

Studije globalne strukture fleksibilnih polipeptida uz pomoć raspršivanja X-zraka pod malim kutem i molekularne dinamike

Bojan Žagrović^{a*}, Jan Lipfert^b, Guha Jayachandran^c, Eric J. Sorin^c, Ian S. Millett^c, Wilfred F. van Gunsteren^a, Sebastian Donaich^b & Vijay S. Pande^c

^a *Institut Fizikalne Kemije, ETH, Hönggerberg HCI, 8093, Zürich, Švicarska*

^b *Odsjek Fizike, Stanford University, 94305, Stanford, CA, USA*

^c *Odsjek Kemije, Stanford University, 94305, Stanford, CA, USA*

* *e-mail: zagrovic@igc.phys.chem.ethz.ch*

Fleksibilne strukture kao što su α -helični polialaninski lanci i nesvijeno stanje proteina obično se proučavaju uz pomoć metoda kratkog dosega kao što su cirkularni dikroizam i nuklearna magnetska rezonanca. Središnji problem s ovim metodama je taj da one pružaju vremenski i ansambl-uprosječene informacije o lokalnoj strukturi polipeptida i daju samo neizravnu sliku njihove globalne strukture. U ovom predavanju prikazat ću dva bitna primjera u kojima je struktura molekula, zasnovana na mjerenjima metoda kratkog dosega, u kontradikciji sa njihovom globalnom konfiguracijom.

Prvi primjer odnosi se na α -helikse i jednostavno pitanje: koliki je radijus giracije α -heliksa? Veći dio našeg znanja o kinetici i termodinamici smatanja α -heliksa, te njihovoj stabilnosti i strukturalnim svojstvima zasnovan je na proučavanju izoliranih polialaninskih lanaca u zadnjih dvadesetak godina. Strukturalna slika kojom se polialaninski heliks obično opisuje je ravni cilindar sa odmotanim krajevima. U ovoj studiji kritički smo se osvrnuli na tu uvriježenu sliku, mjereći uz pomoć sinhrotronske radijacije i raspršivanja X-zraka pod malim kutem (SAXS) globalno svojstvo, radijus giracije, niza polialaninskih struktura sekvence Ace-(AAKAA)_n-GY-NH₂, n = 2-7. Radijusi giracije koje smo izmjerili bitno su manji od radijusa giracije koji se očekuju od idealnih heliksa ili heliksa s odmotanim krajevima. Na primjer, radijus giracije molekule od 37 amino kiselina je $14.2 \pm 0.6 \text{ \AA}$ dok se od α -heliksa iste sekvence očekuje 17.6 \AA . Kako bi pobliže istražili ovu kontradikciju, upotrijebili smo atomističke simulacije, koristeći

Folding@Home gnijezdo za distribuirano računanje (150,000 procesora) i dvije varijante AMBER polja sile. Na žalost, u oba slučaja, simulirani ansamblu ne slažu se sa eksperimentalnom razinom helične strukture i izmjerenim radijusom giracije, pružajući relevantnu kritiku simulacijskog pristupa. Konformacijska slika heliksa koju predlažemo na osnovu SAXS mjerenja je ta fluktuentne, dinamičke strukture u kojoj je heliks isprekidan ne-heličnim zavojima i izlomljen na niz kratkih, fluktuirajućih segmenta.

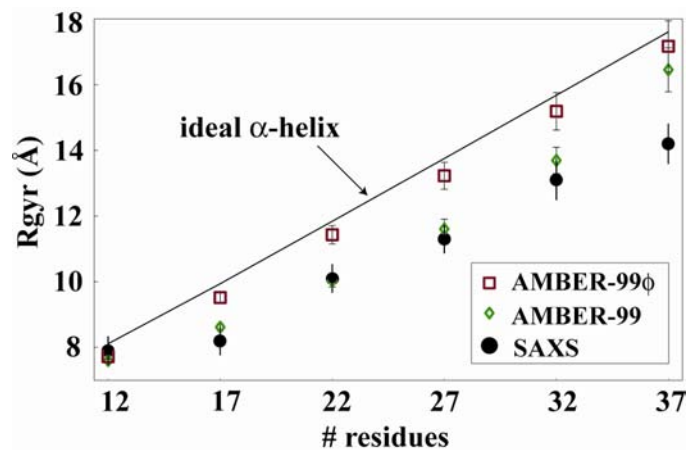
Drugi primjer odnosi se na globalnu strukturu poliprolinskog heliksa tipa II. Poliprolin tipa II (PPII) je u zadnjih nekoliko godina postao dominantnim modelom za opisivanje konformacije nesvijenog stanja proteina. Kratki alaninski peptid, Ace-(Daba)₂-(Ala)₇-(Orn)₂-NH₂ je proučavan kao model nesvijenog stanja proteina pod nativnim uvjetima, i vjeruje se da poprima PPII strukturu na osnovu tehnika kratkog doseg kao što su NMR i CD. Koristeći SAXS izmjerili smo radijus giracije ove molekule od 7.4 ± 0.5 Å, što je znatno manje od radijusa giracije koji se očekuje od idealne istegnute PPII strukture (13.1 Å). Kao i u slučaju α -heličnih struktura, da bi pobliže istražili ovu kontradikciju, upotrijebili smo atomističke simulacije i Folding@Home gnijezdo, te šest različitih varijanti AMBER polja sile, te GROMOS 53a6 polje sile. Na žalost, u svih sedam slučajeva, simulirani ansamblu odstupaju od eksperimentalne razine PPII strukture i izmjerenog radijusa giracije. Konformacijski model koji predlažemo na osnovu eksperimentalnih rezultata iz ove studije i onog što se zna otprije, je da XAO poprima fleksibilnu, dinamičnu strukturu koja na razini pojedinačnih amino kiselina istražuje široki bazen oko idealne PPII konformacije, ali je na globalnoj razini rijetko ili nikada u idealnoj PPII heličnoj konformaciji.

Kao zaključak, strukturalne metode kratkog i dugog doseg pružaju konformacijske informacije na dvije različite razine koje ne moraju biti u suglasnosti u kontekstu jedne statične konfiguracije. U nekim slučajevima, kao što je to ovdje prikazano, za potpuni opis fleksibilnih sistema potrebna su oba pristupa.

Literatura:

1. Zagrovic B, Lipfert J, Sorin EJ, Millett IS, van Gunsteren WF, Doniach S and Pande VS (2005) "Unusual Compactness of a Polyproline Type II structure", PNAS, 102, 11698-11703.
2. Zagrovic B, Jayachandran G, Millett IS, Doniach S and Pande VS (2005) "How large is α -helix? Studies of the radii of gyration of helical peptides by SAXS and MD", Journal of Molecular Biology, *in press*

Slika 1. Radijusi giracije šest peptida sa sekvencom Ace-(AAKAA)_n-GY-NH₂, n = 2-7, izmjereni uz pomoć SAXS-a (crne točke) i molekularne dinamike (crveni kvadrati: AMBER-99 ϕ ; zeleni dijamanti: AMBER-99). Puna linija predstavlja ovisnost radijusa giracije idealnih α -heliksa o duljini aminokiselinskog lanca.



Slika 2. Usporedba izmjerenog radijusa giracije XAO peptide (7.4 ± 0.5 Å) i radijusa giracije idealnog poliprolinskog heliksa tipa II (13.1 Å) te imaginarne strukture u kojoj su dva kratka poliprolinska heliksa postavljena pod 90 stupnjeva (10.8 Å).

