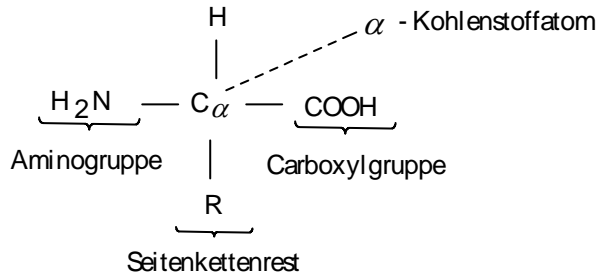


## 14. Statistik von Biopolymerkonformationen

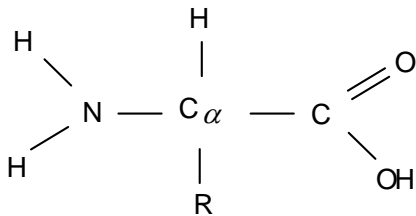
Sehr wichtiges Anwendungsgebiet der Statistischen Mechanik in der Biologie.

Proteine aus 20 Standardamino­säuren. Allgemeine Struktur:

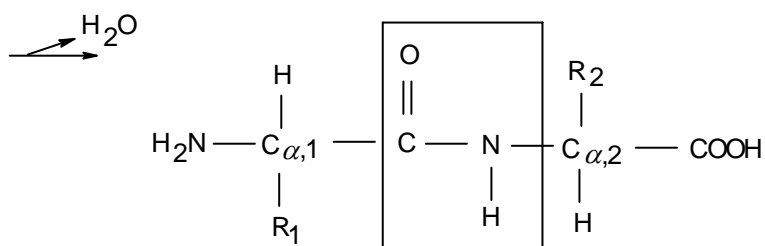
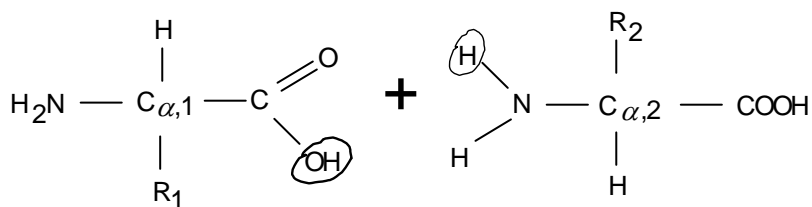


Einfachste Reste: -H : Glycin, oder -CH<sub>3</sub> : Alanin , usw.

Etwas detaillierter:

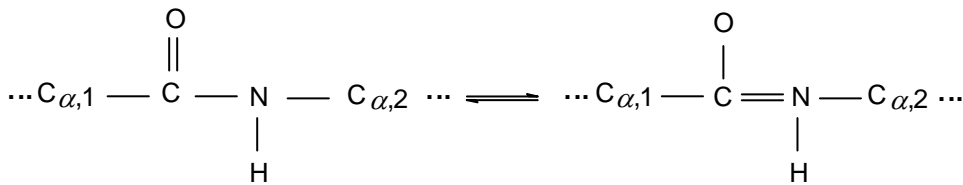


Peptidbindung: Hier Dipeptid



Atome, die unmittelbar an Peptidbindung beteiligt sind.

Oben angegebene Peptidbindung ist nur eine von 2 möglichen Grenzstrukturen (vgl. Molekulare Biophysik und Quantenchemie:

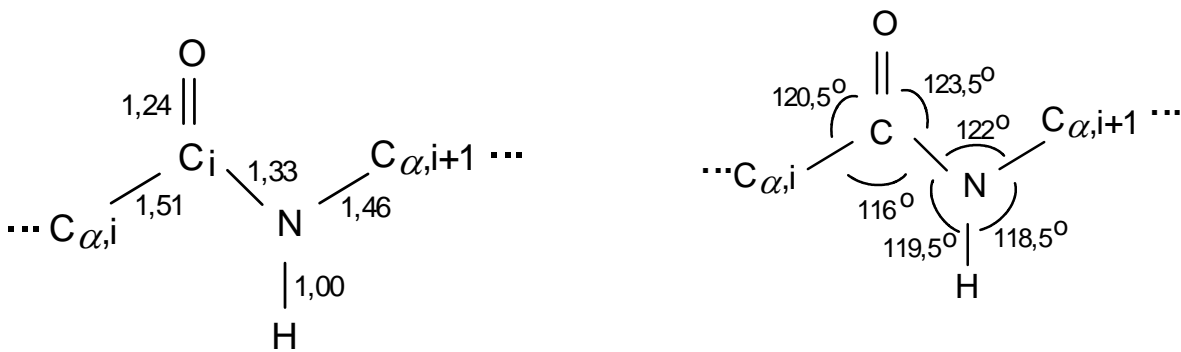


hier wäre freie Rotation möglich

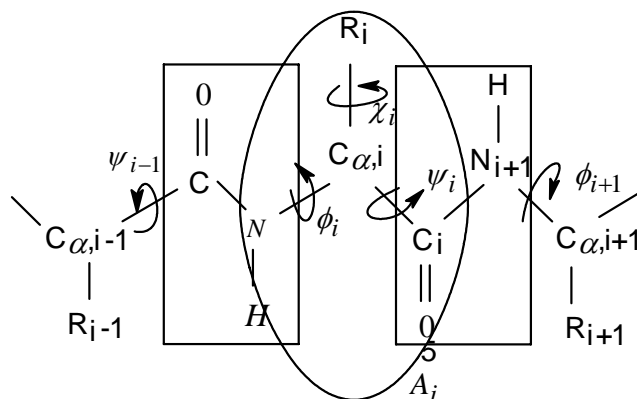
hier nur planare Struktur

partielle Doppelbindung: delokalisierte  $\pi$ -Elektronen, Molekülorbital erstreckt sich über alle drei Atome O, C, N. Im Ergebnis: Tordierung um (C-N)-Bindung erfordert Energie, d.h. alle 6 dargestellten Atome liegen in einer Ebene.

Genauere Dimensionierung: (in Angstrom)



Wir betrachten einen Ausschnitt aus einer AS-Kette





von der Aminosäure  $A_4$  ab keine Ausbildung von H-Brücken mehr möglich

Wir betrachten hier das Helix-Coil-Modell von Lifson & Roig. Eines der frühen Modelle (1963), aber bereits recht schwierig. Zeigt auch, wieviel zusätzliche vereinfachende Annahmen erforderlich sind, um zu theoretischen Schlußfolgerungen zu gelangen.

**Voraussetzungen:**

1. Konformation von Proteinen wird wesentlich durch die Ausbildung von Wasserstoffbrücken stabilisiert.
2. Entsprechend dem  $\alpha$ -Helix-Modell von Proteinen (Pauling) kann das Carbonylsauerstoffatom der  $(i-2)$ ten Aminosäure mit dem N-Atom der  $(i+2)$ ten Aminosäure eine Wasserstoffbrückenbindung eingehen.
3. Voraussetzung für eine solche H-Brücke ist, dass die Aminosäure:  $A_{i-1}$ ,  $A_i$  und  $A_{i+1}$  dihedrale Winkel aufweisen, die denen einer  $\alpha$ -Helix entsprechen.

**Wichtig:**

a: In einer Sequenz von  $(n+2)$ AS können maximal  $(n-2)$ H-Brücken gebildet werden ( $n = 6 : 4$  H-Brücken), denn die Carbonylsauerstoffatome der letzten 4 AS können keine H-Brücken mehr ausbilden (hier AS 4, 5, 6, 7).

b: Die dihedralen Winkel  $(\phi_0, \psi_0)$  und  $(\phi_{n+1}, \psi_{n+1})$  beeinflussen die Ausbildung einer helikalen Struktur nicht.

Eine bestimmte Konformation  $k$  wird durch die Sequenz der dihedralen Winkel festgelegt.

$$k: (\phi_0, \psi_0; \phi_1, \psi_1; \phi_2, \psi_2; \dots; \phi_{n+1}, \psi_{n+1})$$

Für die Energie einer bestimmten Konformation  $k$  gilt

$$E_k = E_k(\phi_0, \psi_0, \dots, \phi_{n+1}, \psi_{n+1})$$

Entsprechend der Boltzmann-Verteilung erhält man die Wahrscheinlichkeit dafür, dass diese Konformation auftritt:

$$p_k = \frac{e^{-E_k/kT}}{\sum_i e^{-E_i/kT}} = \frac{e^{-E_k/kT}}{Z}$$

Wir haben an Beispielen gezeigt, dass man aus der Zustandssumme  $Z$  die makroskopischen thermodynamischen Größen herleiten kann. Wir fragen hier insbesondere nach dem helikalen Anteil der Kette (wieviel Prozent der AS liegen in helikalen Strukturen vor? Ist experimentell messbar, z.B. als Funktion der Temperatur).

Theoretisch besteht das Hauptproblem in der Berechnung der Zustandssumme. Es sind dafür zahlreiche Vereinfachungen notwendig.

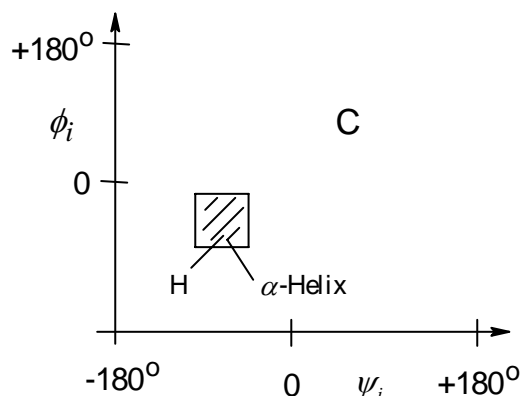
1. **Begrenzung der Zahl der Nachbarn**, die in WW treten. Minimum ist die Betrachtung von jeweils 3 Nachbarn:  $(A_{i-1}, A_i, A_{i+1})$

Von den dihedralen Winkeln dieser Nachbarn hängt ab, ob zwischen der (i-2)ten und (i+2)ten AS eine H-Brücke ausgebildet werden kann.

Bei dieser Beschränkung läßt sich die Konformationsenergie additiv schreiben.

$$E = \sum_{i=1}^n V_i (\phi_{i-1}, \psi_{i-1}, \phi_i, \psi_i, \phi_{i+1}, \psi_{i+1})$$

1. Bei der Charakterisierung der Winkel wird eine sehr grobe Unterteilung getroffen.



Helikaler Zustand H: Winkel fallen in einen engen Bereich um  $(\Phi, \Psi) = (-57^\circ, -47^\circ)$ ,  
 Knäuel oder Coil-Zustand C: sonst.

In den Energiesummen können deshalb nur die folgenden Terme auftreten:

$V_i(HHH)$ :	3 benachbarte AS in helikalen Zuständen
$V_i(CCC)$ :	kein helikaler Zustand
$V_i(HCC), V_i(ChC), V_i(CCH)$ :	1 helikaler Zustand
$V_i(HHC), V_i(HCH), V_i(CHH)$ :	2 helikale Zustände

Lifson & Roig machten die folgenden Annahmen:

$$V_i(HHH) = E_1$$

$$V_i(CCC) = V_i(HCC) = V_i(CCH) = V_i(HCH) = E_2$$

$$V_i(ChC) = V_i(HHC) = V_i(CHH) = E_3$$

$E_1$ : Die  $i$ -te AS und ihre unmittelbaren Nachbarn liegen in helikalen Zuständen vor.

$E_2$ : Die  $i$ -te AS liegt in einem Coil-Zustand vor.

$E_3$ : Bei der  $i$ -ten AS wird eine Sequenz von helikalen Zuständen begonnen oder abgebrochen.

Besonderheiten:  $V_1\left(\begin{smallmatrix} H & H & H \\ (C) & & \end{smallmatrix}\right) = V_n\left(\begin{smallmatrix} H & H & H \\ & & (C) \end{smallmatrix}\right) = E_3$ , da  $A_0$  und  $A_{n+1}$  Helixzustände nicht stabilisieren.

Voraussetzungsgemäß soll gelten:  $E_1 \ll E_2, E_3$

Wir erhalten:  $E = \sum_{i=1}^n V_i$

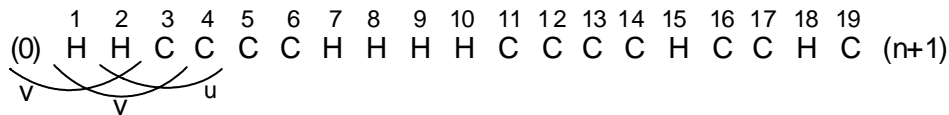
$$\exp(-E/kT) = e^{-\beta \sum_{i=1}^n V_i} = \prod_{i=1}^n e^{-\beta V_i} \approx P$$

In dem Produkt können drei Sorten von Faktoren auftreten.

$$w = e^{-\beta E_1}; u = e^{-\beta E_2}; v = e^{-\beta E_3}$$

Einer bestimmten AS-Sequenz entspricht eine bestimmte Sequenz von  $u, v, w$  Faktoren

( $u, v, w$ : statistische Gewichte).



Wir erhalten hier:  $v v u u u u v w w v u u u u v u u v u$

als Produkt.

In einer bestimmten Konformation kommt  $w$  in einer bestimmten Potenz vor. Die Zustandssumme (Summe über alle Konformationen  $k$ ) kann so geordnet werden, dass alle Terme mit einer bestimmten Potenz von  $w$ , d.h.  $w^i$  zusammengefaßt werden:

$$Z = \sum_k e^{-\beta E_k} = \sum_{i=0}^{n-2} g_i w^i$$

Summe geht bis  $n-2$ , da maximal  $n-2$  Wasserstoffbrücken ausgebildet werden können. Die Gewichte  $g_i$  enthalten Produkte von  $u$ - und  $v$  Termen.

Wahrscheinlichkeit dafür, dass genau  $i$  H-Brücken ausgebildet werden:

$$P_i = \frac{g_i w^i}{\sum_{k=0}^{n-2} g_k w^k}$$

Umwandlungsgrad (relativer Anteil der Helixlängen an Gesamtlänge)

$$\Theta = \frac{1}{(n-2)} \sum_{i=0}^{n-2} i \cdot P_i$$

$$\Theta = \frac{1}{(n-2)} \frac{\sum_{i=0}^{n-2} i \cdot g_i w^i}{\sum_{k=0}^{n-2} g_k w^k} = \frac{1}{(n-2)} w \frac{\partial \ln \left( \sum_{i=0}^{n-2} g_i w^i \right)}{\partial w}$$

$$\Theta = \frac{1}{(n-2)} \frac{\partial \ln \left( \sum_{i=0}^{n-2} g_i w^i \right)}{\partial \ln w} = \frac{1}{(n-2)} \frac{\partial \ln Z}{\partial \ln w}$$

$\Theta$  ist eine makroskopische thermodynamische Größe. Nachfolgende Rechnungen dienen uns auch als Beispiel für die Berechnung solcher Größen aus der Zustandssumme. Das mathematische Problem besteht zunächst darin, die Zustandssumme als Funktion von  $w$  zu bestimmen. Ist ein kombinatorisches Problem.

Beispiele:

$$n = 1$$

$$\left. \begin{array}{l} (0) C(2) \rightarrow u \\ (0) H(2) \rightarrow v \end{array} \right\} \begin{array}{l} 2 \text{ Terme} = 2^1 \\ Z = u + v \end{array}$$

$$n = 2$$

$$\left. \begin{array}{l} (0) HH(3) \rightarrow v \cdot v \\ (0) CH(3) \rightarrow u \cdot v \\ (0) HC(3) \rightarrow v \cdot u \\ (0) CC(3) \rightarrow u \cdot u \end{array} \right\} \begin{array}{l} 4 = 2^2 \text{ Terme} \\ Z = v^2 + 2uv + u^2 \end{array}$$

$$n = 3$$

$$\left. \begin{array}{l} (0) HHH(4) \rightarrow v w v \\ (0) CHH(4) \rightarrow u v v \\ (0) HCH(4) \rightarrow v u v \\ (0) HHC(4) \rightarrow v v u \\ (0) HCC(4) \rightarrow v u u \\ (0) CHC(4) \rightarrow u v u \\ (0) CCH(4) \rightarrow u u v \end{array} \right\} 8 = 2^3 \text{ Terme}$$



$$(0)CCC(4) \rightarrow uuu$$

$$n = 200, N = 2^{200} = 10^{\lg 2 \cdot 200} \approx 10^{60} \text{ Terme}$$

komb. Explosion

Lifson & Roig konnten zeigen, dass man die Zustandssumme in der folgenden kompakten Weise schreiben kann:

$$Z_n = (0,0,1) \begin{pmatrix} w & v & 0 \\ 0 & 0 & u \\ v & v & u \end{pmatrix}^n \begin{pmatrix} 0 \\ 1 \\ 1 \end{pmatrix}$$

$$\text{z.B. } n=1: Z_1 = (0,0,1) \begin{pmatrix} v \\ u \\ v+u \end{pmatrix} = v+u \quad \text{usw.}$$

Wir definieren

$$E = (0,0,1), \quad W = \begin{pmatrix} w & v & 0 \\ 0 & 0 & u \\ v & v & u \end{pmatrix}, \quad E^* = \begin{pmatrix} 0 \\ 1 \\ 1 \end{pmatrix}$$

$$\text{Dann erh\u00e4lt man: } Z_n = EW^nE^*$$

Die direkte Berechnung von  $W^n$  ist f\u00fcr gro\u00dfe  $n$  w\u00e4re sehr aufwendig.

Sehr starke Vereinfachung mittels Hauptachsentransformation.

Wir suchen eine quadratische Matrix  $T$ , so dass

$$T^{-1}WT = A \quad \text{oder} \quad W = TAT^{-1},$$

wobei  $A$  eine Diagonalmatrix (3x3) darstellt.

$$A = \begin{pmatrix} \lambda_1 & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_2 & 0 \\ 0 & 0 & \lambda_3 \end{pmatrix}$$

Inwiefern bringt das einen Vorteil?

$$W^2 = T \overbrace{A T^{-1} T}^I A T^{-1} = T A \cdot A T^{-1} = T A^2 T^{-1}$$

entsprechend:

$$W^n = T A^n T^{-1}$$

Potenzen von Diagonalmatrizen sind sehr leicht berechenbar. Es gilt nämlich:

$$A^n = \begin{pmatrix} \lambda_1^n & & 0 \\ & \lambda_2^n & \\ 0 & & \lambda_3^n \end{pmatrix}$$

Wir erhalten also

$$Z = E W^n E^* = E \underbrace{T A^n T^{-1}}_{W^n} E^*$$

Wie berechnet man  $\lambda_i$  aus  $A$ ? Und wie  $T$ ?

Aus der Definition  $T^{-1} W T = A$  folgt  $W T = T \cdot A$

Das kann man in Komponenten so schreiben:

$$\sum_j w_{ij} t_{jr} = t_{ir} \cdot \lambda_r$$

$$T = \begin{pmatrix} t_{11} & t_{12} & t_{13} \\ t_{21} & t_{22} & t_{23} \\ t_{31} & \underbrace{t_{32}}_{t_{i2}} & t_{33} \end{pmatrix}$$

$$W \vec{t}^{(r)} = \lambda_r \vec{t}^{(r)} \quad , \quad \vec{t}^{(r)} : r\text{'ter Spaltenvektor}$$

Die Spalten von  $T$  sind Eigenvektoren von  $W$  und  $\lambda_r$  sind die Eigenwerte

Die Aufgabe besteht darin, das Eigenwertproblem für  $W$  zu lösen.

Eigenwerte:

$$\text{Det}(W - \lambda I) = \text{Det} \begin{pmatrix} w - \lambda & v & 0 \\ 0 & -\lambda & 1 \\ v & v & 1 - \lambda \end{pmatrix} = 0 \quad ,$$

Hier wurde  $u = e^{-\beta E_2} = 1$  , d.h.  $E_2 = 1$  gesetzt (man kann den Nullpunkt der Energie beliebig wählen)

Das ergibt eine Gleichung 3. Grades. Man erhält:

$$(\lambda - w) (\lambda^2 - \lambda - v) - v^2 = 0 \quad \text{mit:} \quad w = e^{-\beta E_1}; \quad v = e^{-\beta E_3}$$

Lösungen: 3 Eigenwerte  $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$

Die Eigenvektoren bestimmen sich aus der Gleichung

$$\begin{pmatrix} w - \lambda_r & v & 0 \\ 0 & -\lambda_r & 1 \\ v & v & 1 - \lambda_r \end{pmatrix} \begin{pmatrix} t_{1r} \\ t_{2r} \\ t_{3r} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix}$$

Man sieht leicht, dass die Matrizen  $T$  und  $T^{-1}$  folgendermaßen aussehen:

$$T = \begin{pmatrix} \frac{v}{\lambda_1(\lambda_1 - w)} & \frac{v}{\lambda_2(\lambda_2 - w)} & \frac{v}{\lambda_2(\lambda_2 - w)} \\ \frac{1}{\lambda_1} & \frac{1}{\lambda_2} & \frac{1}{\lambda_3} \\ 1 & 1 & 1 \end{pmatrix}$$

und

$$T^{-1} = \begin{pmatrix} \frac{c_1 v}{\lambda_1(\lambda_1 - w)} & c_1 \left(1 - \frac{1}{\lambda_1}\right) & \frac{c_1}{\lambda_1} \\ \frac{c_2 v}{\lambda_2(\lambda_2 - w)} & c_2 \left(1 - \frac{1}{\lambda_2}\right) & \frac{c_2}{\lambda_2} \\ \frac{c_3 v}{\lambda_3(\lambda_3 - w)} & c_3 \left(1 - \frac{1}{\lambda_3}\right) & \frac{c_3}{\lambda_3} \end{pmatrix} \quad \text{mit} \quad c_r = \frac{\lambda_r^2 v^2}{(\lambda_r^2 - \lambda_r - v)^2 + 2(\lambda_r - 1)v^2}$$

$$ET = (0 \quad 0 \quad 1) \begin{pmatrix} \vdots & \vdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 1 & 1 \end{pmatrix} = (1 \quad 1 \quad 1)$$

$$\text{Und mit: } E^* = \begin{pmatrix} 0 \\ 1 \\ 1 \end{pmatrix}, \quad T^{-1} E^* = \begin{pmatrix} c_1 \\ c_2 \\ c_3 \end{pmatrix}$$

Man erhält das einfache Ergebnis:

$$Z_n = (ET) A^n (T^{-1} E^*)$$

$$Z_n = (1 \quad 1 \quad 1) \begin{pmatrix} \lambda_1^n & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_2^n & 0 \\ 0 & 0 & \lambda_3^n \end{pmatrix} \begin{pmatrix} c_1 \\ c_2 \\ c_3 \end{pmatrix}$$

$$Z_n = (\lambda_1^n, \lambda_2^n, \lambda_3^n) \begin{pmatrix} c_1 \\ c_2 \\ c_3 \end{pmatrix}$$

$$Z_n = c_1 \lambda_1^n + c_2 \lambda_2^n + c_3 \lambda_3^n$$

$$Z_n = \sum_{r=1}^3 c_r \lambda_r^n, \quad \text{wobei } \lambda_r = \lambda_r(w, v), \quad c_r = c_r(\lambda_r(v, w), v)$$

$$\Theta = \frac{1}{n-2} \frac{\partial \ln Z}{\partial \ln w} \approx \frac{1}{n} \frac{\partial \ln Z}{\partial \ln w}$$

Weitere Vereinfachung: Unter den 3 Eigenwerten ist einer betragsmäßig am größten, o.B.d.A. :  $\lambda_{max} = \lambda_1$ , dann gilt für große  $n$ :  $\lambda_1^n \gg \lambda_2^n$  und  $\lambda_1^n \gg \lambda_3^n$

Demzufolge:  $Z_n \cong c_1 \lambda_1^n$

$$\Theta = \frac{1}{n} \frac{\partial \ln Z}{\partial \ln w}$$

$$\ln Z = \ln c_1 + n \ln \lambda_1$$

$$\frac{1}{n} \frac{\partial \ln Z}{\partial \ln w} = \underbrace{\frac{1}{n} \frac{\partial \ln c_1}{\partial \ln w}}_{\substack{\text{wird sehr klein} \\ \text{für große } n, \\ \text{Randeffekte}}} + \frac{\partial \ln \lambda_1}{\partial \ln w}$$

$$\Theta = \frac{\partial \ln \lambda_1}{\partial \ln w}, \quad \text{starke Vereinfachung des ursprünglichen Problems (es muss nur der maximale Eigenwert}$$

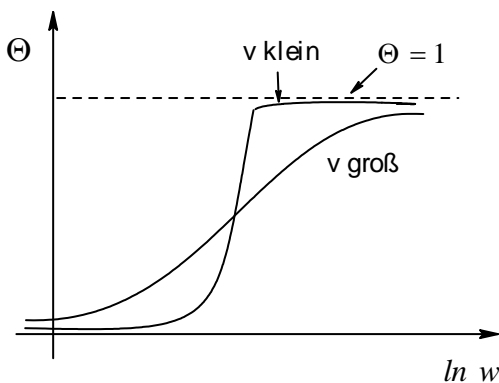
der Matrix  $W$  berechnet werden.

$\lambda_1$  nicht analytisch darstellbar. Numerische Analyse liefert die folgende Abhängigkeit:

$$w = e^{-E_1/kT}, \quad E_1 \text{ negativ, } w > 0$$

$$v = e^{-E_3/kT}, \quad E_3 \text{ positiv, die zu } E_3 \text{ gehörenden Zustände entsprechen Stellen in der Proteinkette, wo}$$

Nukleation einer Helix erfolgt, energetisch ungünstig



Erhöhung von  $\ln w$  :

a) bei  $T = \text{konst.}$ : durch Erniedrigung der Energie der Wasserstoffbrückenbildung  
( $E_1$  "negativer")

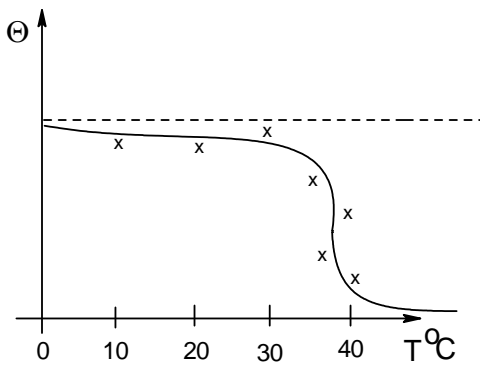
b) durch Erniedrigung der Temperatur

hohe Temperatur bei  $\ln w$  klein  $\Rightarrow$  Coil Zustand

niedrige Temperatur  $\ln w$  groß  $\Rightarrow$  Helix

sehr plötzlicher Übergang für kleine  $v$ : „Reißverschlußmodell“

Auftragung gegenüber der Temperatur:



in guter Übereinstimmung mit experimentellen Daten zur Denaturierung von Proteinen