

Fyzika biopolymerů

Solvatace

Robert Vácha

Kamenice 5, A4 2.13
robert.vacha@mail.muni.cz



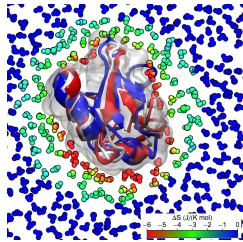
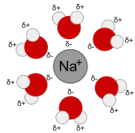
Solvatace

IUPAC definition: solvation is an interaction of a solute with the solvent, which leads to stabilization of the solute species in the solution. In the solvated state, a solute in a solution is surrounded or complexed by solvent molecules. Solvated species can often be described by coordination number, and the complex stability constants.

první solvatační vrstva - je v kontaktu s rozpuštěnou látkou a je nejvíce ovlivněna

druhá solvatační vrstva - je v kontaktu s první solvatační vrstvou a je ovlivněna přítomností rozpuštěné látky méně

nejčastějším solventem je voda => solvatace = hydratace

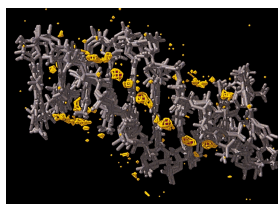


2

Solvatace

- solvent je nezbytný pro funkci biologických systémů, které ovlivňuje:
 - přímo = aktivní účast v biologických procesech např. enzymatická reakce
 - nepřímo = stabilizace biologicky aktivních konformací biomolekul
- interakce rozpuštěná látka-voda silně ovlivňuje konformace biopolymerů
- hydrofobní efekt u protein foldingu
- solvent hraje klíčovou roli při tvorbě komplexů, rozpoznávání ligandů, interakci mezi DNA a proteiny
- stíní elektrostatické interakce

Hydratační páteř na DNA



3

Parametry solvatace

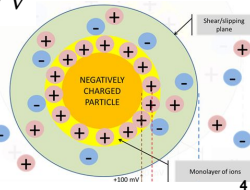
- solvatační číslo
 - počet molekul rozpouštědla (vod) ovlivněných rozpuštěnou molekulou (obvykle první a druhá solvatační vrstva)
- relativní rezidenční časy
 - je-li rezidenční čas u rozpuštěné látky/ rezidenční čas v roztoku > 1 zvýšení strukturního stupně < 1 narušení struktury
- Stokesův poloměr
 - efektivní hydrodynamický poloměr pohybující se sféry se setjnou difuzní konstantou (obvykle zahrnuje i silněji interagující vody)
 - výpočet ze Stokesova zákona:

$$\vec{F} = 6 \pi \eta r \vec{v}$$

- porovnává se s poloměrem otáčení (gyration)

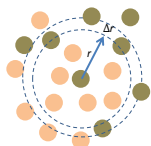
- Slip plane

- hypotetická vzdálenost do které se solvent hýbe s rozpuštěnou látkou - používá se při měření elektrostatického potenciálu a odhadu náboje



4

Radiální distribuční funkce RDF, g(r)

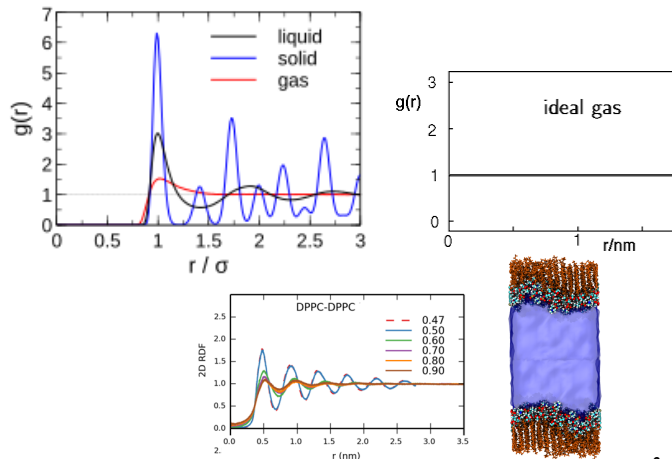


$$g_{AB}(r) = \frac{\langle \rho_B(r) \rangle}{\langle \rho_B \rangle_{local}} = \frac{1}{\langle \rho_B \rangle_{local} N_A} \sum_{i \in A} \sum_{j \in B} \frac{\delta(r_{ij} - r)}{4\pi r^2}$$

- reprezentuje pravděpodobnost výskytu částice B ve vzdálenosti r od částice A
- je to párová korelační funkce
- je normalizovaná na hustotu ideálního plynu (1 v ∞)
- lze i pro stejné částice g_{AA}(r)
- lze v 3D i 2D
- charakterizuje dané skupenství
- není dobře definovaná v nehomogenním systému
- jde porovnat s rozptylovými experimenty
- může zachytit fázové strukturní změny
- lze z ní spočítat vazebnou konstantu
- lze spočítat jako histogram
- v periodických okrajových podmínkách omezena polovinou boxu

5

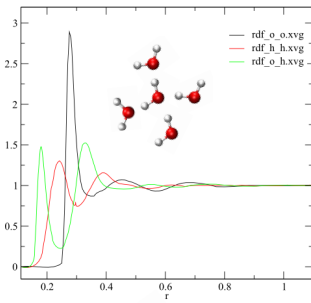
Skupenství a RDF, g(r)



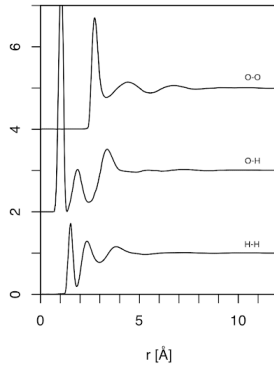
6

Příklady RDF,g(r)

RDF water - MD



Experiment

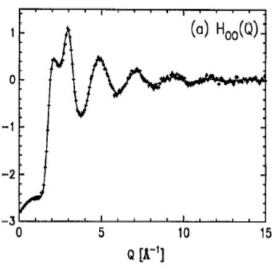
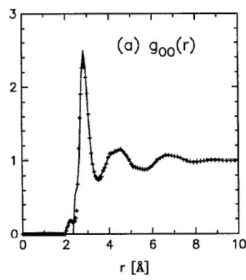


7

Strukturní faktor a RDF,g(r)

strukturní faktor (měřitelný experimentálně, např. gama rozptylem) je Fourierova transformace radiální distribuční funkce

$$S(k) = 1 + \frac{4\pi\langle\rho\rangle}{k} \int_0^\infty r[g(r) - 1] \sin(kr) dr$$



8

Vazebná konstanta a RDF,g(r)

vazebné konstanta

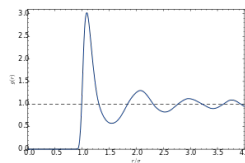
$$K \equiv \left(\frac{\gamma_{RL} C_{RL} C^\circ}{\gamma_R C_R \gamma_L C_L} \right)_{eq}$$

z RDF $g(r) = \exp(-dW(r)/kT)$, kde $W(r)$ je PMF... profil dG

$$K_{\text{Mayer}} = C^\circ \int (e^{-\beta W} - 1) d\mathbf{r}$$

integral přes Mayerovu f-funkci
souvisí s druhým viriálním koeficientem

$$K_{\text{Boltzmann}} = C^\circ \int e^{-\beta W} d\mathbf{r}$$



$$K_{\text{Andersen}} = C^\circ \int e^{-\beta W_R} (e^{-\beta W_A} - 1) d\mathbf{r}$$

9

Experimentální metody

- rentgenová difrakce
 - rozptyl na elektronech (el. obal atomu) = citlivější na těžší atomy
 - elektron. hustota se průměruje přes čas a velké množství struktur
 - v krystalu přímá evidence přítomnosti vody v interakci s biomolekulou
- neutronová difrakce
 - rozptyl na jádrech = citlivá na vodíky, vhodná ke studiu vody
- SAXS, SANS
 - distribuce velikostí
- NMR
 - strukturální i dynamické informace o vodě v blízkosti biomolekuly
 - NOE: sledování solventu v přímé interakci s danou biomolekulou, omezené časové rozlišení

10

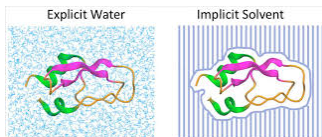
Experimentální metody

- optická spektroskopie
 - femtosekundová fluorescenční spektroskopie - pík je citlivý na dipól. moment sondy, který závisí na polarizaci solventu (množství vod a jejich reorientace) možnost vysokého časového rozlišení s prostorovým rozlišením
 - nelineární spektroskopie (VSFG, HFG) - citlivá na nehomogení prostředí = signál z rozhraní
 - infračervená spektroskopie - citlivá na tvorbu H-vazeb, umožňuje studovat specifické interakce solut-solvent, kvalitativní informace
- frekvenční závislost permitivity - síla interakce (omezení reorientace)

11

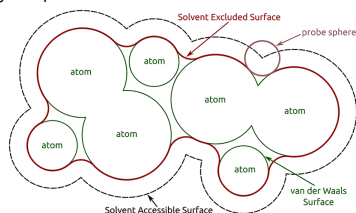
Implicitní solvatace

- molekuly rozpouštědla jsou nahrazeny spojitým médiem o vlastnostech odpovídající rozpouštědlu



- umožňuje rychlé a jednoduché výpočty - interakce biopolymerů, jejich konformace nebo určení solvatační energie/rozpuštělnosti

- SASA (solvent accessible surface area) hlavně se používá pro odhad hydrofobní interakce



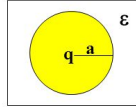
12

Solvatační energie

Bornova solvatační energie (1920)

- volná energie na vložení náboje do dané kavity v roztoku (elektrostatická energie/ práce potřebná na přenesení náboje z vakua do daného média)

$$\Delta G_{elec} = -\frac{q^2}{2a} \left(1 - \frac{1}{\epsilon}\right)$$



Zobecněný Bornův model - zahrnující zjednodušené řešení Poisson-Boltzmanovy rovnice ($a = \alpha = \text{poloměr atomů}$..problematická definice)

$$\bar{G}_p = -\left(\frac{\epsilon - 1}{\epsilon}\right) \sum_{i,j=1}^n \frac{q_i q_j}{2 f_{GB}}$$

$$f_{GB} = \sqrt{r_{ij}^2 + \alpha_{ij}^2} e^{-D_{ij}} \quad \alpha_{ij} = (\alpha_i \alpha_j)^{0.5} \quad D_{ij} = \frac{r_{ij}^2}{(2\alpha_{ij})^2}$$

Kavitační energie - energie potřebná na vytvoření kavity v roztoku

implicitní model = není první solvatační vrstva

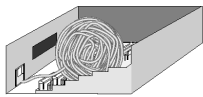
13

Typy solventů

Poor solvent

$$R = bN^{1/3}$$

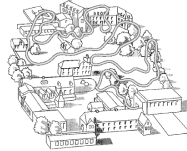
globule



Theta solvent

$$R = bN^{1/2}$$

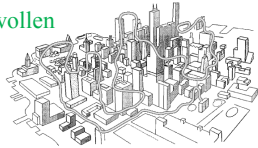
ideal-like



Good solvent

$$R = bN^{3/5}$$

swollen



Long-range repulsion

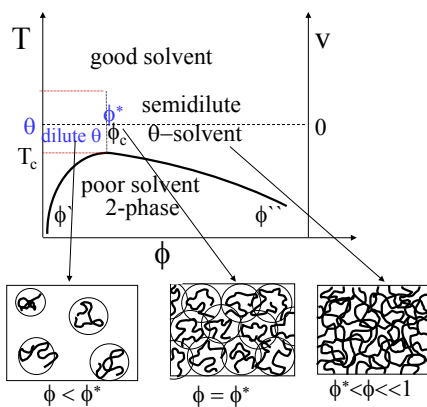
$$R \sim L = bN$$

extended



14

Solventy a fázový diagram

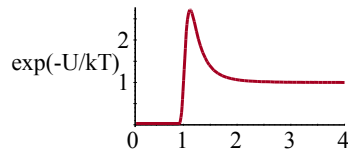
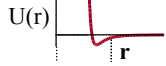


15

Mayerova funkce

pravděpodobnost nalezení částic ve vzdálenosti r
(nenormalizovaná)

Potenciál

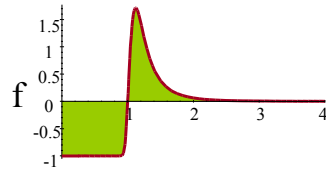


Mayerova f-funkce

$$f(r) = \exp\left[-\frac{U(r)}{kT}\right] - 1$$

aproximace vyloučeného objemu
(excluded volume)

$$v = -\int f(\vec{r}) d^3r$$



16

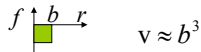
Dobry a špatny solvent

excluded volume
 $v = -\int f(\vec{r}) d^3r$

Mayerova f-funkce
 $f(r) = \exp\left[-\frac{U(r)}{kT}\right] - 1$

Athermal solvents

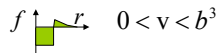
high T limit



$$v \approx b^3$$

Good solvents

repulsion dominates



$$0 < v < b^3$$

Theta solvents

attraction balances repulsion



$$v = 0$$

Poor solvents

attraction dominates

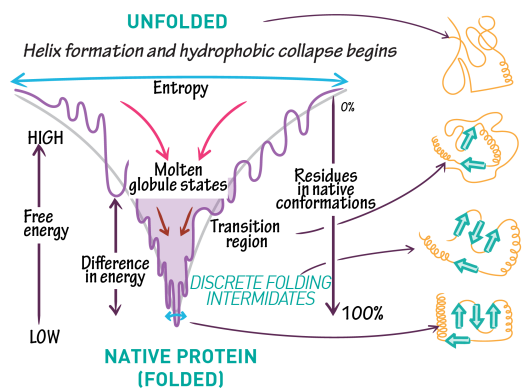


$$v < 0$$

17

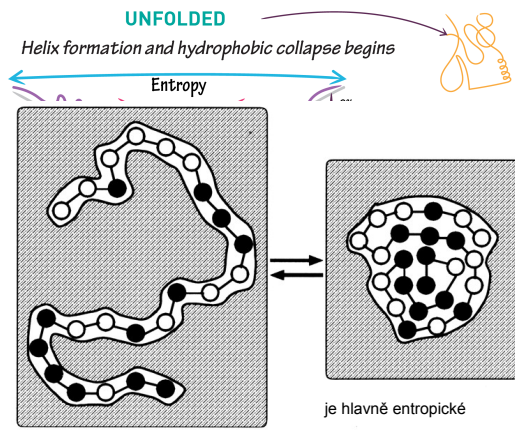
Protein folding / sbalování proteinů

folding funnel - sbalování proteinů do přirozeného stavu



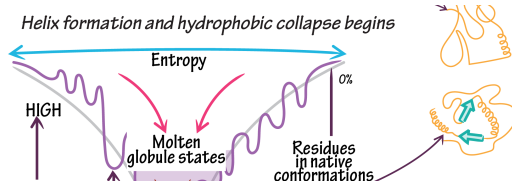
18

Hydrofobní kolaps



19

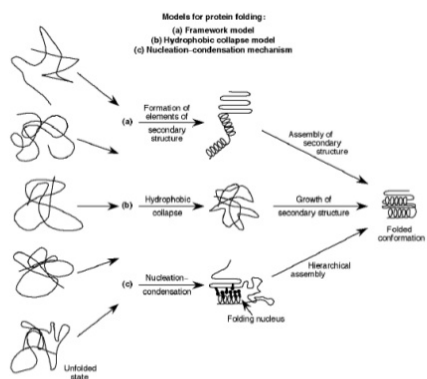
Molten globule



- univerzální intermediát při popisu sbalování a rozbalování proteinu
- hydrofobní residua hlavně uvnitř a hydrofilní residua venku
- některá residua již v přirozeném kontaktu, "skoro" nativní konformace, sekundární struktura často blízka nativní formě proteinu
- malé uspořádání bočních řetězců, méně kompaktní než nativní protein

20

Více modelů



21

Levinthalův paradox

- pokud by pro každé reziduum existovaly 2 možné konformace, pak pro řetězec se 100 rezidui existuje 2^{100} alternativních struktur, a protože přechod z jedné konformace do druhé nemůže být rychlejší než 1 ps, prohledávání prostoru potenciální energie by trvalo nejméně $\sim 2^{100}$ ps ($\sim 10^{10}$ let)

Otázka: Jak se dokáže protein sbalit do nativní formy během krátké doby (s-min)?

- Nativní forma proteinu je určena kineticky spíše než termodynamicky a jde cestou hledání snadno dosažitelného lokálního minima, než hledání globálního minima volné energie.

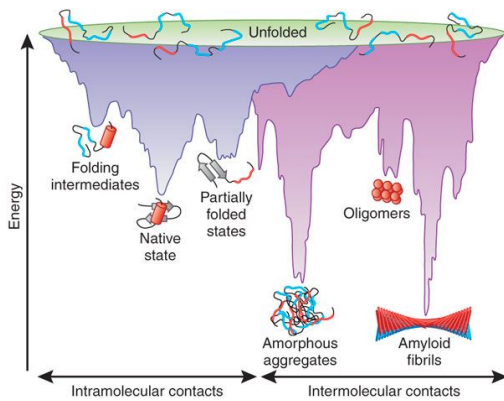
Kinetika : sbalování nesmí obsahovat příliš vysoké energetické bariéry a nemít mnoho mezikroků

Termodynamika : za normálních podmínek je přirozený stav jen o několik kcal/mol stabilnější než nesbalený

Požadavky kinetiky i termodynamiky mohou být splněny současně: předpokládá se, že v biologických procesech našly uplatnění právě ty proteiny, které se takto formovat dokáží.

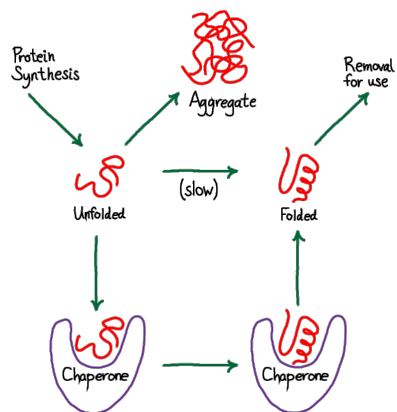
22

Amyloidy - nesprávné sbalování



23

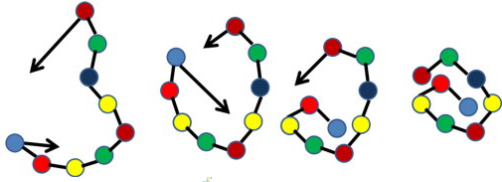
Chaperons



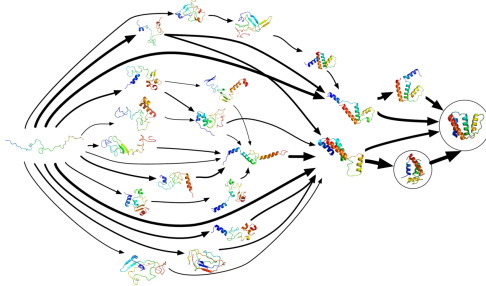
24

Sbalování proteinů - modelování

Go models

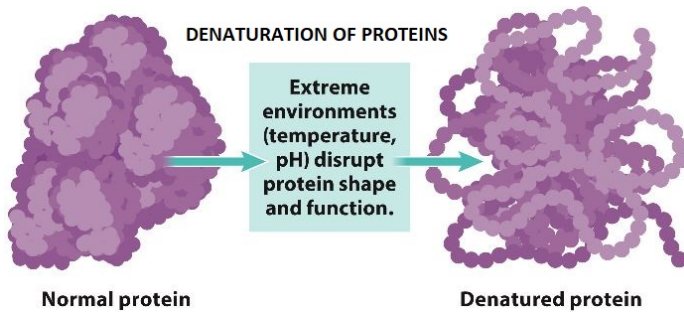


All-atom



25

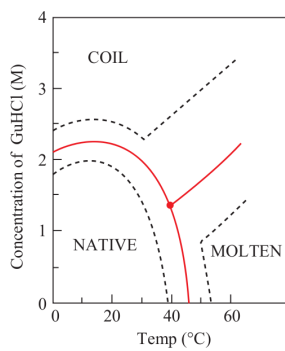
Denaturace



nejčastěji náhodné klubko (random coil)

26

Denaturace

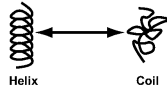
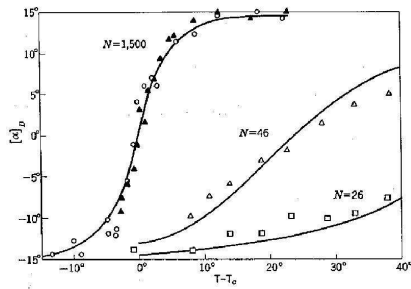


Fázový diagram konformačních stavů v lysozymu. Čárkovaně přechodové zóny.

27

Helix-coil transition

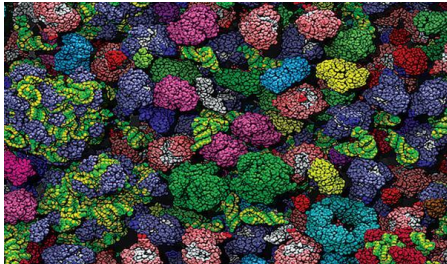
- peptidy, proteiny, DNA, RNA
- je to modelový zjednodušený systém pro sbalování proteinů
- dvou stavový model, každé residuum je buď v helixu nebo coilu (ising model)
- nukleace a propagace sbalování
- kooperativní proces
- dva popisy: Zimm-Bragg a Lifson-Roig (první bere vliv okolních residuí a druhý zahrnuje trojici residuí)



28

Crowding

- efekt makromolekulárního zaplnění popisující změnu vlastností molekul v roztoku, pokud jsou přítomny ve vysoké koncentraci (koncentrace proteinů v cytosolu 300 - 400 mg / ml, v čočce až 500 mg / ml)
- vliv na sbalování a konformace proteinů
- mění associační/dissociační konstanty = afinity
- větší molekuly ovlivněny více než malé



29

Fickovy zákony

1. zákon

$$j = -D \frac{\partial c}{\partial x}$$

zákon zachování hmotnosti

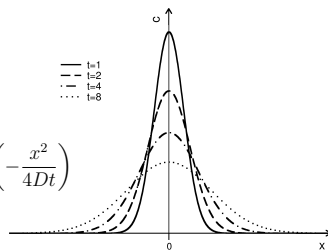
$$\frac{\partial j}{\partial x} = -\frac{\partial c}{\partial t}$$

2. zákon

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2}$$

$$c(x, t) = \frac{N}{\sqrt{4\pi Dt}} \exp\left(-\frac{x^2}{4Dt}\right)$$

$$\langle x^2 \rangle = 2Dt$$



30

Difuzní koeficient

Green-Kubo

$$D = \int_0^\infty \langle v(t - t'')v(0) \rangle dt(t - t'')$$

Einstein-Stokesův zákon

$$D = \frac{kT}{\gamma} = \frac{kT}{6\pi\eta R}$$

Stokesův zákon

$$F_f = -6\pi\eta R v_s$$

Molecule	Medium	Diffusion coefficient $\mu\text{m}^2/\text{s}$
H^+	water	7000
H_2O , O_2 , CO_2	water	2000
Protein (30 kDa), tRNA (20 kDa)	water	100
Protein (30 kDa)	cytoplasm	10 - 30
Protein (70 -250 kDa)	cytoplasm	0.4 - 2
Protein (70 -140 kDa)	membrane	0.03 - 0.2

31

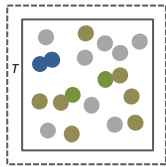
Statistical ensembles

- thermodynamic statistical ensembles describe macroscopic conditions
- NVE** – microcanonical
- NVT** – canonical (other names: isothermal, Helmholtz canonical)
- μ VT** – grand-canonical
- NPE** – isobaric
- NPT** – isobaric-isothermal (other name: Gibbs canonical)

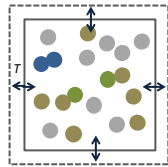
NVE



NVT



NPT



$$\Omega(N, V, E) = \frac{1}{N!} \sum_X \delta[\mathcal{H}(X) - E]$$

$$Z(N, V, T) = \frac{1}{N!} \sum_X e^{-\beta \mathcal{H}(X)}$$

$$Q(N, P, T) = \int dV e^{-\beta PV} \frac{1}{N!} \sum_X e^{-\beta \mathcal{H}(X)}$$

$$S(N, V, E) = k_B \ln \Omega(N, V, E)$$

$$F(N, V, T) = -k_B T \ln Z(N, V, T)$$

$$G(N, P, T) = -k_B T \ln Q(N, P, T)$$

32