

БИСТАБИЛЬНОСТЬ НЕПЛОСКОЙ ФОРМЫ ПЕПТИДНОЙ ГРУППЫ В СТРУКТУРЕ ДИПЕПТИДОВ L-АМИНОКИСЛОТ

Самченко А. А., Кабанов А. В., Комаров В. М.

(Россия, Пущино)

В работе на базе полуэмпирических РМЗ квантово-химических расчетов обсуждается важная роль полиморфизма неплоского строения пептидной группы в организации конформации простейших дипептидов L-аминокислот. Показано влияние природы и положения аминокислотного остатка на специфику торсионной лабильности пептидного фрагмента $O=C-N-H$ в структуре дипептида.

Введение. Фолдинг белка – остается одной из интригующих проблем современной молекулярной биологии. Различные факторы оказывают влияние на процесс организации вторичной структуры полипептидной цепи. Среди них особое место занимает торсионная лабильность пептидной группы. Хорошо известно, что в структуре природных и синтетических полипептидов всегда наблюдаются определенные отклонения от планарности фрагмента $O=C-N-H$ [1-3]. Само по себе – это не удивительно, ведь именно в аминокислотной последовательности заложена вся информация о том, в какой тип структуры свернётся та или иная полипептидная цепь и с какими, при этом, параметрами должна реализоваться оптимальная ориентация пептидных водородных $N-H \cdots O=C$ связей. Однако, постулат о строгой плоской структуре пептидной группы не позволяет простым образом интерпретировать накопленные экспериментальные данные.

Ранее нами [4,5] на примере квантово-химических конформационных расчетов замещенных формамида было показано, что в основе появления устойчивости неплоского строения $O=C-N-H$

группы в структуре простейших пептидов может являться исходный, скрытый структурный полиморфизм самой пептидной группы. Подобно всем алифатическим, ненасыщенным и ароматическим аминам, где наблюдается пирамидализация геометрии валентных связей атома азота, для замещенных амидов также оказывается справедливым достаточно выраженный неплоский, с инверсионной симметрией, характер структуры связей при атоме азота.

Целью данной работы является теоретическое обоснование сохранения бистабильности ориентации N-H связи пептидной группы O=C-N-H в структуре всех видов дипептидов L-аминокислот. Особое внимание уделяется исследованию влияния природы и местоположения аминокислотного остатка на параметры непланарности пептидной группы в структуре «α-спиралеподобных» форм дипептидов.

Метод исследования. В работе в качестве метода анализа структурных особенностей газофазных молекул дипептидов разной природы из 20 L-аминокислот использовался квантово-химический полуэмпирический PM3 подход [6] в варианте программного пакета MOPAC7.01. Учитывая высокую торсионную лабильность такого типа соединений [7] в расчетах использовались наиболее жесткие критерии нахождения устойчивых минимумов потенциальной энергии. Всегда использовались ключи EF и PRECISE.

Оценивалось влияние изменения электронного строения аминокислотных остатков на устойчивость неплоской формы пептидного O=C-N-H фрагмента в дипептидах. Изучалась корреляция между степенью непланарности пептидной группы и величинами торсионных углов ϕ и ψ в равновесной структуре дипептидов различной природы.

Результаты и обсуждение. Накапливаемые экспериментальные данные все больше и больше указывают на относительный характер распространенного положения о планарном строении пептидной группы. Об этом говорит и излом C=O...H-N водородных связей во вторичной структуре белков, достигающий до 20⁰

[8], и несоответствие радиусов кривизны α -спиралей, полученных в эксперименте и в теории с идеализированными, строго плоскими пептидными группами [9], и широкий диапазон изменений наблюдаемого в рентгенографических и ЯМР экспериментах торсионного угла непланарности ω O=C-N-H фрагмента в структуре синтетических и природных полипептидов [1,2].

В предыдущих работах [4,5] мы отмечали, что непланарность строения фрагмента O=C-N-H замещенных формамида, рис.1, - это есть внутреннее природное свойство самой пептидной группы.

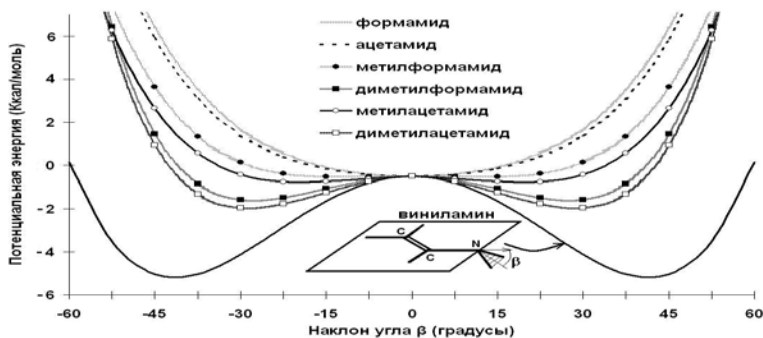


Рис. 1. РМЗ рассчитанные профили поверхности потенциальной энергии метилзамещенных формамида и молекулы виниламина, $H_2C=CH-NH_2$, как функции угла наклона β .

Для случая же простейших пептидов, рис.2, характер непланарности оказался сильно зависящим от природы аминокислотных остатков у N- и C-конца дипептида. При этом, если у валин-серинового дипептида конформер основного состояния имеет геометрию с наклоном вверх на 27^0 плоскости HNC_α относительно плоскости пептидной группы O=C-N, то в случае валин-тирозинового дипептида основному состоянию отвечает конформер с наклоном вниз плоскости HNC_α на угол 27^0 относительно плоскости O=C-N. Для дипептида валин-гистидиновой природы характерным оказывается бистабильная геометрия основного со-

стояния с почти симметричными устойчивыми изломами плоскости пептидной группы в области атома азота на угол примерно в $\pm 20^\circ$.

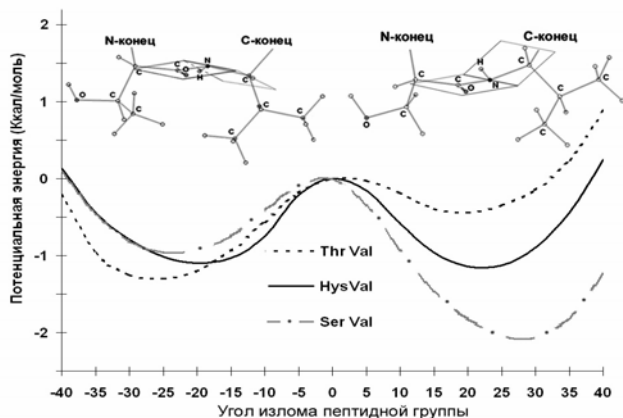


Рис. 2. PM3 рассчитанные профили поверхности потенциальной энергии дипептидов ValThr, ValHys, ValSer как функции угла наклона β .

Поскольку пептидная группа активный участник межвиткового и межцепочечного водородного связывания в аминокислотной последовательности, то исходная ориентация N-H связи, по сути, будет лимитировать весь «рисунок» оптимальных H-связываний во вторичной структуре природного полипептида.

Совершенно очевидно, что обнаруженная чувствительность торсионной лабильности фрагмента O=C-N-H к аминокислотному окружению требовала своего более пристального и детального анализа. Необходимо было, в первую очередь, оценить относительные вклады N- и C-концевых эффектов заместителей в формирование устойчивой непланарности OCNH группы и, кроме того, исследовать роль основных ротамерных форм аминокислотных остатков в организации уникальной внеплоскостной ориентации N-H связи пептидной группы во всем ряду из 400 газофазных молекул дипептидов.

Ниже представлены результаты PM3 расчетов по этим двум аспектам.

Концевые эффекты ротационных форм.

Для сравнительного анализа N- и C-концевых эффектов из всего многообразия дипептидов были рассмотрены два ряда структур: а) X-OCNH-Ala (где X - варьируемый на N-конце аминокислотный остаток из 20 природных *l*-аминокислот, Ala – аланиновый остаток) и б) Ala-OCNH-X, с варьируемым на C-конце аминокислотным остатком (Рис. 3).

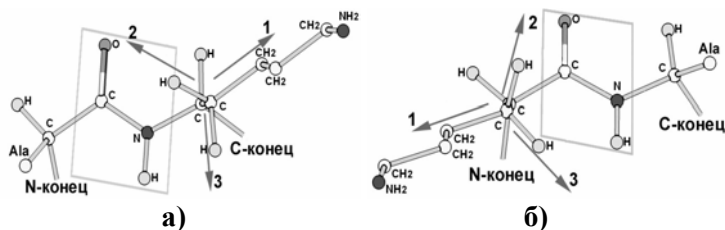


Рис. 3. Схематическое представление дипептидов с варьируемыми на N- и C-концах аминокислотными остатками, ориентируемыми в 3-х разных направлениях: а) вариации на N-конце; б) вариации на C-конце. Стрелками показаны направления ориентации остатка при вращении вокруг C_α-C_β связи.

При этом, в качестве исходной формы молекулярного остова бралась структура минимума полной энергии, отвечающая α -спиральной организации полипептидной цепи. Моделировалось, таким образом, влияние изменения электронной структуры ближайшего окружения пептидной группы на специфику ее торсионной бистабильности в формирующейся α -спирали.

1. N-концевые эффекты замещения, как показали РМЗ расчеты, оказались достаточно значительными и различными для разных аминокислотных остатков. Этого и следовало ожидать, поскольку C'=O фрагмент обладает наибольшей электроотрицательностью в пептидной группе и всякое изменение его химического окружения в области C'-атома (место роста олигопептидной цепи в N-направлении) в значительной степени отражается на состоянии электронной структуры всего O=C'-N-H фрагмента, а следовательно и на геометрии. Естественным также оказалось и конформационное влияние ориентации «хвоста» аминокислотного

остатка (ориентации 1-3, рис.3) на энергетику внеплоскостной подвижки группы HNC_α . Особенно сильным оно оказалось при вовлечении концевой полярной группы остатка во внутримолекулярное водородное связывание с пептидной группы.

Здесь необходимо отметить, что во всех дипептидах данного ряда выбранные нами три основные ориентации остатка X оказались хорошо коррелирующими с пространственной организацией трех основных ротамерных форм этих молекул. Поэтому дальнейшее описание поведения энергетики торсионной подвижки N-H группы во фрагменте OCNH мы будем вести на примере этих трех ротамеров. (В случае глицина и аланина, из-за отсутствия у них разветвленной системы валентных связей рассматривался только один ротамер, структуры 1).

По характеру полученного поведения бистабильности пептидной группы все дипептиды этого ряда могут быть сгруппированы в 5 различных классов.

Первый класс – это дипептиды X-OCNH-Ala с алифатическими боковыми группами (где X= аланин, изолейцин, лейцин и валин). Из-за химической нейтральности насыщенных боковых цепочек все эти соединения проявляют весьма схожий характер влияния замещения на торсионную лабильность OCN-H фрагмента. На рис. 4. представлен, в качестве, примера рассчитанный типичный профиль поверхности потенциальной энергии (ПЭ) такого типа дипептида для трех его основных ротамерных форм в функции угла наклона плоскости $\text{C}_\alpha\text{N-H}$ относительно плоскости пептидной группы.

Видно, что, во-первых, конформером глобального минимума энергии здесь является ротамер вида 1 (рис.3а) с пространственно удаленной от пептидной группы ориентацией аминокислотного остатка, т.е. ротамер с наименьшим стерическим возмущением структуры молекулярного остова дипептида.

Во-вторых, бистабильность неплоской формы $\text{O}=\text{CNH}$ фрагмента в таком дипептиде по своему характеру близка к бистабильности пептидной группы в простейшем, N-метилзамещенном ацетамиде (рис.1). Небольшое преимущество наклона вниз

плоскости C_{α} -N-H над наклоном вверх относительно плоскости пептидной группы здесь тем не менее просматривается. Наибольшее преимущество такого наклона проявляется лишь у находящихся выше, на 0.5-1.0 ккал/моль, 2-го и 3-го конформеров данного типа дипептидов.

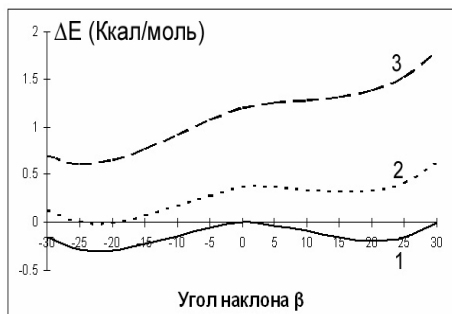


Рис.4. РМЗ рассчитанные типичные профили поверхности ПЭ для ротационных форм 1, 2 и 3 дипептидов AlaAla, LeuAla, IleAla, ValAla, как функции угла «излома» β пептидной группы.

При этом, согласно расчету, угловые параметры Рамачандрана φ и ψ для основного конформера оказались лежащими в области $-147 \pm 7^\circ$ и $-61 \pm 1^\circ$, соответственно. Для случая этих же дипептидов, но с плоскими пептидными группами, эти параметры находятся в районе, соответственно, $-120 \pm 10^\circ$ и $-60 \pm 4^\circ$.

Если сравнить полученные данные по углам φ и ψ с аналогичными параметрами для канонических α -спиралей ($\varphi = -60^\circ$ и $\psi = -50^\circ$), то можно сделать вывод, что хотя пептидная группа и стремится принять неплоскую геометрию с небольшим преимуществом наклона «вниз» N-H связи, сам молекулярный остов дипептида данного класса имеет тенденцию приобрести структуру несколько удаленную от структуры идеальной спирали. Это не противоречит экспериментальным данным [10-14], указывающим на встречаемость такого типа аминокислот как в некоторых α -спиральных образованиях, так и в структурах β -изломов или β -слоев.

Второй класс — дипептиды с полярными и заряженными бо-

ковыми группами, вида: аргинин и лизин. Принципиальным отличием этих дипептидов от первого класса является возможность формирования у них, в 3-м конформере, внутри-молекулярной N-H...O водородной связи при изгибе «хвоста» аминокислотного остатка. Расчет (рис.5) показывает, что такое H-связывание не компенсирует, однако, полностью суммарные энергетические потери (кривая 3) при завороте этого хвоста. Поэтому, хотя в данных соединениях и наблюдается небольшая предпочтительность уже к наклону «вверх» N-H связи (угол $\beta \approx +20^\circ$, кривая 1), бистабильный характер строения пептидной группы здесь, в целом, все же сохраняется.

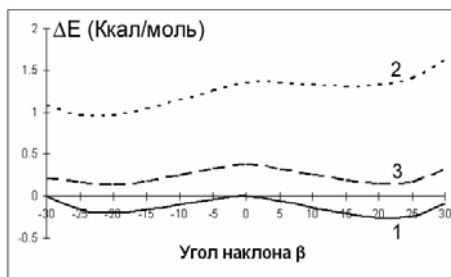


Рис.5. PM3 рассчитанные типичные профили поверхности ПЭ для ротационных форм 1, 2 и 3 дипептидов ArgAla, LysAla, как функции угла «излома» β пептидной группы.

С другой стороны, для угла φ расчет дает распределение его значений, локализующихся в двух областях: в районе -90° для дипептидов с преимущественным изломом «вверх» плоскости пептидной группы и в районе -40° для дипептидов с изломом «вниз» плоскости пептидной группы. При этом, значения угла ψ сохраняются локализованными в области -60° как для одного, так и для другого варианта непланарности фрагмента O=CN-H.

Все это указывает на то, что пептидные образования такой природы имеют предпочтительность к формированию и спиральных структур и структур с далекой от них формой. Полученный результат также не противоречит наблюдаемым данным по встречаемости Arg и Lys в структурах разных форм природных и син-

тетических полипептидов [10-14].

Третий класс – дипептиды тоже с полярными аминокислотами, но иного, второго вида: аспарагин, аспаратат, глутамин и глутамат. У этого вида аминокислот конформер с внутримолекулярной водородной связью становится уже конформером основного состояния (рис.6) и формирует структуру молекулярного остова дипептида наиболее благоприятную для формирования спиральной цепи.

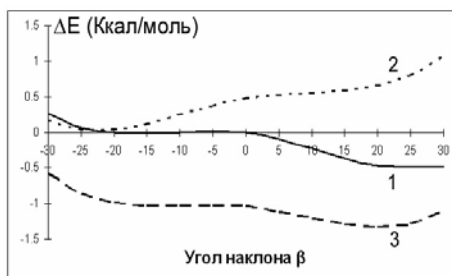


Рис.6. РМЗ рассчитанные типичные профили поверхности ПЭ для ротамерных форм 1, 2 и 3 дипептидов AspAla, AsnAla, GluAla, GlnAla, как функции угла «излома» β пептидной группы.

Здесь уже и параметр непланарности пептидной группы (угол β положителен и равен 20⁰) и углы Рамачандрана φ и ψ (равны, соответственно, -90⁰ и +40⁰) указывают на явное преимущество α-спиральной формы. Вывод о предпочтительности таких аминокислотных образований находится в спиральных структурах белков тоже не противоречит экспериментальным наблюдениям [10-14].

Четвёртый класс – это дипептиды с полярными аминокислотами типа: треонина, серина, цистеина и метионина. У этих соединений наиболее предпочтительный по энергии оказывается ротамер вида 3 (рис.7). Здесь, из-за короткой длины алифатической цепи аминокислотного остатка внутримолекулярное водородное связывание настолько сильно деформирует структуру молекулярного остова, что он уже оказывается более благоприятным для образования структур типа β-излома или β-шпильки. Необыч-

ные значения остовных торсионных углов φ и ψ равны, соответственно, -148° и -64° , а излом пептидного фрагмента оказывается сильно «отрицательным» (угол $\beta = -25^\circ$).

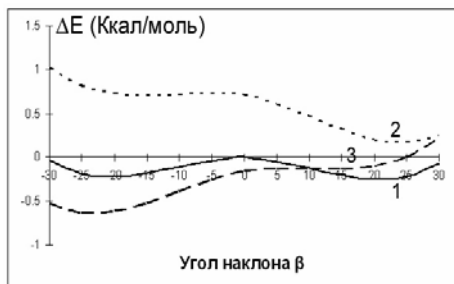


Рис.7. РМЗ рассчитанные типичные профили поверхности ПЭ для ротамерных форм 1, 2 и 3 дипептидов SerAla, ThrAla, CysAla, MetAla как функции угла «излома» β пептидной группы

Полученные результаты довольно хорошо согласуются с наблюдениями [10-14] по организации таких предпочтительных форм вторичной структуры данными аминокислотными образованиями.

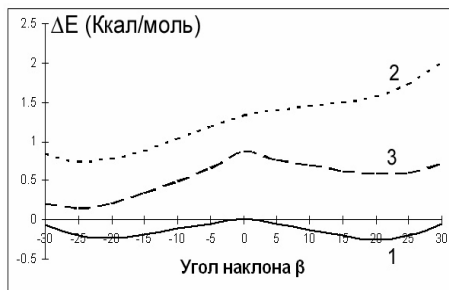


Рис.8. РМЗ рассчитанные типичные профили поверхности ПЭ для ротамерных форм 1, 2 и 3 дипептидов PheAla, TrpAla, TyrAla, HisAla, как функции угла «излома» β пептидной группы.

Наконец, пятый класс – дипептиды с гетероароматическими аминокислотами (гистидином, тирозином, фенилаланином и трип-

тофаном) на N-конце. По своим конформационным особенностям он чем-то напоминает второй класс данного разбиения. Профиль поверхности ПЭ основного состояния в области минимума здесь имеет двухямный характер (рис.8, кривая 1) и указывает на некоторую предпочтительность к изгибу «вверх» плоскости пептидной группы в структуре дипептида.

Диапазон изменения торсионных параметров φ и ψ для молекулярного остова этих соединений близок к таковому для аминокислотных образований второго класса. Здесь, напрашивается вывод о возможно близкой частоте встречаемости таких аминокислот в разных типах вторичной структуры белковых молекул, что примерно наблюдается и экспериментально [10-14].

Особое место занимают дипептиды с глицином или пролином на N-конце.

Для случая основного конформера молекулы GlyAla PM3 расчет дает значение торсионного угла φ лежащее либо в области -100° , либо в области -140° из-за особенности энергетики непоплой геометрии пептидной группы. Угол ψ оказывается в районе -180° . Это указывает на пограничное положение структуры такого дипептида между чисто α -спиральными и β -подобными структурами. Так, что Gly-остаток на N-конце дипептида можно рассматривать скорее спирале-разрушающей, чем спирале-образующей структурой. Это же хорошо согласуется с экспериментальными наблюдениями [10-14].

Для ProAla дипептида, содержащего на N-конце гетероциклическую насыщенную группу, в основном конформационном состоянии мы имеем следующие значения торсионных параметров: $\varphi = -148^{\circ}$ и $\psi = -57^{\circ}$. Учитывая полученное небольшое преимущество здесь наклона «вниз» N-N связи пептидной группы, можно сказать, что данная молекула по своим структурным характеристикам близка к молекулам класса I, т.е к дипептидам с чисто алифатическими боковыми группами. Они, как мы уже определили, только отдаленно напоминают спиральные структуры и могут встречаться как в α -спиральных участках белков, так и в β -структурах.

2. С-концевые эффекты замещения в отличие от N-концевых оказываются, согласно расчетам, резко ослабленными и мало зависящими от природы аминокислотного остатка. Это связано с тем, что возмущение электронной структуры пептидного фрагмента $O=CN-H$ в дипептиде вида $Ala-OCNH-X$ (рис.3б) идет через насыщенную $N-C_{\alpha}$ связь и оказывается пространственно отдаленным от сильно электроотрицательного атома кислорода, во многом определяющим характеристичность свойств пептидной группы. Поэтому полученное выше разбиение дипептидов на классы по видам составляющих аминокислот оказывается здесь сильно размытым и, практически, слабо различимым. В качестве примера иллюстрирующего причину возникающих отличий на рис.9 приведены сравнительные профили поверхности ПЭ двух дипептидов одинакового состава, различающихся положением «возмущающего» аминокислотного остатка изолейцина, Ile, на N- или С-конце.

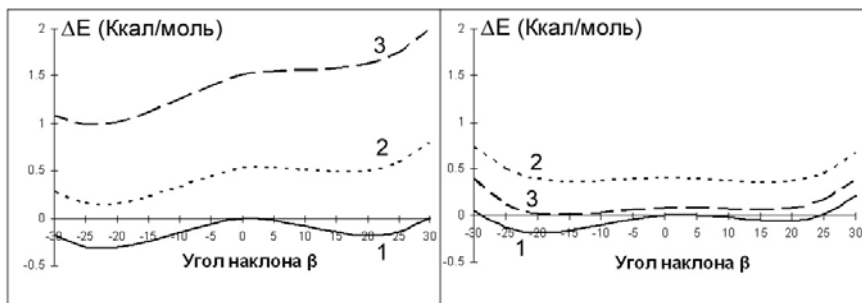


Рис.9. РМЗ профили поверхности ПЭ Ile-замещенного с N- или С-конца дипептида. Слева Ile-OCNH-Ala, справа Ala-OCNH-Ile.

Хорошо видно, что при общей слабой зависимости энергетики дипептида от ориентации боковой группы при С-замещении еще и уменьшается преимущество неплоской геометрии $O=CN-H$ фрагмента над плоской. Аналогичного вида результаты получены для С-концевых эффектов и в случае остальных аминокислотных остатков.

Если же теперь, в итоге, перейти к общему случаю структуры дипептида состава $X-OCNH-Y$ (где X,Y любая пара из 20

остатков *l*-аминокислот), то анализ полученных данных, позволяет сделать следующее общее заключение: предрасположенность молекулярного остова дипептида к формированию того или иного типа вторичной структуры полипептидной цепи определяется в основном природой аминокислотного остатка на N-конце дипептида и практически слабо зависит от вида остатка на его С-конце. Данный вывод очень хорошо согласуется с существующим экспериментальным данным, которые четко показывают, что при синтезе полипептида упорядочение его структуры в регулярную α - или β -форму всегда происходит именно на N-конце цепи по мере ее выхода из рибосомного канала [10,14].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. MacArthur, M. W.; Thornton, J.M. Deviations from planarity of the peptide bond in peptides and proteins. // J.Mol.Biol. 1996, V. 264, P.1180
2. Carugo, O Incoherent relationship between torsion values and bonds lengths in atomic resolution protein crystal structures. // Acta.Chim.Slov. 2003, V. 50, P. 505.
3. Sulzbach, H.M.; Schleyer, P.v.R.; Schaefer, III H.F. Influence of the nonplanarity of the amide moiety on computed chemical shifts in peptide analogs. Is the amide nitrogen pyramidal? // J.Am.Chem.Soc. 1995, V.117, P. 2632-2637.
4. Самченко А.А., Кабанов А.В., Комаров В.М. // БИОФИЗИКА. 2007, том 52, вып.2, с. 209-215.
5. Самченко А.А., Кондратьев М.С., Кабанов А.В., Комаров В.М. О непланарности O-C-N-H группы в одиночных амидах и дипептидах L-аминокислот // Сборник научных трудов Математика.Компьютер.Образование. 2006. т.13. с.453-465.
6. Stewart J.P. "Optimization of Parameters for Semiempirical Methods. I. Method" // J. Comput. Chem.1989. V.10. P. 209-220.
7. Stewart J.P. "Optimization of Parameters for Semiempirical Methods. II. Applications" // J. Comput. Chem.1989. V.10. P. 221-264.

8. Alan G. Walton Polipeptides and protein structure. – Elsevier New York 1981. – 393 с.
9. Zagrovic, B.; Jayachandran, G.; Ian S. Millett, Doniach, S.; Vijay S. Pande, V.S. How Large is an α -Helix? Studies of the Radii of Gyration of Helical Peptides by Small-angle X-ray Scattering and Molecular Dynamics. // J.Mol.Biol. 2005, V.353, P.232-241
10. Brown, R.D.; Godfrey, P.D.; Kleibömer, B. The inversion-torsion motion in vinylamine. // J.mol.spectroscopy 1987, V. 124, P. 21
11. Финкельштейн А.В., Птицын О.Б. Физика белка. - М.: Книжный дом «Университет», 2002.
12. Cook D.A. The relation between amino acid sequence and protein con-formation. // J.Mol.Biol. 1967. V.29., P. 167-171.
13. Cochran D.A.E., Penel S. and Doig A.J. Effect of the N1 residue on the stability of the α -helix for all 20 amino acids // Protein Science. 2001. V.10. P.463–470.
14. Iqbalsyah T.M. and Doig A.J. Effect of the N3 residue on the stability of the α -helix. // Protein Science. 2004. V.3. P.32–39.
15. Спирин А.С. Структура рибосомы и биосинтез белка. М., Высшая школа, 1986

NON-PLANAR FORM BISTABILITY OF PEPTIDE GROUP IN DIPEPTIDE STRUCTURE

Samchenko A. A., Kabanov A. V., Komarov V. M.
(Russia, Pushchino)

Based on PM3 quantum-chemical calculations we discussed the important role of peptide structure polymorphism in organization of conformation of simple dipeptides of l-aminoacids. The influence of nature and site position of amino acid residue on torsion liability of O=C-N-H fragment in dipeptide structure is determined.