

МОДЕЛЮВАННЯ ПРОЦЕСІВ НА ПОВЕРХНІ ТВЕРДИХ ТІЛ

УДК 541.183:539.192

КВАНТОВО-ХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ ПОВЕРХНІ КРЕМНЕЗЕМУ З α -СПІРАЛЬНОЮ ДІЛЯНКОЮ МОЛЕКУЛИ СИРОВАТКОВОГО АЛЬБУМІНУ ЛЮДИНИ

А.М. Дацюк, В.В. Лобанов, А.Г. Гребенюк, О.О. Чуйко

*Інститут хімії поверхні Національної академії наук України
вул. Ген. Наумова 17, 03680 Київ-164*

Методом СУП МО ЛКАО у валентному наближенні PM3 виконано квантово-хімічні розрахунки рівноважної структури гідратованої α -спіральної ділянки молекули сироваткового альбуміну людини, адсорбованої на поверхні кремнезему. Виявлено, що молекули води відіграють значну роль у перенесенні електронної густини з поверхні кремнезему на полярні групи білка і навпаки.

Quantum chemical calculations were carried out of equilibrium structure of the hydrated α -helix of the human serum albumin adsorbed on silica surface by SCF MO LCAO method within the framework of valence approximation PM3. Water molecules appear to play a considerable role in transition of electron density from silica surface onto albumin polar groups and vice versa.

Вступ

В останні роки кремнезем та його модифікації успішно використовуються як адсорбенти макромолекул, зокрема білків [1]. Білки, іммобілізовані на твердій поверхні, здатні за деяких умов зберігати свою функціональну стабільність протягом довгого часу [2]. Проте якісна та кількісна трансформація координаційної сфери білкової молекули при її адсорбції на поверхні адсорбента може бути причиною зміни деяких фізико-хімічних властивостей, що призводить до часткової втрати білком біологічної активності [3, 4]. Наприклад, при очищенні білків хроматографічними методами, гемодіалізі, контакті білків крові з кардіосудинними імплантованими матеріалами, кількість білкових молекул, що знаходяться в розчині, завжди перевищує їхню кількість, сорбовану на поверхні твердого тіла. Зрозуміло, що між адсорбованими молекулами білка та тими, що знаходяться в розчині, встановлюється динамічна рівновага [5]. Беручи до уваги те, що енергії адсорбційних взаємодій на поверхні кремнезему знаходяться приблизно в інтервалі енергій водневих зв'язків, які формують вторинну та третинну структуру білкової молекули, слід врахувати можливість її знаходження в різних конформаційних станах: до адсорбції, в адсорбованому стані і після десорбції. Так, в [5] було показано, що, незалежно від механізму обміну між адсорбованою фазою та розчином, що містить білкові молекули, останні після десорбції не завжди повертаються до своєї нативної структури. Перебування молекули протеїну у біологічному розчині в конформації, що відрізняється від нативної, може бути причиною утворення конгломератів з молекулами складових частин крові, внаслідок чого формуються тромби,

які далі потрапляють до кров'яного потоку. Знання особливостей адсорбції-десорбції білків на твердих поверхнях важливі не лише при розгляді впливу адсорбента на кров тварин та людини. Важливим є і той факт, що адсорбція білків є процесом, що спричиняє утворення зубного каменю, відновлення зубної емалі та забруднення контактних лінз [6].

Таким чином, вирішальна роль адсорбції білків у перелічених вище процесах актуалізує дослідження молекулярних аспектів взаємодії протеїнів з поверхнею твердого тіла, якій властива певна хімічна активність.

Об'єкти дослідження

Об'єктом дослідження була вибрана молекула сироваткового альбуміну людини (САЛ). Цей білок є найбільш поширеним у плазмі крові людини, порівняно з іншими білками. Встановлено [7], що йому притаманні такі функції, як підтримка певного значення рН та осмотичного тиску, перенесення різноманітних речовин до відповідних органів. Зважаючи на великий розмір молекули САЛ, провести квантово-хімічне дослідження взаємодії цілої молекули даного білка з поверхнею кремнезему в даний час неможливо. Тому в даній роботі за модель білкової молекули правила α -спіральної ділянки молекули САЛ, що складається з 16 залишків амінокислотної послідовності: Glu 208, Arg 209, Ala 210, Phe 211, Lys 212, Ala 213, Trp 214, Ala 215, Val 216, Ala 217, Arg 218, Leu 219, Ser 220, Gln 221, Arg 222 та Phe 223. Вона належить домену №2, розташована на поверхні глобули білка і містить, поряд з неполярними боковими амінокислотними залишками, полярні, що можуть виступати стереоактивними центрами в процесах сорбції на кремнеземах [8]. Виділена ділянка, надалі кластер I, зображена на рис. 1.

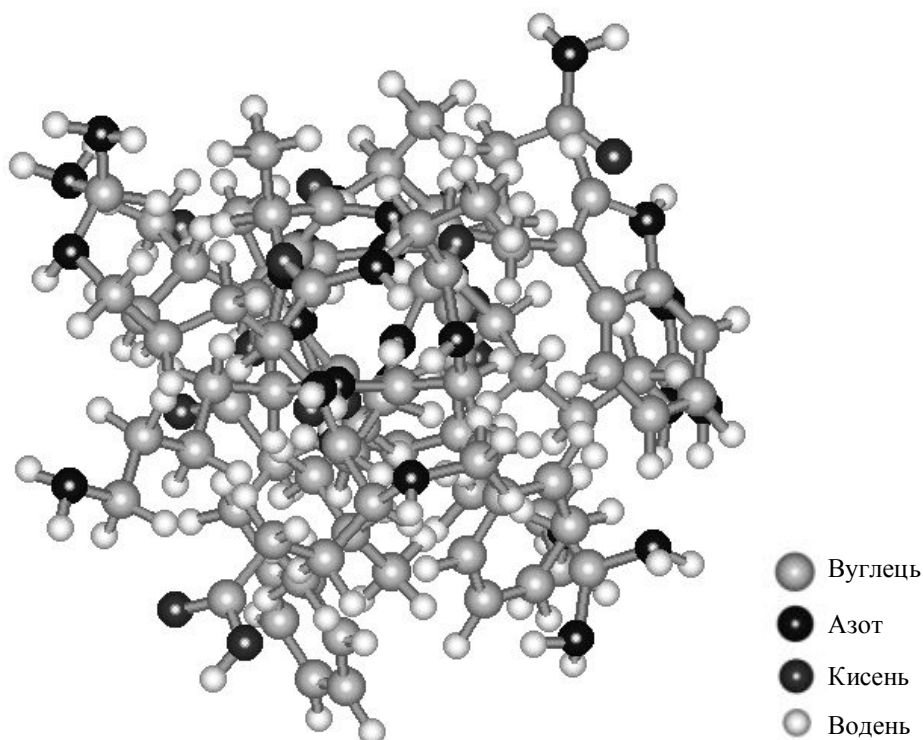


Рис. 1. α -Спіральна ділянка САЛ (вигляд вздовж осі спіралі).

При побудові згаданої ділянки молекули САЛ були використані рентгеноструктурні дані, отримані з PDB (Protein Data Bank) банку даних білків. Вільні зв'язки, утворені внаслідок обриву поліпептидної спіралі, були насичені гідрофобною метильною групою та атомом водню на N- та C-кінцях відповідно.

Оскільки більш як 2/3 гідроксильних груп, які визначають хімічну активність дисперсних кремнеземів розміщені на ділянках поверхні, що є близькими за структурними мотивами до грані (111) β -кристобаліту [9], за модель поверхні кремнезему був вибраний кластер (β -кластер), що відображає найбільш характерні фрагменти цієї грані (див. рис. 2). Для компенсації граничних ефектів, пов'язаних з обривом хімічних зв'язків по периферії кластера, кінцеві атоми кисню замикалися атомами водню [9]. При побудові β -кластера використовувалися структурні параметри, що подані у табл. 1. Як видно з рис. 2, модельний кластер містить 6 силанольних груп.

Зважаючи на те, що в реальних умовах адсорбція білків відбувається в водному середовищі, слід прийняти до уваги молекули води, що гідратують кластер I.

Таблиця 1. Структурні параметри β -кластера (довжини зв'язку, Å; валентні кути, градуси).

Параметр	Довжина зв'язку	Параметр	Величина кута
Si-O	1,65	Si-O-Si	180
O-H*	0,36	Si-O-H	105
O-H	0,95		

H* – атом водню, розташований на периферії β -кластера

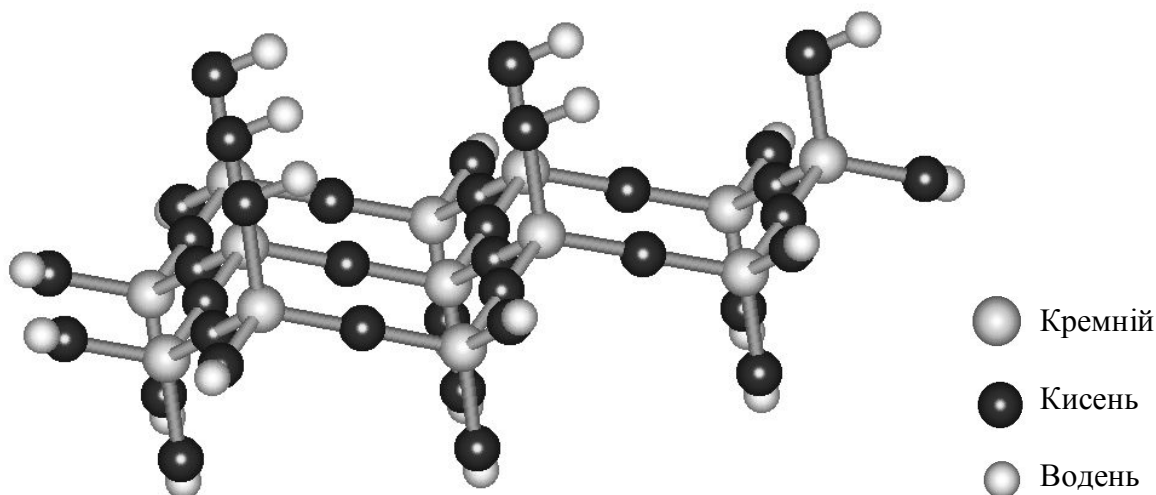


Рис. 2. Схематичне зображення β -кластера, що моделює ділянку грані (111) β -кристобаліту

Методи дослідження та результати

На першому етапі проводилася оптимізація просторової будови виділеної α -спіральної ділянки методом RM3 [10] без будь-яких обмежень на її структуру. Після оптимізації геометричних параметрів кінцева структура даного фрагменту молекули білка істотно не змінилася, порівняно з експериментальними рентгеноструктурними даними. Далі, з використанням оптимальної просторової будови кластера I, була одержана його неемпірична хвильова функція в мінімальному базисі (MINI), яка дала можливість виконати розрахунок розподілу молекулярного електростатичного потенціалу (МЕСП) в можливих місцях локалізації молекул води першої гідратної оболонки.

Площини, в яких проводився розрахунок МЕСП, вибиралися таким чином, щоб вони проходили через бісектрису кута H-N-H та зв'язок C-N груп NH₂ амінокислотних

залишків. Отримані карти розподілу МЕСП дозволили визначити, в якій ролі – електронодонора чи протонодонора – виступає молекула води, сольватуючи той чи інший полярний амінокислотний залишок. Найбільший вигреш в енергії гідратації досягається за умови локалізації неподіленої пари електронів атома кисню молекули води в області позитивних значень потенціалу, а одного із її атомів водню – в області мінімуму негативних значень МЕСП.

В рамках такого підходу був побудований кластер II, що об'єднує кластер I та 10 молекул води (рис. 3). Введення більшої кількості молекул води обмежувалося технічними можливостями. Подальша оптимізація просторової будови кластера II показала високу ефективність використаного нами методу генерації гідратної оболонки порівняно невеликої білкової молекули. Це видно з того, що різниця енергії між оптимізованою та неоптимізованою структурами кластера II становила 22 кДж/моль (енергія кластера II до оптимізації становила –5570 кДж/моль). Такий невеликий вигреш в енергії можна пов'язати з вдалим розміщенням молекул H₂O по периферії α -спіральної ділянки, вибраним на підставі карт МЕСП. Дані таблиці 2 вказують на роль молекул води, яку вони відіграють в процесі гідратації α -спіральної ділянки молекули САЛ.

Таблиця 2. Ефективні залишкові заряди на атомах молекул води в комплексі I.

№ молекули води	Атоми	Заряди, а.о.	№ молекули води	Атоми	Заряди, а.о.
1	H	0,226	6	H	0,206
	O	-0,420		O	-0,374
	<u>H</u>	<u>0,175</u>		<u>H</u>	<u>0,198</u>
	Разом	-0,019		Разом	0,030
2	H	0,196	7	H	0,228
	O	-0,374		O	-0,408
	<u>H</u>	<u>0,194</u>		<u>H</u>	<u>0,184</u>
	Разом	0,016		Разом	0,004
3	H	0,223	8	H	0,226
	O	-0,456		O	-0,455
	<u>H</u>	<u>0,170</u>		<u>H</u>	<u>0,178</u>
	Разом	-0,063		Разом	-0,051
4	H	0,196	9	H	0,209
	O	-0,397		O	-0,430
	<u>H</u>	<u>0,209</u>		<u>H</u>	<u>0,179</u>
	Разом	0,008		Разом	-0,042
5	H	0,212	10	H	0,217
	O	-0,432		O	-0,439
	<u>H</u>	<u>0,183</u>		<u>H</u>	<u>0,179</u>
	Разом	-0,037		Разом	-0,043

Розрахунок показав, що теплота гідратації кластера I в рамках методу РМЗ складає 163 кДж/моль, що в перерахунку на одну молекулу води становить 16,3 кДж/моль. Дана величина узгоджується з середньою теплотою утворення водневого зв'язку.

На наступному етапі дослідження виконано квантово-хімічний розрахунок системи кластер II + β -кластер. Оптимізація об'єднаної системи проводилась в супермолекулярному наближенні з варіаціями просторової будови білкової молекули, положень і внутрішньої будови молекул води та структурних параметрів силанольних груп поверхні кремнезему. Всі інші довжини зв'язків, валентні та двогранні кути β -кластера залишалися незмінними. Результати розрахунків теплот утворення адсорбційних комплексів та їх складових подані у табл. 3.

Таблиця 3. Теплоти утворення адсорбційних комплексів та їх структурних елементів за даними методу РМЗ

Об'єкт дослідження	$\Delta H_{\text{утв.}}$, кДж/моль
Кластер I (α -спіральна ділянка молекули білка)	-3195
Сольватна оболонка (10 молекул води)	-2234
Кластер II (кластер I + сольватна оболонка)	-5592
β -Кластер (ділянка грані (111) β -кристобаліту)	-14450
Комплекс (кластер II + β -кластер)	-20150

Структура адсорбційного комплексу зображена на рис. 4, а збільшений фрагмент цього комплексу, де показані водневі зв'язки, на рис. 5. З цих рисунків видно, що зв'язок β -кластера з кластером I здійснюється за участю трьох молекул води (перша, друга та п'ята молекули). Теплота утворення адсорбційного комплексу, обчислена на основі даних табл. 3, становить -108 кДж/моль, що відповідає енергії шістьох водневих зв'язків (18 кДж/моль на один зв'язок).

Детальний аналіз будови адсорбційного комплексу показує, що молекули води, які зв'язують білок з поверхнею кремнезему, виконують роль своєрідних "електронних насосів". В гідратованій ділянці молекули САЛ (див. табл. 2) та в адсорбційному комплексі (див. табл. 4) спостерігається стягування електронної густини молекулами гідратної оболонки. Так, в молекулах води 1 та 2 спостерігається збільшення електронної густини, причому якщо в кластері II молекула води 2 виступала як донор електронної густини, то в адсорбційному комплексі вона бере участь як акцептор електронної густини. З іншого боку, у молекули води, що зв'язує залишок Arg 218 (молекула 5) з поверхнею, послабилися електроноакцепторні властивості.

Таблиця 4. Ефективні заряди структурних елементів в адсорбційних комплексах.

Система	Ефективний заряд структурних елементів системи, q_{ef} .				
	α -спіраль	гідратна оболонка			β -кластер
Кластер II	0,196	-0,196			–
Комплекс	0,198	H ₂ O (1)	H ₂ O (2)	H ₂ O (5)	0,063
		-0,023	-0,009	-0,025	
		-0,261			

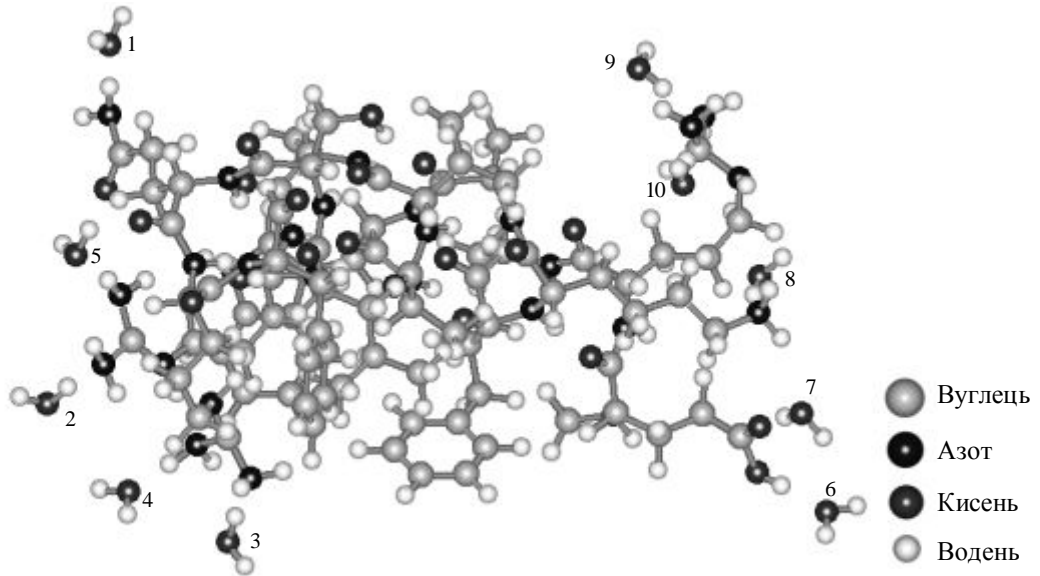


Рис. 3. Гідратований фрагмент білкової молекули САІ

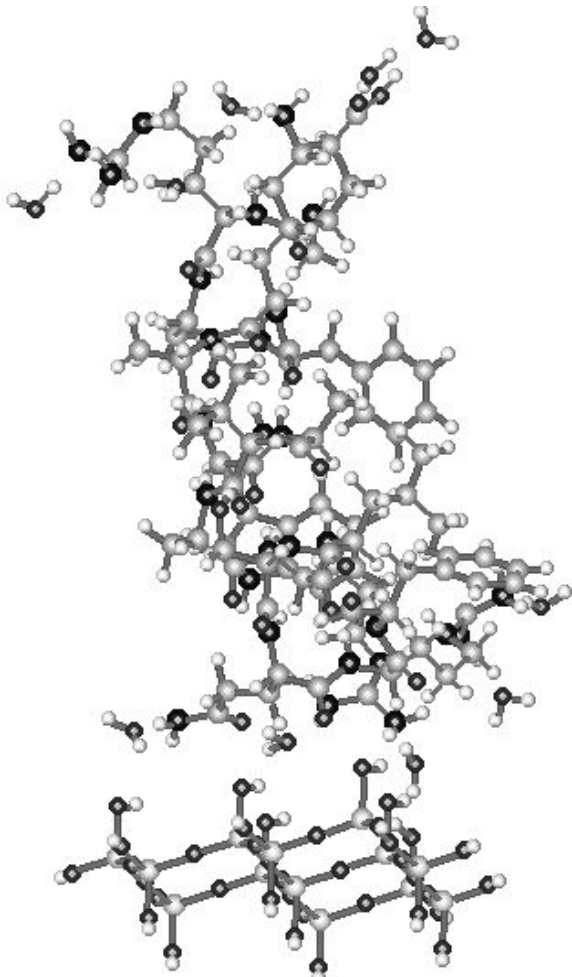


Рис. 4. Структура адсорбційного комплексу

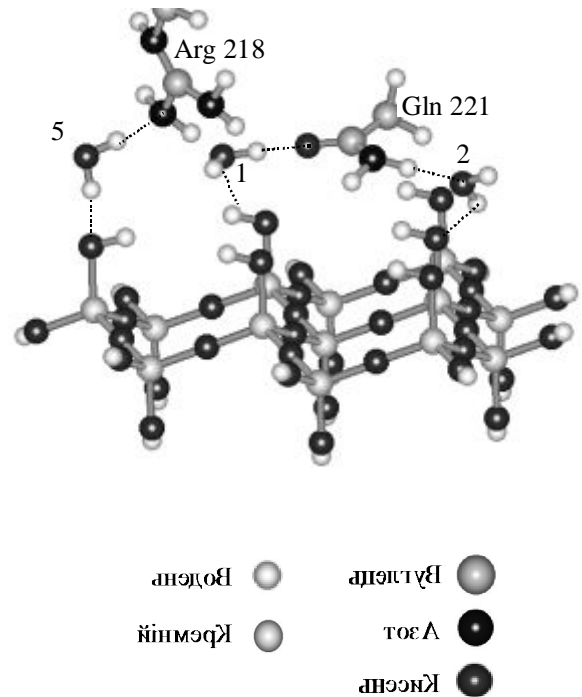


Рис. 5. Фрагмент адсорбційного комплексу з водневими зв'язками

Через молекулу 2 (рис. 5) відбувається перенесення електронної густини з поверхні на білкову молекулу. Через інші дві молекули води (1 та 5) електронна густина, навпаки, переноситься з білкової молекули на поверхню.

Висновки

В рамках розглянутої моделі можна стверджувати, що адсорбція білкової молекули на поверхні кремнезему відбувається через молекули води, які за рахунок утворення водневих зв'язків забезпечують перенесення електронної густини з поверхні на білок і навпаки.

Процес адсорбції α -спіральної ділянки білка виявив вибірковість “посадки” білкової молекули таким чином, що утворилися водневі зв'язки з силанольними групами через амінокислотні залишки Arg 218 та Gln 221. Отже дані групи виступають активними центрами в процесах сорбції білка на поверхні кремнезему.

Звичайно, в роботі використано певні наближення, тому для отримання остаточних і більш повних результатів в майбутньому будуть вибрані інші реально існуючі ділянки з відповідними амінокислотними залишками для підтвердження факту вибіркової сорбції через Arg 218 та Gln 221.

Література

1. Туров В.В., Барвинченко В.Н., Чуйко А.А., Рыбачук В.Н. Особенности адсорбции белковых молекул на поверхности аморфного кремнезема// Доп. НАН України. – 1998. - №11. - С.153-157.
2. Ellerby L.M., Nishida C.R., and Nishida R. Encapsulation of proteins in transparent porous silicate glasses prepared by sol-gel method// Science. – 1992. – V.255, N5048. – P.1113-1115.
3. Norde W. Protein at solid surface// Phys. Chem. Biol. Interfaces/ A. Baszkin, W. Norde, Eds. – New York: Marcel Dekker Inc., 2000. - P.115-135.
4. Norde W. and Zoungrana T. Stability and stabilization of biocatalysts// Progress in Biotechnology. – 1998. - V.15. – P.495-497.
5. Giacomelli C.E. and Norde W. The adsorption-desorption cycle. Reversibility of the BSA-silica system// J. Colloid Interface Sci. – 2001. – V.233. – P.234-240.
6. Haynes C.A. and Norde W. Structures and stabilities of adsorbed proteins// J. Colloid Interface Sci. – 1995. – V.169. – P.313-328.
7. Sugio S., Kashima A., Machizuki S., Noda M., and Kobayashi K. Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution// Protein Engineering. –1999. – V.12, N6. – P.439-446.
8. Bhattacharua A.A., Grune T., and Curry S. Crystallographic analysis reveals common modes of binding of medium and long chain fatty acids to HSA// J. Mol. Biol. – 2000. – V.303. – P.721-732.
9. Роль электростатических взаимодействий в адсорбции на поверхности твердых оксидов/ В.В. Лобанов, Ю.И. Горлов, А.А. Чуйко, В.М. Пинчук, Ю.С. Синекон, Ю.И. Якименко. – К.: БЕК + , 1999. – 240 с.
10. Stewart J.J.P. Optimization of parameters for semiempirical methods. I. Method // J. Comput. Chem. - 1989. – V.10, N2. - P.209-220.