики. А также проверяются соответствующие результаты приведенные в [1].

2. Теоретические сведения

2.1. Понятие о структуре белков

Белки — это и молекулярные машины, и строительные блоки, и оружие живой клетки. Важнейшая и почти монопольная функция белков — ферментативный катализ химических превращений в клетке и вокруг нее.

При всем разнообразии, работа белков всегда базируется на высоко специфическом — как у ключа с замком (точнее: как у гибкого ключа с гибким замком) — взаимодействии белка с обрабатываемой им молекулой. Для этого взаимодействия необходима достаточно «твёрдая» (во всяком случае, у «работающего белка») пространственная структура. Поэтому биологическая функция белков (как и других важнейших для жизни макромолекул — ДНК и РНК) тесно связана с определенностью их трехмерных структур. Не только разрушение — даже небольшие изменения этих структур часто ведут к утере или резкому изменению активности белков. Знание молекулярной трехмерной структуры белка необходимо для понимания функционирования белковой молекулы.

Нековалентные взаимодействия, поддерживающие пространственное строение белка, значительно слабее химических связей, фиксирующих последовательность мономеров — аминокислот в белковой цепи. Эта последовательность — она называется «первичной структурой белка» (рис. 1) — создается в ходе матричного биохимического синтеза согласно «инструкции», записанной в гене.

Архитектуры белков сложны и разнообразны — в противоположность универсальности двойной спирали ДНК. Однако и в белках прослеживается набор «стандартных» структур. В своей работе мы будем исследовать α -спиралей, которые часто изображаются спиральными лентами или цилиндрами (рис. 1)



Рис. 1. α -спираль и β -структур

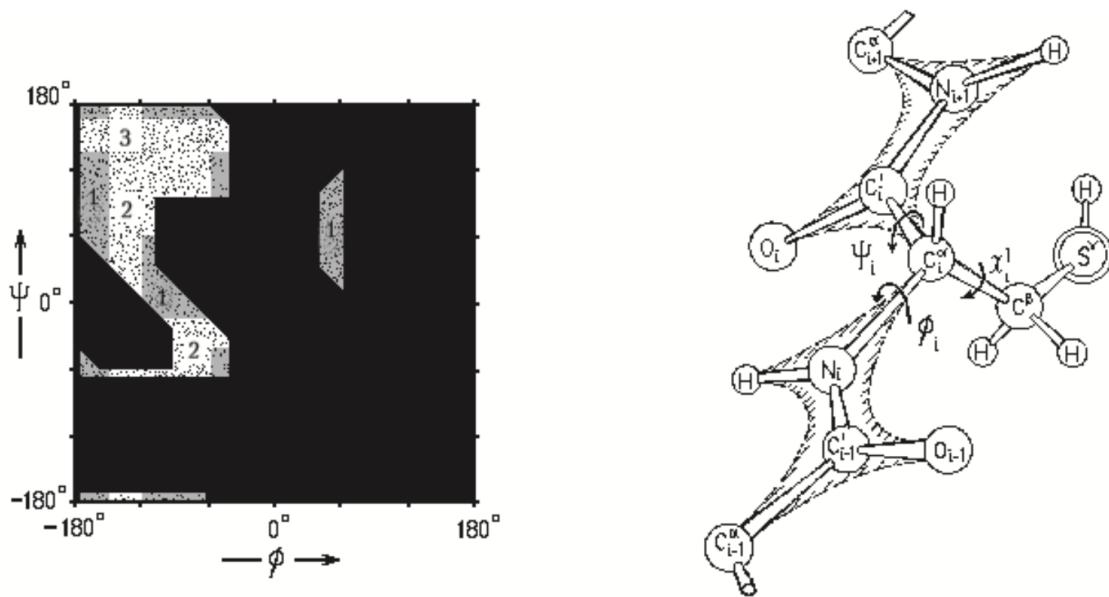


Рис. 2. Карта Рамачандрана для аланина (слева) и двугранные углы описывающие взаимное расположение структурных частей белка (справа)

2.2. Карты Рамачандрана

Аминокислоты связаны между собой пептидными связями С' и N атомов. На рисунке 2 справа изображен полипептид: главная цепь и боковая группа (Ser) на ней. Пептидные группы заштрихованы. Показаны углы внутреннего вращения в главной (ϕ, ψ, ω) и боковой (χ^1) цепях. Индексы $i - 1, i, i + 1$ показывают последовательность аминокислотных остатков в цепи. Стрелки указывают направление вращения ближней к нам части цепи относительно более отдаленной ее части, ведущее к росту угла поворота.

Слева изображена его карта Рамачандрана - изображенные в координатах (ϕ, ψ) запрещенные и разрешенные конформации (то есть положения при повороте на углы ϕ и ψ) остатка.

Рис. 3-5. Карта запрещенных (■) и разрешенных (□, I - точки на белом фоне, II - точки на сером фоне) конформаций крупных остатков при вращении по углам ϕ, ψ в белковой цепи. В области □ разрешены все три ротамера C^γ атома по χ^1 , в области II - 2 ротамера, в области I - 1 ротамер.

2.3. Свойства аминокислотных остатков

Список 20 «стандартных», т. е. кодируемых ДНК-аминокислотных остатков дан в таблице ниже, там же дан их молекулярный вес и встречаемость в белках. Структуры этих аминокислотных остатков представлены на рис. 2.

A.к. ост.	Наличие		Число γ б.гр.	Диполь/заряд	рK	Яркая тенденция быть:							
	NH	C^β				α_N	α_N	α	α_C	α_C	β	в петлях	в в ядре
Gly	+	-						-			-	+	
Ala	+	+						+				-	
Pro	-	+	1					+	-	-	-	+	
Glu	+	+	1	$COOH \Rightarrow CO_2^-$	4,3	+	+	-	-	-	-		-
Asp	+	+	1	$COOH \Rightarrow CO_2^-$	3,9	+	+	-	-	-	-	+	-
Gln	+	+	1	$OCNH_2$									-
Asn	+	+	1	$OCNH_2^2$		+		-		+	-	+	-
Ser	+	+	1	OH		+						+	-
His	+	+	1	$NH; \text{ и } N \Rightarrow NH^+$	6,5		-		+	+			
Lys	+	+	1	$NH_2 \Rightarrow NH_3^+$	10,5	-	-		+	+	-		-
Arg	+	+	1	$HNC(NH_2)_2^3 +$	12,5	-	-		+	+	-	+	-
Thr	+	+	2	OH		+					+		
Ile	+	+	2								+	-	+
Val	+	+	2								+	-	+
Leu	+	+	1					+		+	-	+	
Met	+	+	1					+		+	-	+	
Phe	+	+	1							+	-	+	
Tyr	+	+	1	$OH \Rightarrow O^-$	10,1		-		+			+	
Cys	+	+	1	$SH \Rightarrow S^-$	9,2		-		+			+	
Trp	+	+	1	NH						+		+	

Таблица 1. Основные структурные свойства аминокислотных остатков

Попробуем понять основные закономерности этой таблицы, исходя из того, что мы уже изучили. При этом мы будем использовать следующую логику: так как белок в целом стабилен, он должен в основном состоять из стабильных элементов, т.е. именно они должны наблюдаться в его структуре чаще всего, а нестабильные должны наблюдаться редко.

Почему пролин не любит вторичной структуры? Потому, что у него уменьшена возможность завязывать водородные связи, а именно на них и держится вторичная структура. Почему он, тем не менее, любит N-конец спирали? Потому, что здесь, в водородные связи, и здесь пролину нечего терять... С другой стороны, угол φ в пролине фиксирован его кольцом примерно при -60° , т. е. его конформация уже почти «готова» для α -спирали (рис. 10-2а).

Почему глицин не любит вторичной структуры и предпочитает нерегулярные участки («клубок»)? Потому, что для него допустима очень широкая область углов ($\varphi\psi$) на карте

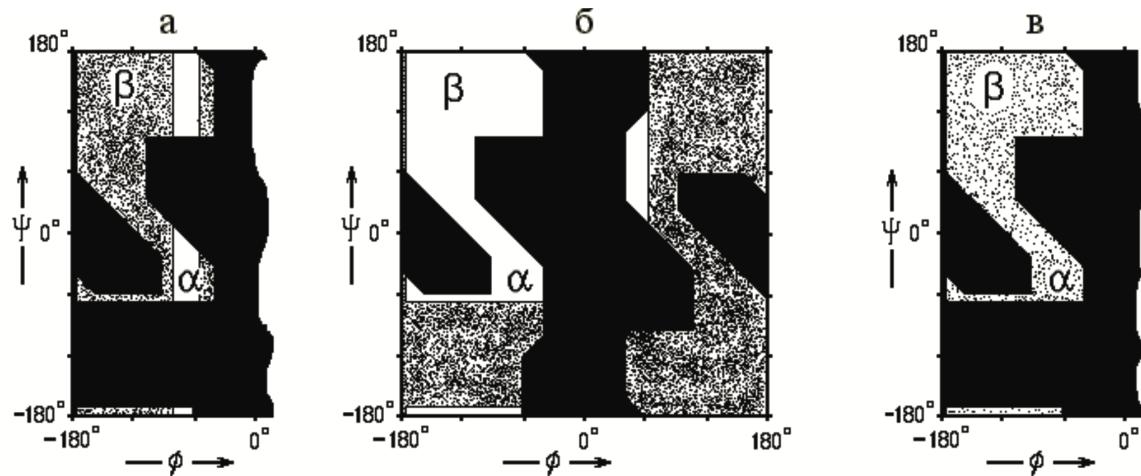


Рис. 3. Запрещенные и разрешенные конформации различных аминокислотных остатков и - на их фоне - конформации α - и β -структур. (а) Разрешенные для пролина конформации (□) на фоне конформаций, разрешенных для аланина (I - точки на белом фоне); ■ - конформации, запрещенные для них обоих. (б) Разрешенные конформации аланина (□) на фоне конформаций I, разрешенных лишь для глицина; ■ - области, запрещенные для всех остатков. (в) Карта запрещенных (■) и разрешенных (□, I) конформации боковой группы по углу χ^1 , в области I часть углов χ^1 запрещена

Рамачандрана (рис. 10-2б), ему легко принимать самые разнообразные конформации, лежащие вне вторичной структуры.

Наоборот, аланин - с более узкой, но включающей и α - и β -конформацию разрешенной областью на карте Рамачандрана (рис. 10-2б) - предпочитает нерегулярным конформациям α -спираль (и отчасти β -структуре).

Остальные гидрофобные остатки (т.е. остатки без зарядов и диполей в боковой цепи) предпочитают, как правило, β -структуре. Почему? Потому, что их крупные γ -атомы могут там располагаться более свободно (рис. 10-2в). Особенно это важно для боковых групп с двумя крупными γ -атомами.

А вот аминокислоты с полярными группами в боковых цепях предпочитают поверхностные нерегулярные участки («клубок»), где эти полярные группы могут завязать водородные связи как с полипептидной цепью, так и с водой. Особенно заметна эта тенденция для наиболее полярных, заряженных при «нормальном» pH7 остатков, и для самых коротких (см. рис. 10-1) полярных боковых цепей, с наиболее приближенными к главной цепи полярными группами. Кстати, по той же причине, поскольку у них там есть возможность завязать дополнительную водородную связь, короткие полярные боковые группы любят места у обоих концов спирали.

Некое исключение среди аминокислот с диполями в боковой цепи составляют триптофан и тирозин, имеющие маленький диполь на фоне большой гидрофобной части, и цистеин, у которого (т.е. у SH-группы которого) водородные связи совсем слабые. Они ведут себя, в общем, так же, как гидрофобные остатки.

Мы видим также, что отрицательно заряженные боковые группы предпочитают N-конец спирали (точнее: N-концевой виток и один-два остатка перед ним) и не любят C-концевой виток (и пару остатков за ним), а положительно заряженные - предпочитают C-конец спирали и не любят ее N-конец. Почему? Потому, что на N-конце из спирали торчат NH-группы и на нем образуется заметный положительный заряд, и «минусы» боковых цепей притягиваются к

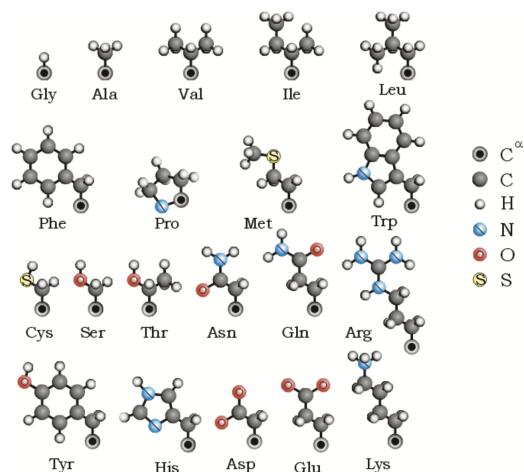


Рис. 4. Протеиногенные аминокислоты

нему, а «плюсы» отталкиваются от него. А С-конец спирали заряжен, наоборот, отрицательно, и там эффект противоположен: около С-конца любят собираться «плюсы» боковых цепей, а «минусы» его избегают.

Что касается расположения остатков внутри белка или на его поверхности, здесь общая тенденция заключается в том, что полярные (гидрофильные) боковые группы находятся снаружи, где они могут контактировать с полярной же водой («подобное растворяется в подобном»!). Отрываться от воды полярным группам плохо - теряются водородные связи. Особенно плохо отрываться заряженным группам: переход из среды с высокой диэлектрической проницаемостью (из воды) в среду с низкой (ядро белка) ведет к большому повышению свободной энергии. И действительно, ионизированных групп внутри белка практически нет (а почти все исключения связаны либо с координационными связями с ионом металла, либо с активными центрами, ради которых, собственно, белок и создан...).

Наоборот, большинство гидрофобных боковых групп находятся внутри белка - они-то и создают здесь гидрофобное ядро (опять: «подобное растворяется в подобном»!). Мы уже говорили, что гидрофобность группы тем больше, чем больше ее неполярная поверхность: именно ее нужно упрятать от воды. Для чисто неполярных групп гидрофобный эффект прямо пропорционален их поверхности, а для групп с полярными вкраплениями - их поверхности за вычетом поверхности этих вкраплений.

Слипание гидрофобных групп - главная движущая сила образования белковой глобулы. Главная, но не единственная - еще есть образование водородных связей во вторичной структуре (о чем мы уже говорили) и образование плотной, квазикристаллической упаковки внутри белка (о чем мы еще поговорим в свое время).

Для создания гидрофобного ядра белковой цепью она должна входить в него с уже насыщенными водородными связями - ведь иначе ее полярным пептидным группам от воды придется оторваться, а разрыв водородной связи дорог. Поэтому в гидрофобное ядро вовлекается цепь, уже образовавшая (или образующая при этом) вторичную структуру и тем самым насытившая водородные связи пептидных групп в главной цепи. Однако при этом в ядро должны увлекаться только гидрофобные остатки вторичной структуры, а входящие в нее полярные остатки должны остаться вне ядра, потому и на α -спиралях, и на β -структурных участках выделяются гидрофобные и гидрофильные поверхности; для их создания необходимо определенное чередование соответствующих групп в белковой цепи.

Все закономерности, о которых мы сейчас говорили, используются как для конструирования искусственных белков, так и для предсказания - по аминокислотным последовательностям - вторичной структуры белков, а также для предсказаний тех участков их цепи, что глубоко погружены в белок, или, наоборот, тех участков, что лежат на поверхности белка.

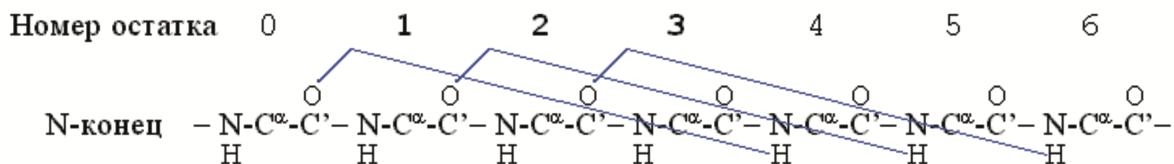


Рис. 5. Топологическая структура α -спирали

2.4. Стабильность α -спирали

Первая водородная связь в α -спирале $(CO)_0 - (HN)_4$ фиксирует конформации трех остатков - 1, 2, 3; следующая водородная связь $(CO)_1 - (HN)_5$ дополнительно фиксирует конформацию только одного остатка - остатка 4 ; связь $(CO)_2 - (HN)_6$ дополнительно фиксирует остаток 5 , и т. д.

Значит, если в спирали фиксировано n остатков, то их фиксирует $n - 2$ водородные связи. Рассмотрим свободную энергию образования такой спирали из клубка в водном окружении («клубок» - это полимер без фиксированной структуры и без взаимодействия дальних по цепи звеньев). Эту свободную энергию можно записать как

$$\Delta F_\alpha = F_\alpha - F_{\text{kJv}\delta_\alpha} = (n-2)f_H - nTS_\alpha = -2f_H + n(f_H - TS_\alpha). \quad (1)$$

Здесь f_{H} - свободная энергия образования водородной связи и сопутствующих ей взаимодействий в α -спирале (вы помните, что f_{H} – не просто энергия, как было бы в вакууме: в ней входит и энергия, и энтропия перестроек водородных связей в водном окружении), а S_{α} - потеря энтропии при фиксации одного остатка в спирали.

Вы видите, что в ΔF_α есть два члена. Один ($-2f_H$) не зависит от длины спирали; величина

$$f_{\text{init}} = -2f_H \quad (2)$$

традиционно называется свободной энергией инициации спирали (на самом деле, f_{init} - суммарная свободная энергия обеих границ спирали с клубком; она учитывает и инициацию, и терминацию спирали). Другой член, $n(f_h - TS_\alpha)$, прямо пропорционален длине спирали; величина

$$f_{\text{el}} = (f_{\text{H}} - TS_{\alpha}) \quad (3)$$

называется свободной энергией элонгации спирали на один остаток. В общем виде

$$\Delta F_\alpha = f_{\text{init}} + n f_{\text{el}} . \quad (4)$$

При этом отношение вероятности чисто спирального состояния цепи из n остатков к ее же чисто клубковому (и начисто лишенному спиральных примесей) состоянию, равно

$$\exp(-\Delta F_\alpha/kT) = \exp(-f_{\text{init}}/kT) [\exp(-f_{\text{el}}/kT)]^n = \sigma s^n. \quad (5)$$

Здесь используются общепринятые обозначения:

- фактор элонгации спирали: $s = \exp(-f_{\text{el}}/kT)$;
 - фактор инициации спирали: $\sigma = \exp(-f_{\text{init}}/kT)$.

Ясно, что $\sigma \ll 1$, так как $\sigma = \exp(-f_{\text{init}}/kT) = \exp(+2f_{\text{H}}/kT)$; а свободная энергия водородной связи - большая отрицательная величина, порядка нескольких kT .

Величина $\exp(-\Delta F_\alpha/kT) = \sigma s^n$ — это просто константа равновесия n звеньев.

Выясним вопрос о том, как образуется спираль при изменении условий среды (температуры, растворителя и т. д.) - фазовым переходом или постепенно? Понапачу кажется, что такая отличная от клубка структура, как спираль, должна «вымораживаться» из него путем фазового перехода — как лед из воды... Однако на этот счет есть теорема Ландау, которая гласит, что в системе, где обе фазы одномерны, — фазовый переход первого рода невозможен.

"Одномерность" означает, что свободная энергия (или по сути размер границы раздела) не зависит размера кусков фаз. Соответственно в трехмерной системе существование двух

разных фаз энергетически не выгодно, а в одномерной выгодно. Поэтому в одномерной системе фазы перемешиваются.

Найдем характерную длину n_0 спирального участка в середине перехода спираль-клубок

Рассмотрим цепь из N звеньев при температуре «середины перехода», где спираль и клубок имеют равную свободную энергию, т. е. $f_{el} = 0$. При этом свободная энергия элонгации спирали (а равно и клубка) - ноль, ее инициации - f_{init} , а число возможных положений спирали в цепи из N звеньев - порядка $N^2/2$ (она может начинаться и кончаться в любом месте при единственном условии, что ее длина - не менее трех остатков); и ни расположение спирали в цепи, ни ее длина (при $f_{el} = 0$) не влияют на ее свободную энергию. Для получения качественной оценки пренебрежем мелочами (цифрами) по сравнению с главным (буквами). Итак: размещений спирали - порядка N^2 , т. е. их энтропия - $k \cdot 2 \ln(N)$, а полная свободная энергия внедрения куска новой фазы (спирали с флюктуирующими концами) в цепь длины N - примерно $f_{init} - 2kT \ln(N)$. Если она, эта свободная энергия, больше нуля - новая фаза не внедрится; если она меньше нуля - новая фаза может внедриться, и даже неоднократно. Значит, смешение клубковой и спиральной фаз начинается в кусках длины $N \sim n_0$, а величина n_0 получается из уравнения $f_{init} - 2kT \ln(n_0) = 0$. Итак: характерная длина кусков спирали и клубка в середине перехода

$$n_0 = \exp(+f_{init}/2kT) = \sigma^{-1/2} \quad (6)$$

Наконец, зная n_0 , можно вычислить f_{init} и σ . Для большинства аминокислот $n_0 \approx 30$, $f_{init} \approx 4$ ккал/моль, и $\sigma \approx 0,001$.

Теперь мы можем найти свободную энергию образования водородной связи (вкупе со всеми сопутствующими образованию H-связи в α -спирале взаимодействиями): согласно (2), $f_H = -f_{init}/2 \approx -2$ ккал/моль. Можно найти и конформационную энтропию, теряемую при фиксации одного звена в α -спирале: согласно формуле (3), при $f_{el} = 0$, $TS_\alpha = f_H \approx -2$ ккал/моль.

Оба параметра стабильности спирали - и f_{el}^α , и f_{init} - зависят от температуры, но по-настоящему сильно влияет на стабильность спирали именно отклонение величины f_{el} от 0. Дело в том, что в спирали, состоящей из $\sim n_0$ звеньев, это отклонение умножается на большое число n_0 и уже в таком виде входит в свободную энергию спирали. Когда величина $f_{el} n_0/kT$ составляет порядка +1 (более точная оценка: $f_{el} n_0/kT = +2$), спиральность практически исчезает, а когда $f_{el} n_0/kT = -2$ - практически исчезает клубок.

Стабильность α -спиралей обычно падает с ростом температуры и с добавлением полярных денатурантов и растет с добавлением слабополярных растворителей.

Для измерения влияния отдельных аминокислотных остатков на стабильность спиралей сейчас чаще всего используются короткие (длиной $\sim n_0$ или менее) полипептиды. В них может образоваться только одна спираль, и оценить влияние каждой аминокислотной замены на спиральность здесь наиболее просто.

3. Методы

В работе рассмотрены α -спиралы, состоящие из 12 аминокислот. Рассмотрение их всех не представляется возможным ($20^{12} = 4 \cdot 10^{15}$ последовательностей), поэтому были взяты только выборочные последовательности.

Трехмерные структуры α -спиралей генерировались с помощью Molefactory, расширения пакета VMD; со встроенными параметрами спирали $\phi = -57^\circ$, $\psi = -47^\circ$.

Молекулярная динамика моделировалась в пакете Gromacs. Использовалось поле сил CHARMM27 и модель воды SPC/E. Далее использовались периодические граничные условия с ячейкой моделирования в виде ромбического додекаэдра (экономит объем моделируемой воды по сравнению с кубической), при этом в процессе моделирования соблюдалось соглашение о том, чтобы расстояние между белковой структурой и ее периодическим изображением превышало расстояние, на котором обнуляется сила.

Система была нейтрализована (белок в нейтральных условиях имеет заряд) с помощью ионов натрия.

Перед началом моделирования система проходила несколько этапов подготовки, первый из них минимизация энергии. На этом этапе система изменялась в направлении действующих в ней сил. Это позволяет понизить начальную потенциальную энергию и уменьшить напряжения в молекуле (которые в действительности возникали из-за неестественной геометрии α -спиралей для некоторых последовательностей), чтобы при начале моделирования эта потенциальная энергия не высвободилась мгновенно в виде температуры, и система не колапсировала. Минимизация проводилась градиентным спуском, пока сила не опускалась до порогового значения в $500\text{кДж}/(\text{моль}\cdot\text{нм})$. При этом энергия опускалась как правило до $10^{-5}\text{ кДж}/(\text{моль}\cdot\text{нм})$.

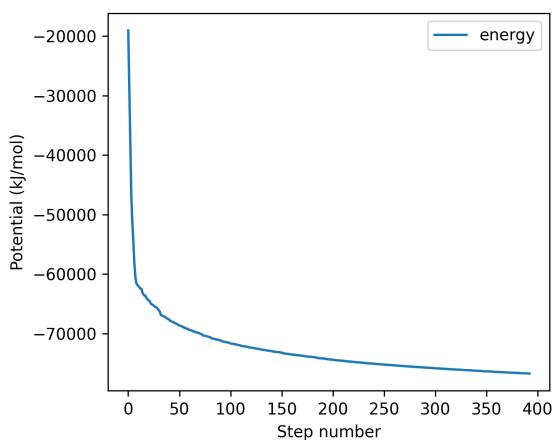


Рис. 7. Потенциальная энергия в процессе ее минимизации

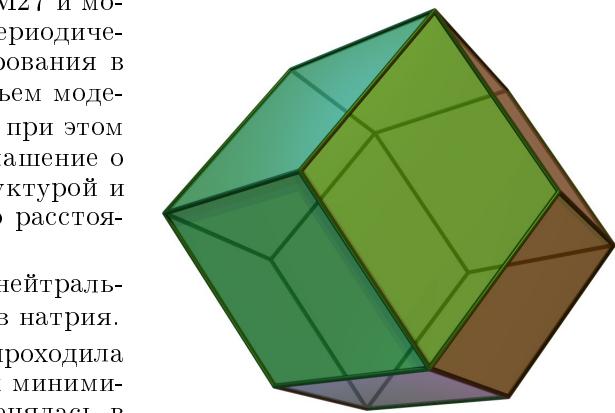


Рис. 6. Ромбический додекаэдр

Далее проводилось уравновешивание с NVT-ансамблем (постоянное число частиц, объем и температура), при этом частицы белка удерживались неподвижными до некоторого порога силы действующей на него. Это позволяло системе прийти в равновесие при заданной температуре. Температура была выбрана 300К. Генерация исходных скоростей частиц производилась в соответствии с распределением Maxwella при этой температуре. Уравновешивание заключалось в моделировании поведения системы с термостатом. Моделирование велось с помощью схемы Leap-frog с шагом 2фс на 50000 шагов (100пс). В качестве термостата был взят термостат Berendsen'a. При этом был достигнуто состояние, при котором температура колебалась не более, чем на 10К, в зависимости от размеров системы.

Далее было проведено уравновешивание с NPT-ансамблем (постоянное число частиц, давление и температура) для того, чтобы подобрать подходящий для системы объем. Аналогично, моделирование длилось 100пс с шагом 2фс. При этом также использовалась схема Leap-frog, а баростат Паренелло-Рахмана. В итоге плотность в системе колебалась на $20\text{г}/\text{см}^3$. Давление при этом было очень нестабильно и колебалось на сотни атмосфер в связи с малым размером системы.

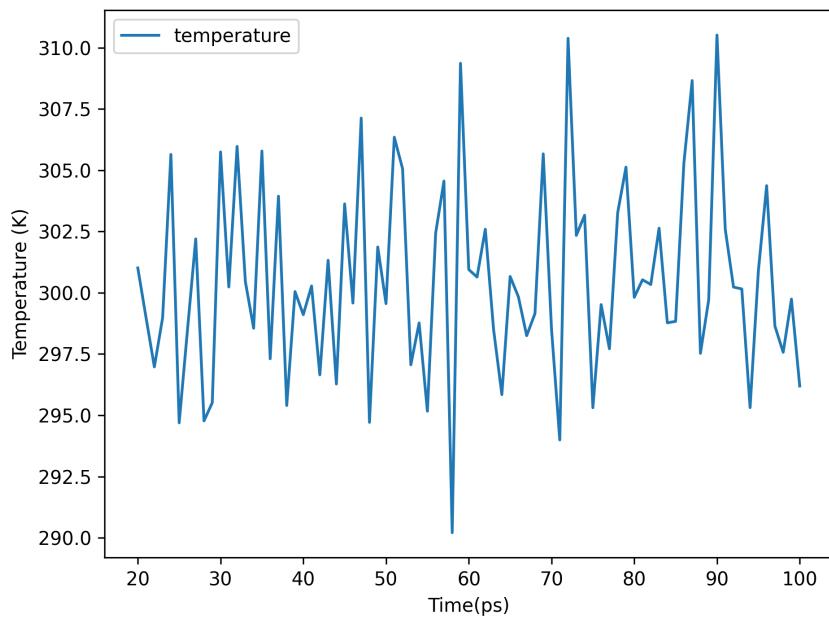


Рис. 8. Температура во время NVT-уравновешивания

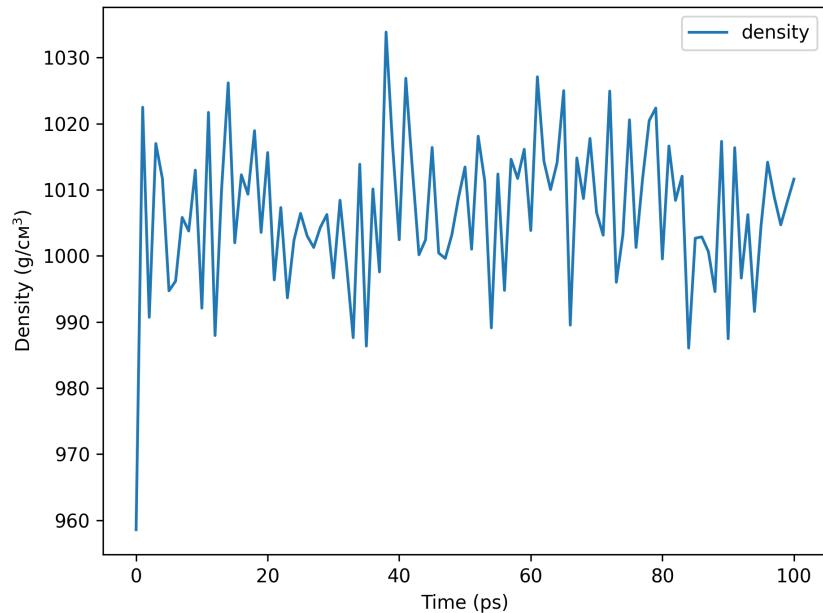


Рис. 9. Плотность во время NPT-уравновешивания

И наконец после этого можно было проводить моделирование. Оно также велось с помощью схемы Leap-frog с шагом 2фс на 4нс. Такое большое время моделирования было доступно благодаря очень небольшому размеру белка.

Траектория частиц рассматривалась с помощью VMD. Анализ макропараметров проводился с помощью встроенных инструментов Gromacs, таких как rms для нахождения среднеквадратичного отклонения атомов от исходной “идеальной” структуры α -спирали, gyrate для определения радиуса гиляции и hbond для подсчета водородных связей белка.

4. Результаты

4.1. Спирали из одной аминокислоты

В первую очередь было проведено моделирование спиралей состоящих из одного типа аминокислоты (см. Приложение). Все из них кроме содержащих глицин и пролин качественно сохранили свою структуру α -спиралей. Причем пролин потерял структуру ещё на этапе минимизации энергии, что предсказуемо, так как в альфа спирале он находится очень далеко от положения равновесия (в запрещенной конформации), а также не образует удерживающих спираль водородных связей.

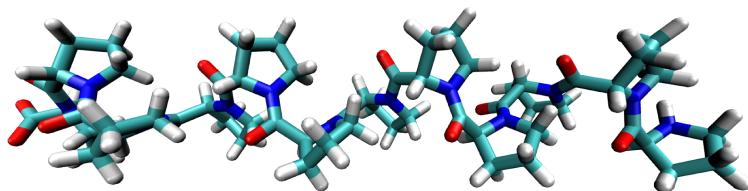


Рис. 10. Структура пролиновой спиралы после минимизации энергии. Значительно отличается от α -спиралей (хоть и выглядит как спираль)

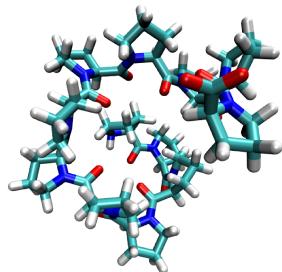


Рис. 11. Структура пролиновой спиралы после молекулярного моделирования. Образует устойчивую структуру значительно отличную от α -спиралей

Спираль из глицина сохранила структуру после минимизации энергии, однако на этапе моделирования она полностью потеряла какую-либо трехмерную структуру, сохранив разве, что одну петлю α -спирале, удерживаемую водородной связью. Пролиновая же спираль, не имея водородных связей удерживающих ее структуру, в течение моделирования стремилась к новому стабильному состоянию, которое можно описать как макроспираль, делающая полтора витка. Интересно, что полярный кислород пептидных связей направлен внутрь получившегося цилиндра, тогда как полярные группы обычно ориентированы наружу белка,

с другой стороны, в этом нет противоречия, так как полученная спираль очень неплотная, и внутри нее находятся молекулы воды, с которыми полярные группы образуют водородные связи.

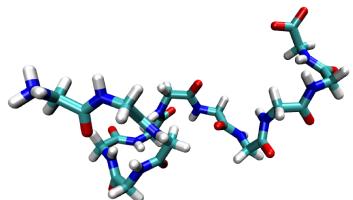


Рис. 12. Структура глициновой спирали после молекулярного моделирования. Не образует устойчивой структуры кроме одного витка α -спиралы, конформация многократно существенно меняется в течение моделирования

α -спиралы из остальных аминокислот были устойчивы. Это находится в кажущемся противоречии с данными Табл. 1, где аспаргин, аспаргиновая кислота, тирозин и цистеин обозначены как имеющие тенденцию не встречаться в α -спиралах. С другой стороны, в таблице содержатся данные не о влиянии аминокислоты на стабильность, а о встречаемости, то есть даже стабильная α -спираль может не встречаться в белках, например, потому что она состоит из полярных аминокислот, нахождение которых в ядре белка значительно повышает энергию системы, а вторичная структура, как правило, формирует ядро белка. То есть противоречия в действительности нет.

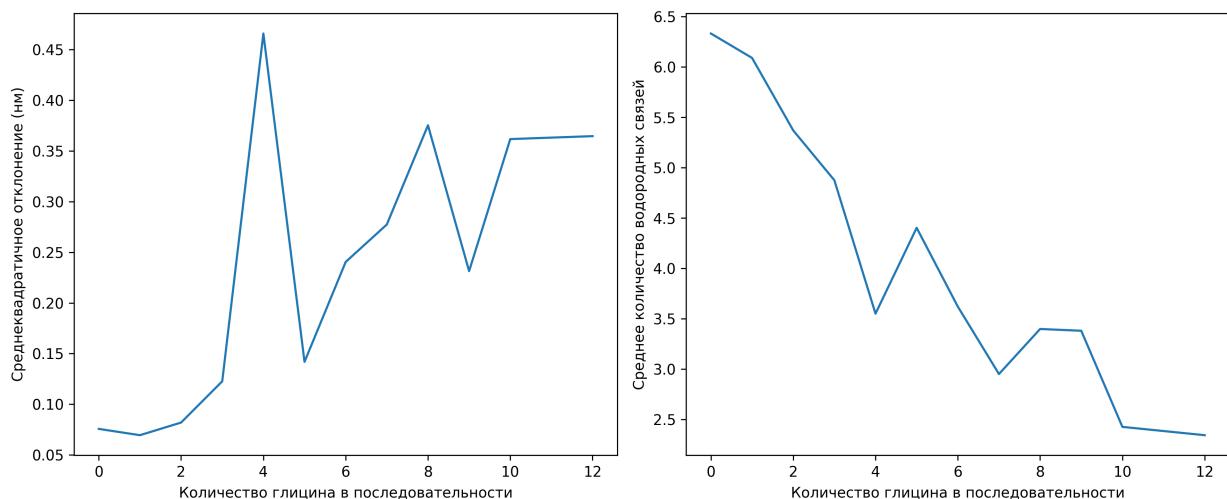


Рис. 13. Зависимость от количества глицина в последовательности среднеквадратичного отклонения структуры от α -спиралы (слева) и среднего количества водородных связей (справа)

Для каждой из них измерялось значение среднеквадратичного отклонения углеродного скелета от его положения в α -спирале (после фильтрования минимизирующего это отклонение),

радиус гирации и количество водородных связей внутри белка (связи с CH-группой не учитыиваются).

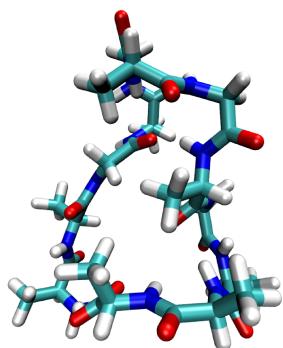


Рис. 14. Структура, которую принимает в течении моделирования последовательность с 4 глицинами

4.2. Влияние глицина на стабильность структуры

За стабильную структуру была взята спираль целиком состоящая из аланина, далее в структуре остатки аланина заменялись глицином. (см. Приложение) Такое моделирование позволяет рассмотреть зависимость стабильности структуры от количества в ней глицина (Рис. 13)

Из графиков видно, что отклонение от α -спирали растет, а количество водородных связей падает с увеличением количества глицина в последовательности. Коэффициент корреляции для первого составляет 0.702, для второго равен -0.936, что подтверждает предположение о том, что глицин дестабилизирует структуру α -спирали.

Кроме того, на первом графике можно видеть выброс при четырех глицинах в цепи, причем на втором графике он значительно менее выражен. Его можно связать с тем, что при таком взаимном расположении аминокислот у цепи появляется более стабильная конформация, которую белок принимает в течении моделирования (Рис. 14).

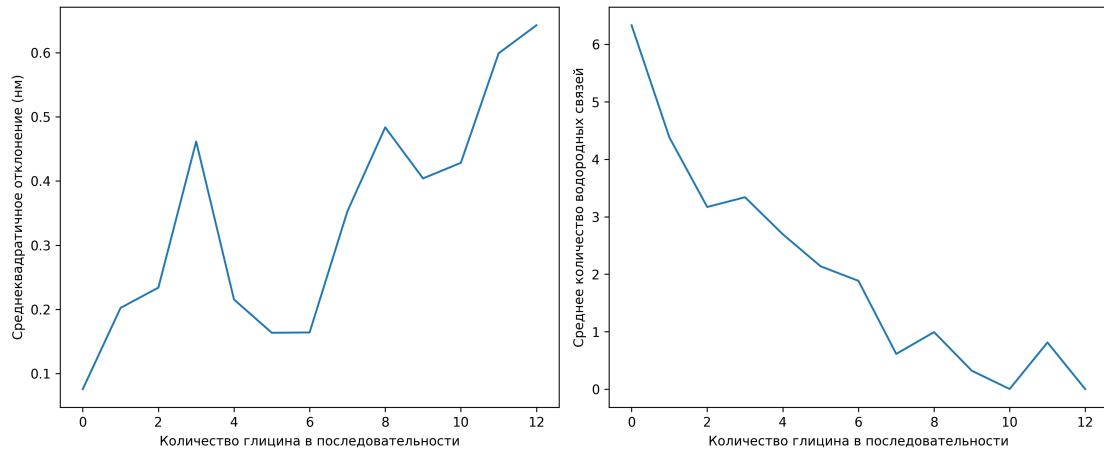


Рис. 15. Зависимость от количества пролина в последовательности среднеквадратичного отклонения структуры от α -спирали (слева) и среднего количества водородных связей (справа)

4.3. Влияние пролина на стабильность структуры

Аналогичные предыдущему пункту вычисления (см. Приложение) с увеличением количества пролина вместо глицина дали коэффициент корреляции для среднеквадратичного отклонения 0.804, а для количества водородных связей -0.930 , откуда также следует вывод, что пролин действительно дестабилизирует α -спираль.

4.4. Проверка данных о влиянии аминокислот на стабильность структуры

В первую очередь для проверки данных Табл. 1, были смоделированы ещё 10 спиралей (см. Приложение). Далее для всем последовательностям смоделированным на этот момент были сопоставлены числа характеризующие их стабильность по следующему правилу: начальное значение числа равно 0, далее если первая аминокислота помечена как сильно стабилизирующая (выделенный плюс), то к счету добавляется 3, если слабо стабилизирующая, то добавляется 1, если слабо дестабилизирующая, вычитается 1 и, если сильно дестабилизирующая, вычитается 3. Хотя данный метод не может дать точных численных значений (так же как и данные в таблице), он может качественно описать корректность данных в ней.

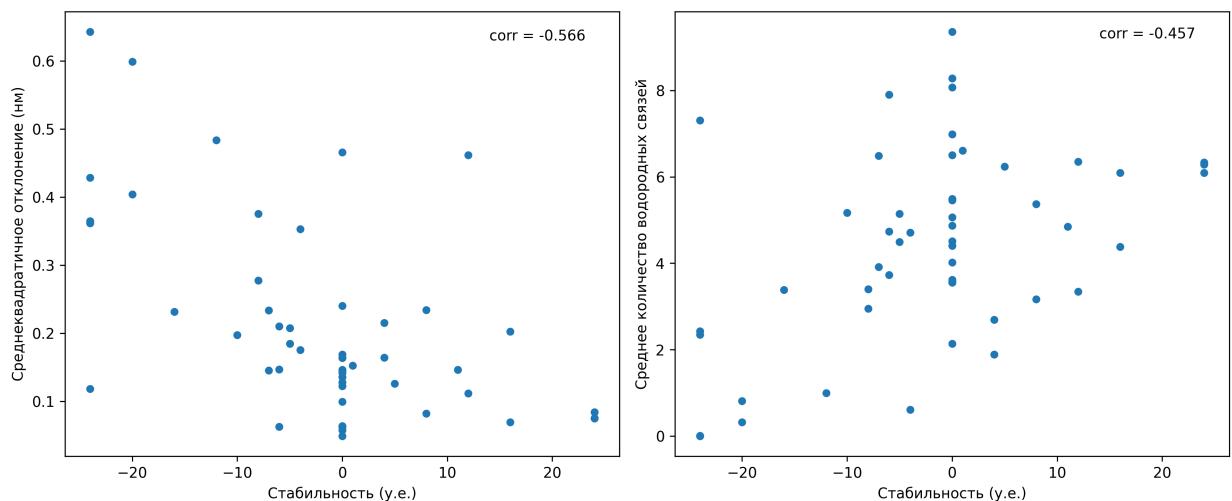


Рис. 16. Зависимость среднеквадратичного отклонения (слева) и среднего количества водородных связей (справа) от числа характеризующего стабильность структуры.

Полученные зависимости представлены на Рис. 16, коэффициенты корреляции среднеквадратичного отклонения и среднего количества водородных связей со стабильностью -0.566 и -0.457 соответственно. Это показывает, что Табл. 1 действительно позволяет предсказывать стабильность, но лишь очень приближенно и на качественном уровне.

5. Выводы

В работе с помощью молекулярной динамики на качественном уровне исследована зависимость стабильности α -спиралей от аминокислотного состава. Показано, что глицин и пролин как и было предсказано дестабилизируют структуру α -спирали. Также показано, что 1 действительно позволяет предсказать стабильность α -спирали, но только на качественном уровне (что и требовалось ожидать от таблицы не содержащей численных данных).

Список литературы

- Финкельштейн А. В., Птицын О. Б. Физика белка: курс лекций с цветными и стереоскопическими иллюстрациями и задачами. — 3-е изд., испр. и доп. — М.: коДУ, 2012. — 456 с., [32] с. ил.: ил.

6. Приложение

	Последовательность	Ср-кв. откл., нм	H -связи, шт.	Стабильность, у.е.
1	ggggggggggggg	0.365	2.342	-24
2	aaaaaaaaaaaaa	0.076	6.332	24
3	rrrrrrrrrrrr	0.062	6.505	0
4	nnnnnnnnnnnnn	0.118	7.305	-24
5	dddddddddddd	0.063	7.905	-6
6	ccccccccccccc	0.147	3.73	-6
7	eeeeeeeeeeeeee	0.058	8.283	0
8	hhhhhhhhhhh	0.169	5.46	0
9	qqqqqqqqqqqqq	0.049	8.075	0
10	iiiiiiiiiiii	0.128	4.018	0
11	lllllllllllll	0.075	6.287	24
12	kkkkkkkkkkkkk	0.164	5.065	0
13	mmmmmmmmmmmm	0.084	6.093	24
14	ffffffffff	0.147	4.508	0
15	ssssssssssss	0.1	6.987	0
16	ttttttttttt	0.064	9.357	0
17	wwwwwwwwwww	0.145	5.49	0
18	yyyyyyyyyyyyy	0.21	4.735	-6
19	vvvvvvvvvvvvv	0.136	3.567	0
20	pppppppppppp	0.643	0.0	-24
21	ketdyfprqcem	0.197	5.168	-10
22	wqvegrtqfgdh	0.145	6.49	-7
23	pattmmnmdgas	0.146	4.845	11
24	dkqffgfdftd	0.208	5.143	-5
25	fslwhngwviar	0.176	4.71	-4

Таблица 2. Результаты вычислений

	Последоательность	Ср-кв. откл., нм	H -связи, шт.	Стабильностьб, у.е.
26	kdacrylryfky	0.126	6.242	5
27	pmdadttkthvc	0.112	6.348	12
28	vdkdkshddcrt	0.153	6.61	1
29	apyfkifvydyp	0.184	4.49	-5
30	fsgfmqninpyh	0.233	3.913	-7
31	aaaaaaagaaaaaa	0.069	6.09	16
32	aaaagaagaaaa	0.082	5.37	8
33	aaaagagagaaa	0.123	4.875	0
34	aagagagagaaa	0.466	3.55	0
35	aagagagagaga	0.142	4.402	0
36	gagagagagaga	0.24	3.62	0
37	aggagggagaga	0.277	2.95	-8
38	aggagggagggga	0.375	3.397	-8
39	aggagggggggga	0.231	3.38	-16
40	agggggggggga	0.362	2.425	-24
41	aaaaaaapaaaaaa	0.202	4.38	16
42	aaaapapaaaaaa	0.234	3.17	8
43	aapapapaaaaaa	0.462	3.34	12
44	aapapapapaaa	0.215	2.695	4
45	aapapapapapa	0.164	2.138	0
46	papapapapapa	0.164	1.885	4
47	rapappprapapa	0.353	0.613	-4
48	papprrrapapa	0.484	0.993	-12
49	papprrrrpapa	0.404	0.32	-20
50	papprrrrrapp	0.428	0.003	-24
51	pppprrrrrapp	0.599	0.812	-20

Таблица 3. Результаты вычислений (продолжение)