

ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ

Том (A) XXI

СОЕДИНЕНИЯ

№ 12

1979

УДК 541.64:546.3

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПОЛИПЕТИДОВ С ИОНАМИ МЕТАЛЛОВ

Палумбо М., Козани А., Тербоевич М., Педжон Э.

Изучено взаимодействие ионов металлов Ni(II) и Co(II) с полипептидами: поли-*L*-лизином, поли-*L*-орнитином, поли-*L*-диаминомасляной кислотой и поли-*L*-гистидином. Показано, что при различных рН образуются комплексы, включающие в качестве лигандов атомы азота аминогрупп или депротонированные атомы азота пептидных групп. Депротонированные атомы азота пептидных групп принимают участие в образовании комплекса даже при физиологических рН, когда образуется прочная хелатная система. Если депротонированные атомы азота пептидных групп основной цепи матрицы участвуют в образовании комплекса, упорядоченная структура не может сохраняться в участках полипептида, связанных в комплекс. Из результатов исследования сделан вывод о том, что конформационные свойства полипептидов строго коррелируют с образованием комплекса.

Комплексы фермент — металл играют существенную роль в биологических системах. Однако изучение их свойств представляет трудности как с экспериментальной, так и с теоретической точки зрения. Поэтому представляется целесообразным исследование соответствующих систем, которые могли бы моделировать химическое и стереохимическое строение активных центров природных ферментов.

Последние работы, посвященные изучению взаимодействия между ионами переходных металлов и низкомолекулярными пептидами, показали, что ионы Cu(II), Ni(II) и Co(II) способствуют ионизации атомов азота амидных групп, давая прочные хелатные системы даже при физиологических значениях рН [1].

Так как большинство исследований касалось низкомолекулярных соединений, мы выбрали в качестве связывающей матрицы высокомолекулярные полии- α -аминокислоты, которые способны воспроизводить конформационные свойства полипептидных цепей в белках. В частности, мы исследовали такие полипептиды, как поли-*L*-лизин, поли-*L*-орнитин, поли-*L*-диаминомасляную кислоту и поли-*L*-гистидин, так как известно, что аминокислотные остатки основного типа в наибольшей степени ответственны за связывание металлов с белками. Проведенные ранее исследования взаимодействия между ионами меди и вышеупомянутыми аминокислотами [2—7] показали, что: 1) поли-*L*-лизин и поли-*L*-орнитин образуют два типа комплексов при $7 < \text{рН} < 8$ и $\text{рН} > 8$ соответственно. В комплексах, образующихся при низких рН, только атомы азота аминогрупп включены в координационную сферу, в то время как в комплексах, образующихся при высоких рН, депротонированные атомы азота пептидных групп также связаны с ионами меди; 2) поли-*L*-диаминомасляная кислота образует два различных комплекса (при низких и при высоких рН) в области рН от 6 до 13, в каждом из которых депротонированные атомы азота пептидных групп связаны с Cu(II); 3) поли-*L*-гистидин образует три комплекса: комплекс, который включает атомы азота имидазола и пептидных групп (при рН 5), комплекс, в котором только атомы азота имидазола связаны с Cu(II) (при $5 < \text{рН} < 8$), комплекс классического биуретного типа (при щелочных рН).

Конформационное состояние полипептидной матрицы зависит от природы лигандов в координационной сфере иона металла.

Дальнейшие наши исследования были проведены с использованием ионов других металлов, имеющих важное значение в биологии, а именно Ni(II) и Co(II).

Данные потенциометрического и спектроскопического изучения поли-L-лизина и поли-L-орнитина в присутствии Ni(II) свидетельствуют об образовании двух комплексов при увеличении pH от 7 до 13. Спектры поглощения и отсутствие полос в спектрах кругового диэлектрического КД в видимой области указывают на то, что в комплексах, образующихся при низких pH,

Рис. 1. КД-спектры системы поли-L-лизин – Ni(II) в водном растворе. Металл: полипептид=0,16; pH 7,84 (1); 8,54 (2) и 13 (3)

Рис. 2. КД-спектры системы поли-L-диаминомасляная кислота – Ni(II) в водном растворе. Металл: полипептид=0,15; pH 7,35 (1); 7,67 (2); 7,86 (3); 8,11 (4) и 8,58 (5)

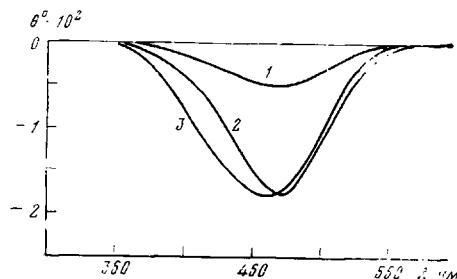


Рис. 1

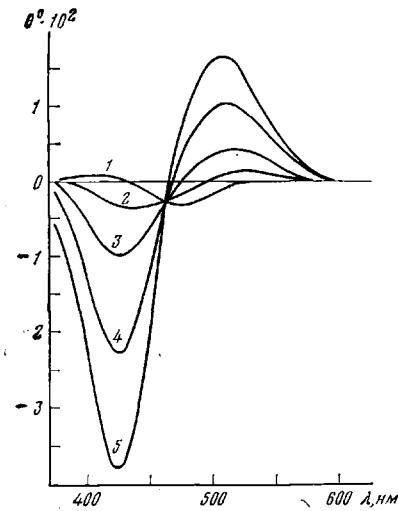


Рис. 2

только амино-группы боковых цепей связаны с Ni(II). В комплексах, образующихся при высоких pH, депротонированные пептидные группы также включены в координационную сферу, на что указывает максимум спектра КД в отрицательной области при 470 нм. Слабая интенсивность этой полосы даже при очень высоких pH и спектры поглощения указывают, однако, на связывание амидных лигандов только в N-концевой области макромолекулы, тогда как для звеньев внутри цепи доминирующим является связывание с атомами азота боковых амино-групп (рис. 1). В отличие от Cu(II) добавление возрастающих количеств Ni(II) к растворам поли-L-лизина и поли-L-орнитина, находящихся полностью или частично в спирализованной форме, не приводит к существенному разрушению упорядоченной структуры.

Для поли-L-диаминомасляной кислоты в области pH>7 наблюдается образование двух оптически активных комплексов. Спектры поглощения и данные КД указывают на включение атомов азота амидных групп в качестве лигандов в обоих случаях (рис. 2). Обоим аддуктам нельзя приписать упорядоченной структуры, как показали измерения, выполненные в смешанных растворителях, где полипептид находится в форме спирали.

В случае поли-L-гистидина только при высоких pH в присутствии Ni(II) можно наблюдать образование растворимого комплекса. Оптические свойства этого комплекса аналогичны оптическим свойствам соответствующего комплекса поли-L-диаминомасляной кислоты, образующегося при высоких pH.

Все измерения комплексов Co(II) проводили в отсутствие кислорода, чтобы предотвратить окисление Co(II) в Co(III). Однако наши эксперименты показали, что присутствие кислорода в данном случае гораздо ме-

нее опасно, чем в соответствующих низкомолекулярных пептидных комплексах.

Поли-*L*-лизин и поли-*L*-орнитин образуют по два комплекса с Co(II), что следует из спектров поглощения и данных потенциометрии. Комплекс, образующийся при низких pH, оптически не активен в видимой области, поэтому можно предположить, что только боковые цепи связаны с Co(II). Комплекс, образующийся при высоких pH, имеет полосу в отрицательной области при 530 нм, аналогично соответствующим комплексам в низкомолекулярных пептидах (рис. 3). Степень спиральности поли-*L*-лизина и поли-*L*-орнитина очень мало зависит (или не зависит) от соотношения

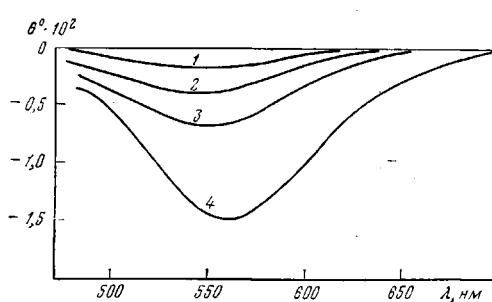


Рис. 3

Рис. 3. КД-спектры системы поли-*L*-лизин – Co(II) в водном растворе. Металл : полипептид = 0,16; pH 9,39 (1), 10,36 (2), 10,90 (3) и 13 (4)

Рис. 4. КД-спектры системы поли-*L*-диаминомасляная кислота – Co(II) в водном растворе. Металл : полипептид = 0,16; pH 6,45 (1); 6,83 (2); 7,17 (3) и 7,40 (4)

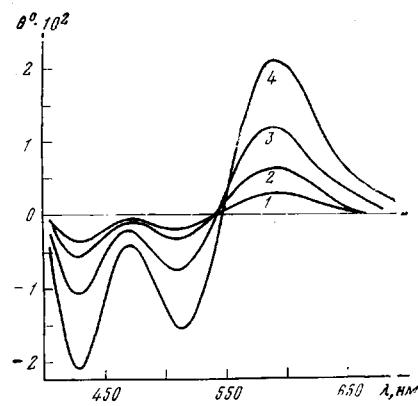


Рис. 4

Co : пептид при постоянном pH. Поэтому мы полагаем, что, как и в случае соответствующих комплексов с Ni(II), депротонированные атомы азота амидных групп принимают участие в образовании комплекса только в N-концевых сегментах макромолекул.

Значительно более сложная картина КД наблюдается для поли-*L*-диаминомасляной кислоты в присутствии Co(II), начиная с pH 6. Спектры поглощения и КД позволяют предположить, что депротонированные атомы азота пептидных групп являются преобладающими лигандами в этом случае (рис. 4).

Взаимодействие поли-*L*-гистидина с Co(II) также приводит к повышению интенсивности полос поглощения в спектрах КД в видимой области, начиная с pH 5. Комплекс высаживается при pH ~7 и снова растворяется в щелочной области pH.

Наиболее интересной особенностью комплексов Со – поли-*L*-гистидин является то, что они не могут диссоциировать просто при уменьшении pH ниже 5, или при диализе в воде, или даже в растворе трилон-Б. Это указывает на достаточно высокую химическую инертность указанного аддукта. Использование поли-*L*-гистидина для извлечения Co(II) может найти практическое применение.

Результаты исследования взаимосвязи структуры с природой лиганда для изученных систем представлены в таблице. Приведенные выше данные подтверждают следующие выводы.

Если депротонированные атомы азота основной цепи матрицы участвуют в образовании комплексов с Cu(II), Ni(II) или Co(II), упорядоченная структура не может сохраняться в участках полипептида, связанных в комплекс.

Конформационные свойства комплексов полипептид – металл и их зависимость от природы лиганда, связанного с ионом металла

Ион металла	Матрица	pH	Конформация свободной матрицы	Конформация матрицы в комплексе	Лиганд
Cu(II)	Поли-L-лизин	8	Клубок	Клубок	Амин
	То же	11	Спираль	»	Амид
	Поли-L-орнитин	8	Клубок	»	Амин
	То же	11	Спираль *	»	Амид
	Поли-L-диаминомасляная кислота	6–13	Клубок	»	»
	Поли-L-гистидин	5	»	»	»
	То же	7	β-Форма	β-Форма	Имидазол
	»	13	Не растворяется	Клубок	Амид
Ni(II)	Поли-L-лизин	8	Клубок	Клубок	Амин
	То же	11	Спираль	Спираль	»
	Поли-L-орнитин	8	Клубок	Клубок	»
	То же	11	Спираль *	Спираль *	»
	Поли-L-диаминомасляная кислота	6–13	Клубок	Клубок	Амид
	Поли-L-гистидин	13	Не растворяется	»	»
Co(II)	Поли-L-лизин	8	Клубок	Клубок	Амин
	То же	11	Спираль	Спираль	»
	Поли-L-орнитин	8	Клубок	Клубок	»
	То же	11	Спираль *	Спираль *	»
	Поли-L-диаминомасляная кислота	6–13	Клубок	Клубок	Амид
	Поли-L-гистидин	5	»	»	»
	То же	13	Не растворяется	Клубок *	»

* Частичное образование упорядоченной структуры.

Если в случае Cu(II) в образовании комплекса принимают участие амидные группы всех звеньев даже при небольших основных pH для поли-L-лизина и поли-L-орнитина, то Co(II) и Ni(II) способны индуцировать ионизацию пептидных групп только в N-концевых фрагментах макромолекул, возможно, благодаря образованию хелатных циклов с основным концевым звеном.

Комплексы поли-L-диаминомасляной кислоты и поли-L-гистидина в неупорядоченной форме имеют почти идентичные свойства. Это свидетельствует о том, что окружение ионов металлов в химическом и структурном отношении подобно для обоих полипептидов.

Депротонированные атомы азота пептидных групп действительно принимают участие в образовании комплекса даже при физиологических pH, когда образуется прочная хелатная система.

Из результатов нашего исследования можно сделать вывод о том, что конформационные свойства полипептидов строго коррелируют с образованием комплекса. Поэтому использование полимерных лигандов расширяет область модельных систем и является мощным инструментом для понимания взаимодействия ионов металлов с биологическими системами.

Институт органической химии,
Падова, Италия

Поступила в редакцию
17 XI 1978

ЛИТЕРАТУРА

1. R. B. Martin, In Metal Ions in Biological Systems, ed. by H. Sigel, N. Y., 1974, p. 142.
2. A. Levitzki, I. Pecht, A. Berger, J. Amer. Chem. Soc., 94, 6844, 1972.
3. M. Palumbo, A. Cosani, M. Terbojevich, E. Peggion, J. Amer. Chem. Soc., 99, 939, 1977.

4. *M. Palumbo, A. Cosani, M. Terbojevich, E. Peggion*, Macromolecules, **10**, 813, 1977
 5. *E. Peggion, A. Cosani, M. Palumbo, M. Terbojevich*, Proc. Vth American Peptide Symposium, ed. by M. Goodman, J. Meienhofer, N. Y., 1977, p. 368.
 6. *M. Palumbo, A. Cosani, M. Terbojevich, E. Peggion*, Biopolymers, **17**, 243, 1978.
 7. *M. Palumbo, A. Cosani, M. Terbojevich, E. Peggion*, Macromolecules, **11**, 1978.
-

METAL IONS INTERACTION WITH POLYPEPTIDES

Palumbo M., Cosani A., Terbojevich M., Peggion E.

S u m m a r y

Metal ions Ni (II) and Co (II) interactions with polypeptides such as poly-(*L*-lysine), poly-(*L*-ornithine), poly-(*L*-diaminobutyric acid) and poly-(*L*-histidine) have been investigated. It is shown that under several pH the complexes involving as ligands amino nitrogenes or deprotonated peptide nitrogen can be formed. Deprotinated peptide nirogens participate in complex formation even under physiological pH when strong chalate systems can be formed. When deprotonated amide nitrogens of the matrix backbone are involved in complex formation no ordered structure can be retained in the complexed regions of a polypeptide. From the results of the investigations one can conclude that the conformational properties of the polypeptides are strictly correlated to complex formation.
