

Ю. Н. ЧИРГАДЗЕ, Н. А. НЕВСКАЯ

РЕЗОНАНСНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ОСНОВНЫХ АМИДНЫХ КОЛЕБАНИЙ В УПОРЯДОЧЕННЫХ ПЕПТИДНЫХ СТРУКТУРАХ

(Представлено академиком А. С. Спириным 20 IX 1972)

Применение колебательной спектроскопии для изучения строения полимеров, и в частности важных биологических полимеров — полипептидов и белков, основано на анализе тонкой структуры полос основных характеристических колебаний повторяющихся групп молекулы. Амидные полосы полипептидов расщепляются в и.к. спектрах на ряд компонентов ⁽¹⁾. Интенсивность, поляризация и частоты этих компонентов зависят от типа конформации полипептидных цепей и способа их упаковки. Около десяти лет назад было дано общее объяснение расщепления амидных полос на основе теории возмущения локализованных колебаний ближайших пептидных групп ⁽²⁾ и получены эмпирические значения коэффициентов взаимодействия для колебаний Амид I и II ⁽³⁻⁵⁾. Исходя из этого было дано отнесение основных компонентов указанных колебаний для α -спиральной и β -конформаций в и.к. спектрах ⁽¹⁻⁵⁾ и спектрах комбинационного рассеяния ⁽⁶⁾. Эти результаты имели большое значение для понимания спектров белков и их использования в аналитических целях. Однако природа колебательных взаимодействий оставалась невыясненной. Существенно также, что этот подход нельзя было применить для детального анализа оптических свойств пептидных структур другого типа, например глобулярных белков или молекулярных кристаллов, поскольку возникали естественные трудности, связанные с невозможностью использования одних и тех же коэффициентов взаимодействия для различных структур.

В данном сообщении изложены результаты теоретического анализа природы колебательных взаимодействий амидных колебаний для кристалла ацетанилида, а также упорядоченных конформаций полипептидов: антипараллельного складчатого β -слоя и α -спирали. Рассмотрено два типа резонансных взаимодействий, которые могли бы объяснить экспериментально наблюдаемое расщепление в этих структурах. Одно из них — кинематическое взаимодействие, связанное с передачей колебательных движений ближайшим пептидным группам, и второе — динамическое взаимодействие электрических моментов колебательных переходов. До настоящего времени второй тип взаимодействия, как правило, не учитывали при рассмотрении колебательных взаимодействий. Развитие теории молекулярных экситонов ⁽⁷⁾ и знание характеристик моментов переходов позволяют сейчас перейти к анализу взаимодействий этого типа.

Оценка кинематических колебательных взаимодействий для ди- и трипептидного фрагментов полипептидной цепи была проведена нами путем расчета частот колебаний многоатомных молекул ⁽⁸⁾ с использованием внутримолекулярного силового поля из работ ^(9, 10). Оказалось, что расщепление частот колебаний Амид I и II составляет всего несколько см⁻¹. Введение межмолекулярного силового поля водородных связей с константами из работы ⁽¹¹⁾ должно привести к еще меньшему сдвигу частот отдельных компонентов. Это означает, что расщепление частот амидных колебаний нельзя объяснить кинематическим взаимодействием.

Динамическое взаимодействие моментов перехода рассматривали в диполь-дипольном приближении, в этом случае резонансный сдвиг частоты

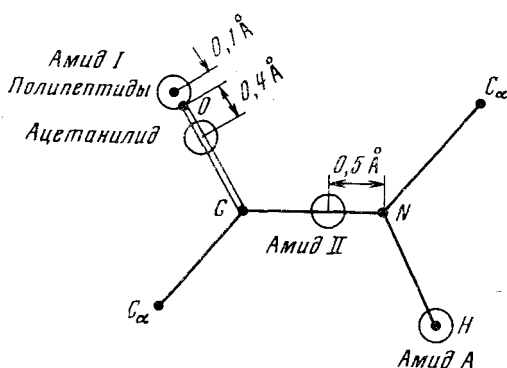


Рис. 1. Локализация центров точечных диполей моментов переходов для амидных колебаний. Все переходы поляризованы в плоскости пептидной группы

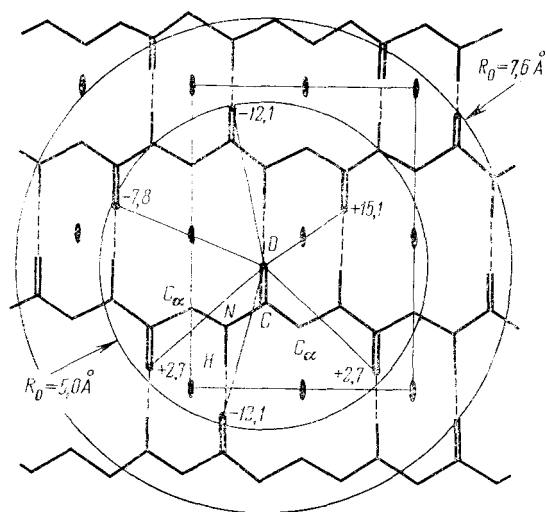


Рис. 2. Резонансные сдвиги частот колебания Амид I в полипептидной структуре — β -слое с антипараллельной упаковкой цепей. Выделенным прямоугольником обозначена элементарная ячейка. Окружностями радиусов 5,0 и 7,6 Å показаны следы первой и второй координационных сфер по отношению к пептидным группам. Цифры указывают величину и направление частотного сдвига в см^{-1} для вакуумной среды

сивностей полос в и.-к. спектрах. Для ацетанилида мы воспользовались данными по растворам ассоциированных молекул в инертных растворителях с последующим пересчетом на 100% содержание молекул, связанных водородными связями. Моменты переходов амидных колебаний для β -структуры были измерены на растворах полипептидов также с пересчетом на 100% содержание упорядоченной формы, для α -спирали параметры моментов перехода взяты из работы (12). При расчетах принимали $\epsilon = 1$. Локализация центров диполей только в одном случае колебания Амид А (валентное колебание NH-связи) не вызывала сомнений: диполь был размещен в центре атома водорода. Для колебаний Амид I и II положение диполей изменяли в процессе расчетов до получения лучшего согласия с опытом. Во всех рассмотренных случаях удалось достаточно однозначно локализовать центры диполей (рис. 1). Пространственное расположение

выражается формулой

$$v_f - v_0 = \frac{1}{h} \sum_{n\alpha} C_\alpha^f C_\beta^f V_{n\alpha, m\beta},$$

$$n\alpha \neq m\beta,$$

здесь n, m — числа, нумерующие элементарные ячейки кристалла; α, β — числа, нумерующие пептидные группы в элементарной ячейке; C_α^f и C_β^f — фазовые коэффициенты (коэффициенты симметрии) для колебания типа симметрии f ; h — постоянная Планка; v_0 — частота невозмущенного колебания. Матричный элемент $V_{n\alpha, m\beta}$ оператора диполь-дипольного взаимодействия моментов переходов, локализованных в двух пептидных группах, равен

$$V_{n\alpha, m\beta} = \frac{\mu_{n\alpha} \mu_{m\beta}}{\epsilon R^3} [\bar{e}_{n\alpha} \bar{e}_{m\beta} - 3(\bar{n}_0 \bar{e}_{n\alpha})(\bar{n}_0 \bar{e}_{m\beta})].$$

В этой формуле μ — модуль матричного элемента перехода, R — расстояние между центрами точечных диполей, ϵ — эффективная диэлектрическая проницаемость среды, $\bar{e}$ — единичный вектор момента перехода, $\bar{n}_0$ — единичный вектор вдоль линии, связывающей центры диполей.

Направления моментов перехода известны из поляризационных измерений спектров молекулярных кристаллов (1). Величины моментов переходов были определены нами из абсолютных интен-

Резонансное расщепление частот основных амидных колебаний в упорядоченных пептидных структурах

	Момент перехода	Экспериментально наблюдаемые частоты и расщепление, см ⁻¹					Вычисленное расщепление, см ⁻¹	
К р и с т а л л а ц е т а н и л и д а								
Колебание	μ, D	ν_a	ν_b	ν_c	$\nu_a - \nu_b$	$\nu_c - \nu_b$	$\nu_a - \nu_b$	$\nu_c - \nu_b$
Амид А	0,28	3305	3294	3307	11	13	29,2	28,8
Амид I	0,24	1667	1666	1669	1	3	1,8	3,1
Амид II	0,23	1555	1538	1562	18	24	16,3	24,8

Антипараллельная β -форма полипептидных цепей

Колебание	μ, D	ν_A	ν_{B_1}	ν_{B_2}	$\nu_A - \nu_{B_2}$	$\nu_{B_1} - \nu_{B_2}$	$\nu_A - \nu_{B_1}$	$\nu_{B_1} - \nu_{B_2}$
Амид А	0,23	—	3278	3272	—	6	16,0	22,9
Амид I	0,39	1665	1700	1630	35	70	38,0	76,3

 α -Спиральная форма полипептидной цепи

Колебание	μ, D	ν_A	ν_{E_1}	$\nu_{E_1} - \nu_A$	$\nu_{E_1} - \nu_A$
Амид А	0,22	3292	3294	2	4,6
Амид I	0,29	1652	1655	3	-1,6
Амид II	0,20	1518	1549	31	35,5

молекул и экспериментальные значения расщеплений и.к. активных полюсов, поляризованных вдоль кристаллографических осей a , b и c , для кристалла ацетанилида взяты из работ (¹³, ¹⁴). Геометрия β -формы и α -спирали взяты из работ (¹⁵, ¹⁶), частоты компонентов амидных колебаний — из работ (⁶, ¹⁷⁻²⁰). Учитывали взаимодействие всех пептидных групп внутри сферы радиуса R_0 , в случае β -формы рассматривали двухмерный слой, в случае спирали — только внутримолекулярные взаимодействия. Сфера минимального радиуса около 5 Å включала все ближайшие пептидные группы. Полное насыщение эффектов взаимодействия происходило для $R_0 \geq 20$ Å, однако 80% эффекта достигалось для R_0 от 5 до 7 Å.

Результаты теоретических расчетов для $R_0 = 30^\circ$ Å сопоставлены с имеющимися экспериментальными данными в табл. 1. Для колебания Амид А вычисленные величины расщеплений приблизительно в 2,5 раза выше экспериментальных. Этот результат не изменялся при смещении центра диполя вдоль связи NH. Для колебаний Амид I и II согласие с опытом хорошее. Если принять $\epsilon = n^2$, то, поскольку показатель преломления $n \approx 1,5$, для Амид А будет достигнуто согласие с опытом, однако для Амид I и II требуется сохранить $\epsilon = 1$. Различие в значениях эффективной диэлектрической проницаемости получает свое объяснение. Вспомним, что эффект расщепления в основном создается взаимодействием ближайших контактирующих пептидных групп атомов. В случае валентных NH-колебаний реальная локализация диполя перехода очень высока, так как при колебании существенно изменяются координаты только атома водорода. Вся остальная часть пептидной группы, и в особенности группа CON, мо-

жет играть роль поляризуемой среды, откуда $\varepsilon = n^2$. При колебании Амид I смещаются атомы С, О и N, а при колебании Амид II — атомы С, О, N и Н (⁹). Поэтому в этих случаях поляризации «среды» между диполями переходов практически не происходит, что соответствует вакуумному значению $\varepsilon = 1$. Для пептидных групп второй координационной сферы с $R_0 = 7,6 \text{ \AA}$ следует брать $\varepsilon = n^2$, однако их роль в резонансном взаимодействии несущественна.

Таким образом, наблюдаемое фактор-групповое (давыдовское) расщепление частот основных амидных колебаний в упорядоченных пептидных структурах можно однозначно объяснить резонансным взаимодействием моментов переходов в диполь-дипольном приближении. При расчете необходимо принимать во внимание, по крайней мере, все ближайшие пептидные группы в сфере радиусом 5,0–5,5 Å. Именно этот результат объясняет успех прежнего полуэмпирического рассмотрения применительно к полипептидным структурам, в котором учитывались взаимодействия только ближайших групп по цепи молекулы и через водородную связь. Проведенный сейчас анализ показывает, что это не всегда верно. Рассмотрим, например, взаимодействия для колебания Амид I в антипараллельном β -слое, проекция которого приведена на рис. 2. Очень существенным оказываются неучитываемые ранее диагональные взаимодействия ближайших пептидных групп, связанных осями симметрии 2-го порядка.

По нашему мнению, определение природы резонансных взаимодействий амидных колебаний и возможность расчета частотных расщеплений отдельных компонентов будет иметь важное значение для изучения строения сложных полипептидных структур — фибриллярных и глобулярных белков.

В заключение авторы выражают благодарность Е. В. Бражникову, С. Ю. Веняминову, Б. В. Шестопалову и И. И. Букатиной за участие в измерениях абсолютных интенсивностей в и.-к. спектрах.

Институт белка
Академии наук СССР
Пушкино-на-Оке

Поступило
15 IX 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Ю. Н. Чиргадзе, Инфракрасные спектры и структура полипептидов и белков, «Наука», 1965. ² T. Miyazawa, J. Chem. Phys., 32, 1647 (1960). ³ T. Miyazawa, E. R. Blout, J. Am. Chem. Soc., 83, 712 (1961). ⁴ S. Krimm, J. Mol. Biol., 4, 528 (1962). ⁵ E. M. Bradbury, A. Elliott, Polymer, 4, 47 (1963). ⁶ J. L. Konig, P. L. Sutton, Biopolymers, 10, 89 (1971). ⁷ А. С. Давыдов, Теория молекулярных экситонов, «Наука», 1968. ⁸ Л. А. Грибов, Введение в теорию и расчет колебательных спектров многоатомных молекул, Л., 1965. ⁹ Ю. Н. Чиргадзе, Биофизика, 7, 523 (1962). ¹⁰ Е. М. Попов, В. Н. Желтова, Г. А. Коган, ЖСХ, 11, 1053 (1970). ¹¹ K. Itoh, T. Shimanouchi, Biopolymers, 5, 921 (1967). ¹² Ю. Н. Чиргадзе, Е. П. Рашевская, Биофизика, 14, 608 (1969). ¹³ C. J. Brown, D. Corbridge, Acta crystallogr., 7, 711 (1954). ¹⁴ N. B. Abbott, A. Elliott, Proc. Roy. Soc. A, 234, 247 (1954). ¹⁵ S. Arnott, S. D. Dover, A. Elliott, J. Mol. Biol., 30, 201 (1967). ¹⁶ S. Arnott, S. D. Dover, J. Mol. Biol., 30, 209 (1967). ¹⁷ E. Suzuki, Spectrochim. acta, 23A, 2303 (1967). ¹⁸ R. Fraser, E. Suzuki, Spectrochim. acta, 26A, 423 (1970). ¹⁹ E. G. Bendit, Biopolymers, 4, 539 (1966). ²⁰ M. Tsuboi, J. Polymer Sci., 59, 139 (1962).