

УДК 539.193

КОЛЕБАТЕЛЬНЫЕ СПЕКТРЫ НЕЗАРЯЖЕННЫХ КОНФОРМЕРОВ ЦИСТЕИНА И СЕЛЕНОЦИСТЕИНА

¹Тен Г.Н., ²Щербакова Н.Е., ³Баранов В.И.

¹*Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, e-mail: TenGN@yandex.ru;*

²*Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов;*

³*Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН, Москва*

Методом DFT выполнен расчёт и проведена интерпретация колебательных (ИК и КР) спектров двух незаряженных конформеров цистеина и селеноцистеина в гармоническом и ангармоническом приближениях. Показано, что величина энергетического барьера между двумя конформерами Cys1 и Cys2 составляет 0,48 ккал/моль, а для конформеров Sec1 и Sec2 – 0,19 ккал/моль. Согласно выполненному расчёту в колебательном спектре Cys2 одно из низкочастотных колебаний имеет отрицательное значение. Форма данного колебания характеризуется смещением атома Н относительно атома S с одновременным вращением связи SH относительно связи CS, что может привести к конформерному превращению Cys1 в Cys2. Сравнение колебательных спектров конформеров Sec1 и Sec2 показывает, что основное различие ИК спектров наблюдается в области 1100–1400 см⁻¹, где интенсивности полос поглощения конформеров отличаются в ~2 раза, что связано с поворотом связи Se–H относительно связи Se–C. Выполненный анализ колебательных спектров конформеров Cys1(2) и Sec1(2) показал, что каждый из них имеет характерные полосы поглощения и линии КР, позволяющие однозначно выполнять их идентификацию и определять присутствие в смеси аминокислот.

Ключевые слова: цистеин, селеноцистеин, незаряженные конформеры, структуры, колебательные спектры, газовая фаза, расчёт, интерпретация, ангармоническое приближение

VIBRATIONAL SPECTRA OF THE UNCHARGED CONFORMERS OF CYSTEINE AND SELENOCYSTEINE

¹Ten G.N., ²Scherbakova N.E., ³Baranov V.I.

¹*N.G. Chernyshevsky Saratov State University, Saratov, e-mail: TenGN@yandex.ru;*

²*Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov;*

³*V.I. Vernadsky Institute of geochemistry and analytical chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow*

Using DFT method, calculations and the interpretation of vibrational (IR and Raman) spectra of two uncharged conformers of cysteine and selenocysteine in harmonic and anharmonic approximations have been carried out. It is shown that the value of the energy barrier between the two conformers Cys1 and Cys2 is 0,48 kcal/mol, while for such conformers as sec1 and sec2 – 0,19 kcal/mol. According to the calculation for the vibrational spectrum of Cys2, one of the low frequency oscillations has a negative value. The shape of this oscillation is characterized by the shift of the atom N in relation to atom S with simultaneous rotation of SH bond with respect to CS bond, which can lead to confirmarea transformation of Cys1 into Cys2. Comparison of the vibrational spectra of the conformers Sec1 and Sec2 shows that the main difference of the IR spectra is observed in the region of 1100–1400 cm⁻¹, where the intensity of the absorption bands of conformers differ by ~2 times, which is associated with Se–H tie twist in respect to Se–C tie. Performed analysis of the vibrational spectra of Cys1(2) and sec1(2) conformers has showed that each of them has characteristic absorption bands and lines of the CD, which provide for their definite identification and determination of amino acids presence in the mixture.

Keywords: cysteine, selenocysteine, uncharged conformers, structures, vibrational spectra, gas phase, calculation, interpretation, anharmonic approximation

Цистеин (Cys) играет особую, неповторимую роль в формировании структуры белков, поскольку именно с его участием образуются поперечные шивки между полимерными белковыми молекулами. Молекулы Cys содержат реакционно-способные сульфгидридные группы –SH, которые взаимодействуют между собой, образуя дисульфидные мостики –S–S–. Во многих случаях свойства Cys зависят не только от фазового состояния, но и от его конформации [1, 2]. При этом идентификация и исследование различных конформеров Cys, как и его структурного аналога селеноцистеина (Sec), затруднено из-за небольшой величины энергетического барьера.

Цель работы – выполнить интерпретацию колебательных спектров двух незаряженных конформеров Cys, как и Sec, в газовой фазе и определить характерные спектральные особенности каждого конформера.

Расчёт был выполнен методом DFT (базис 6-311++G(d,p)) с использованием программного продукта Gaussian-09 [3].

Цистеин

Молекулярные диаграммы двух конформеров Cys1 и Cys2, полученных в результате вращения связи SH вокруг связи SC, приведены на рис. 1. Согласно результатам расчёта, значение полной энергии Cys1 всего

на 0,48 ккал/моль меньше полной энергии Cys2, что, как отмечалось выше, затрудняет экспериментальное исследование свойств Cys определенной конформации.

В ИК спектрах конформеров Cys1 и Cys2 (табл. 1) наибольшую интенсивность имеют полосы поглощения, отвечающие деформационным колебаниям 11, 15, 20 и 29, формы которых содержат изменения углов C-OH , NH_2 и валентной связи C=O . В спектрах КР наиболее интенсивными для обоих конформеров являются линии, отвечающие колебаниям 12, 29. Кроме этого, для Cys2 имеется ещё одна линия сильной интенсивности, отвечающая колебанию с частотой 730 см^{-1} , т.е. в спектре данного соединения проявляются две близлежащие линии сильной интенсивности.

Максимальные отличия частотных смещений в спектрах Cys 1 и Cys 2 наблюдаются для колебаний 13, 14 ($\Delta_{\text{Cys1}} = 9$, $\Delta_{\text{Cys2}} = 56 \text{ см}^{-1}$); 20, 21 ($\Delta_{\text{Cys1}} = 13$, $\Delta_{\text{Cys2}} = 37 \text{ см}^{-1}$) и 25, 26 ($\Delta_{\text{Cys1}} = 6$, $\Delta_{\text{Cys2}} = 23 \text{ см}^{-1}$). Это приводит к тому, что в спектрах (ИК и КР) Cys 1 и Cys 2 слабые по интенсивности полосы поглощения проявляются как плечи на близлежащих более интенсивных полосах поглощения, что наблюдается для колебаний с частотами 781, 1160, 1394 см^{-1} в ИК спектре Cys 1.

Учёт механического ангармонизма привёл к существенному улучшению согласия между экспериментальными и вычисленными частотами по сравнению с отнесением, выполненным в работе [4]. Если расхождение между вычисленными и экспериментальными частотами колебаний (табл. 1) составляет для средней и высоко-частотной области 6 и 14 см^{-1} соответственно, то, например, в работе [5] расхождение между аналогичными частотами составляет 140 см^{-1} . Одной из основных причин такого существенного отличия теоретических и экспериментальных частот, имеющих место в работе [5], является сравнение ав-

торами частот колебаний, вычисленных для незаряженной молекулярной структуры Cys, с экспериментальными частотами, измеренными для Cys в твёрдом состоянии, где, как известно, аминокислоты существуют в цвиттер-ионной форме.

Согласно выполненному расчёту в колебательном спектре Cys2, одно из низко-частотных колебаний имеет отрицательное значение. Как известно, седловая точка первого порядка характеризуется одним мнимым колебанием и имеет более низкое значение энергии, чем текущее, т.е. является переходным состоянием. Смещения атомов (или формы колебаний) изображают деформацию молекулы при колебаниях в переходном состоянии. Так как состояние, характеризующее наличием седловой точки, неустойчиво, то анализ деформаций, отвечающих мнимым колебаниям, позволяет выявить структурные изменения, приводящие к перестройке молекулярной структуры при её дальнейшем переходе в состояние с минимумом потенциальной энергии. Форма данного колебания характеризуется смещением атома Н относительно атома S с одновременным вращением связи SH относительно связи CS, что может привести к конформерному превращению Cys1 в Cys2, что вполне возможно, учитывая, что отличие полных энергий этих конформеров меньше $0,5 \text{ ккал/моль}$.

Выполненный расчёт колебательных спектров изолированных конформеров Cys1 и Cys2 показал, что каждый из них имеет характерные полосы поглощения и линии КР, позволяющие однозначно выполнять их идентификацию и определять присутствие в смеси.

Селеноцистеин

На рис. 2 приведены молекулярные диаграммы двух конформеров Sec, а в табл. 2 – результаты расчёта колебательных спектров.

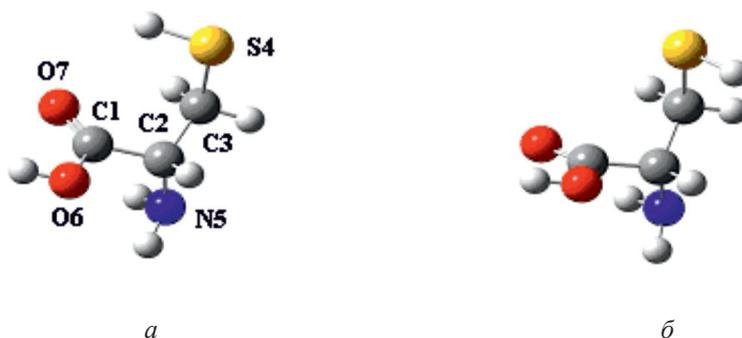
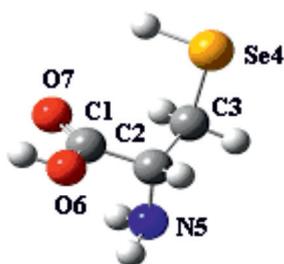


Рис. 1. Молекулярные диаграммы Cys1 (а) и Cys2 (б) с обозначением и нумерацией атомов

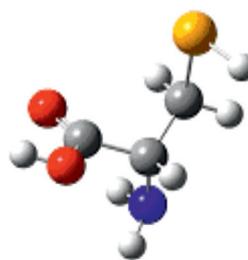
Таблица 1

Экспериментальные [4] ($\nu_{\text{эксп}}$) и вычисленные значения частот колебаний в гармоническом и ангармоническом приближениях ($\nu_{\text{г}}$, $\nu_{\text{анг}}$, см^{-1}) и интенсивностей спектров ИК ($I_{\text{ИК}}$, км/моль) и КР ($I_{\text{КР}}$, $\text{Å}^4/\text{а.е.м.}$) Cys1 и Cys2

№	$\nu_{\text{эксп}}$ ($I_{\text{отн}}$)	Cys1				Cys2				Отнесение
		$\nu_{\text{г}}$	$\nu_{\text{анг}}$	$I_{\text{ИК}}$	$I_{\text{КР}}$	$\nu_{\text{г}}$	$\nu_{\text{анг}}$	$I_{\text{ИК}}$	$I_{\text{КР}}$	
9		484	477	34,2	1,7	478	472	25,8	3	γ (SCN), γ (OCN)
10		596	577	32,9	2,7	614	597	42,3	2,1	β (OH), β (CH ₂)
11		626	590	89,4	2,4	638	630	78,3	3,3	β (OH), β (CH ₂)
12		715	693	11,9	15,3	730	719	9,5	12,1	Q(CS)
13		770	749	46,8	3,5	745	735	19,5	12,4	γ (CCN)
14		781	762	8,9	5,2	800	781	37,2	1,9	β (SH), γ (CCO)
15		821	878	117,1	1,5	827	789	102,3	0,7	β (NH ₂)
16		867	824	37,8	6,5	870	829	58,2	4,6	β (SH), β (NH ₂ , CH ₂)
17		991	959	13,9	2,7	1007	991	13,5	3,4	β (NH ₂), β (CH ₂)
18		1039	1006	18,6	3,5	1014	989	22,6	4,1	β (SH), β (NH ₂)
19		1097	1059	56,4	9,2	1101	1068	18,5	6,6	Q(C-N)
20	1118 (0,74)	1147	1110	249,7	1,2	1144	1111	262,4	1,4	Q(C-O)
21		1160	1134	6,5	1,6	1182	1159	3,2	2,8	β (NH ₂), β (CH ₂ , CH)
22		1248	1216	10,6	5,6	1236	1204	12	3,8	β (NH ₂), β (CH ₂ , CH)
23		1293	1255	4,8	4,1	1292	1270	4,8	6,3	β (OH)
24		1316	1279	16,1	3,1	1321	1289	14,9	2,9	β (CH ₂)
25		1394	1352	3,3	4,2	1388	1352	19,7	4,0	Q(C2C3)
26	1364 (0,28)	1400	1372	23,7	4,1	1410	1386	11,8	5,2	β (CH)
27		1462	1431	11,7	6,6	1466	1445	12,3	6,8	β (CH ₂)
28	1627 (0,16)	1658	1628	33,8	2,2	1660	1660	32,4	2,2	β (NH ₂)
29	1782 (1,0)	1799	1766	275,7	10,9	1806	1774	275,3	8,8	Q(C=O)
30		2676	2508	0,5	93,1	2661	2501	5,3	118,6	Q(SH)
31		3075	2960	5,6	133,5	3071	2965	4,2	125,2	Q(CH ₂) sym, q(CH)
32	2952 (0,1)	3086	2948	7,6	30,9	3085	2951	12,2	29,5	Q(CH ₂) sym, q(CH)
33		3133	2981	2,9	46,7	3132	2983	2,7	53,6	q(CH ₂) asym
34		3500	3333	2,4	122,4	3497	3369	2,2	126,9	q(NH ₂) sym
35		3587	3423	7,0	64,5	3581	3408	7,2	67,9	q(NH ₂) asym
36	3572 (0,32)	3749	3548	69,3	141,3	3741	3540	62,5	152,9	q(OH)



Sec1



Sec2

Рис. 2. Молекулярные диаграммы конформеров цистеина с обозначением и нумерацией атомов

Таблица 2

Вычисленные значения частот колебаний в гармоническом и ангармоническом приближениях (ν_r , $\nu_{\text{анг}}$, см^{-1}) и интенсивностей спектров ИК ($I_{\text{ИК}}$, км/моль) и КР ($I_{\text{КР}}$, $\text{Å}^4/\text{а.е.м.}$) Sec1 и Sec2

№ кол.	Sec1				Sec2				Отнесение
	ν_r	$\nu_{\text{анг}}$	$I_{\text{ИК}}$	$I_{\text{КР}}$	ν_r	$\nu_{\text{анг}}$	$I_{\text{ИК}}$	$I_{\text{КР}}$	
1	40	43	2,1	1,2	29	22	2,3	1,5	$\tau(\text{COO})$
2	81	57	0,2	0,5	76	75	0,1	0,5	$\tau(\text{CCC})$
3	155	124	0,3	0,2	149	117	0,3	0,2	$\tau(\text{NH}_2)$
4	198	234i	6,8	0,4	198	155i	3,1	0,2	$\tau(\text{SeCC})$
5	251	244	3,5	0,3	252	252	9,8	1,3	$\tau(\text{CH}), \tau(\text{NH}_2)$
6	265	235	5,6	1,8	267	244	8,2	0,3	$\tau(\text{SeH}), \tau(\text{NH}_2)$
7	297	233	26,7	2,7	296	272	21,1	3,2	$\tau(\text{NH}_2)$
8	329	284	18,5	2,6	322	289	19,8	1,8	$\gamma(\text{SeCN}), \gamma(\text{CCN})$
9	475	468	27,6	2,4	470	465	25,2	3,5	$\gamma(\text{SeCN}), \gamma(\text{OCN})$
10	595	582	32,1	3,6	604	589	14,4	2,4	$\beta(\text{OH}), \beta(\text{CH}_2)$
11	625	613	95,3	4,1	628	603	108,8	10,1	$\beta(\text{OH}), \beta(\text{CH}_2)$
12	651	639	10,5	14,5	659	644	4,9	9,8	Q(CSe)
13	725	704	2,7	6,6	719	694	6,5	14,3	$\beta(\text{SeH}), \gamma(\text{CCN})$
14	765	750	32,6	7,9	782	754	44,8	2,3	$\beta(\text{SeH}), \gamma(\text{CCO})$
15	813	789	78,9	1,2	804	777	59,7	2,6	$\beta(\text{NH}_2)$
16	845	755	89,7	4,7	847	734	103,1	3,5	$\beta(\text{SeH}), \beta(\text{NH}_2), \beta(\text{CH}_2)$
17	954	928	23	2,6	958	929	28,1	4,5	$\beta(\text{NH}_2), \beta(\text{CH}_2)$
18	1013	982	13,6	4,9	1008	983	14,3	4,3	$\beta(\text{SeH}), \beta(\text{NH}_2)$
19	1092	1055	52,1	8,7	1094	1057	28,7	7,5	Q(C-N)
20	1134	1103	76,3	1,5	1139	1105	170,3	1,6	Q(C-O), $\beta(\text{CH}_2)$
21	1148	1110	186,2	1,4	1153	1121	96,5	1,6	Q(C-O), $\beta(\text{CH}_2)$
22	1228	1194	8,5	4,2	1218	1187	8,9	3,9	$\beta(\text{NH}_2), \beta(\text{CH}_2), \beta(\text{CH})$
23	1273	1234	17,5	11,6	1277	1248	17,8	11,8	$\beta(\text{OH})$
24	1305	1260	9,2	4,3	1306	1265	7,4	4,8	$\beta(\text{CH}_2)$
25	1395	1355	7,8	3,8	1393	1356	20,2	3,4	Q(CC)
26	1401	1355	20,9	4,8	1407	1372	12,1	6,4	Q(CC)
27	1458	1422	11,2	6,7	1460	1419	12,5	6,6	$\beta(\text{CH}_2)$
28	1657	1650	33,0	1,9	1658	1611	31,6	1,9	$\beta(\text{NH}_2)$
29	1802	1769	266,7	9,9	1805	1774	268,7	9,7	Q(C=O)
30	2372	2419	8,6	110,4	2356	2441	20,2	139,3	q(she)
31	3085	2951	3,1	133,7	3080	2946	2,3	125,8	q(CH ₂) sym, q(CH)
32	3091	2952	6,5	24,4	3091	2957	9,5	16,4	q(CH ₂) sym, q(CH)
33	3146	2996	1,6	42,1	3149	2998	1	52,6	q(CH ₂) asym
34	3498	3371	2	135,6	3497	3365	1,8	139,4	q(NH ₂) sym
35	3585	3415	6,8	70,8	3582	3415	7	72,7	q(NH ₂) asym
36	3747	3556	68,5	141,9	3743	3545	65,1	148,9	q(OH)

Как и в случае Cys, в ангармоническом приближении частота колебания 4 имеет отрицательное значение. В отличие от Cys, мнимое колебание характерно для обоих конформеров Sec1 и Sec2, потенциальный барьер между которыми составляет 0,19 ккал/моль, что в 2,5 раза меньше аналогичной величины для конформеров Cys1 и Cys2.

Сравнение колебательных спектров двух конформеров Sec1 и Sec2 показывает, что основное отличие ИК спектров наблюдается в области проявления колебаний 20, 21 и 25, 26 – интенсивности полос поглощения в этих парах колебаний соответственно уменьшаются или возрастают в ~2 раза, что связано с поворотом связи Se–H относительно связи Se–C.

В спектрах КР основное отличие конформеров связано с изменением интенсивности линий для колебаний 12 и 13 – они так же, как и в спектрах ИК, уменьшаются и возрастают в $\sim 1,52$ раза.

Выводы

Таким образом, расчёт колебательных спектров незаряженных конформеров Cys и Sec показал, что при интерпретации колебательных спектров аминокислот в газовой фазе необходимо учитывать возможность одновременного существования обоих конформеров 1 и 2.

Интерпретация ИК и КР колебательных спектров, выполненная с учётом ангармонизма колебаний, показала, что каждый

конформер Cys и Sec имеет характерные линии, специфичность проявления которых даёт возможность определить присутствие конформеров в смеси аминокислот.

Список литературы

1. Гутман Б., Гриффите Э., Сузуки Д., Кулис Т. Генетика. – М.: ФАИР_ПРЕСС. 2004. – 448 с.
2. Рис Э., Стенберг М. Введение в молекулярную биологию: От клеток к атомам. – М.: Мир, 2002. – 142 с.
3. Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B. et al. Gaussian 09. – Gaussian Inc., Pittsburgh PA. 2009. – 394 p.
4. Linder R., Seefeld K., Vavra A., Kleinermanns K. Gas phase infrared spectra of nanoromatic amino acids // Chem. Phys. Lett. – 2008. – V. 453. – P. 1–6.
5. Naganathappa M., Chaudhari A. Spectroscopic characterization of cysteine and methionine using density functional theory method // Astrophysics and Space Science. – 2015. – V. 357. – P. 2–14.