

УДК 577.112; 539.194; 535.34

Могильчак К.Ю.¹, асп.,
Кравченко В.М.¹, к.ф.-м.н., доц.,
Ящук В.М.¹, д.ф.-м.н., проф.

Розрахунок електронних спектрів ароматичних амінокислот та пептидів на їх основі

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка, 01601, м. Київ, вул. Володимирська 64/13,
e-mail: k.mogylchak@gmail.com

K. Yu. Mogylchak¹, PhD stud.,
V. M. Kravchenko¹, PhD, Assoc. Prof.,
V. M. Yashchuk¹, Dr. Sci., Prof.

Calculation of electronic spectra of aromatic amino acids and peptides based on them

¹Taras Shevchenko National University of Kyiv, 01601, Kyiv, Volodymyrska st., 64/13,
e-mail: k.mogylchak@gmail.com

Наведені результати квантово-хімічних розрахунків електронних спектрів ароматичних амінокислот та пептидів на їх основі. Одержано якісне узгодження результатів розрахунків з експериментально вимірними спектрами поглинання білкових макромолекул з відомою амінокислотою послідовністю. Зроблено висновок про взаємодію π -електронних систем ароматичних амінокислот вздовж лінії пептидного зв'язку.

Ключові слова: пептиди, ароматичні амінокислоти, квантово-хімічні розрахунки, електронний спектр, спектр оптичного поглинання.

Quantum-chemical calculations of electronic spectra of aromatic amino acids (tryptophan, tyrosine and phenylalanine), which are centers of intense UV absorption and fluorescence ($\lambda > 200$ nm) in proteins, and peptides based on them are presented. It is shown that calculated spectra of peptides consisting of aromatic amino acids are not a linear combination of spectra of individual amino acids. Theoretical results qualitatively agree with experimentally measured absorption spectra of protein macromolecules with known amino acid sequence. It is concluded that there is interaction between the π -electron systems of aromatic amino acids along the line of peptide bond in peptides and proteins, which shows up in their optical absorption spectra.

Key Words: peptides, aromatic amino acids, quantum-chemical calculations, electronic spectrum, optical absorption spectrum.

Статтю представив академік НАН України, д.ф.-м.н., проф. Булавін Л.А.

Білки відіграють ключову роль у процесах життєдіяльності усіх без винятку організмів. Білкові макромолекули побудовані із залишків 20 амінокислот, серед яких є три ароматичні амінокислоти (триптофан (Trp), тирозин (Tyr) та фенілаланін (Phe)), які являють собою π -електронні системи і є центрами інтенсивного поглинання та флюоресценції в УФ області спектра ($\lambda > 200$ нм). Саме ароматичні амінокислоти й визначають спектральні властивості білків та пептидів (менших за розмірами сполук, що складаються із залишків амінокислот) у згаданому спектральному діапазоні [1-3].

Спектри поглинання та випромінювання пептидів та білків визначаються кількістю, розташуванням і взаємодією між ароматичними амінокислотами, отже є чутливими до конфірма-

ційних змін у таких макромолекулах [4-5].

Квантово-хімічні розрахунки з використанням сучасних програмних пакетів дозволяють передбачати певні закономірності у зміні спектрів при виникненні взаємодії між ароматичними амінокислотами у білкових молекулах як вздовж лінії пептидного зв'язку, так і між ароматичними амінокислотами, що належать до різних ділянок поліпептидного ланцюга згорнутої у глобулу білкової макромолекули.

Метою даної роботи було проведення квантово-хімічних розрахунків електронних спектрів (спектрів поглинання) пептидів, що склалися з різної кількості ароматичних та неароматичних амінокислот, та їх порівняння зі спектром поглинання головного капсидного білка іридовірусу комара *Aedes flavescens* (AfIV),

який був об'єктом наших експериментальних досліджень і для якого відома амінокислотна послідовність.

В наших розрахунках ми використовували програмний пакет Gaussian 03. Для побудови досліджуваних молекул були взяті бази даних для амінокислотних залишків з цього пакету. Конформації, в яких перебували амінокислоти в пептидах, враховувались за допомогою конформаційних параметрів, наведених в [2].

Електронні спектри молекул були розраховані за допомогою напівемперичного наближення ZINDO [6, 7]. Розрахунок проводився для 20

станів. За таких умов можна спостерігати перший та другий електронні переходи. Переходи, які знаходяться у короткохвильовішій області (вакуумний УФ діапазон, $\lambda < 200$ нм), нас не цікавили, оскільки їх експериментальне спостереження пов'язане з суттєвими труднощами.

Квантово-хімічні розрахунки електронних спектрів проводились для усіх трьох ароматичних амінокислот – триптофану, тирозину та фенілаланіну. Їх хімічні формули зображені на рис. 1 [8].

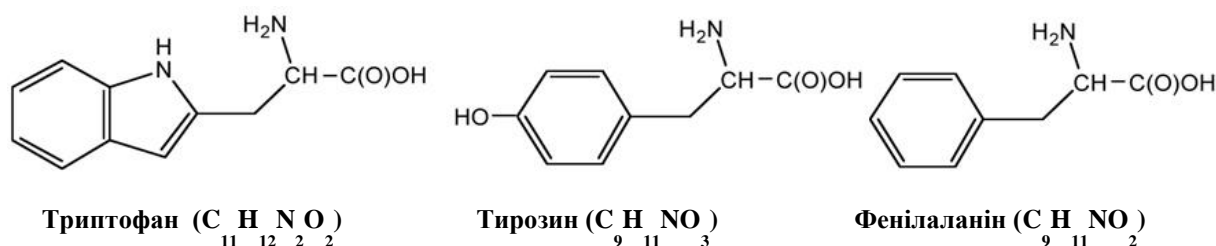


Рис. 1. Хімічна будова ароматичних амінокислот.

Оскільки білкова макромолекула являє собою послідовність з багатьох різних амінокислот, а у спектрах поглинання в ближньому УФ діапазоні виявляють себе лише ароматичні амінокислоти, ми зробили спробу розрахувати спектр поглинання послідовності з кількох амінокислот для того, щоб з'ясувати, як буде змінюватися спектр окремої амінокислоти при утворенні хімічних зв'язків між нею й іншими ароматичними амінокислотами в білковій молекулі. Іншими словами, ми зробили спробу промодельовати спектр поглинання пептиду – фрагмента білкової молекули.

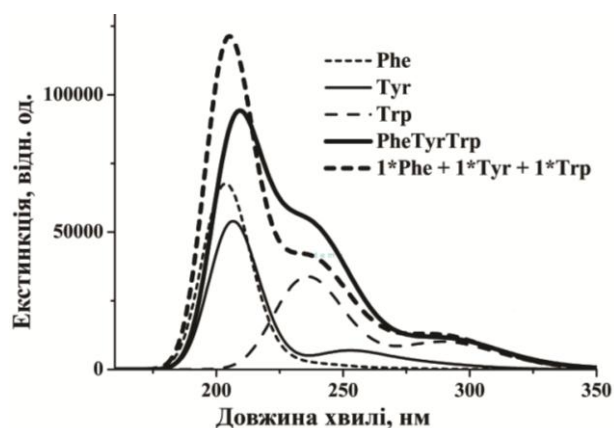


Рис. 2. Розраховані електронні спектри пептиду PheTyrTrp, окремо взятих амінокислот (Phe, Tyr, Trp) та адитивної суми екстинкцій цих амінокислот ($1*Phe+1*Tyr+1*Trp$).

На рис. 2 представлені розраховані спектри поглинання окремих ароматичних амінокислот (Phe, Tyr та Trp), пептиду PheTyrTrp, утвореного з цих амінокислот, та адитивної суми екстинкцій цих амінокислот $1*Phe+1*Tyr+1*Trp$.

З рисунка видно, що спектр пептиду не є лінійною комбінацією спектрів окремих амінокислот. Така відмінність між спектрами може бути пов'язана із взаємодією між π -електронними системами ароматичних амінокислот. Проте ця взаємодія не може бути стековою, оскільки бензольні групи амінокислот розташовані по різні боки від пептидного зв'язку і метод ZINDO не враховує такої взаємодії [6, 7].

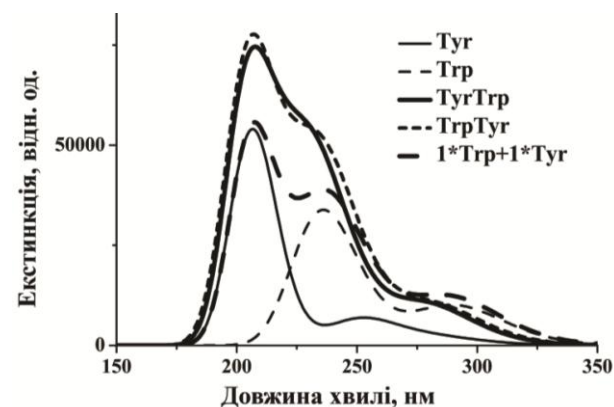


Рис. 3. Розраховані електронні спектри триптофану, тирозину, пептидів (TyrTrp, TrpTyr) та адитивної суми екстинкцій згаданих амінокислот ($1*Trp+1*Tyr$).

Також були проведені розрахунки для пептидів з двох амінокислот - тирозин-триптофан (TyrTrp), фенілаланін-триптофан (PheTrp), фенілаланін-тирозин (PheTyr). Розраховані електронні спектри для вищезгаданих пептидів та адитивних сум екстинкцій відповідних ароматичних амінокислот наведені на рис. 3-5.

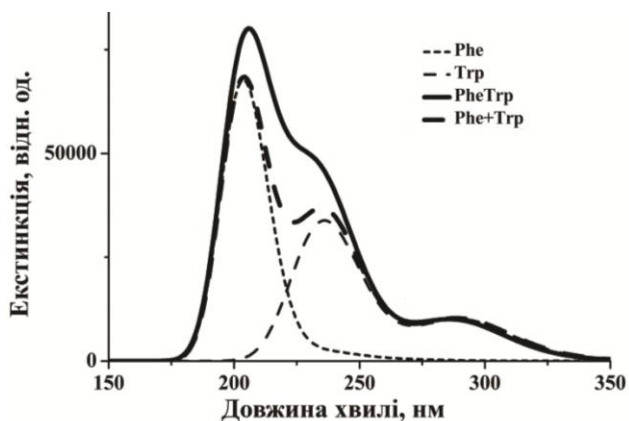


Рис. 4. Розраховані електронні спектри фенілаланіну, триптофану, пептиду PheTrp та адитивної суми екстинкцій цих амінокислот ($1 \cdot \text{Phe} + 1 \cdot \text{Trp}$).

На рис. 3 також представлені розрахунки для пептиду тирозин-триптофан (TyrTrp) та триптофан-тирозин (TrpTyr). Суттєвої відмінності в спектрах не спостерігається, а отже, порядок розташування амінокислот в пептиді не має значення.

З рисунків видно, що при утворенні таких послідовностей з двох амінокислот їх спектр є комбінацією спектрів окремих амінокислот. Проте ця комбінація є лінійною лише для пептиду фенілаланін-тирозин (PheTyr).

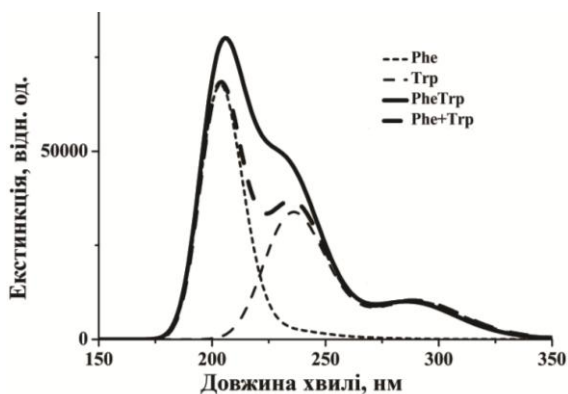
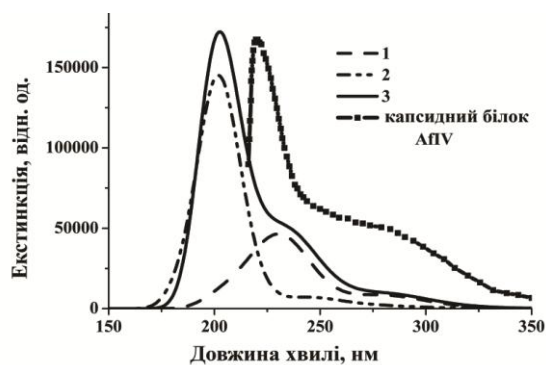
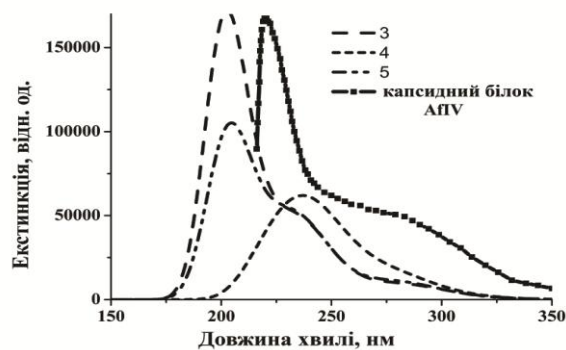


Рис. 5. Розраховані електронні спектри фенілаланіну, тирозину, пептиду PheTyr та адитивної суми екстинкцій цих амінокислот ($1 \cdot \text{Phe} + 1 \cdot \text{Tyr}$).



а



б

Рис. 6. Розраховані спектри пептидів:

- а: 1 – Met**T**rpSer, 2 – Asn**T**yr**P**heLeu,
3 – Asn**T**yr**P**heLeuAspMet**T**rpSer
б: 3 – Asn**T**yr**P**heLeuAspMet**T**rpSer,
4 – Pro**T**yr**T**yrSerLeuValSerPro**T**rp**T**yrHis,
5 – Val**T**rpAlaAsn**T**yrAla

та експериментально виміряний спектр поглинання капсидного білка іридовіруса комара AfIV.

Також нами були проведені розрахунки для пептидів, які входять до складу головного капсидного білка іридовіруса комара AfIV, який ми досліджували експериментально. Як показали результати наших досліджень [9], амінокислотна послідовність цього білка подібна до амінокислотної послідовності капсидного білка іридовірусу комара *Mosquito iridescent virus* (MIV), наведеної в [10].

Нами були вибрані наступні амінокислотні послідовності: 1) Met**T**rpSer, 2) Asn**T**yr**P**heLeu та послідовність, яка складається з цих двох пептидів 3) Asn**T**yr**P**heLeuAspMet**T**rpSer, а також 4) Pro**T**yr**T**yrSerLeuValSerPro**T**rp**T**yrHis та 5) Val**T**rpAlaAsn**T**yrAla (тут ми використали загальноприйняті позначення амінокислот). Ці амінокислотні послідовності були вибрані тому, що в них присутні ароматичні амінокислоти, а також їх пари. На рис. 6 а, б представлені відповідні розраховані спектри.

Спектр поглинання капсидного білка іридовіруса комара AfIV в буфері Tris-HCl-NaCl-EDTA, наведений на рис. 6, було виміряно відносно буфера при кімнатній температурі $T = 290 \text{ K}$ на спектрофотометрі Specord UV VIS.

Порівняння результатів наших розрахунків з нормованим спектром поглинання капсидного білка AfIV свідчить про якісне узгодження теорії з експериментом. Відмінність у положенні максимумів смуг поглинання розрахованого та виміряного спектрів може бути наслідком, з одного боку, відомої залежності положення максимумів смуг для амінокислот від властивостей їх оточення (розчинника) [3,4] та, з іншого боку, утворенням агрегатів [5] близкорозташованих ароматичних амінокислот у

згорнутій у глобулу білковій макромолекулі. У будь-якому випадку, для з'ясування цього питання потрібні подальші дослідження.

Отже, одержані результати дозволяють нам зробити висновок про те, що в пептидах та білках існує взаємодія між π -електронними системами ароматичних амінокислот вздовж лінії пептидного зв'язку, що проявляється у спектрах їх оптичного поглинання. Цю взаємодію можна уявити собі як взаємодію зв'язаних математичних маятників, підвішених на спільній нитці. Обґрунтованість такої аналогії зумовлена особливостями хімічної будови пептидів та білків [1, 2, 8].

Список використаних джерел

1. Ленинджер А. Основы биохимии / А. Ленинджер.- М.: Мир, 1985.- Т. 1.- 367 с.
2. Костюк П.Г. Биофизика / П. Г. Костюк, Д. М. Гродзинский, В. Л. Зима и др. - Киев: Вища школа, 1988.- 504 с.
3. Lakowicz J.R. Principles of fluorescence spectroscopy / J. R. Lakowicz.- New York: Springer Science + Business Media, 2006.
4. Alimova A. Virus particles monitored by fluorescence spectroscopy: a potential detection assay / A. Alimova, A. Katz, R. Podder et al. // Photochem. Photobiol.- 2004.- Vol. 80, No. 1.- P. 41-46.
5. Losytskyu M.Yu. Fluorescent J-aggregates and their biological applications / M. Yu. Losytskyu, V. M. Yashchuk // Advanced fluorescence reporters in chemistry and biology II. Springer series on fluorescence. 9.- 2010.- P.135-158.
6. Foresman J.B. Exploring chemistry with electronic structure method / J. B. Foresman, AE. Frisch.- 2nd Ed.- Wallingford: Gaussian, Inc., 1996.- 302 p.
7. Frisch AE. Gaussian 03 user's reference / AE. Frisch, M. J. Frisch, G. W. Trucks.- 2nd Ed.- Wallingford: Gaussian, Inc., 2003.- 337 p.
8. Кантор Ч. Биофизическая химия / Ч. Кантор, П. Шиммель. – Москва: Мир, 1984. –Т.1. – 336 с.
9. Рудь Ю.П. Спектральные свойства иридовіруса комара *Aedes flavescens* / Ю.П. Рудь, Л. П. Бучацкий, В. Н. Кравченко и др.// Биофизика.- 2014.- Т. 59, № 1.- С. 162–168.
10. Амінокислотна послідовність головного капсидного білка іридовірусу комара MIV [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://www.uniprot.org/uniprot/Q197E6>

References

1. LEHNINGER, A. L. (1982) *Principles of biochemistry*. Worth Publishers.
2. KOSTYUK, P.G. et al. (1988) *Biophysics*. Kiev: Vyshcha Shkola. (in Russian).
3. LAKOWICZ, J. R. (2006) *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 3rd Ed. New York: Springer Science + Business Media.
4. ALIMOVA, A. et al. (2004) Virus particles monitored by fluorescence spectroscopy: a potential detection assay for macromolecular assembly. *Photochem. Photobiol.* 80 (1). p. 41-46
5. LOSYTSKYU, M. YU. and YASHCHUK, V. M. (2010) Fluorescent J-aggregates and their biological applications. *Advanced Fluorescence Reporters in Chemistry and Biology II. Molecular Constructions, Polymers and Nanoparticles. Springer Series on Fluorescence*. 9. p.135-158.
6. FORESMAN, J. B. (1996) *Exploring chemistry with electronic structure methods*. 2nd Ed. Wallingford: Gaussian.
7. FRISCH, AE., FRISCH, M., TRUCKS, G. (2003) *Gaussian 03 User's Reference*. 2nd Ed. Wallingford: Gaussian
8. CANTOR, C., SCHIMMEL, P. (1984) *Biophysical chemistry*. Moskva: Mir. (in Russian).
9. RUD, YU. P. et al. (2014) Spectral properties of mosquito *Aedes flavescens* iridovirus. *Biophysics*. 59 (1). p. 129-134.
10. UNIPROT. (2014) *Major capsid protein of Mosquito iridescent virus*. [Online] Available from: <http://www.uniprot.org/uniprot/Q197E6>

Надійшла до редколегії 29.04.14