



УДК 577.32+547.963.32.02

КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ЦИКЛИЧЕСКОЙ ФОРМЫ АТР

*Белобров П. И., Сандалова Т. П.**Институт физики им. Л. В. Киренского Сибирского отделения
Академии наук СССР, Красноярск*

Методом атом-атомных потенциалов проведен конформационный анализ циклического аденозин-5'-триметафосфата. Показано, что одной из наиболее стабильных для этой молекулы является такая конформация, в которой адениновое кольцо параллельно полифосфатному циклу. В этом случае возможно образование нейтрального комплекса сАТР с ионом металла.

Еще в 1949 г. Михельсон и Тодд [1], пытаясь осуществить синтез псевдо-АТР, имеющего разветвленную фосфатную цепь, предположили, что при переходе псевдо-АТР в АТР с неразветвленной фосфатной цепью появляется промежуточный продукт, трехчленная фосфатная цепь которого находится в циклической форме (сАТР). Но лишь не так давно авторами работ [2—6] осуществлен синтез этого соединения (рис. 1). Его существование было подтверждено спектрами ЯМР [3, 5]. Это соединение высокореактивно и в присутствии воды превращается в АТР [6].

В живых организмах сАТР пока не обнаружен. Возможно, это объясняется тем, что обычные методы выделения клеточных фракций приводят к превращению сАТР в АТР [3]. Вопрос о роли сАТР в биологических процессах поднят еще Михельсоном и Тоддом. Они предполагали, что образование триметафосфатного цикла может происходить при использовании энергии АТР для мышечного сокращения [4]. Предполагалось также, что сАТР может служить циклическим внутриклеточным регулятором [7] и высокоэнергетическим X~Y-интермедиатом в окислительном фосфорилировании [8].

Мы полагаем, что сАТР является промежуточным состоянием АТР при переносе двухвалентных катионов через мембраны. Для проверки этого предположения и анализа влияния циклизации полифосфатной цепи АТР на структуру всей молекулы нами был проведен конформационный анализ сАТР.

Строение АТР хорошо известно из рентгеноструктурных [9] и конформационных [10] исследований. Структурная формула сАТР показана на рис. 1. Из рисунка видно, что при жестких длинах связей и валентных углах энергия молекулы зависит от четырех двугранных углов χ , ψ , ϕ и ω . Начало отсчета этих углов выбрано нами таким же, как для АТР в работе [10]. Энергия невалентных взаимодействий вычислялась с помощью потенциала Леннарда — Джонса с параметрами, предложенными в работах

Сокращение: сАТР — циклический аденозин-5'-триметафосфат.

[11, 12], а энергия электростатических взаимодействий — по закону Кулона. Диэлектрическая постоянная принята равной 3,5 [10]. Значения точечных зарядов атомов взяты из работ Алвига и Лаки [13] (табл. 1). При расчете полной энергии мы не учитывали атомы водорода, по их заряд учтен увеличением зарядов соответствующих атомов.

Так как при конформационном анализе ЛТР Мильнером и Андерсеном [10] показано, что торсионная энергия не оказывает влияния на положение минимумов, мы не учитывали ее в наших расчетах.

Минимизацию энергии невалентных и электростатических взаимодействий проводили методом прямого поиска с наименьшим шагом 5° . Начальные приближения находили методом перебора с шагом 20° . Этот метод расчета позволил найти глобальные минимумы энергии при разумных затратах процессорного времени ЭВМ. Для наиболее устойчивых конформаций нами построены стереопроекции по программе, аннотация которой приведена в сборнике [14]. Кроме этого мы использовали атомные пространственные модели Курто.

Координаты атомов аденозина, необходимые для расчета энергии, были взяты из работы Кеннард с соавт. [9], которыми проводилось рентгеноструктурное исследование ЛТР. Рибоза находится в *СЗ'-эндо*-конформации, как наблюдалось в кристаллическом состоянии. Координаты метатрифосфатного цикла вычислены нами из валентных углов и длин связей, приведенных в работе [15]: длина связи $P-O_c$ 1,6 Å, $P-O$ 1,48 Å; углы O_c-P-O_c 101° , $P-O_c-P$ 121° и O_c-P-O 110° . Здесь O_c означает кислород, входящий в цикл.

Метатрифосфатное кольцо сАТР может находиться в двух конформациях: «кресло» и «ванна». Не очевиден ответ на вопрос, как выгоднее присоединить аденозин к метатрифосфату — через аксиальное или экваториальное положение, т. е. как располагается атом $O5'$. Поэтому мы провели расчеты для трех разных фиксированных конформаций полифосфатного кольца: «кресло», присоединенное к аденозину через аксиальное (K_a) и экваториальное (K_e) положение, и «ванна» — с аденозином в экваториальном положении (B_e). Расчеты показали, что каждой из этих структур метатрифосфата соответствует свой набор стабильных конформаций целой молекулы. Однако преимущества какой-либо из этих конформаций выявлено не было: величины глобальных минимумов энергии для рассмотренных случаев приблизительно одинаковы (табл. 2). На рис. 2 изображена зависимость конформационной энергии от угла внутреннего вращения вокруг гликозидной связи (χ). Значения остальных углов ψ , ϕ и ω соответствуют таковым в наиболее устойчивых конформациях (см. табл. 2). Из сравнения рис. 2а и б видно, что для молекулы сАТР в конформациях K_a , K_e и B_e , так же, как для АТР и арааденозина, энергия имеет два минимума по углу χ и значение энергии в обоих случаях приблизительно одинаково.

Майлс с соавт. [16] предположили, что для взаимодействия аденозинкиназы (КФ 2.7.1.20) с субстратом необходимо, чтобы молекула субстрата

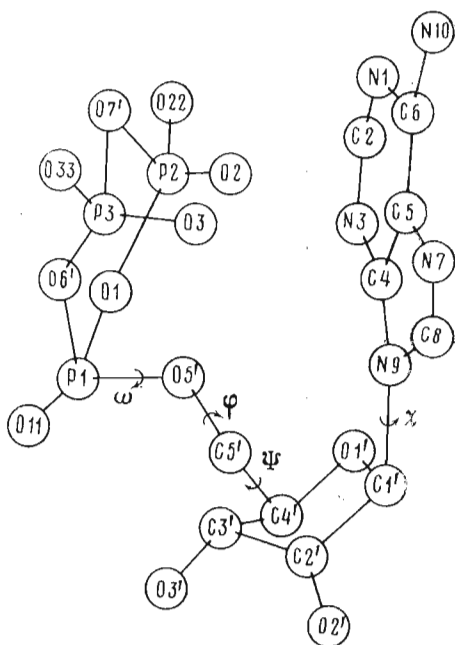


Рис. 1. Структура сАТР с обозначениями атомов и торсионных углов

Заряды атомов сАТР (см. рис. 1)

Атом	Заряд	Атом	Заряд	Атом	Заряд
C8	+0,29	C1'	+0,17	O1	-0,36
N7	-0,15	C2'	+0,08	O11	-0,36
C5	-0,04	O2'	-0,16	O6'	-0,36
C6	+0,24	O1'	-0,24	P2	+0,32
N10	-0,04	O3'	-0,15	O2	-0,36
N1	-0,32	C3'	+0,17	O22	-0,36
C2	+0,03	C4'	+0,1	O7'	-0,36
N3	-0,26	C5'	+0,05	P3	+0,32
C4	+0,17	O5'	-0,27	O3	-0,36
N9	-0,15	P1'	+0,32	O33	-0,36

Таблица 2

Наиболее устойчивые конформации сАТР и их энергия

Молекула	Конформация мета-трифосфата	Значения углов					Энергия, ккал/моль
		варианты	χ	ψ	φ	ω	
сАТР	K_s	1	-95	-80	110	-65	-13,6
		2	90	-75	105	-55	-13,3
	B_s	1	-85	-65	100	5	-13,5
		2	90	-60	105	0	-13,4
	K_a	1	-45	-80	105	-130	-12,9
		2	140	-80	110	-120	-13,2
АТР	[10]	1	15	-75	135	-30	
		2	3	-56	157	180	

была стабильна в так называемой *высокой анти*-области ($70^\circ \leq \chi \leq 150^\circ$). Пуриновые аналоги, стабильные в этой конформации, являются субстратами или ингибиторами аденозинкиназы, а арааденозин, не стабильный при этих значениях угла χ , не взаимодействует с аденозинкиназой. Если эта гипотеза верна, то сАТР в конформациях K_a , K_s и B_s может служить ингибитором этого фермента.

Величина барьера, разделяющего разрешенные для угла χ области, зависит от конформации фосфатного кольца. Для случая K_a этот барьер не превышает 3 ккал/моль, в то время как для экваториального присоединения аденозина барьер становится очень большим. Его величина зависит также от угла ψ . Например, для случая K_a при $\psi -120^\circ$ этот барьер невелик, так что при комнатной температуре вполне возможны переходы из одной области в другую. При увеличении угла ψ барьер повышается, а разрешенные области сужаются, и при $\psi -80^\circ$ ширина областей изменения угла χ не превышает 10° .

По углам ψ и φ энергия сАТР имеет один минимум, и его положение не зависит от конформации фосфатного кольца: для всех случаев наиболее устойчива конформация с ψ от -60 до -100° и φ $100-120^\circ$. Для АТР энергия минимальна при значениях углов $\psi -60$ и $\varphi 130^\circ$ [10].

Наибольшую зависимость от конформации фосфатного кольца имеет угол ω . Для K_a устойчивы конформации с $\omega -120^\circ$, причем при сильном отклонении от этого значения энергия резко возрастает из-за перекрывания атомов фосфатного кольца и атомов аденозина и никаким набором углов χ , ψ и φ это перекрывание убрать нельзя. Для конформаций фосфатного кольца с экваториальным расположением аденозина угол ω в устойчивых конформациях зависит от угла χ .

В табл. 2 приведены значения углов, определяющих самые устойчивые конформации сАТР для всех исследованных нами случаев. Там же указа-

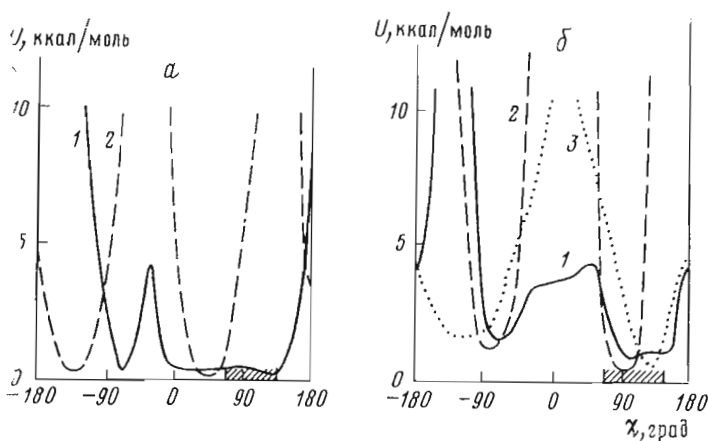


Рис. 2. Зависимость полной энергии от угла χ : а) 1 — АТР [10], 2 — аденозин [16]; б) сАТР в зависимости от конформации метатрифосфатного цикла: 1 — K_a ($\omega -120$, $\psi -80$, $\phi 110^\circ$), 2 — K_s ($\omega -65$, $\psi -80$, $\phi 110^\circ$), 3 — B_s ($\omega 0$, $\psi -60$, $\phi 105^\circ$). Заштрихована высокая *анти*-область

ны конечные значения углов, полученные Мильнером и Андерсеном для АТР двумя разными методами [10]. Из этой таблицы видно, что для АТР характерна *анти*-конформация. Для сАТР такая конформация выгодна только для аксиального присоединения аденозина к триметафосфату. Однако в последнем случае конформация, соответствующая *син*-области ($\chi 140^\circ$), имеет такую же энергию. Для K_s и B_s наиболее устойчивы конформации, в которых угол χ лежит на границе *син*- и *анти*-областей, когда плоскость аденина перпендикулярна связи O1—C1.

Углы ψ и ϕ меняются слабо и в грубом приближении равны соответствующим углам АТР. Таким образом, наиболее сильно энергия сАТР зависит от углов χ и ω . Поэтому мы провели минимизацию по ψ и ϕ и построили конформационные карты по χ и ω (рис. 3—5). Из этих карт видно, что существует целый ряд конформаций, различия в энергии которых не превышают 1 ккал/моль. Анализируя их, мы пришли к выводу, что устойчивые конформации можно разбить на 2 класса, различающиеся по геометрии: *орто*-конформации, в которых адениновое и фосфатные кольца перпендикулярны (рис. 6а), и конформации «сэндвич», в которых эти кольца параллельны (рис. 6б). Для K_a наиболее выгодны *орто*-конформации, а для K_s и B_s — конформации «сэндвич».

Молекула сАТР, особенно в конформации «сэндвич», имеет очень удобную структуру для образования хелатных комплексов с ионами металлов, которые присоединяются одновременно к основанию и к триметафосфату. Для двухзарядных катионов такой комплекс будет нейтральным. Молекула сАТР с ионом внутри очень компактна и, по-видимому, может проникать в гидрофобное окружение.

Известно, что многие металлы образуют хелатные комплексы с АТР, соединяясь с разными частями молекулы. Так, Ca^{2+} , Mg^{2+} и Ni^{2+} связываются, вероятно, только с фосфатами, U^{2+} — с рибозой и фосфатной группой, Hg^{2+} — с аминогруппой аденина, а Mn^{2+} , Zn^{2+} и Cu^{2+} взаимодействуют одновременно с фосфатами и аденином. В последнем случае ионы металла образуют связь либо с одним из атомов азота (N1, N3 или N7), либо сразу с несколькими атомами пурина [17]. Однозарядные ионы обычно соединяются с фосфатными группами.

В молекуле сАТР ион металла может поместиться между аденином и фосфатным циклом. Положительный заряд между основанием и триметафосфатом делает выгодным увеличение отрицательного заряда кислородов O2 и O3.

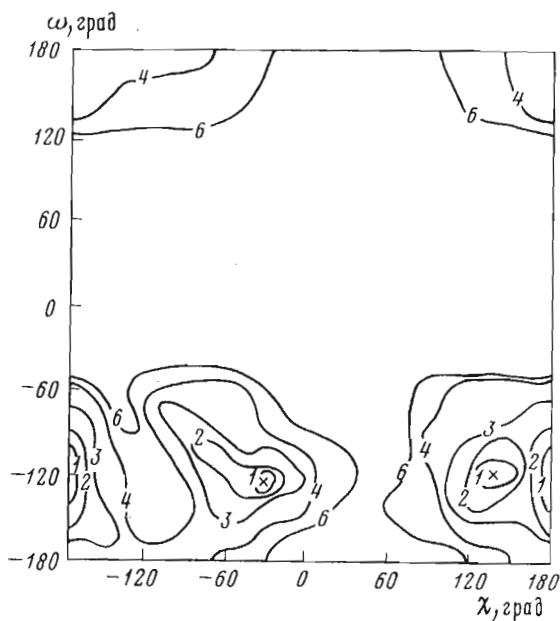


Рис. 3. Энергетическая карта сАТР с минимизацией по углам φ и ψ . Метатрифосфат в конформации K_α

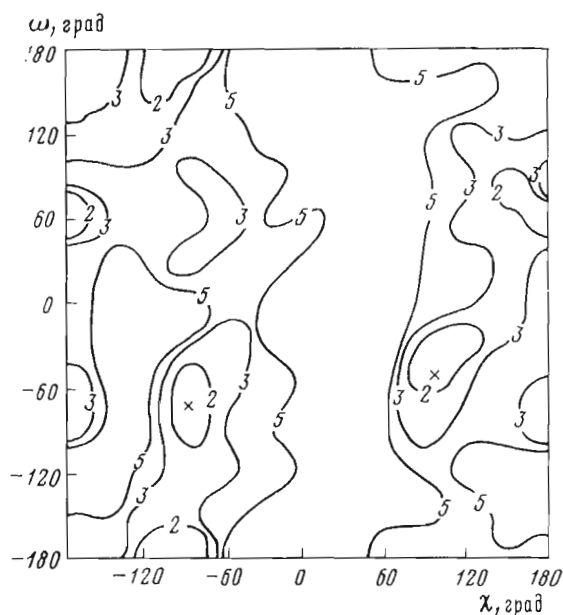


Рис. 4. Энергетическая карта сАТР с минимизацией по углам φ и ψ . Метатрифосфат в конформации K_β

Как известно [18], ионные радиусы большинства двухзарядных катионов не превышают 1 Å. Мы оценили межатомные расстояния в одной из устойчивых конформаций сАТР, показанной на рис. 7. В этом случае расстояние N1–O2 равно 3,75 Å, а O3–N7 – 3,7 Å, т. е. диаметр полости для иона равен 2,1–2,3 Å. Ион металла может находиться в центре искаженного квадрата, взаимодействуя с четырьмя атомами N1, N7, O3 и O2. Возможна и искаженная тетраэдрическая геометрия, когда ион металла связывается с атомами O2, O3, N3 и N7 (рис. 7a).

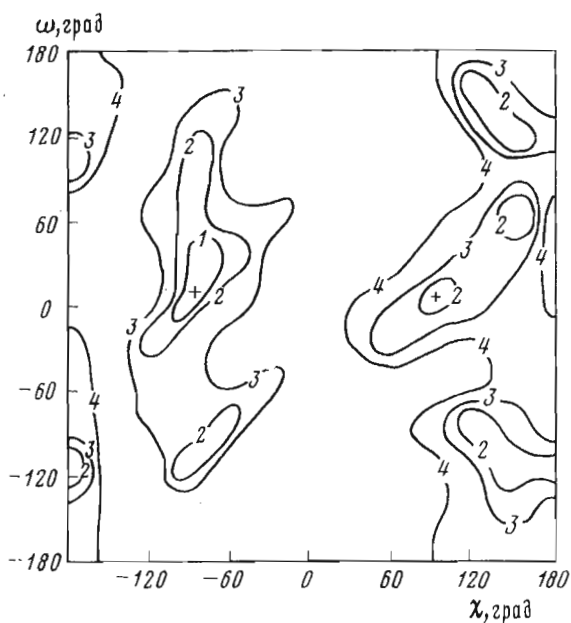


Рис. 5. Энергетическая карта сАТР с минимизацией по углам ϕ и ψ . Метатрифосфат в конформации В.

Известно, что каждый ион металла имеет свои характерные координационные числа [17, 18]. Хелатные комплексы АТР, в которых ион металла связан одновременно с основанием и фосфатами, образуют только те металлы, координационное число которых равно 4. Можно предположить, что эти металлы, а именно Zn^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , образуют нейтральные закрытые хелатные комплексы с молекулой сАТР. Для однозарядного катиона Na^+ (координационное число 4) если и образуется комплекс, то он будет анионом $[Na \cdot cATP]^-$.

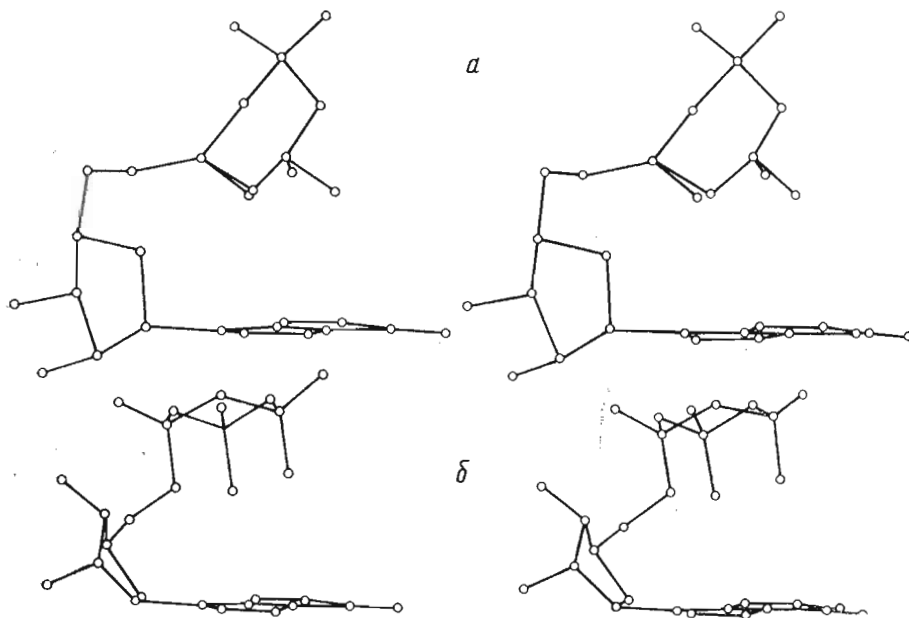


Рис. 6. Стереорезультаты изображения молекулы сАТР в орто-конформации (а) и в конформации «сэндвич» (б)

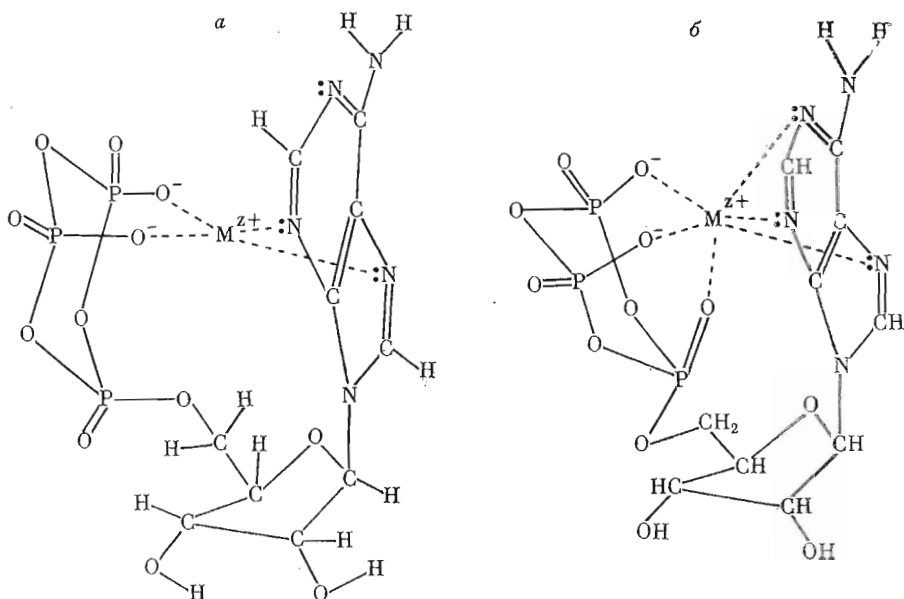


Рис. 7. Возможные структуры хелатных комплексов сАТР с ионами металлов: а — полная экранировка иона с тетраэдрическим окружением в конформации «сэндвич»; б — частичная экранировка иона с октаэдрическим окружением в *орто*-конформации.

Менее вероятно образование комплексов с ионами металлов, имеющих большие координационные числа. Однако в некоторых из *орто*-конформаций атомы O2, O3, O11 фосфатной части молекулы и N1, N3, N7 аденина образуют сильно искаженный октаэдр с размерами полости 2–2,5 Å (рис. 7б). Если же шестым лигандом является не азот N7, а кислород воды, то искажение октаэдра становится значительно меньше. Такие комплексы с частичной экранировкой заряда могут образовывать ионы Ca^{2+} и Mg^{2+} .

Известно, что двухвалентные катионы металлов проходят через клеточную мембрану только в присутствии АТР [19]. Возможно, что АТР в этом случае играет роль не столько источника энергии, сколько своеобразной оболочки, помогающей катионам проникать через мембрану.

В заключение хотелось бы обратить внимание на пути экспериментального обнаружения сАТР. На основании результатов работ [4–7] можно утверждать, что доказательством существования сАТР в биохимическом материале может служить миграция метки из γ - в β -положение, а также обнаружение γ -амидных производных АТР.

Авторы благодарят Д. Г. Кнорре за критические замечания, М. А. Грачева, В. К. Лишко и В. И. Кулинского за полезные обсуждения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Michelson A. M., Todd A. R. (1949) J. Chem. Soc., 2487–2493.
2. Бабкина Г. Т., Кнорре Д. Г. (1973) Изв. Сиб. отд. АН СССР. Сер. хим. н., 14, 74–80.
3. Glonek T., Kleps R. A., Myers T. G. (1974) Science, 185, 352–355.
4. Бабкина Г. Т., Грачев М. А., Зайчиков Е. Ф., Кнорре Д. Г., Ковригина В. С. (1975) Изв. Сиб. отд. АН СССР. Сер. хим. н., 7, 128–132.
5. Бабкина Г. Т., Зарытова В. Ф., Кнорре Д. Г. (1975) Биоорган. химия, 1, 611–615.
6. Грачев М. А., Кнорре Д. Г., Курбатов В. А., Нетесов С. В. (1976) Изв. Сиб. отд. АН СССР. Сер. хим. н., 1, 117–123.
7. Белобров П. И., Кулинский В. И. (1976) Биол. науки, № 9, 27–31.
8. Белобров П. И. (1976) в сб.: Циклические нуклеотиды, с. 45–46, Красноярск.
9. Kennard O., Ysaacs N. W., Motherwell W. D., Coppola J. C., Wampler D. L., Larson A. C., Watson D. G. (1971) Proc. Roy. Soc. London, 325, 401–436.

10. Millner O. E., Anderson J. A. (1975) *Biopolymers*, **14**, 2159–2179.
11. Momany F. A., Carruthers L. M., McGuire R. F., Scheraga H. A. (1974) *J. Phys. Chem.*, **78**, 1595–1620.
12. Thornton J. M., Bayly P. M. (1975) *Biochem. J.*, **149**, 585–596.
13. Alvig R. E., Laki K. (1972) *J. Theor. Biol.*, **34**, 199–214.
14. Пантюхов Е. А., Белобров П. И. (1977) в сб.: Аннотации программ для молекулярной спектроскопии, с. 145, Новосибирск.
15. Дашевский В. Г. (1974) Конформации органических молекул, с. 405–407, изд-во «Химия», М.
16. Miles D. L., Miles D. W., Redington P., Eyring H. (1977) *J. Theor. Biol.*, **67**, 499–514.
17. Эйхгорн Г. Л. (1977) в кн.: Неорганическая биохимия (ред. Эйхгорн Г. Л.), т. 2, с. 662–682, «Мир», М.
18. Яцимирский К. В. (1976) Введение в бионеорганическую химию, с. 29, «Наукова думка», Киев.
19. Липко В. К. (1977) Натриевый насос биологических мембран, с. 132, «Наукова думка», Киев.

Поступила в редакцию
29.X.1979

После доработки
21.I.1980

CONFORMATIONAL ANALYSIS OF CYCLIC FORM OF ATP

BELOBROV P. I., SANDALOVA T. P.

*L. V. Kirensky Institute of Physics, Siberian Branch of the
Academy of Sciences of the USSR, Krasnoyarsk*

Conformational analysis of the cyclic form of ATP was performed using the atom-atomic potentials. One of the most stable conformations was shown to have a parallel alignment of adenine and polyphosphate rings. This makes possible formation of a neutral complex between c-ATP and an alkaline-earth metal ion.
