



УДК 539.199+547.96

КИНЕТИКА ОБРАЗОВАНИЯ АНТИПАРАЛЛЕЛЬНОЙ  $\beta$ -СТРУКТУРЫ

Финкельштейн А. В.

*Институт белка Академии наук СССР, г. Пущино, Московская область*

Теоретически показано, что скорость образования внутримолекулярной антипараллельной  $\beta$ -структуры в полипептидной цепи определяется скоростью формирования  $\beta$ -структурной шпильки, достаточно длинной для того, чтобы дальнейшее наращивание  $\beta$ -структурного листа шло с выигрышем свободной энергии. Показано, что этот процесс резко ускоряется с ростом стабильности  $\beta$ -структуры.

Время образования антипараллельной  $\beta$ -структуры в полипептидной цепи, определенное в различных условиях, составляет как часы, так и секунды [1—3]. Оно значительно превосходит время образования или разрыва водородной связи ( $\sim 10^{-8}$  с [4, 5]), а также характерное время образования  $\alpha$ -спирали ( $\sim 10^{-6}$  с [4]). С другой стороны, образование  $\beta$ -структуры ускоряется в десятки раз при повышении температуры всего на  $10^\circ$  [1]; это позволяет предположить, что в соответствующих условиях скорость образования  $\beta$ -структуры может резко возрасти, приближаясь к скорости образования  $\alpha$ -спирали.

Изложенные выше факты ясно указывают на существование высокого свободноэнергетического барьера на пути формирования  $\beta$ -структуры — барьера, связанного с потерей свободной энергии на краю «затравочной»  $\beta$ -структуры.

Рассмотрим простейшую модель  $\beta$ -структуры (рис. 1, ср. [6]), в которой каждый остаток цепи может либо находиться в  $\beta$ -структурной цепи внутри или на краю  $\beta$ -структурного листа (свободная энергия остатка  $\Delta F_\beta$  и  $\Delta F_\beta + F_\beta^{\text{marg}}$  соответственно, причем  $\Delta F_\beta < 0$ ), либо образовывать изгиб, соединяющий  $\beta$ -структурные цепи листа (свободная энергия  $\Delta F_\beta^{\text{bend}}$ ). Свободная энергия остатка, находящегося вне  $\beta$ -структурного листа, принимается за нуль (этим исходным состоянием может быть как клубок, так и  $\alpha$ -спираль, в зависимости от внешних условий [1—3]).

В  $\beta$ -структурном изгибе остаются ненасыщенные водородные связи, ситуация напоминает инициацию  $\alpha$ -спирали (в частности, виток  $\alpha$ -спирали может служить  $\beta$ -структурным изгибом); поэтому  $0 < \Delta F_\beta^{\text{bend}} \lesssim \Delta F_\alpha^{\text{init}}$ , а свободная энергия инициации  $\alpha$ -спирали  $\Delta F_\alpha^{\text{init}} \approx 4$  ккал/моль в водном окружении [7]. Если  $\Delta F_\beta + \Delta F_\beta^{\text{marg}} < 0$ , то барьер связан только с образованием  $\beta$ -структурного изгиба и не может быть высоким. Поэтому нас будет интересовать случай, когда  $\Delta F_\beta + \Delta F_\beta^{\text{marg}} > 0$ .

Барьер, лимитирующий скорость образования  $\beta$ -структуры, определяется образованием «затравочного»  $\beta$ -листа — такого  $\beta$ -структурного листа, что как развал его, так и наращивание  $\beta$ -структуры на той его стороне, которая служит «затравкой», происходит с понижением свободной энер-

гии. Поэтому наращивание  $\beta$ -структуры на «затравке» идет уже быстро, с характерным временем  $\tau_0$  порядка характерного времени элонгации  $\alpha$ -спирали, т. е.  $\sim 10^{-8}$  с/остаток [4, 5]. Пусть  $\beta$ -структура, развивавшаяся из одной «затравки», охватывает в среднем  $M$  остатков (для внутримолекулярной  $\beta$ -структуры  $M$  приблизительно равно числу остатков полипептидной цепи, но наши рассуждения справедливы и в том случае, когда  $\beta$ -структурный агрегат охватывает несколько макромолекул, число которых мало зависит от внешних условий [2]). Пусть  $w^*$  — вероятность образования «затравочного»  $\beta$ -листа, начинающегося данным остатком цепи; очевидно, что  $w^*$  равняется сумме статистических весов всевозможных конформаций «затравочного»  $\beta$ -листа, если пренебречь конкуренцией между «затравками» и другими нестабильными  $\beta$ -структурами. Тогда характеристическая скорость образования  $\beta$ -структуры

$$k_\beta \approx w^* M \tau_0^{-1}. \quad (1)$$

Очевидно, что быстрое достраивание  $\beta$ -структуры при условии  $\Delta F_\beta + \Delta F_\beta^{\text{marg}} > 0$  может начаться только после достижения краевой  $\beta$ -структурной цепью длины  $N$ , равной или превосходящей критическую некую длину  $N^*$ . Можно показать, что

$$N_1 \leq N^* \leq N_2, \quad (2)$$

где  $N_1$  — корень уравнения

$$\sum_{n=0}^{N-1} s_\beta^n q + s_\beta^N \sum_{k=0}^{\infty} (\mu^2 s_\beta^2)^k q = 1, \quad (3)$$

а  $N_2$  — корень уравнения

$$s_\beta^N \sum_{k=0}^{\infty} (\mu^2 s_\beta^2)^k q = 1. \quad (4)$$

Здесь  $s_\beta = \exp\left(-\frac{\Delta F_\beta}{RT}\right)$ ,  $\mu = \exp\left(-\frac{\Delta F_\beta^{\text{marg}}}{RT}\right)$  и  $q = \exp\left(-\frac{\Delta F_\beta^{\text{bend}}}{RT}\right)$ ; при этом  $s_\beta > 1$ ,  $\mu s_\beta < 1$  и  $q < 1$  (см. выше).

Первый член левой части уравнения (3) отвечает пристраиванию к краевой  $\beta$ -структурной цепи длины  $N$  всевозможных более коротких  $\beta$ -структурных участков с последующим изгибом; второй член левой части уравнения (3) и левая часть уравнения (4) отвечают пристраиванию  $\beta$ -структурной цепи из  $N$  остатков и следующих за ней  $\beta$ -структурных шпиклек различной длины, включающих изгиб (рис. 1).

Если левая часть в уравнении (3) меньше 1 (т. е.  $N < N_1$ ), то достраивание  $\beta$ -структуры приводит к повышению свободной энергии — барьер еще не достигнут.

Если левая часть в уравнении (4) больше 1 (т. е.  $N > N_2$ ), то даже достраивание  $\beta$ -структурного листа, не сопровождающееся укорачиванием краевой  $\beta$ -структурной цепи, идет с понижением свободной энергии; по-

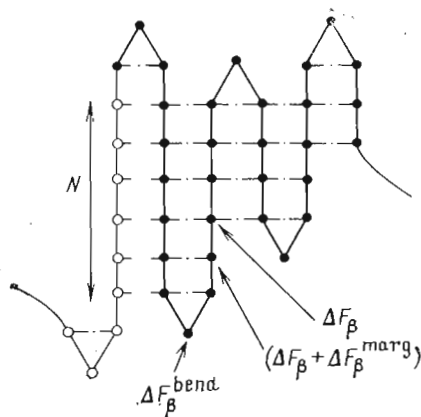


Рис. 1. Схема  $\beta$ -структурного листа (зачернен) и пристраивающегося к нему участка полипептидной цепи

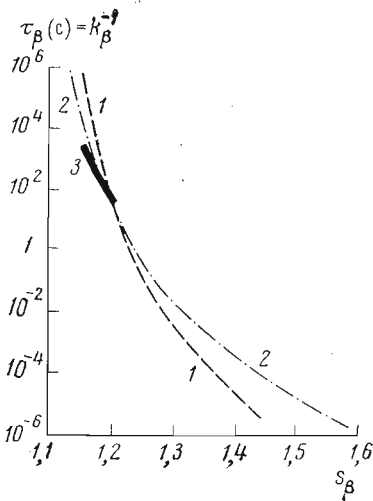


Рис. 2. Зависимость характерного времени образования  $\beta$ -структуры  $\tau_\beta$  от параметра стабильности  $s_\beta$ . 1 —  $N^* = N_1$ ,  $\mu = 0,625$ ; 2 —  $N^* = N_2$ ,  $\mu = 0,56$ ; 3 — экспериментально найденная зависимость  $\tau_\beta$  от  $s_\beta$  [1, 7]. Параметры  $\mu$  выбраны так, чтобы получить экспериментальное значение  $\tau_\beta = 47$  с при  $s_\beta = 1, 2$  для  $q = 1,5 \cdot 10^{-3}$ ,  $\tau_0 = 10^{-8}$  с,  $M = 10^3$  (см. текст)

$N \ll N_1$  удлинение  $\beta$ -структурного листа не сопровождается понижением свободной энергии, мы получим

$$w^* \approx \mu^{2N_1}. \quad (6)$$

Выражения (5) и (6) можно объединить в форме

$$w^* \approx \mu^{2N^*}, \quad (7)$$

так что

$$\ln(k_\beta \tau_0 M^{-1}) \approx 2N^* \ln \mu. \quad (8)$$

Если свободная энергия изгиба достаточно высока, так что

$$q \ll 1 - \mu^2 s_\beta^2, \quad (9)$$

$$q \ll s_\beta - 1, \quad (10)$$

то

$$N_1 = \frac{\ln \frac{1}{q} + \ln(1 - \mu^2 s_\beta^2) - \ln \frac{s_\beta - \mu^2 s_\beta^2}{s_\beta - 1}}{\ln \mu} \quad (3a)$$

и

$$N_2 = \frac{\ln \frac{1}{q} + \ln(1 - \mu^2 s_\beta^2)}{\ln s_\beta}. \quad (4a)$$

Если же при этом  $\mu^2 s_\beta^2$  и  $s_\beta$  не слишком близки к 1, так что  $\ln \frac{1}{q}$  является доминирующим членом в числителях выражений (3a) и (4a), то раз-

этому и следующее наращивание  $\beta$ -структуры может идти с понижением свободной энергии и т. д. — барьер уже преодолен.

Наконец, если  $N_1 \leq N \leq N_2$ , то первый шаг достраивания  $\beta$ -структуры идет с понижением свободной энергии, но только за счет вклада от укороченных краевых  $\beta$ -структурных цепей. Поэтому не исключено, что мы встретимся с повышением свободной энергии на следующих этапах достраивания  $\beta$ -структуры.

Оценим теперь, сверху и снизу, статистический вес «затравочной»  $\beta$ -структуры, т. е.  $w^*$ .

Оценку  $w^*$  снизу мы получим, полагая  $N^* = N_2$  и рассматривая только простейшие «затравочные»  $\beta$ -структуры: шпильки длиной  $N \geq N_2$  с последующим изгибом или шпилькой произвольной длины. При этом, очевидно,

$$w^* = \mu^{2N_2}. \quad (5)$$

Оценку  $w^*$  сверху мы получим, полагая  $N^* = N_1$  и рассматривая в качестве затравочной  $\beta$ -структуры произвольный  $\beta$ -структурный лист,  $\beta$ -структурные цепи которого по длине не превосходят  $N_1$ , с краевой  $\beta$ -структурной цепью длины  $N_1$  и следующим за ней изгибом или шпилькой произвольной длины. Так как при

личие между  $N_1$  и  $N_2$  незначительно и

$$N^* \approx \frac{\ln \frac{1}{q}}{\ln s_\beta} = - \frac{\Delta F_\beta^{\text{bend}}}{\Delta F_\beta}. \quad (11)$$

Подставляя это значение  $N^*$  в формулу (8), получим

$$\ln(k_\beta \tau_0 M^{-1}) \approx 2 \frac{\left(\frac{\Delta F_\beta^{\text{bend}}}{RT}\right) \left(\frac{\Delta F_\beta^{\text{marg}}}{RT}\right)}{\left(-\frac{\Delta F_\beta}{RT}\right)}. \quad (12)$$

Для полилизина при  $55^\circ$   $k_\beta \approx 0,02$  [1] и  $\left(-\frac{\Delta F_\beta}{RT}\right) \approx 0,2$  [8, 9]; при  $\tau_0 \sim 10^{-3}$  и  $M \sim 10^3$

$$\frac{\Delta F_\beta^{\text{bend}}}{RT} \cdot \frac{\Delta F_\beta^{\text{marg}}}{RT} \approx 3. \quad (13)$$

Поскольку  $\Delta F_\beta^{\text{bend}} \leq 4$  ккал/моль (см. выше), то для полилизина

$$\frac{\Delta F_\beta^{\text{marg}}}{RT} \geq 0,5, \quad (14)$$

что оправдывает предположения, сделанные при выводе формул (11) и (12).

Формула (12) прямо указывает, что даже небольшого изменения параметра  $\Delta F_\beta/RT$  ввиду его малости достаточно для резкого изменения скорости образования  $\beta$ -структуры: образование  $\beta$ -структуры резко ускоряется с ростом ее стабильности (рис. 2).

Предполагая выполнение условия (13) и изменение только параметра  $\Delta F_\beta$  в формуле (12) и используя данные по зависимости  $\Delta F_\beta$  лизина от температуры, приведенные в работе [8], мы получим  $\left.\frac{d \ln k_\beta}{dT}\right|_{\text{теор}} \approx 0,6$  град $^{-1}$  в диапазоне  $45-55^\circ$ ; экспериментальная оценка [1] дает  $\left.\frac{d \ln k_\beta}{dT}\right|_{\text{эксп}} \approx 0,35$  град $^{-1}$ . Время формирования  $\beta$ -структуры достигнет миллисекундного диапазона при  $\left(-\frac{\Delta F_\beta}{RT}\right) \approx 0,35$  и микросекундного диапазона при  $\left(-\frac{\Delta F_\beta}{RT}\right) \approx 0,5$ .

(При дальнейшем росте  $\Delta F_\beta$  развиваемая теория неприменима, так как лимитирующей стадией становится не инициация, а элонгация  $\beta$ -структуры.)

Итак, возможно очень быстрое образование  $\beta$ -структуры в полимерах с высокими значениями  $s_\beta$ . Незаряженный политирозин ( $s_\beta \sim 1,5-2$  [10]), к сожалению, образует комок, стянутый гидрофобными взаимодействиями [3], и этот процесс заглушает формирование  $\beta$ -структуры. Можно ожидать, однако, быстрого формирования  $\beta$ -структуры в сополимерах лизина с валином и изолейцином, для которых  $s_\beta \sim 2,5-5$  [11, 12], а также быстрого формирования достаточно стабильных  $\beta$ -шпилек при самоорганизации (ренатурации) белков.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Snell C. R., Fasman G. D. (1973) *Biochemistry*, **12**, 1017—1025.
2. Hartman R., Schwanger R. C., Hermans J., Jr. (1974) *J. Mol. Biol.*, **90**, 415—429.
3. Auer H. E., Patton E. (1976) *Biophys. Chem.*, **4**, 15—21.
4. Zana R. (1975) *Biopolymers*, **14**, 2425—2428.
5. Cummings A. L., Eyring E. M. (1975) *Biopolymers*, **14**, 2107—2114.
6. Zwanzig R., Lawritzen I. (1968) *J. Chem. Phys.*, **48**, 3351—3360.
7. Platzer K. E. B., Ananthanarayanan V. S., Andreatta R. H., Scheraga H. A. (1972) *Macromolecules*, **4**, 417—424.
8. Cosani A., Terbojevich M., Romanin-Jacur L., Peggion E. (1974) *Peptides, Polypeptides and Proteins. Proc. Symp., Israel*, p. 166—176.
9. Pederson D., Gabriel D., Hermans J., Jr. (1971) *Biopolymers*, **10**, 2133—2145.
10. McKnigh R. P., Auer H. A. (1976) *Macromolecules*, **9**, 939—944.
11. Mandell R., Fasman G. D. (1975) *Biopolymers*, **14**, 1633—1649.
12. Walter B., Fasman G. D. (1977) *Biopolymers*, **16**, 17—32.

Поступила в редакцию  
2.VIII.1977

## KINETICS OF THE ANTIPARALLEL $\beta$ -STRUCTURE FORMATION

FINKELSTEIN A. V.

*Institute of Protein Research, Academy of Sciences  
of the USSR, Pushchino*

It has been theoretically shown that the rate of formation of the intramolecular antiparallel  $\beta$ -structure in the polypeptide chain is determined by the rate of formation of the  $\beta$ -structural hairpin which is long enough to ensure the free energy gain on further expansion of the  $\beta$ -pleated sheet. This process is shown to be sharply accelerated with the increase in the  $\beta$ -structure stability.

---