

Е. Г. АДОНЦ

ИМИТАЦИЯ НА ЭВМ КОНФОРМАЦИОННЫХ ПЕРЕСТРОЕК В МАКРОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ЦЕПЯХ. II

С помощью метода машинного эксперимента исследованы внутримолекулярные конформационные перестройки в модельных макромолекулярных цепях, приводящие к изменениям вторичной и третичной структур полимерной цепи. Проведено качественное сопоставление полученных результатов с имеющимися экспериментальными данными.

Анализ основных методов моделирования (имитации) структур полимерных цепей и их перестроек был дан нами в опубликованной работе [1]. Там же подробно был разобран случай конформационных переходов в цепях, характеризующихся различной степенью жесткости.

В настоящем сообщении речь пойдет об имитации на электронно-вычислительных машинах (ЭВМ) перестроек в макромолекулярных цепях, обладающих как вторичной, так и третичной структурой, причем будут разобраны варианты моделирования поведения цепи на ЭВМ и с помощью кубической решетки, и без решетки (случай складчатых цепей).

Как отмечалось в указанной работе, обращение исследователей, занимающихся кооперативными системами, т. е. системами, между элементами которых имеет место сильное взаимодействие (частный случай таких систем—это биологические макромолекулы), к машинному эксперименту, т. е. к имитации поведения таких систем с помощью ЭВМ, объясняется в первую очередь тем, что даже самые простые кооперативные системы (синтетические полипептидные цепи) не поддаются строгому описанию традиционными аналитическими методами теоретической физики, за исключением одномерных кооперативных систем (переход спираль-клубок [2, 3]), а также гипотетических модельных систем бесконечной длины (переходы складчатая структура-клубок [4—6]).

Привлечение же методов машинного эксперимента к решению задач статистической физики полимеров, в том числе задач конформационной статистики структурированных макромолекул, существенно расширило круг задач, поддающихся решению.

В этой статье мы продемонстрируем применение метода машинного эксперимента для решения двух важных задач физики макромолекул: 1) изучения конформационных перестроек в макромолекулах, способных к образованию глобулярных структур; 2) изучения перехода β -структура-клубок в коротких цепях.

Рассмотрим сначала свойства модельной полимерной цепи, поведение которой при изменении внешних условий аналогично поведению глобулярных белков при денатурации [7]. Как известно, для глобулярных белков характерно наличие нескольких уровней молекулярной организации. Вторичная структура определяет ближний порядок в полимерной цепи, а третичная—пространственное расположение звеньев в макромолекуле. При денатурации конформационные изменения затрагивают эти обе структуры. Существующие же аналитические теории описывают перестройки либо только вторичной структуры, либо только третичной (приближенная теория клубок-глобула) [8].

По существу, единственной работой, в которой учтены перестройки обоих типов, является цитируемая нами работа [7], в которой авторы, разработав вариант метода Монте-Карло—метод сложения подансамблей, рассмотрели характер всевозможных перестроек в цепи, приводящих к одновременному изменению вторичной и третичной структуры.

Построение статистического ансамбля конформаций цепи проводилось на кубической решетке [1], причем спиральный (жесткий) участок имитировался шагом вперед на решетке, а клубкообразный (гибкий) участок—шагом в сторону (присоединение полимерного звена под валентным углом в 90°). Моделируемая цепь (длиной $n=64$ звена) предполагалась состоящей из чередующихся спиральных и клубкообразных участков.

Выбранная модель была описана авторами в терминах классической теории Зимма-Брэгга s и σ [2]. Цепь строилась как самонепересекающаяся, т. е. был наложен запрет на попадание двух звеньев в один узел решетки, а каждой паре звеньев, попавших в соседние узлы, приписывалась энергия притяжения ($-e$). Было произведено два независимых расчета, в каждом из которых число построенных конформаций цепи равнялось $\sim 10^5$. Параметры Зимма-Брэгга имели значения: $\sigma = 1/64$, $s = 0,8-1,3$, а энергия взаимодействия e варьировалась в пределах $0-1$.

В результате расчета были найдены зависимости различных термодинамических характеристик, как то: свободной энергии цепи, энтропии, числа спиральных участков и т. д. от энергии взаимодействия e и построены функции распределения по числу контактов Λ (m) и степени спиральности Λ (θ).

Предельных состояний полимерной системы оказалось четыре: развернутая низкоспиральная структура (С), развернутая высокоспиральная (Н), глобулярная неупорядоченная, низкоспиральная (G С), глобулярная упорядоченная, высокоспиральная (G Н) структуры. Глобула G Н представляет собой компактную кристаллоподобную структуру из четырех-пяти слипшихся жестких участков.

Были подробно исследованы конформационные перестройки в системе при изменении энергии стабилизации вторичной структуры ($e =$

const) и при изменении энергии стабилизации третичной структуры ($s = \text{const}$).

При изучении конформационного перехода, происходящего с изменением энергии стабилизации вторичной структуры ($\epsilon = \text{const}$), было установлено, что при отсутствии взаимодействий, удерживающих третичную структуру ($e = 0$), с ростом s предпочтительными оказываются развернутые конформации с малым числом внутримолекулярных контактов и, как и следовало ожидать в этом случае, найденные закономерности близки к тем, которые описываются обычной теорией переходов спираль-клубок. Однако в отличие от аналитических теорий, в которых не учитываются объемные взаимодействия (θ -растворитель), в данной модели сохраняются объемные взаимодействия, сводящиеся к запрету самопересечений цепи (хороший растворитель).

С помощью полученных данных была построена диаграмма состояний макромолекулы, в углах которой разместились предельные конформации С, Н, GC и GH (рис. 1). Анализ ее показал, что аналогом

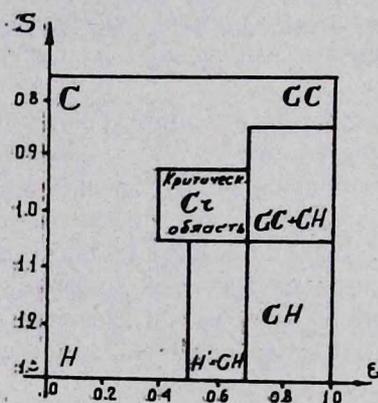


Рис. 1.

Рис. 1. Диаграмма состояний макромолекулы.

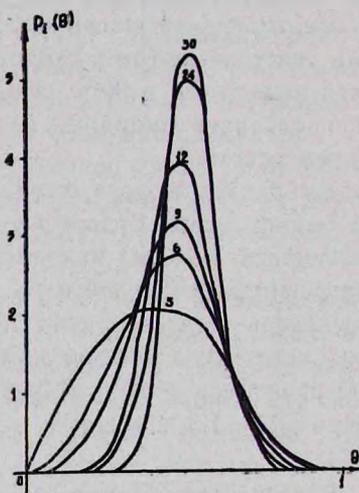


Рис. 2.

Рис. 2. Функции распределения по степени структурированности $\rho_i(\theta)$ для цепей с фиксированным числом изломов i , полученные методом Монте-Карло.

уникальной структуры глобулярных белков является кристаллоподобная структура GH; компактному состоянию глобулярных белков, в которых разрушена вторичная структура, соответствует состояние GC; состоянию белка с разрушенной третичной, но сохранившейся вторичной структурой (высокая степень спиральности) соответствует состояние H, а состоянию цепи с полностью разрушенной структурой (и вторичной, и третичной) соответствует состояние клубка С. Переход же из состояния GH в GC (температурная денатурация белка) всегда происходит фазовым образом, путем скачкообразного разрушения нативной структуры. Этот вывод обсуждаемой работы хорошо согласуется с имеющимися экспериментальными данными, согласно которым тем-

пературная денатурация белков для всех изученных глобулярных белков происходит по принципу «все или ничего» [9—11].

Перейдем теперь к рассмотрению случая имитации на ЭВМ переходов в системах, обладающих лишь вторичной структурой: это склад-

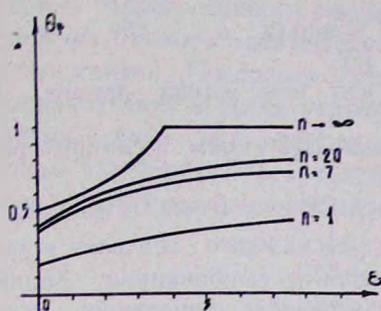


Рис. 3.

Рис. 3. Зависимость степени структурированности θ_p от энергии притяжения элементов в β -структуре ϵ .

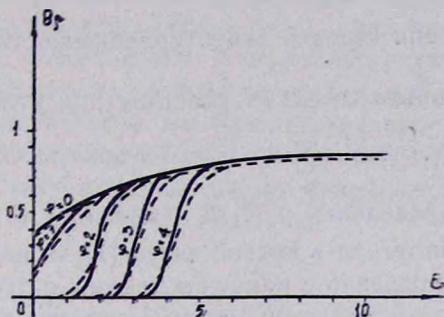


Рис. 4.

Рис. 4. Зависимость степени структурированности θ_p от ϵ для цепей различной гибкости (сплошная линия соответствует $n=20$, а пунктирная $n=7$).

чатые двумерные цепи. Такая структура свойственна участкам молекул лизоцима, рибонуклеазы, карбоксипептидазы, α -химотрипсина, она наблюдается также в растворах и пленках синтетических полилипептидов.

Известно, что при добавлении активного растворителя, конкурирующего за водородные связи—силы, стабилизирующие складчатую структуру, в полимерной цепи возможен конформационный переход из структурированного состояния в клубкообразное. Нами был рассмотрен переход в складчатых цепях небольшой длины путем имитации этого процесса на ЭВМ методом Монте-Карло [12]. Модель (безрешеточная), выбранная нами, представляет собой цепь, складывающуюся саму на себя, и в качестве единицы длины этой модели была выбрана длина стандартного участка— это средняя длина жесткого участка между изломами при отсутствии взаимодействий между соседними участками цепи ($\epsilon=0$). ϵ —это свободная энергия контакта двух стандартных участков, а за нуль была принята энергия участка, лишенного контакта с соседями. Статистическая сумма такой цепи может быть представлена в следующем виде:

$$z_p(\epsilon, n) = \sum_{i=0}^{\infty} \frac{n^i}{i!} \int_0^{\theta_{\max}^i} p_i(\theta) e^{m\theta} d\theta, \quad (1)$$

где $\frac{n^i}{i!}$ — вероятность того, что при среднем числе изломов n в цепи будет реализовано i изломов; $\theta_{\max}^i = \frac{1}{i+1}$ — максимально достижимая

при этом степень связывания; $p_i(\theta)$ — доля конфигураций цепи, в которых при i изломах контактируют $p\theta$ сегментов. Мы ограничились числом i , равным 30. Задавая некоторое число i , с помощью датчика случайных чисел мы „выбрасывали“ случайную конформацию цепи с произвольным расположением i изломов и подсчитывали для такой цепи степень структурированности $\theta_i = \sum_{j=1}^i \min(x_j, x_{j+1})$, где x_j, x_{j+1} — длины соседних участков при условии, что вся длина принята за единицу ($\sum_{j=1}^{i+1} x_j = 1$). Таким способом были построены функции распределения $p_i(\theta)$ (θ изменялось с шагом $1/128$ от 0 до 1) (рис. 2) и интеграл в правой части (1) вычислялся для каждого значения ϵ приближенно с помощью замены интегрирования суммированием. Знание статистической суммы системы дает возможность определить такие средние характеристики цепи, как среднюю степень структурированности θ_s , среднее число изломов в цепи $\langle n \rangle$ и др.

На рис. 3 приведены полученные зависимости θ_s от энергии притяжения ϵ элементов в β -структуре при различных значениях n . Для сопоставления приведена соответствующая зависимость для гипотетической цепи бесконечной длины, взятая из работы [4]. Для такой цепи степень структурированности θ_s росла с увеличением ϵ и в точке $\epsilon = 4$ претерпевала фазовый переход II-го рода, перестраиваясь из неупорядоченного состояния в регулярную складчатую структуру. В точке фазового перехода для такой цепи $\theta_s = 1$; а производная этой величины $\frac{\partial \theta_s}{\partial \epsilon}$ терпит разрыв. Как видно из рис. 3, поведение конечных цепей существенно отличается от поведения бесконечной цепи. Изменение θ_s происходит монотонно в широком интервале изменения ϵ , отсутствуют какие-либо особенности в точке фазового перехода II-го рода $\epsilon = 4$.

Полученные результаты показывают, что если в бесконечных цепях переходы структуры со случайными изломами в регулярную β -структуру носят характер фазового перехода II-го рода [4, 5], то в случае конечных цепей переход должен носить характер сравнительно размытого перехода с невысокой степенью кооперативности. На самом деле, этот результат противоречит экспериментальным данным, свидетельствующим о большой кооперативности перехода [13, 14].

Такое расхождение не является неожиданным, если обратить внимание на то, что в рассмотренной модели учитывались лишь всевозможные складчатые состояния макромолекулы. При моделировании же реальных цепей необходимо учесть также клубкообразное состояние всей цепи и ее участков, обуславливающее возможность изгибания цепи без образования складки. Как было показано в работе Бирштейн и др. [6], такое складывание должно носить характер фазового пере-

хода I-го рода со скачкообразным изменением степени структурированности θ_3 .

Исходя из этих предпосылок, нами с помощью уже построенных методом Монте-Карло статистических ансамблей были рассмотрены и цепи, содержащие одновременно структурированный и клубкообразный участки. Мерой гибкости считалась свободная энергия ($-\varphi$), приходящаяся на один стандартный участок, переведенный в клубкообразную конформацию. Поскольку в рассматриваемых нами коротких цепях образование двух и более участков маловероятно, мы рассмотрели простейший случай цепи, которая состоит из одного структурированного и одного клубкообразного участка. Статистическая сумма такой цепи может быть представлена в виде

$$z_{3+kn} = \sum_{k=0}^n z_3(\varepsilon, k) \cdot z_{kn}(\varphi, n-k), \quad (2)$$

где $z_3(\varepsilon, k)$ берется из (1), а $z_{kn} = e^{\varepsilon(n-k)}$.

На рис. 4 показаны кривые зависимости степени структурированности θ_3 макромолекул от энергии взаимодействия в β -структуре для цепей различной гибкости и различной длины. Видно, что степень кооперативности перехода зависит от гибкости макромолекулы, при увеличении которой (рост φ) переход становится более острым, причем анализ показывает, что практически весь переход осуществляется по принципу «все или ничего». Середина перехода отвечает приближенному выполнению условия $\varepsilon \approx \varphi$, и ее положение не зависит от степени полимеризации цепи. Для бесконечно длинных цепей условие $\varepsilon = \varphi$ в середине перехода выполняется строго.

Таким образом, фазовый переход I-го рода в бесконечно длинных цепях в случае конечных цепей проявляется как кооперативный S-образный переход. Этот вывод полностью соответствует результатам эксперимента Илларионовой [14], согласно которому переход складчатая β -структура—клубок в молекулах поли-S-карбобензоксиметилцистеина со степенью полимеризации от 60 до 480 осуществлялся в узком интервале изменения состава смешанного растворителя. Следующий из теории вывод о слабой зависимости положения перехода от степени полимеризации также хорошо согласуется с экспериментальными данными, согласно которым кривые перехода для всех исследованных образцов совпадали.

Վ. Հ. ԱՌՆՑ

ՄԱԿՐՈՄՈԼԵԿՈՒԼՅԱՐ ՇՂԹԱՆԵՐՈՒՄ ԿՈՆՖՈՐՄԱՑԻՈՆ
ՎԵՐԱՓՈՒՅՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԻՄԻՏԱՑԻԱՆ ԷԼԵԿՏՐՈՆԱՅԻՆ
ՀԱՇՎԻԶ ՄԵՔԵՆԱՆԵՐԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Էլեկտրոնային հաշվիչ մեքենաների վրա մեքենայական փորձարկման մեթոդով ուսումնասիրվել է β -կառուցվածք-կծիկ ներմոլեկուլյար կոնֆորմացիոն անցումը:

Հետազոտվել են նաև մոդելային պոլիմերային հրկրորդային և հրրորդային կառուցվածքով օժտված շղթայի անցումները:

Հոդվածում կատարվում է որակական համեմատություն ստացված թեորետիկ և գրականությունից հայտնի փորձարարական փաստերի միջև:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Адонц В. Г. Биологический журнал Армении, 29, 4, 1976.
2. Zimm B. H., Bragg J. K. J. Chem. Phys., 31, 526, 1959.
3. Бирштейн Т. М., Птицын О. Б. Конформации макромолекул, М., 1964.
4. Zwanzig R., Lauritzen J. I. J. Chem. Phys., 48, 3351, 1968.
5. Lauritzen J. I., Zwanzig R. J. Chem. Phys., 52, 3740, 1970.
6. Бирштейн Т. М., Ельяшевич А. М., Скворцов А. М. Мол. биол., 5, 78, 1971.
7. Morgenstern L. A., Birshstein T. M., Elyashevitch A. M. Biophysical Chem., 3, 1975.
8. Птицын О. Б., Эйзнер Ю. Е. Биофизика, 10, 3, 1965.
9. Doty P. Coll. Czechoslov. Commun. Special issue, 22, 5, 1957.
10. Доту П. Сб. Современные проблемы биофизики, 1, Л., 1961.
11. Neurath H. The Proteins, 3, 1—IV, N,—Y., 1963—1966.
12. Адонц В. Г., Бирштейн Т. М., Ельяшевич А. М. Сб. Конформационные изменения биополимеров в растворах, 149, М., 1973.
13. Илларионова Н. Г., Митин Ю. В., Птицын О. Б. Мол. биол., 1, 802, 1967.
14. Илларионова Н. Г. и др. Биофизика, 11, 762, 1966.