

# **Конформационно - зависимый дизайн сополимеров**

**А.Р. Хохлов**

**Физический факультет МГУ,  
ИНЭОС РАН**

# **Биомиметический** подход к функциональным полимерам

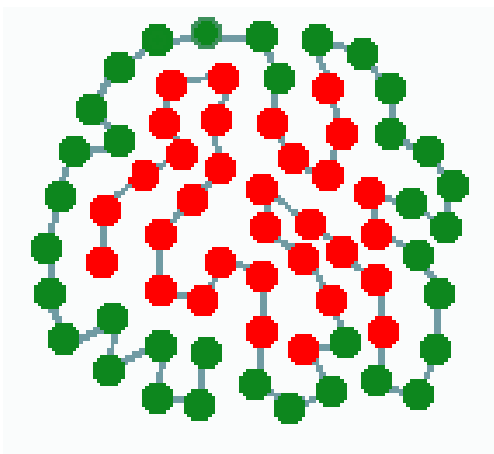
**1** Изучить функционирование биополимеров в реальных **ЖИВЫХ системах** и реализовать аналогичные подходы для **синтетических полимерных систем**

**2** Понять принципы **молекулярной эволюции последовательностей** (первичных структур) в биополимерах на начальных стадиях эволюции и реализовать аналогичные подходы для **конструирования последовательностей звеньев в синтетических сополимерах**

# Глобулярные белки-ферменты

1. **Растворимы** в водных средах.
2. Находятся в водных средах в **глобулярном состоянии**

Для **гомополимеров** и **случайных сополимеров** эти два условия **противоречат друг другу**



**Гидрофобные А-звенья** формируют **плотное ядро** глобулы, а **гидрофильные В-звенья** образуют **стабилизирующую оболочку** для этого ядра.

Вопрос: можно ли сконструировать такую **АВ-последовательность** в **синтетических сополимерах**, чтобы в наиболее плотной глобулярной конформации все **А-звенья** были бы в **ядре** глобулы, а все **В-звенья** составляли бы **оболочку** этого ядра? →

→ **белкоподобные АВ-сополимеры**

**1.** Только **белковоподобные** сополимеры растворимы в **глобулярной** конформации и в этом смысле открыты для дальнейшей **эволюции**, т.е. усложнения “функций”.

**2.** **Белковоподобные** последовательности представляют собой **ничтожную долю** всех возможных  $2^N$  последовательностей.

**Парадокс Левинталя:** времени биологической эволюции не хватило бы на перебор всех  $20^N$  последовательностей и выбор “уникальных” белковых структур. Переход к **белковоподобным** последовательностям **за один шаг** приводит к громадному уменьшению числа возможных первичных структур.

**3.** В **белковоподобных** последовательностях должны быть **дальнодействующие корреляции** (затрагивающие всю цепь). В этом смысле свойства **белковоподобных** сополимеров должны отличаться от свойств сополимеров, которые обычно изучаются в науке о полимерах (**блок-сополимеры, случайные сополимеры, случайные с короткодействующими корреляциями и др.**)

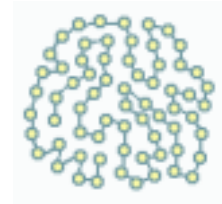
# Компьютерная реализация белковоподобных АВ-сополимеров

## Этап 1

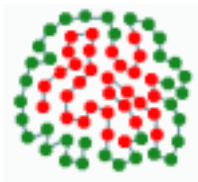


Гомополимерный клубок  
с исключенным объемом

## Этап 2



## Этап 3



Рассматривается  
“мгновенная фотогра-  
фия” глобулы. Звенья  
на поверхности закра-  
шиваются **зеленым** и  
называются **гидро-  
фильными**. Звенья в  
ядре закрашиваются  
**красным** и называются  
**гидрофобными**. Затем  
первичная структура  
фиксируется.

Включается сильное  
притяжение звеньев и  
формируется  
гомополимерная  
глобула

## Этап 4



Однородное сильное  
притяжение  
“выключается” и  
вводятся различные  
потенциалы  
взаимодействия для  
“**зеленых**” и “**красных**”  
звеньев

# Анализ первичной структуры

## Белковоподобный сополимер (L= 3.2)



## Случайный сополимер (L= 2.0)



## Случайно-блочный сополимер (L= 3.2)



Пуассоновское распределение длины  $x$  непрерывных **A**- и **B**-последовательностей

$$W(x) = \exp(-L)L^x / x!$$

## Переход клубок-глобула в белковоподобных АВ-сополимерах

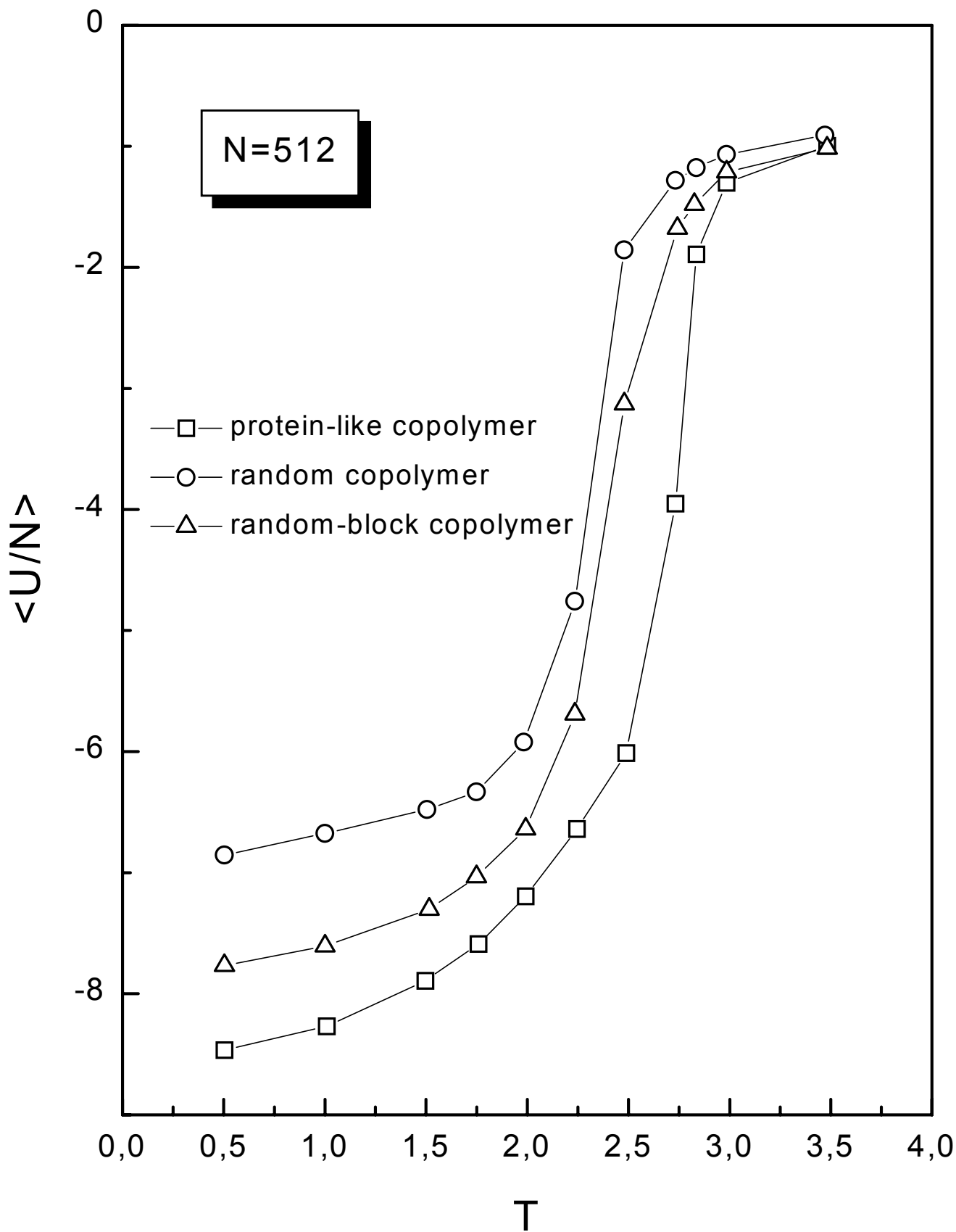
Компьютерный эксперимент: 25, 50 или 75% звеньев вблизи центра инерции глобулы были приписаны гидрофобные свойства, остальным - гидрофильные.

Рассматривался переход клубок-глобула в белковоподобном АВ-сополимере, происходящий при увеличении притяжения гидрофобных А-звеньев (для гидрофильных В-звеньев растворитель всегда считался хорошим - только отталкивание за счет исключенного объема).

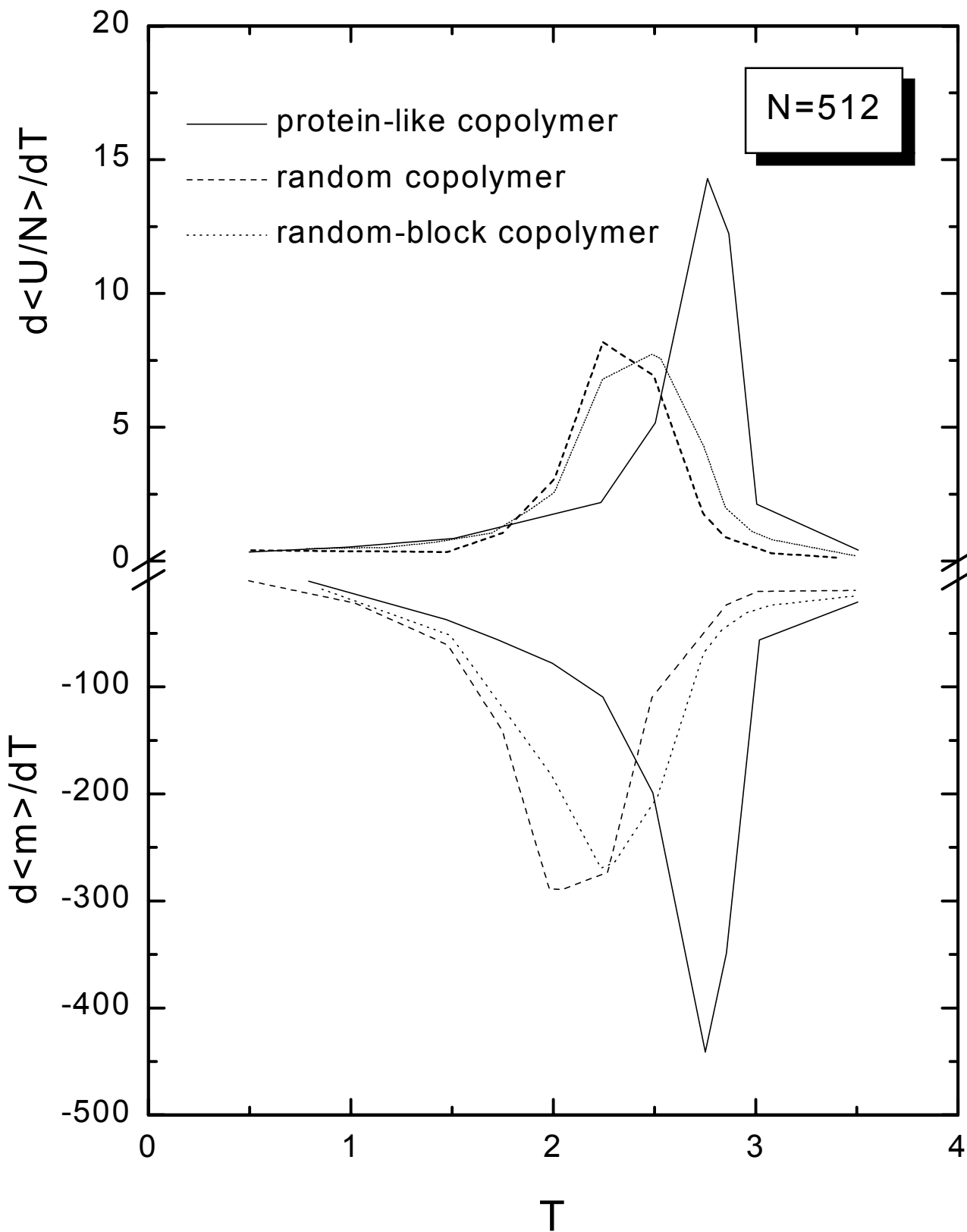
Сравнивались результаты:

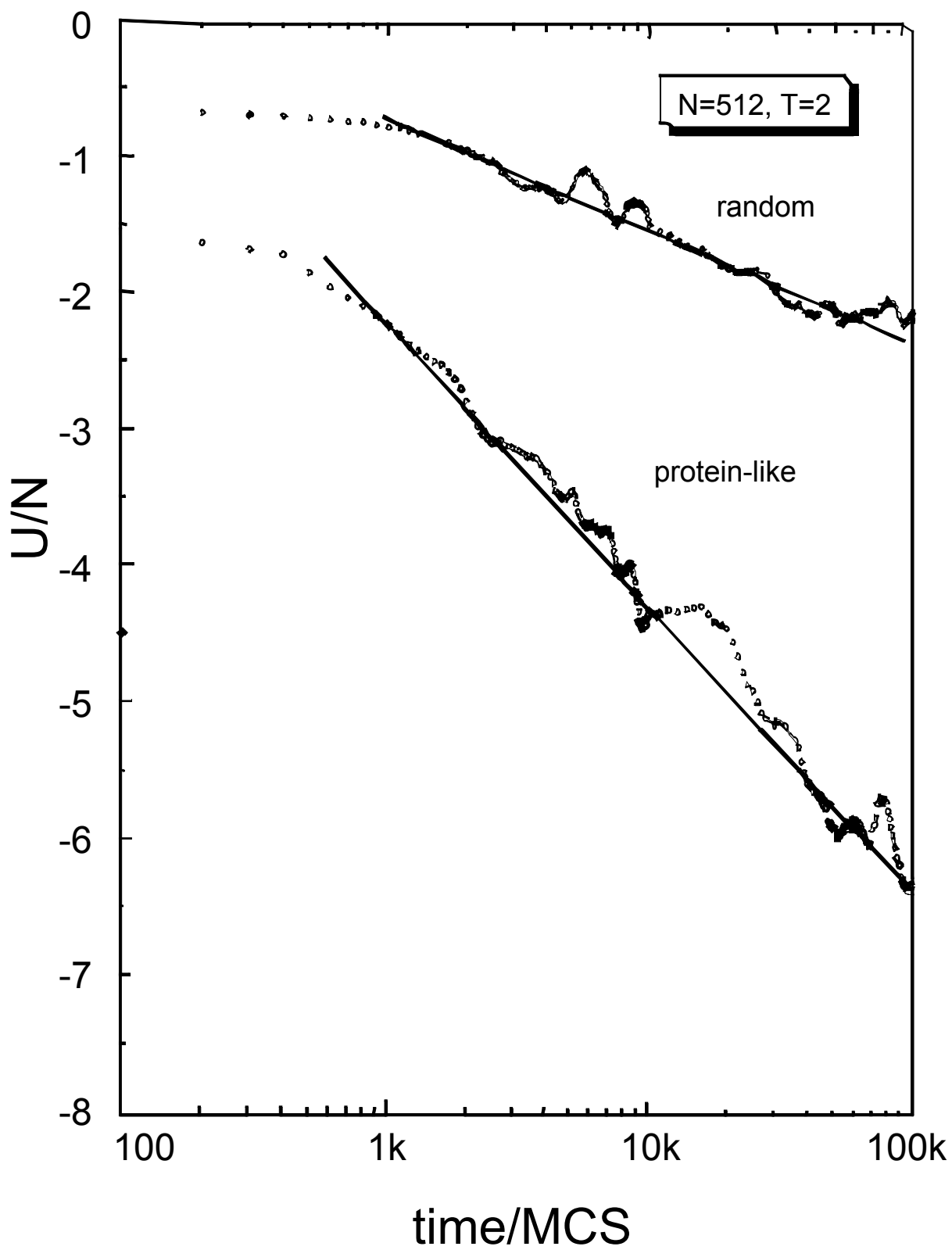
- для белковоподобных АВ-сополимеров;
- для случайных АВ-сополимеров с той же долей А-звеньев;
- для случайно-блочных АВ-сополимеров

Компьютерный эксперимент проводился методом Монте-Карло с использованием модели флуктуирующих связей





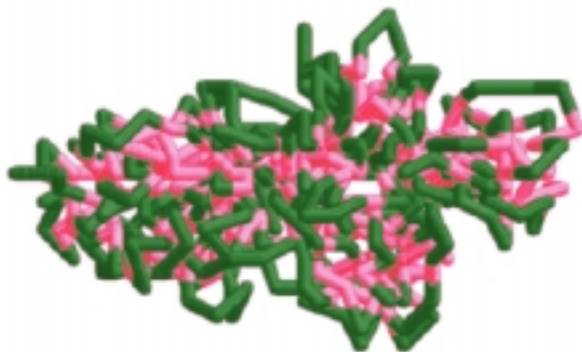






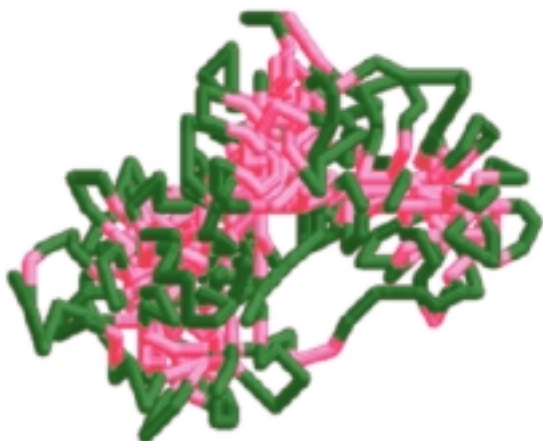
**Белковоподобный  
сополимер**

$$\langle R_g^2 \rangle_{\text{core}} = 74.1$$



**Случайный  
сополимер**

$$\langle R_g^2 \rangle_{\text{core}} = 106.6$$



**Случайно-блочный  
сополимер**

$$\langle R_g^2 \rangle_{\text{core}} = 99.4$$

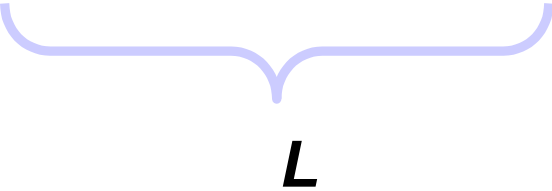
# Вывод

**Переход клубок-глобула для белковоподобных АВ-сополимеров происходит при более высоких температурах, является более кооперативным и имеет более быструю кинетику, чем для случайных сополимеров с тем же А/В составом и для случайно-блочных сополимеров с тем же А/В составом и степенью микроблочности.**

**Основная причина: белковоподобный сополимер “наследует” некоторые свойства “материнской глобулы”, которые заложены в специальных дальних корреляциях первичной структуры.**

# Статистические корреляции в белковоподобной последовательности

...**АВВААВ****АААВ****ААВВ****ВВАВ****ААВВ**...



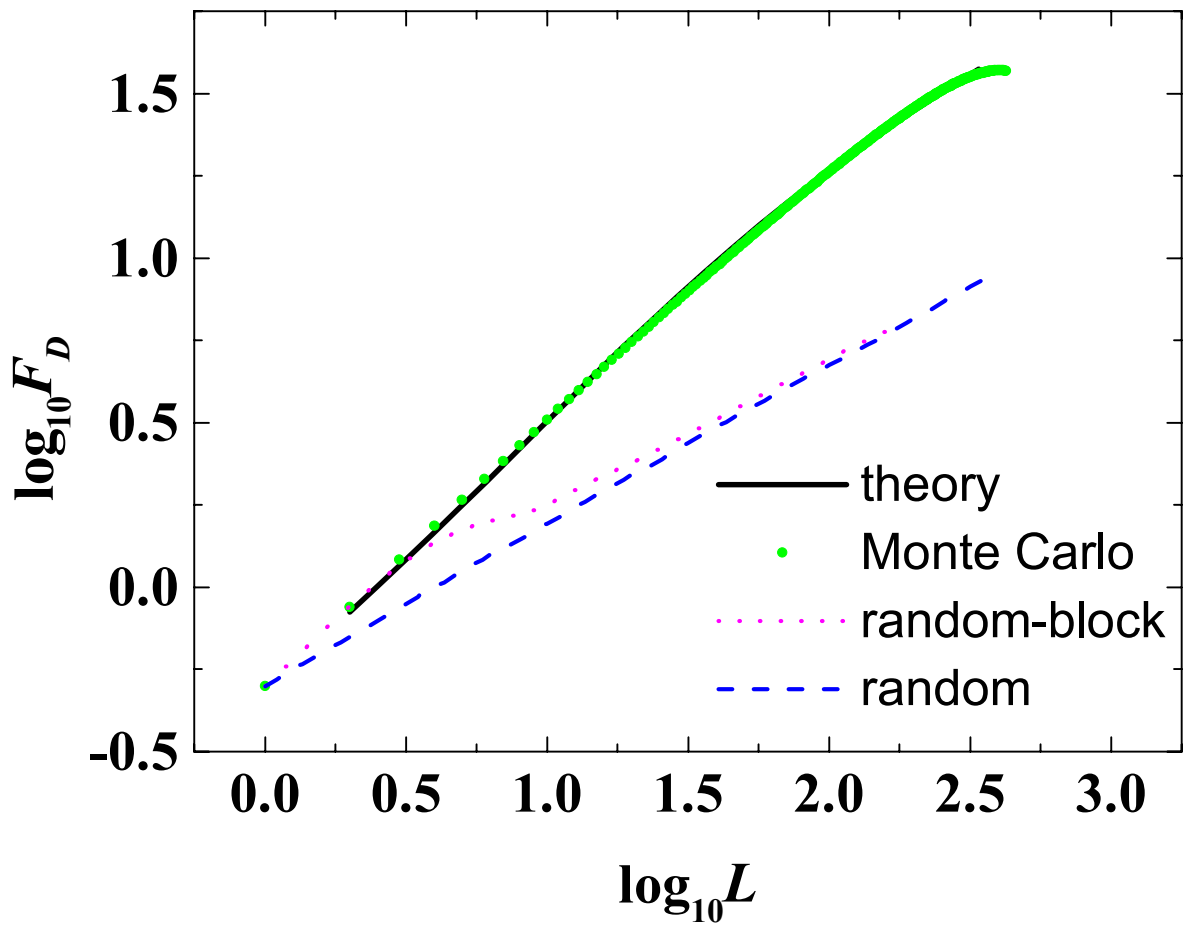
$L$

Число **А**-звеньев в “окне” размером  $L$  есть **случайная величина**, зависящая от положения “окна”.

**Дисперсия** распределения этой величины  $F_D$ :

для **случайного** сополимера  $F_D \sim L^{1/2}$

для сополимера с **дальнодействующими степенными корреляциями**  $F_D \sim L^\alpha$ ,  $\alpha \neq 1/2$

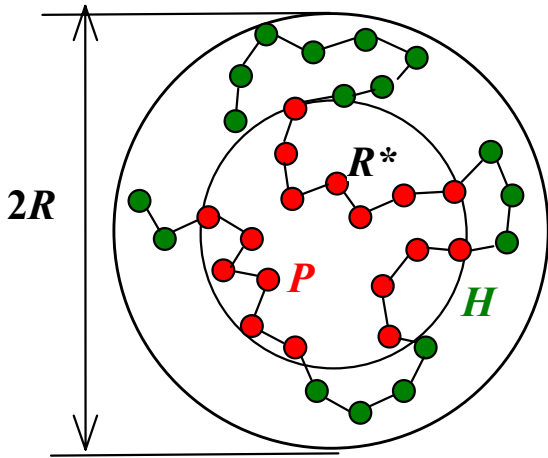


**for random copolymers**

$$\alpha=0.5$$

**for protein-like copolymers**

$$0.75 < \alpha < 1$$



$G(\vec{r}, k | \vec{r}_0)$  - статистический вес траекторий случайных блужданий из  $k$  шагов с началом в  $\vec{r}_0$  и концом в  $\vec{r}$

Функция  $G(\vec{r}, k | \vec{r}_0)$  удовлетворяет уравнению диффузии:

$$\frac{\partial G(\vec{r}, k | \vec{r}_0)}{\partial k} = \frac{a^2}{6} \Delta G(\vec{r}, k | \vec{r}_0) + \delta(k) \delta(\vec{r} - \vec{r}_0)$$

Граничные условия:

- на внешней границе

$$\nabla_{\vec{r}} G(\vec{r}, k | \vec{r}_0) \Big|_{r=R} = 0$$

- на внутренней границе

$$G_{H(P)}(\vec{r}, k | \vec{r}_0) \Big|_{|\vec{r}|=R^*} = 0$$

## Решение:

1. Вероятности распределения длин  $k$

**гидрофобных** ( $P_H(k)$ ) и **полярных** ( $P_P(k)$ ) участков

$$P_H(k) = \frac{\pi a^2}{3R^* r_0} \sum_{n=1}^{\infty} n(-1)^{n+1} \exp\left[-\frac{a^2}{6} \left(\frac{n\pi}{R^*}\right)^2 k\right] \sin\left(n\pi \frac{r_0}{R^*}\right)$$
$$P_P(k) = \frac{a^2 R^*}{3(R - R^*)^2 r_0} \sum_{n=1}^{\infty} \exp\left[-\frac{a^2}{6} \left(\frac{\zeta_n}{R - R^*}\right)^2 k\right] \frac{\zeta_n^2 \sin\left(\zeta_n \frac{r_0 - R^*}{R - R^*}\right)}{\zeta_n - \sin \zeta_n \cos \zeta_n}$$

Асимптотики:

$$P_{H(P)} \cong \begin{cases} k^{-3/2}, & \text{для } 1 < k < (d_{H(P)} / a)^2; \\ \left(\frac{d_{H(P)}}{a}\right)^{-3} \exp(-\lambda_{H(P)} k), & \text{для } k > (d_{H(P)} / a)^2 \end{cases}$$

Эти вероятности отвечают статистике  
**“полета Леви”**



2. Для величины  $F_D$  получается следующее выражение:

$$F_D^2 \approx 6l^2 \sum_{n=1}^{\infty} \alpha_n g\left(\frac{la^2}{6R^2} \xi_n^2\right),$$

функция  $g(x) \equiv 2 \frac{\exp(-x) + x - 1}{x^2}$ .

Асимптотики:

$$F_D \cong \begin{cases} l, & \text{для } 1 < k < (d_P/a)^2; \\ l^{1/2}, & \text{для } k > (d_H/a)^2 \end{cases}$$

# Наблюдаются ли черты статистики «полета Леви» в реальных белковых последовательностях ?

База данных **PDB** (Protein Data Bank)

<http://www.rcsb.org/pdb/>

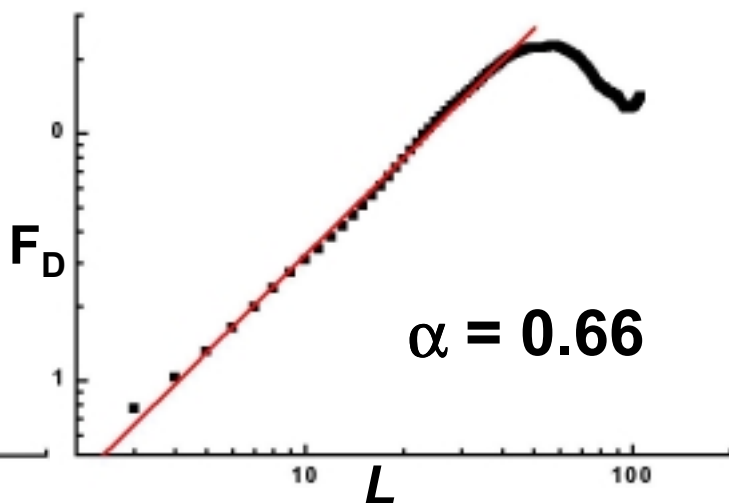
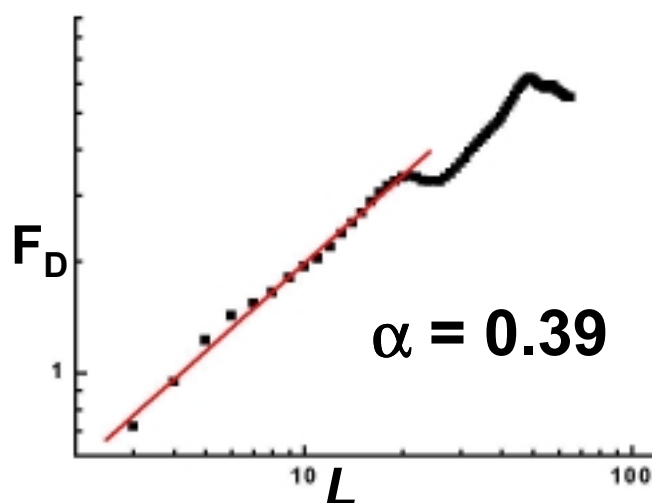
Белковые последовательности перекодировались в двухбуквенный алфавит HP по правилу

**H** - [A], [V], [L], [I], [P], [F], [W], [M], [C], [G]

**P** - [N], [Q], [S], [T], [Y], [K], [R], [H], [D], [E]

Лизоцим

Иммуноглобулин  
(15с8)

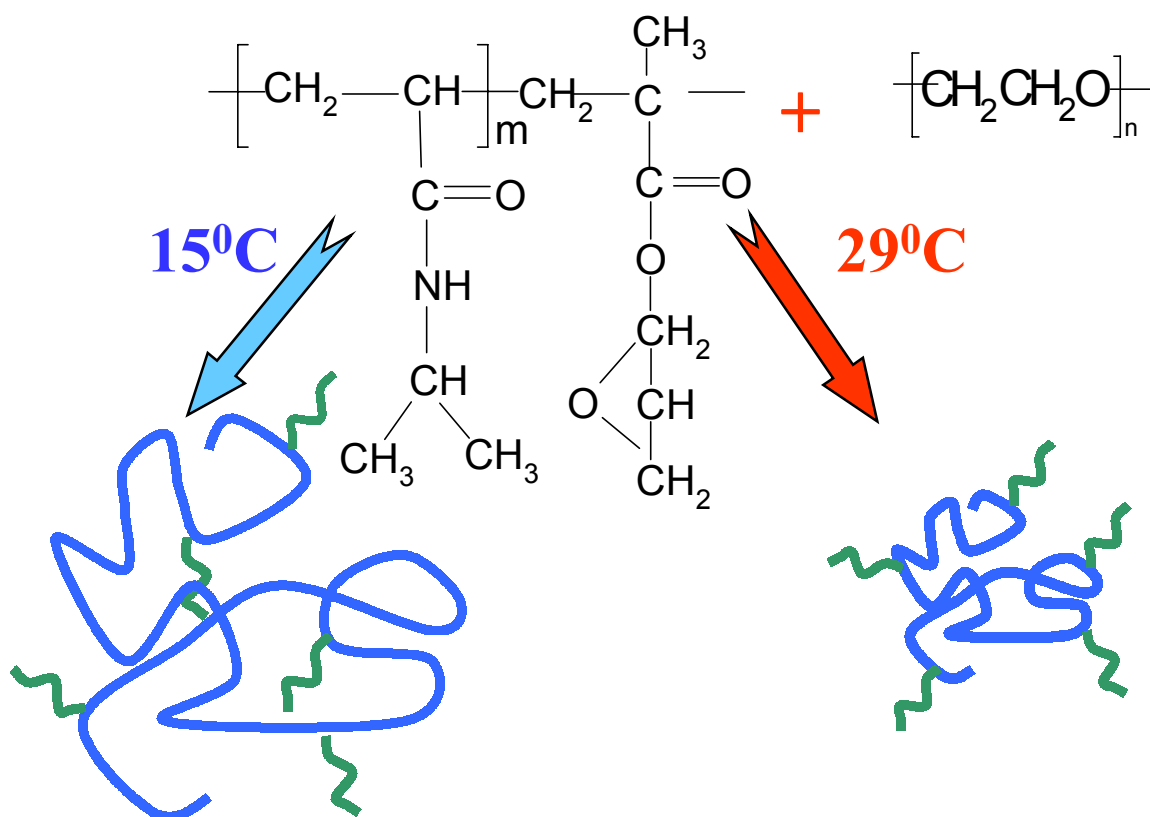


В целом, дальнедействующие корреляции предсказанного вида **не наблюдались**. Возможная причина: **негауссовость** статистики цепей внутри белковой глобулы (из-за  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -слоев).

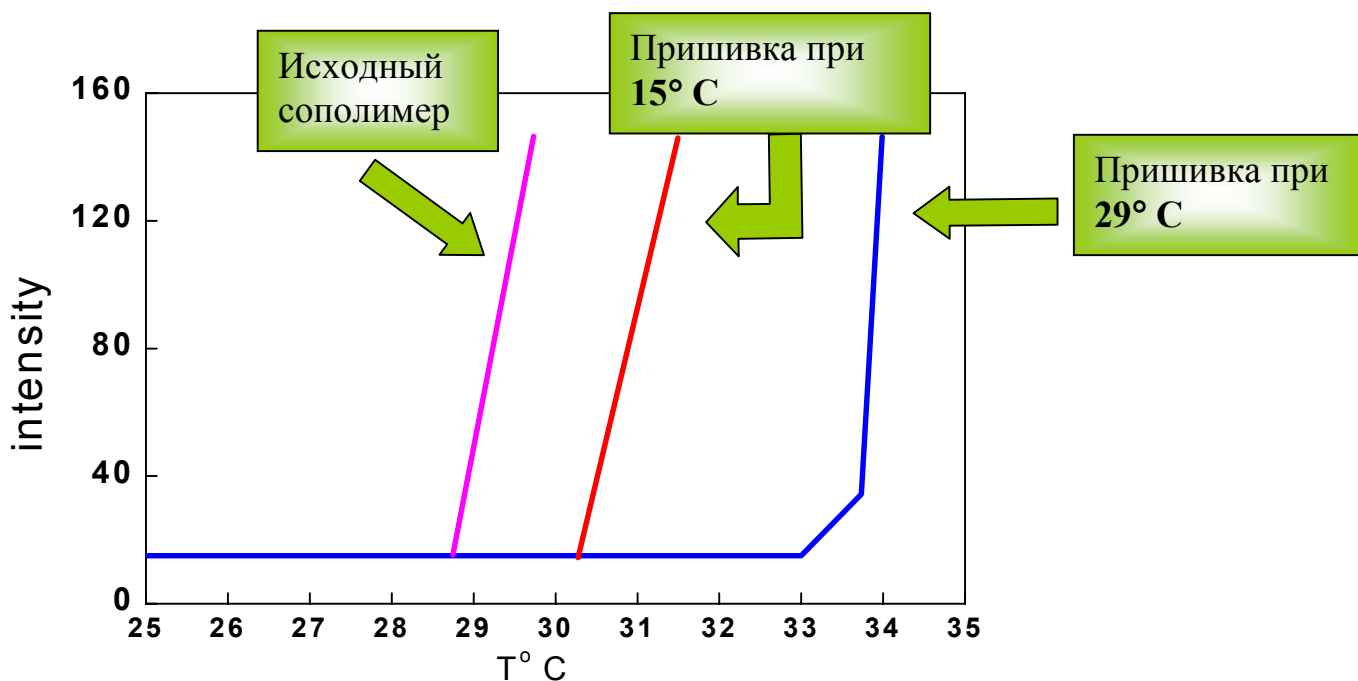
# Влияние условий синтеза на свойства привитых сополимеров поли(*N*-изопропилакриламида)

*Virtanen J., Tenhu H. Macromolecules, 2000, 33,336*

- Сополимер получен привитой сополимеризацией полиэтиленоксида ( $M_w=6000$  г/моль) на сополимере *N*-изопропилакриламида и глицидил метакрилата (НИПА-ГЦМА) ( $M_w=180000$ )  
Среднее число привитого ПЭО на цепь ПНИПА - 6(7).

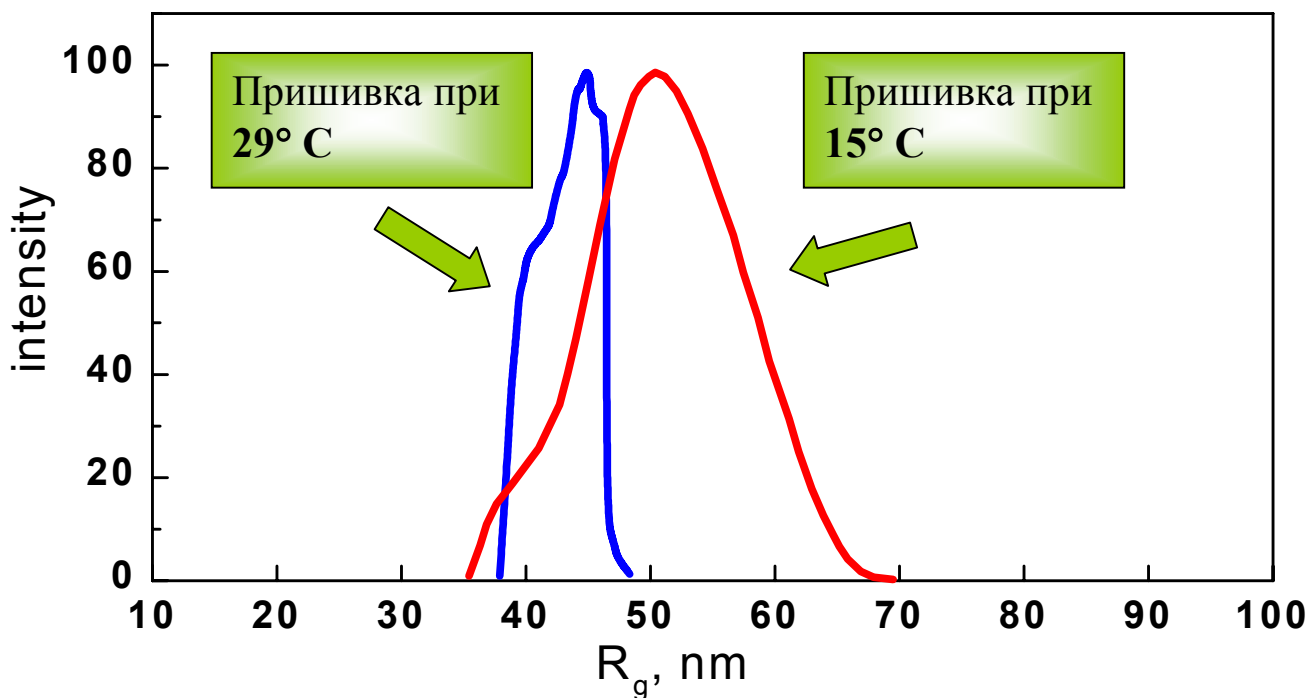


# Температурная зависимость интенсивности светорассеяния в водных растворах сополимеров



*Концентрация полимера 1 мг/мл*

## Распределение агрегатов по размерам при 45°С

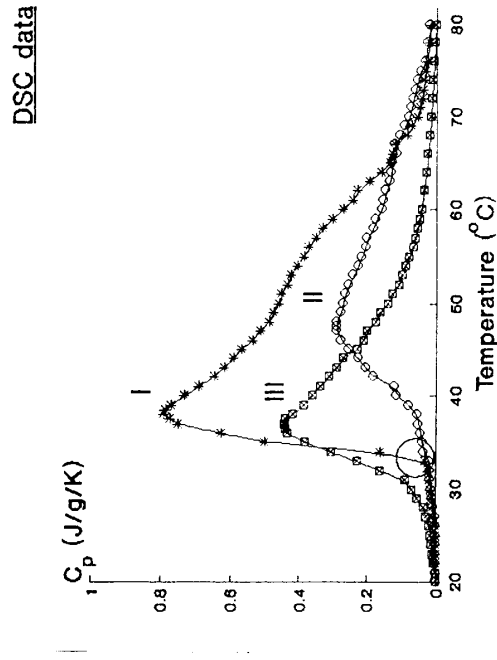
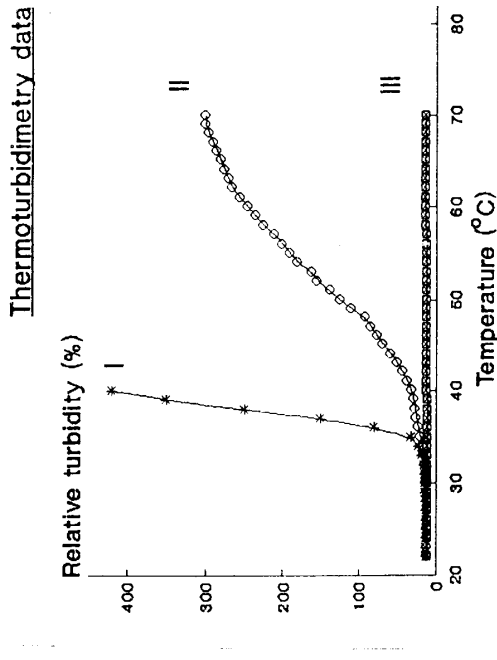
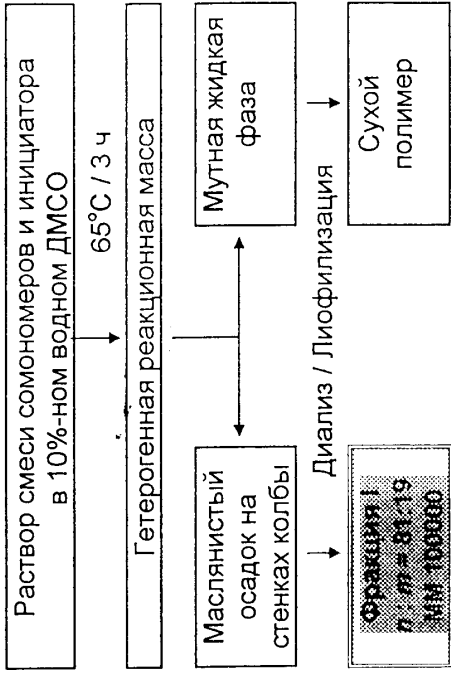


**СИНТЕЗ И СВОЙСТВА «БЕЛКОВОПОДОБНОГО» СОПОЛИМЕРА**

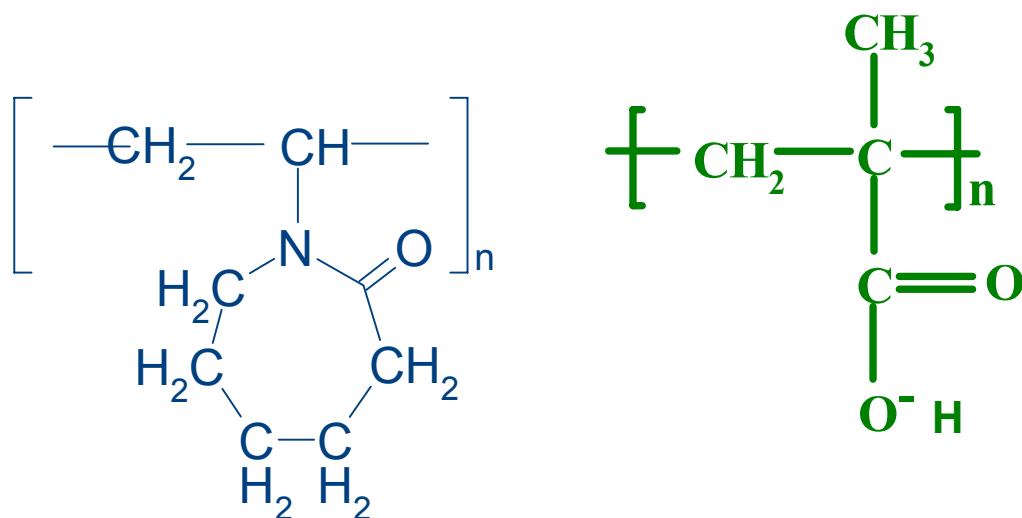
$n$ (N-Винилкапролактam) +  $m$ (N-Винилимидазол)  $\longrightarrow$  Сополимер

R'

T > НКТС;  $n : m = 85:15$  (моль/моль)

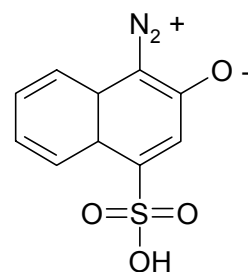


# Химическая модификация сополимера N-винилкапролактама и метакриловой кислоты

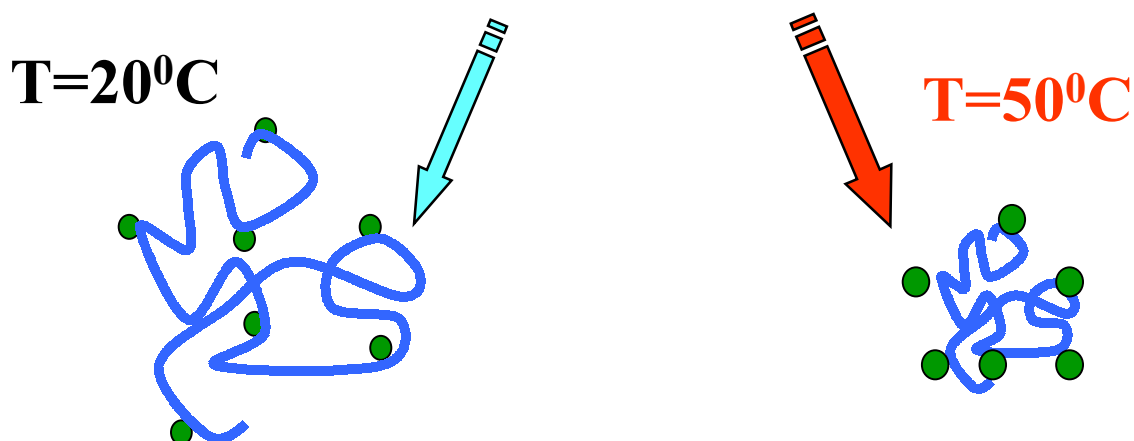


## Реакция с

1) 1-диазо-2-нафтол-4 сульфо кислотой



2) Взаимодействие солей серебра метакриловой кислоты с бромэтанолом  
 $\sim\text{COOAg} + \text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$



# Конформационно-зависимый синтез сополимеров на основе полисилоксанов

## 1. Получение высокомолекулярного полиметилгидридсилоксана (ПМГС)

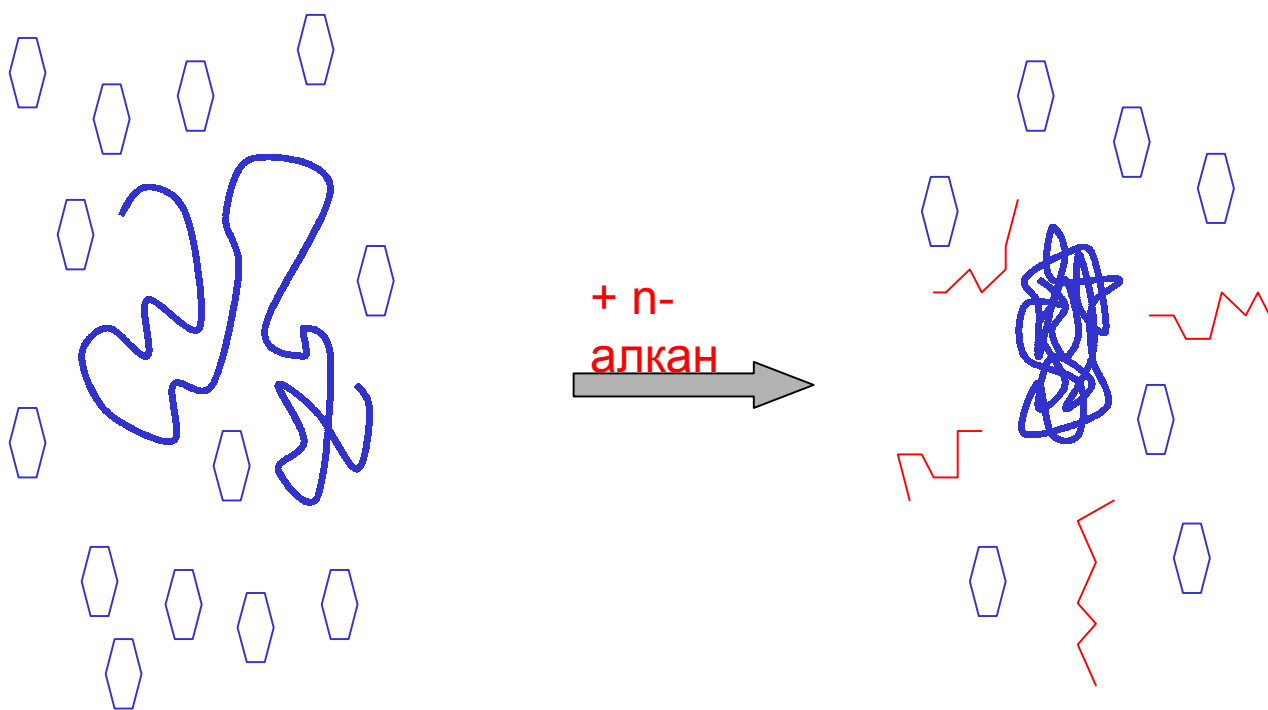


↑ ↑ ↑  
реакционно-способные группы

Катионная полимеризация

метилгидридциклосилоксанов в блоке

## 2. Формирование плотной глобулы



“Хороший”  
растворитель  
(бензол)

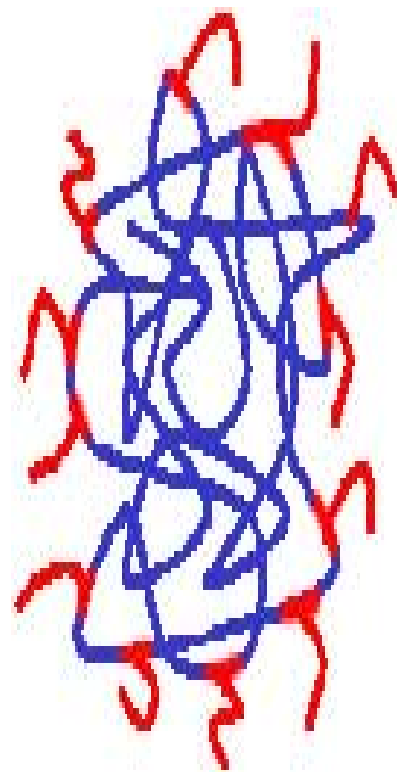
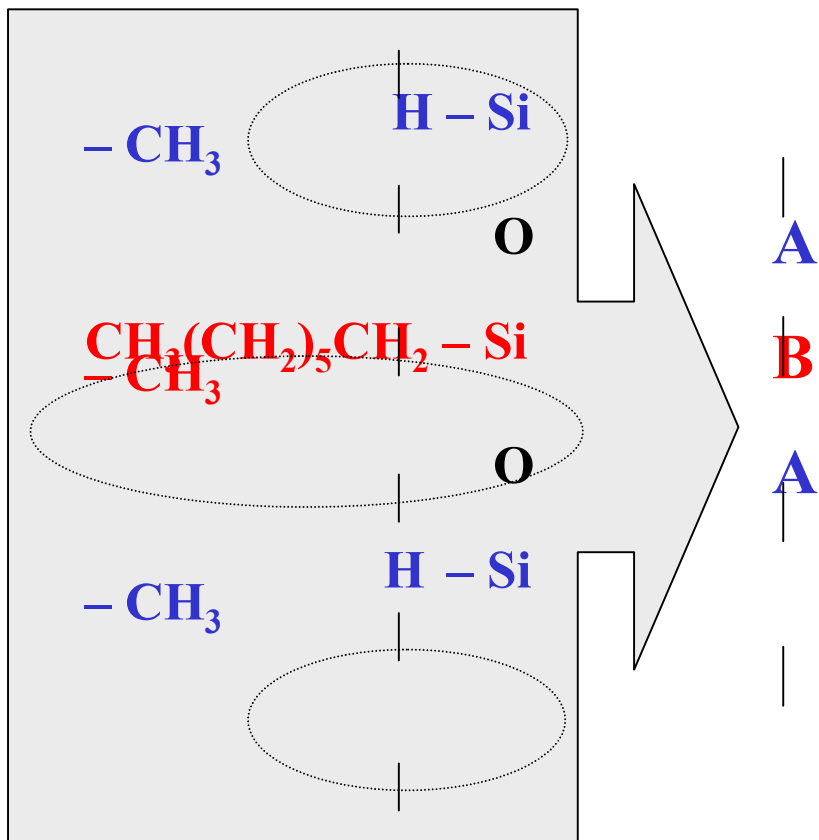
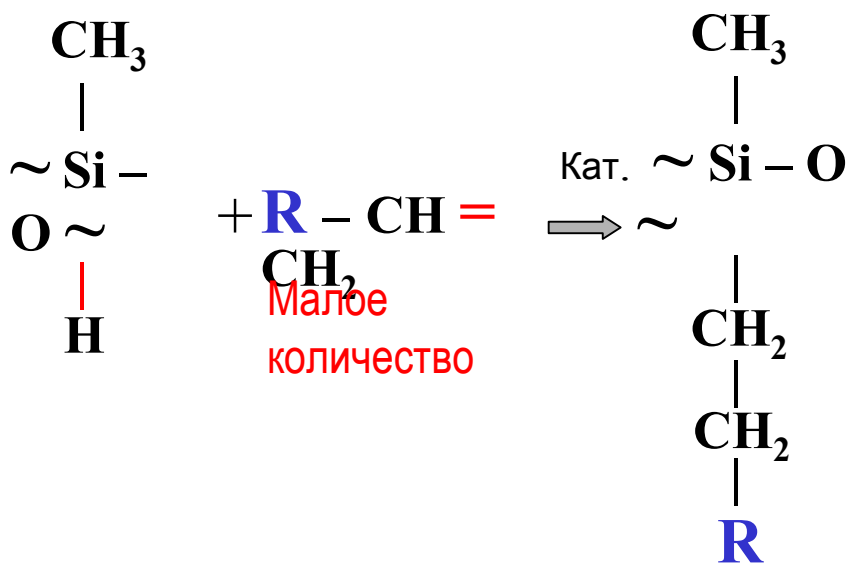
Смесь “хорошего” и  
“плохого”  
(бензол + n-алкан)

Сворачивание ПМГС в плотную глобулу при добавлении в разбавленный раствор термодинамически плохого растворителя



### 3. Химическая модификация ПМГС

Реакция гидросилирования с участием реакционно-способных групп SiH

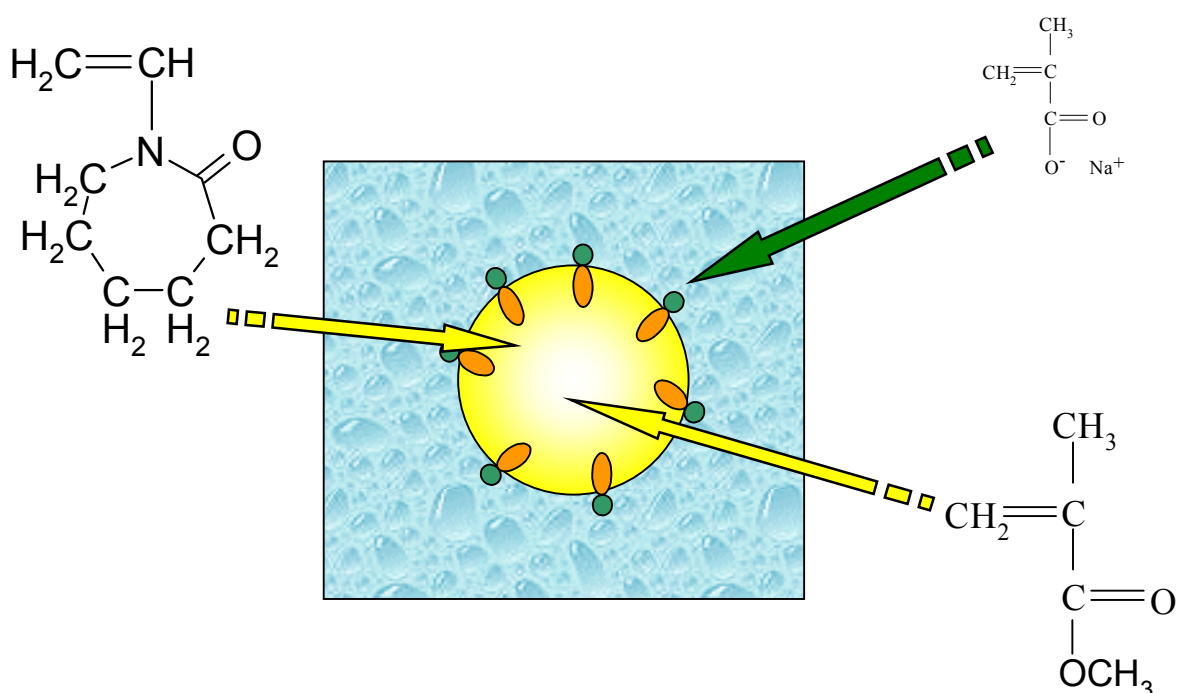


# ЭМУЛЬСИОННАЯ СОПОЛИМЕРИЗАЦИЯ

ЭМУЛЬГАТОР ↔ СОМОНОМЕР

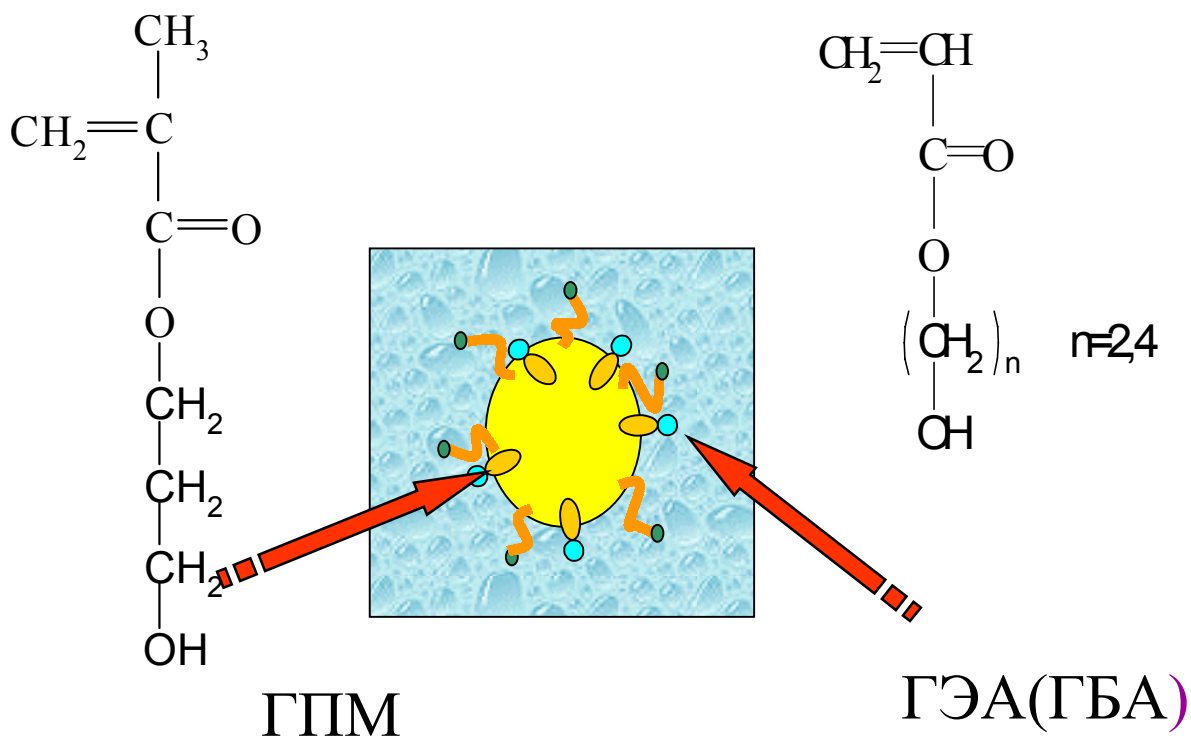
Эмульсионная сополимеризация метакриловой кислоты (Na соль) и  
а) *метилметакрилата*  
(Saunders B.R., Crowther H.M., Vincent B. *Macromolecules* 1997, 30, 482)

б) *N*-винилкапролактама



Larpent C., Bernard E., Richard J., Vaslin S.  
*Macromolecules*, 1997, 30, 354

Сополимеризация в *микроэмульсии* стирола в воде, в качестве **эмульгатора** используется смесь ПАВ, один из которых способен к полимеризации - **сомономер**:  
2-гидроксипропилметакрилат (ГПМ),  
2-гидроксиэтилакрилат (ГЭА),  
4-гидроксипропилакрилат (ГБА).



# Молекулярная эволюция биополимеров

## Некоторые открытые вопросы

1. Природа использует следующие макромолекулы: **полинуклеотиды (ДНК, РНК), белки и полисахариды.**

Это - не самые легко синтезируемые полимеры.  
Почему именно они были выбраны эволюцией?

2. Согласно современным представлениям, на самых ранних стадиях эволюции биополимеров функции **хранения** генетической **информации**, её **воспроизведения** и **катализа** биохимических реакций были совмещены в молекулах **РНК**. Затем эти функции были разделены - за **хранение** генетической информации стали отвечать макромолекулы **ДНК**, а за **катализ** - макромолекулы **белков**.  
Можно ли понять подробнее молекулярный механизм этого важнейшего шага эволюции?

3. Как происходило усложнение и “информационное наполнение” первичных последовательностей биополимеров - от **случайных** последовательностей до последовательностей, определяющих **уникальные третичные структуры** белков ?