

非天然相互作用对均聚多肽链螺旋形成动力学过程的 影响的计算机模拟研究*

陈彦涛^{1**} 丁建东²

(¹ 深圳市功能高分子重点实验室 深圳大学化学与化工学院 深圳 518060)

(² 聚合物分子工程教育部重点实验室 复旦大学高分子科学系 上海 200433)

摘要 以螺旋结构的形成过程为研究对象,基于粗粒化的格子模型和动态蒙特卡罗模拟方法,初步探讨了非天然氢键相互作用对均聚多肽链螺旋折叠动力学过程的影响.研究发现,非天然氢键的引入虽然延缓了其热力学转变的发生,但也从整体上降低了折叠动力学过程的能垒,在某一特定温度之下,反而可以提高折叠速率.对其折叠路径分布的分析表明,非天然氢键可以减少慢速折叠路径的发生,而后者是导致折叠时间增加的主要因素.另一方面,比较特定温度下多肽链链构象及螺旋片断随时间的演化进程,发现非天然氢键在一定程度上影响了天然氢键的形成以及天然态构象的稳定存在,同时也加快了其部分解折叠过程.这说明,非天然相互作用的存在有利于蛋白质构象的快速动态调整,从而行使其相应的生物功能.

关键词 螺旋-蜷曲转变, 动力学过程, 非天然相互作用, 格子链, 动态蒙特卡罗模拟

多肽链一般要经过构象调整并折叠成为特定三维空间构象之后,才能够演变为可以行使其生物功能的蛋白质.为了到达其天然态构象,多肽链必须要在很短的时间内准确区分极其庞大的可能构象.大自然可以很好地处理这一过程,可是人类至今对蛋白质折叠的详细机理并不十分了解^[1~3].为方便理论研究,科学家提出了各种简化模型.其中,Gō模型^[4]只考虑存在于天然结构中的残基接触对,大大提高了蛋白质对其天然态构象的搜索效率,自提出以来便在计算机模拟中获得广泛使用.尽管如此,一系列实验发现那些非天然接触对虽然不存在于最终构象中,但能够对蛋白质的折叠过程产生重要影响^[5,6],同时相关的理论及模拟工作也提供了更多证据^[7~9].

作为蛋白质中含量丰富的二级结构,α-螺旋的形成过程一直是深受关注的研究对象^[10~12].在之前的工作中,我们在格子空间中构建了相对较为精细的α-螺旋,通过计算机模拟研究了螺旋形成的热力学性质,发现非天然氢键相互作用对螺旋形成的热力学过程有显著影响^[13].在此基础上,本文对均聚多肽链螺旋形成的动力学过程进行了模拟,以研究非天然相互作用对折叠动力学

的影响及作用.

1 格子模型及模拟方法

本文采用了粗粒化的格子模型^[13,14]来描述蛋白质多肽链.每个氨基酸残基作为基本的粗粒化单元,不考虑其侧基体积效应;在立方格子空间中,以最小立方体的8个格子点代表1个氨基酸残基,残基之间通过虚拟的化学键相连,其键长的平方有5个可取值(4、5、6、9、10),称之为键长涨落模型^[15].

针对螺旋结构的形成,我们曾经构建了相应的势能函数^[12,13].体系内能可以通过如下函数获得:

$$E = E_l + E_\theta + E_{\text{chiral}} + E_{\text{hbond}} \quad (1)$$

其中, E_l 、 E_θ 分别表示键长能、键角能,其具体形

$$\text{式为 } E_l = \sum_{i=1}^{N-1} \frac{1}{2} k_l (l_i - l_0)^2, E_\theta = \sum_{i=1}^{N-2}$$

$$\frac{1}{2} k_\theta (\cos \theta_i - \cos \theta_0)^2. \text{ 此处, } k_l, k_\theta \text{ 为力常数, } N \text{ 为}$$

$$\text{链长; } l_i, \theta_i \text{ 表示第 } i \text{ 个键长、键角. } E_{\text{chiral}} =$$

$$\sum_{i=1}^{N-3} u_{\text{chiral},i} \text{ 表示手性能;在形成螺旋的序列中,}$$

其连续的4个残基形成右手手性则有利于螺旋的

* 2009-10-26 收稿,2009-01-13 修稿;国家自然科学基金(基金号 20804023)和广东省教育厅广东高校优秀青年创新人才培养项目(项目号 LYM08086)资助;** 通讯联系人,E-mail: ytchen@szu.edu.cn

形成, $u_{\text{chiral},i} = 0$; 否则, $u_{\text{chiral},i} = \varepsilon_{\text{chiral}}$, 其手性能增加. $E_{\text{hbond}} = \sum_{i=1}^{N-4} u_{\text{hbond},i}$ 表示氢键能. 对于只包括天然相互作用的 Gō 模型来说, 在形成螺旋的序列中, 其序列间隔为 4 的 2 个残基间的距离平方在 [10, 12] 范围内即可形成氢键, 称之为天然态氢键; 相比而言, 在非 Gō 模型中, 既可以形成天然态氢键, 也能够形成序列间隔大于 4 的非天然态氢键. 另外, 1 个残基至多只能形成 2 个氢键; 氢键形成, 能量降低, $u_{\text{hbond},i} = -\varepsilon_{\text{hbond}}$; 否则, $u_{\text{hbond},i} = 0$. 其它参数设定为 $\theta_0 = 88.9^\circ$, $l_0 = \sqrt{6}$, $k_l = \varepsilon_{\text{hbond}}$, $k_\theta = \varepsilon_{\text{hbond}}$, $\varepsilon_{\text{chiral}} = \varepsilon_{\text{hbond}}$.

基于粗粒化格子链的动态蒙特卡罗模拟^[15]是研究高分子及多肽链构象变化的有效手段. 在模拟过程中, 体系首先随机选择残基并进行随机运动, 然后基于 Metropolis 重要性抽样法则进行判断, 进而模拟真实体系中的链运动松弛过程. 平均每个残基被尝试一次被称为一个蒙特卡罗步 (Monte Carlo Step, MCS), 这是蒙特卡罗模拟中的时间量纲. 我们的基本模拟对象为 16 个氨基酸残基的多肽链 ($N=16$), 在元胞为 $30 \times 30 \times 30$ 的三维格子空间中进行松弛运动, 采用周期性边界条件以便体系无限延伸.

在模拟过程中, 我们首先使用模拟退火方法模拟了螺旋形成的热力学过程^[13], 以获得其转变温度 (T_c). 在此基础上, 对无规构象的多肽链进行不同程度的淬火, 模拟其折叠动力学过程. 此处, 低温状态使用淬火深度 ($\gamma \equiv T_c/T$) 来描述; $\gamma = 1$ 表示体系由无热状态直接淬火达到热力学转变温度 T_c , 而 γ 越大, 表示最终温度 T 越低. 为了得到具有统计意义的结果, 所有数据都是多个折叠路径的平均结果 ($M=5000$).

2 统计参量

一般来说, 热力学转变点可以通过比热峰值的出现来判断, 我们使用了约化比热:

$$c_V^* = \frac{C_V}{Nk_B} = \frac{\langle E^2 \rangle - \langle E \rangle^2}{N(k_B T)^2}. \quad (2)$$

此处, “ $\langle \rangle$ ” 表示系综平均, k_B 为玻耳兹曼常数, T 代表绝对温度.

模式识别方法 (pattern recognition method)^[16]是判断螺旋是否形成以及相应长度的有效方法之一. 其思想为, 两个连续的 α -螺旋氢键 (即从残基 i 到残基 $i+4$) 即可形成一个最小的 α -螺旋片断;

当两个 α -螺旋片断共享至少两个连续的残基时, 可组成更长的 α -螺旋片断. 以此类推, 当形成足够多的氢键时, 整条多肽链即可成为一个完整的 α -螺旋. 由于粗粒化模型缺少了侧链的密堆积效应, 螺旋形成的初期, 其规整性较差, 与相应的晶体结构有较大差距. 为此, 我们对模式识别方法进行了两点改进, 首先, α -螺旋片断应当符合右手手性原则; 其次, 组成更长的螺旋需要两个螺旋片断共享至少 3 个连续的残基. 基于上述判断法则, 可以计算螺旋片断的平均长度 (L_h).

本研究中, 我们认为当整条多肽链形成一个完整的 α -螺旋时, 便到达了其天然态构象, 时间标记为 τ , 也即初次到达天然构象时间或折叠时间. 如此, 其平均初次到达时间 (mean first passage time) 或平均折叠时间为

$$\tau_{\text{MFPT}} = \frac{1}{M} \sum_{i=1}^M \tau_i \quad (3)$$

折叠时间 τ 呈现一个较宽的分布, 多次平均来看, 在特定时间 t , 只有一定比例的路径到达天然构象 $P_{\text{fp}}(t)$, 那么该时刻还未到达天然构象的比例 P_u 可表示为^[17]:

$$P_u(t) = 1 - \int_0^t P_{\text{fp}}(s) ds \quad (4)$$

此处,

$$P_{\text{fp}}(s) = \frac{1}{M} \sum_{i=1}^M \delta(s - \tau_i) \quad (5)$$

参量 P_u 能够通过统计折叠过程的路径分布情况来描述其动力学过程.

采用了均方回转半径 $\langle R_g^2 \rangle$ 来描述多肽链的尺寸变化; 除此之外, 非球面参数 (asphericity, A)^[18] 更适合来描述链的形状及变化, 其可通过链回转半径张量矩阵的 3 个本征值来确定:

$$A = \frac{(L_{\text{max}}^2 - L_{\text{mid}}^2)^2 + (L_{\text{max}}^2 - L_{\text{min}}^2)^2 + (L_{\text{mid}}^2 - L_{\text{min}}^2)^2}{2\langle R_g^2 \rangle^2} \quad (6)$$

A 的值介于 0 到 1 之间; 其中, A 等于 0 表示链形状为球形, 而 A 接近 1 则表示链形状为棒状.

3 结果与讨论

3.1 比热及热力学转变

如图 1 所示, 比热峰的出现预示着基于 Gō 模型和非 Gō 模型的螺旋形成过程都呈现了热力学转变, 称之为螺旋-线团转变 (helix-coil transition)^[10]. 尽管如此, 在非 Gō 模型中, 非天然

态氢键的存在明显地延迟了螺旋的形成,其热力学转变温度的倒数 $1/T_c^* = 3.88$;而对 G δ 模型来说, $1/T_c^* = 3.28$. 此处, T^* ($\equiv k_B T/\varepsilon_{\text{hbond}}$) 代表无量纲的约化温度.

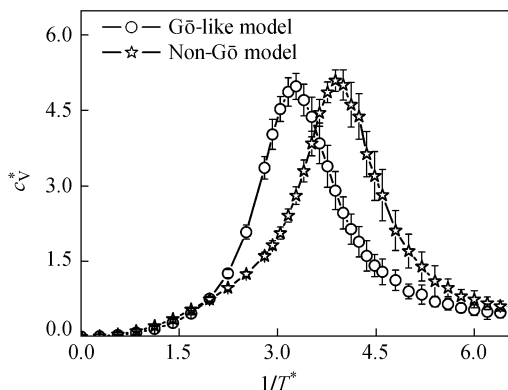


Fig. 1 The helix-coil transition thermodynamic process based on the reduced specific heat (c_v^*)

The error bars indicate the standard deviations of all examined trajectories, and are shown unless smaller than the sizes of data points

3.2 折叠时间

低于转变温度的情况下,多肽链倾向于形成螺旋.我们统计了两种模型情况下螺旋形成过程的折叠时间 τ_{MFPT} ,如图2所示.整体来看两者比较相似,在转变温度附近,折叠速率最大,折叠时间最短,高温或低温下都呈指数形式快速增长,且基本符合阿雷尼乌斯方程;另外,折叠速率最大的情形并不发生在热力学转变温度处,而是稍微高于转变温度.上述结果与 Thirumalai 课题组^[17]在连续空间中针对螺旋的研究结果以及 Shakhnovich 课题组^[19]在格子空间中针对模型蛋白的模拟结果基本一致.

对比图2中的两条曲线,在各自的转变温度上,基于非 G δ 模型的多肽链需要更长的时间才能形成螺旋,这说明非天然氢键的引入延缓了天然态螺旋构象的形成,与图1的热力学结果一致.有趣的是,低温下 G δ 模型的折叠时间增加速度非常快,当 $1/T^* = 4.43$ 时,两者折叠时间 τ_{MFPT} 非常相近,更低温度下,则超过非 G δ 模型的折叠时间.这说明,基于非 G δ 模型的螺旋折叠时间随温度变化较小,也即其螺旋形成动力学的能垒较低.非天然氢键的形成有利于螺旋中间态的稳定,进而加快了多肽链到达天然态螺旋构象的进程. Clementi 等通过微扰的方法在理论上发现了非天然态相互作用的少量存在能够降低能垒高度,提

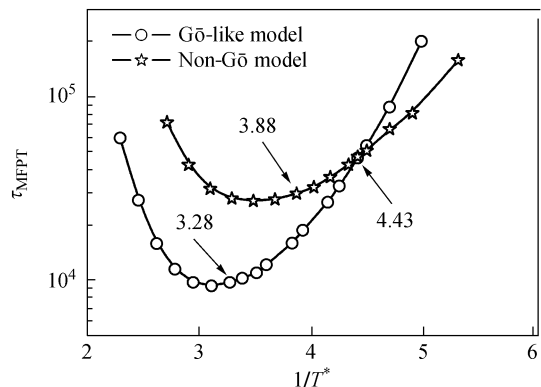


Fig. 2 The mean first passage time (τ_{MFPT}) at different temperatures

The transition points for the G δ -like model and the non-G δ model are marked ($1/T_c^* = 3.28$ and 3.88 , respectively)

高折叠速率^[8],该结论与图2基本一致.此外,我们的模拟结果还说明存在一个特定温度($1/T^* = 4.43$),只有低于此温度,非天然态氢键相互作用才能够提高螺旋折叠速率.

3.3 折叠路径分布

如图3所示, P_u 描述了螺旋形成过程中不同时刻的折叠路径分布情况.对于 G δ 模型及非 G δ 模型来说,在其各自转变温度 ($\gamma = 1$), P_u 随时间基本呈单指数衰减.当淬火深度 $\gamma = 1.1$ 时, P_u 随时间开始偏离单指数衰减;当淬火深度 $\gamma = 1.3$ 时, P_u 随时间明显偏离单指数衰减,存在快速折叠路径和慢速折叠路径.这说明,在各自转变温度上,螺旋折叠过程基本符合两态模型,而低温下则需要包含有中间态的多态模型来描述.另外,对两个模型的折叠动力学曲线进行比较,可以看出在相同的淬火深度情况下,非天然氢键在相当程度上延长了螺旋折叠时间.

图2中, $1/T^* = 4.43$ 是一个有趣的温度,此时基于 G δ 模型及非 G δ 模型的折叠时间非常接近 ($\tau_{\text{MFPT}} \approx 46500$).我们详细研究了该温度下的螺旋形成过程,并进行了比较(图4),不难看出,基于 G δ 模型的螺旋形成过程明显地偏离了单指数衰减曲线,包含有更多慢速折叠路径.或许这与其淬火深度 ($\gamma = 1.35$) 更大有关.无论如何,图4说明非天然氢键相互作用减少了螺旋慢速折叠路径的发生.慢速折叠路径对折叠时间 τ_{MFPT} 的影响要大于快速折叠路径,这就解释了图2中更低温度下非 G δ 模型的折叠时间相对更少的情形.

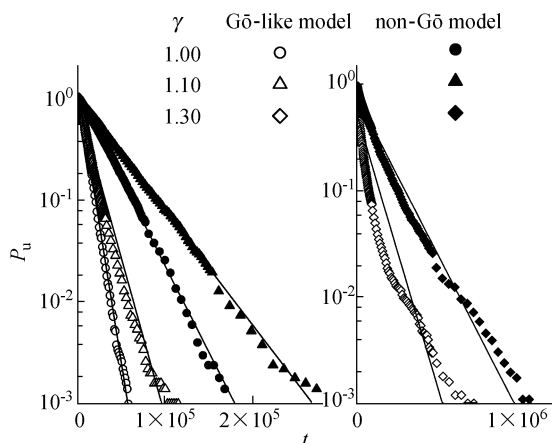


Fig. 3 The kinetic process of the helix-coil transition based on the fraction of unfolded molecules (P_u) at different quench depth (γ)

The fitting lines are down with all data bigger than 10^{-3} .

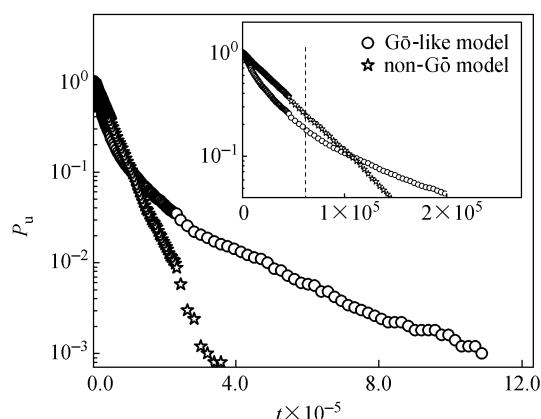


Fig. 4 The kinetic process of the helix-coil transition based on the fraction of unfolded molecules (P_u) at $1/T^* = 4.43$

The vertical dashed line indicates $t = 4.65 \times 10^4$

3.4 螺旋构象的时间演化

我们还通过对比螺旋构象的时间演化来探究非天然氢键对折叠动力学的影响. 图 5 统计了各种氢键随时间的变化情况, 图 6 统计了多肽链中螺旋片段长度的增长情况, 图 7 则基于均方回转半径和非球面参数描述了多肽链整体的构象变化. 在折叠初期, 由于非天然氢键的存在 ($N_{\text{HB, non-native}}$), 使得非 Gō 模型形成了更多的氢键 ($N_{\text{HB, non-Gō model}}$), 但是在后续折叠过程中, Gō 模型形成的氢键 ($N_{\text{HB, Gō-like model}}$) 则稍微多一些 (图 5), 所以其螺旋长度的增加也更迅速 (图 6). 在非 Gō 模型中, 随着天然氢键的快速增加, 非天然氢键也缓慢增加, 在 $t = 4350$ 时刻达到峰值, 所占比例 ($N_{\text{HB, non-native}}/N_{\text{HB, non-Gō model}}$) 接近 30%, 然后缓慢消

失. 非天然氢键的存在使得多肽链整体构象变得更小, 更接近于球形, 但是也部分阻碍了天然氢键的大量形成, 从而使得螺旋长度的增加没有 Gō 模型那样迅速 (图 6).

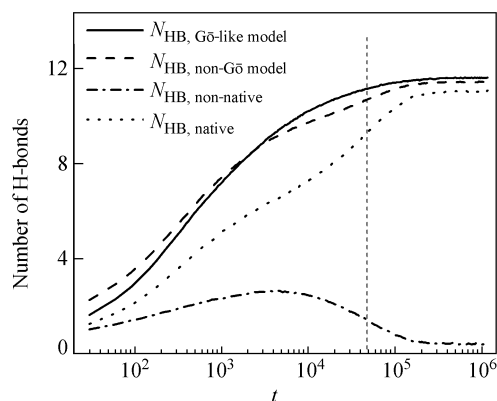


Fig. 5 The number of formed hydrogen bonds (N_{HB}) at $1/T^* = 4.43$ as a function of time

The vertical dashed line indicates $t = 4.65 \times 10^4$

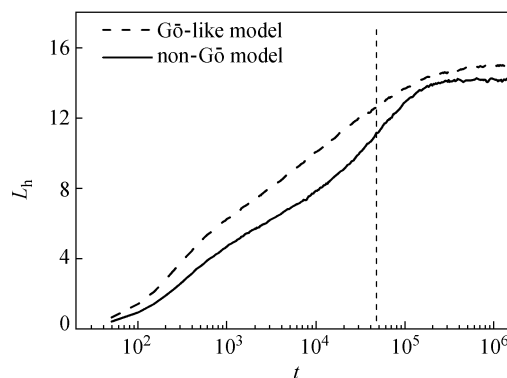


Fig. 6 The length of helical segments (L_h) at $1/T^* = 4.43$ as a function of time

The vertical dashed line indicates $t = 4.65 \times 10^4$

图 8 揭示了螺旋形成过程中特定时刻的螺旋长度分布情况. 尤其是在其到达折叠时间后 ($t = 46500$), 螺旋长度呈现明显的双峰分布: 针对较短螺旋的峰集中出现在 $L_h = 7$ 附近, 而针对较长螺旋的峰出现在 $L_h = 16$ 处, 也即全部形成螺旋. 相较而言, 中等长度的螺旋 ($10 \leq L_h \leq 14$) 出现的概率非常小, 这说明了螺旋折叠过程的协同性. 同时, 这一双峰分布也说明统计螺旋长度时, 简单的数值平均或许不是最有效的统计方式.

对比图 8 中 Gō 模型及非 Gō 模型的统计结果, 在完整螺旋形成的比例方面, 始终是基于 Gō 模型的结果更好一些. 结合图 2 的结果, 由于该温

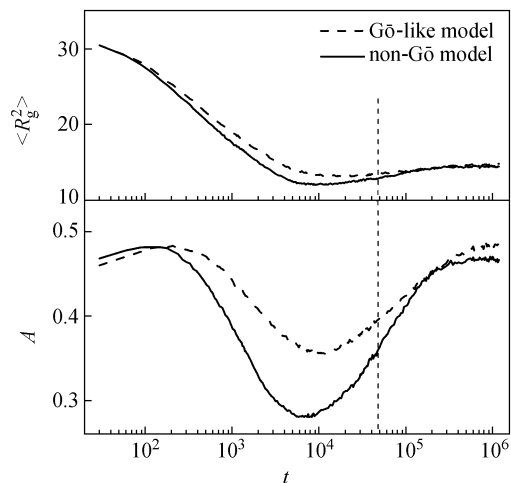


Fig. 7 The mean square radius of gyration $\langle R_g^2 \rangle$ and asphericity (A) at $1/T^* = 4.43$ as a function of time

The vertical dashed line indicates $t = 4.65 \times 10^4$

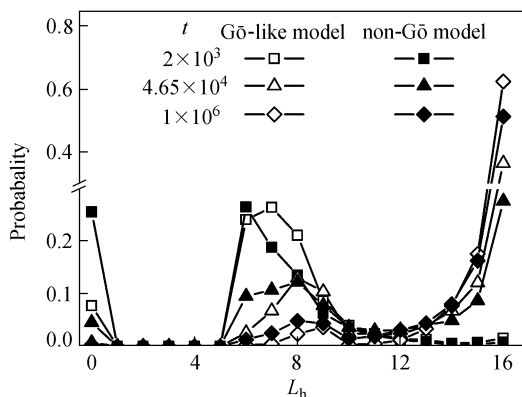


Fig. 8 The distributions of the length of helical segments (L_h) at different specific time

度下两者折叠时间一样,这说明非天然氢键的少

量存在可能不利于完整螺旋形成之后的稳定.

4 结论

基于粗粒化的格子模型和动态蒙特卡罗模拟方法,对螺旋形成的动力学过程进行了模拟,并初步探讨了非天然氢键相互作用对螺旋折叠过程的影响.研究发现,虽然非天然相互作用只存在于折叠过程中,仍然导致螺旋转变在更低的温度下发生.另一方面,非天然氢键的引入从整体上也降低了其动力学过程的能垒,从而在特定温度之下,非天然氢键的形成反而能够加速其折叠过程.对其折叠路径分布的分析表明,非天然氢键可以减少慢速折叠路径的发生,而后者是导致折叠时间增加的主要因素.

在螺旋折叠过程中,非天然氢键先是大量形成,然后缓慢消失.比较特定温度下螺旋构象的演化进程发现,非天然氢键的存在导致多肽链的中间态构象更加致密,这或许有利于长程相互作用的发生,但也在一定程度上影响了天然氢键的形成,也影响了完整螺旋形成之后的稳定存在.

螺旋片断长度的双峰分布说明折叠过程中存在着相当的协同性,并导致了折叠过程的能垒.非天然氢键相互作用的存在对螺旋形成过程有显著影响,一方面降低了其反应动力学能垒,加快了折叠进程;另一方面也一定程度上影响了天然结构的稳定存在,从而同时加快了其部分解折叠过程.而蛋白质构象的反复动态调整是其行使生物功能的重要前提,这说明动力学能垒并不是越高越好,而非天然相互作用的形成为其提供了可能性.

致 谢 感谢深圳大学超级计算中心提供计算资源.

REFERENCES

- Muñoz V. Protein Folding, Misfolding and Aggregation: Classical Themes and Novel Approaches. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2008
- Zhang J, Li W F, Wang J, Qin M, Wu L, Yan Z Q, Xu W X, Zuo G H, Wang W. IUBMB Life, 2009, 61(6): 627 ~ 643
- Wang Xianghong(王向红), Zhang Linxi(章林溪), Zhao Delu(赵得禄). Acta Polymerica Sinica(高分子学报), 2004, (2): 273 ~ 276
- Ueda Y, Taketomi H, Gō N. Biopolymers, 1978, 17: 1531 ~ 1548
- Hamada D, Segawa S, Goto Y. Nat Struct Biol, 1996, 3(10): 868 ~ 873
- Morton V L, Friel C T, Allen L R, Paci E, Radford S E. J Mol Biol, 2007, 371(2): 554 ~ 568
- Fan K, Wang J, Wang W. Eur Phys J B, 2002, 30(3): 381 ~ 391
- Clementi C, Plotkin S S. Protein Sci, 2004, 13(7): 1750 ~ 1766
- Zarrine-Afsar A, Wallin S, Neculai A M, Neudecker P, Howell P L, Davidson A R, Chan H S. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(29): 9999 ~ 10004
- Poland D, Scheraga H A. Theory of Helix-coil Transitions in Biopolymers. New York & London: Academic Press, 1970
- Chen X L, Jia Y X, Feng L G, Sun S, An L J. Polymer, 2009, 50(9): 2181 ~ 2189

- 12 Chen Y T, Zhou Y Q, Ding J D. *Proteins*, 2007, 69: 58 ~ 68
- 13 Chen Yantao(陈彦涛). Lattice Monte Carlo Simulation of Protein Folding(蛋白质折叠的格子链 Monte Carlo 模拟). Doctoral Dissertation of Fudan University(复旦大学博士学位论文), 2006
- 14 Chen Yantao(陈彦涛), Ding Jiandong(丁建东). *Acta Polymerica Sinica*(高分子学报), 2009, 12: 1238 ~ 1244
- 15 Yang Yuliang(杨玉良), Zhang Hongdong(张红东). *Monte Carlo Method in Polymer Science*(高分子科学中的 Monte Carlo 方法). Shanghai(上海): University of Fudan Press(复旦大学出版社), 1992. 1 ~ 23
- 16 Kabsch W, Sander C. *Biopolymers*, 1983, 22: 2577 ~ 2637
- 17 Klimov D K, Betancourt M R, Thirumalai D. *Fold Des*, 1998, 3(6): 481 ~ 496
- 18 Zifferer G, Olaj O F. *J Chem Phys*, 1994, 100(1): 636 ~ 639
- 19 Gutin A M, Abkevich V I, Shakhnovich E I. *Phys Rev Lett*, 1996, 77(27): 5433 ~ 5436

COMPUTER SIMULATION OF THE ROLE OF NON-NATIVE INTERACTIONS IN THE KINETIC PROCESS OF HELIX FORMATION FOR A HOMOPOLYPEPTIDE CHAIN

CHEN Yantao¹, DING Jiandong²

(¹ Shenzhen Key Laboratory of Functional Polymer, College of Chemistry and Chemical Engineering,
Shenzhen University, Shenzhen 518060)

(² Key Laboratory of Molecular Engineering of Polymers of Ministry of Education,
Department of Macromolecular Science, Fudan University, Shanghai 200433)

Abstract The role of non-native hydrogen bonding on the kinetic process of helix formation for a homopolypeptide chain was explored based on a coarse-grained lattice model and dynamic Monte Carlo simulation. It was found that, though postponing the thermodynamic helix-coil transition, non-native hydrogen bonding can decrease the energy barrier of the folding kinetic process, and further increased the folding rate below a specific temperature. The distribution of folding trajectories indicated that the slow folding trajectories were reduced with the inclusion of non-native interactions, which can evidently influence the folding time. On the other hand, the evolution of chain conformation and the length of helix segment were investigated, and the non-native hydrogen bonding was found to delay the formation of native hydrogen bond and weaken the stabilization of the corresponding native conformation, thus speeding up its unfolding process. Our research indicated that the occurrence of non-native interaction can offer a potential means for frequently dynamical adjusting of protein conformation so as to perform biological functions.

Keywords Helix-coil transition, Kinetic process, Non-native interaction, Lattice chain, Dynamic Monte Carlo simulation