

静电和疏水效应对 TGEV 主蛋白酶二聚体稳定性的影响*

郑柯文 俞庆森 曾敏¹ 马国正 王艳花 张兵(浙江大学理学院化学系, 杭州 310027; ¹浙江大学宁波理工学院 分子设计与营养工程重点实验室, 宁波 315100)

摘要 从 TGEV 3CL 蛋白酶二聚体结构出发, 研究了 TGEV 3CL 蛋白酶二聚体单体之间的静电和疏水相互作用. 蛋白质的静电相互作用通过有限差分方法求解 Poisson-Boltzmann 方程得到, 疏水相互作用通过分析溶剂可及性表面模型得到. 考察了不同 pH 值对 TGEV 3CL 蛋白酶二聚体静电和疏水相互作用的影响, 在 pH 值为 5.5 ~ 8.5 时, 二聚体静电相互作用能、静电去溶剂化能和疏水自由能都较小, 表明在该条件下静电和疏水相互作用有利于二聚体的稳定存在, 这符合实验结晶所需条件. pH 值对静电去溶剂化能的影响大于疏水自由能, 表明静电作用是造成强酸或强碱条件下二聚体不能稳定存在的主要原因.

关键词: TGEV 3CL 蛋白酶二聚体, 静电作用, 疏水作用, pH 值

中图分类号: O645, O647

猪传染性胃肠炎是一种以严重腹泻、呕吐和脱水为临床特征的高度接触性传染病, 其与传染性非典型肺炎 (SARS) 一样, 均为由冠状病毒所引起的呼吸道传染性疾病. 由于猪传染性胃肠炎病毒 (transmissible gastroenteritis virus of swine, TGEV) 的 3CL 蛋白酶与 SARS 3CL (Cys like) 蛋白酶具有高度的同源性而成为最近的研究热点^[1-5]. 在未得到 SARS 3CL 蛋白酶三维结构时, 国内外科学家均以其三维结构同源模建 SARS 3CL 蛋白酶三维结构, 因此研究 TGEV 3CL 蛋白酶的结构特征对 SARS 的药物设计具有重要的指导意义.

Ahand^[2] 研究发现, 冠状病毒主蛋白酶前体蛋白在胞膜上通过分子间特异性识别聚集在一起完成自剪切过程, 而从前体蛋白剪切下来的主蛋白酶会自己相互识别结合成特定形状的二聚体完成其后的生理功能. 因此二聚体的形成对蛋白酶发挥其生物活性具有重要的作用.

二聚体是蛋白质与蛋白质之间相互作用, 其主要特性是静电和疏水相互作用, 使其单体能稳定专一地结合在一起. 在分子水平上定量阐明 TGEV 冠状病毒主蛋白酶单体之间的相互作用力和相互识别的机制对正确认识其二聚体结构和功能之间的关系, 了解其发挥生物活性过程具有重要意义, 为研究 SARS 病毒特性提供重要的理论指导.

本文从 TGEV 3CL 二聚体的晶体结构 (1P9U) 入手, 通过分子模拟方法考察 TGEV 3CL 二聚体中单体和单体之间静电和疏水相互作用. 并在此基础上深入分析了溶液中不同 pH 值对 TGEV 3CL 二聚体静电和疏水相互作用的影响, 得到了与结晶实验条件一致的结果, 从而为 TGEV 3CL 分子结构与功能关系方面的研究提供一定的理论依据.

1 计算方法

1.1 三种冠状病毒主蛋白酶二聚体溶液平衡构象

本文从 PDB 库中调取了 TGEV 3CL (1P9U, resolution 0.237 nm)^[1] 晶体结构, 因为晶体结构中有少数残基和残基侧链坐标缺失, 这部分残基和残基侧链用 Sybyl 6.8^[6] 补齐坐标, 并适当优化修饰侧链以减少它们和周边原子的几何碰撞. 所得结构首先用最陡下降法优化 500 步, 然后采用共轭梯度法继续能量优化 500 步, 从而避免在作分子动力学时原子间的不合理碰撞. 在蛋白质周围加入 1nm 厚度的水层, 保证蛋白质有足够的构象变化空间. 采用 Gromacs 程序^[7], 在 298 K 下对体系进行 15 ps 的分子动力学 (MD) 模拟, 模拟步长为 1 fs, MD 模拟得到的最后构象作为各蛋白酶在溶液中的分析构象. 图 1 为优化后 TGEV 3CL 蛋白酶二聚体三维结构图, 全部工作在 SGI-O2 图形工作站上完成.



图1 TGEV 冠状病毒 3CL 蛋白酶二聚体结构

Fig. 1 The dimeric structure of the 3CL proteinase from the TGEV coronavirus

1.2 静电相互作用计算

蛋白质静电相互作用是维系蛋白质二聚体稳定体系的重要因素, 静电势的计算采用 DS Modeling^[8] (Insight II 微机版) 分子模拟软件包中得 Delphi 模块, 通过有限差分方法求解 Poisson-Boltzmann (PB) 方程来获得蛋白质分子表面静电势分布^[9-10]. 蛋白质分子体系静电势能可由(1)式计算.

$$E = \frac{1}{2} \sum_i^n q_i \times \phi_i \quad (1)$$

其中 q_i 为第 i 原子的电荷, n 为原子数, ϕ_i 为与 i 点相邻的网格点的电势. 二聚体的两单体间的静电相互作用能的变化为(2)式.

$$\Delta E = E_{12} - E_1 - E_2 \quad (2)$$

其中 E_{12} 为二聚体的静电能, E_1 和 E_2 分别表示两个单体的静电能. 通过求解蛋白质在真空与溶剂中的静电能的差值可求得蛋白质的静电去溶剂化能 ΔG_e ^[11-12].

$$\Delta G_e = 1/2 \sum_i q_i (\phi_i^{00} - \phi_i^1) \quad (3)$$

其中, 溶液介电常数取值为 80, 真空中的介电常数取值为 1. 形成二聚体过程中的静电去溶剂化能 (ΔG_d) 可由(4)式求得.

$$\Delta G_d = \Delta G_e^1 + \Delta G_e^2 - \Delta G_e^{12} \quad (4)$$

式中 ΔG_e^{12} 、 ΔG_e^1 和 ΔG_e^2 分别为二聚体及其单体的静电去溶剂化能.

1.3 疏水相互作用计算

二聚体中单体间的疏水相互作用与其接触表面上的非极性基团的分布密切相关. 通过考察蛋白酶二聚体中两单体接触界面上的组成残基特性及非极性基团的分布可定性评估二聚体形成过程中疏水作用的贡献^[13].

溶剂可及表面采用 Lee 和 Richards^[14] 对分子表面的定义, 分子探针半径取 0.14 nm. 采用 DS

Modeling 分子模拟软件包计算三种蛋白酶二聚体及其各单体的溶剂可及性表面积 (solvent-accessible surface area, S). 界面残基通过计算单体和二聚体各个残基的 S 来确定, 当计算残基在单体和二聚体中的 S 变化率 $(S_m - S_d)/S_m$ 大于 25% 时, 则认为该残基是界面残基^[13], 式中 S_m 和 S_d 分别表示单体和二聚体的溶剂可及性表面积. 二聚体的疏水率 φ 可采用半经验方法进行定量描述^[15]:

$$\varphi (\%) = \frac{\text{NON}S_1 + \text{NON}S_2}{\text{NON}S_1 + \text{POL}S_1 + \text{NON}S_2 + \text{POL}S_2} \times 100 \quad (5)$$

其中 $\text{NON}S$ 和 $\text{POL}S$ 分别表示界面处残基的非极性基团和极性基团溶剂可接近表面积总和, 下标中 1、2 表示结合成二聚体的两个蛋白质单体分子.

蛋白质去溶剂化能疏水项的半经验计算公式^[16] 为(6)式.

$$\Delta G_N = a + bS_T \quad (6)$$

其中 S_T 为蛋白质分子各残基溶剂可及性表面积总和, a 和 b 取值采用 Sharp^[16] 从烷烃中测得的参数, 分别为 0.092 和 0.00542.

二聚体中单体之间疏水相互作用的强弱用二聚体的疏水去溶剂化能与两单体去溶剂化能值差表示:

$$\Delta G_N = \Delta G_N^{12} - \Delta G_N^1 - \Delta G_N^2 \quad (7)$$

其中 ΔG_N^{12} 、 ΔG_N^1 和 ΔG_N^2 分别表示二聚体和单体的去溶剂化能的疏水项.

2 结果与讨论

2.1 静电和疏水相互作用

将 TGEV 3CL 蛋白酶二聚体静电势的计算结果映射到分子表面上, 用 DS Modeling 软件可直接观察到静电势在分子表面上的分布情况. 图 2 为 TGEV 3CL 蛋白酶二聚体接触面上静电势的分布.

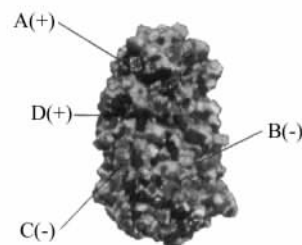


图2 TGEV 3CL 蛋白酶分子表面静电势分布

Fig. 2 The electrostatic potential distribution of TGEV 3CL proteinase. A (+) and D (+) are positive electrostatic distribution areas, and B (-) and C (-) are negative electrostatic distribution areas

静电势显示区间为 $-5.0 kT/e$ 至 $5.0 kT/e$ (k 为 Boltzmann 常数, T 为温度取 298 K, e 是单位电荷), 图中静电势的数值大小用深浅程度表示.

当单体形成二聚体时, 单体和单体接触界面上的静电势分布对二聚体的稳定性起着重要作用, 单体中 A 区和 C 区与另一单体的 B 区和 D 区分别是互相接触的, 而这两个区域在静电上也刚好是互补的. 因此, 在二聚体中, 一个单体与另一个单体上的

这两个区域间可以形成较强的静电吸引, 这从定性上说明 TGEV 3CL 蛋白酶的二聚体结构在溶液中是可以稳定存在的, 同时这些静电互补区域可使 TGEV 3CL 蛋白酶特异性识别聚合成二聚体. 前期工作^[17]也发现 SARS 3CL 蛋白酶与 TGEV 3CL 蛋白酶具有相似的静电表面分布, 这也解释了 SARS 3CL 蛋白酶在溶液中以二聚体形式存在的原因.

表 1 列出了 TGEV-3CL 蛋白酶二聚体接触界

表 1 TGEV 3CL 蛋白酶二聚体界面处残基极性与非极性溶剂可及性表面积

Table 1 Polar and nonpolar solvent accessible surface area (S) of the interface residues in the TGEV 3CL proteinase dimer

Chain	Residue	$10^2 S_d/\text{nm}^2$	$10^2 S_m/\text{nm}^2$	$10^2 \text{POL } S_m/\text{nm}^2$	$10^2 \text{NON } S_m/\text{nm}^2$	$\varphi(\%)$
TGEV A	10Ser	0.00	13.96	1.40	12.56	100.00
TGEV A	16Cys	0.00	0.13	0.00	0.13	100.00
TGEV A	111Phe	0.00	0.13	0.00	0.13	100.00
TGEV A	158Phe	0.00	0.13	0.00	0.13	100.00
TGEV A	159Val	0.00	0.12	0.00	0.12	100.00
TGEV A	287Phe	0.00	0.13	0.00	0.13	100.00
TGEV B	2Gly	0.00	28.97	9.54	19.43	100.00
TGEV B	7Ala	0.00	33.01	8.92	24.09	100.00
TGEV B	10Ser	0.00	36.74	9.86	26.89	100.00
TGEV B	114Leu	0.00	3.77	0.07	3.70	100.00
TGEV B	127Val	0.00	0.38	0.00	0.38	100.00
TGEV B	199Ser	0.00	0.24	0.00	0.24	100.00
TGEV B	281Gly	0.00	36.14	14.54	21.60	100.00
TGEV B	295Gln	0.00	20.42	1.92	18.50	100.00
TGEV A	123Ser	0.12	70.39	37.25	33.13	99.83
TGEV B	124Val	0.12	64.63	26.64	37.99	99.82
TGEV A	138Ser	0.59	93.23	20.81	72.42	99.37
TGEV B	139Phe	0.13	15.80	1.13	14.67	99.20
TGEV B	283Leu	0.38	34.08	6.29	27.79	98.89
TGEV B	268Leu	0.13	10.72	0.58	10.14	98.82
TGEV B	171His	0.13	10.43	0.54	9.89	98.79
TGEV A	137Gly	0.25	17.64	3.65	13.99	98.57
TGEV B	6Met	0.63	40.57	8.13	32.45	98.45
TGEV B	4Arg	2.48	145.96	68.96	77.00	98.30
TGEV A	124Val	1.18	62.02	23.48	38.54	98.10
TGEV A	281Gly	0.74	37.16	13.79	23.36	98.01
TGEV A	280Tyr	1.43	68.01	19.16	48.85	97.90
TGEV A	7Ala	0.74	34.04	10.16	23.88	97.84
TGEV B	282Ser	0.47	20.65	2.93	17.72	97.72
TGEV A	276Thr	1.78	71.62	33.64	37.98	97.51
TGEV A	9Pro	2.39	81.61	5.90	75.71	97.07
TGEV A	1Ser	3.99	100.04	25.79	74.25	96.01
TGEV A	126Gly	0.47	10.49	1.17	9.31	95.51
TGEV A	271Gly	1.96	41.45	19.52	21.93	95.28
TGEV A	4Arg	6.64	134.50	73.44	61.07	95.06
TGEV A	143Thr	0.59	11.79	0.88	10.91	95.00
TGEV A	272Phe	4.87	89.59	36.81	52.77	94.57
TGEV A	122Gly	2.01	29.81	10.05	19.76	93.25
TGEV A	2Gly	1.38	19.45	4.11	15.34	92.89
TGEV B	138Ser	5.77	76.95	14.46	62.49	92.50
TGEV B	280Tyr	5.52	72.25	22.51	49.74	92.37
TGEV B	3Leu	0.12	1.58	0.01	1.56	92.25
TGEV A	139Phe	1.01	12.67	0.75	11.93	92.06
TGEV A	296Met	0.63	7.79	0.30	7.50	91.93
TGEV A	3Leu	0.86	9.82	0.52	9.31	91.28
TGEV B	137Gly	4.12	42.70	19.22	23.48	90.34

d: dimer; m: monomer

表 2 不同 pH 溶液中带电残基的形式电荷

Table 2 Formal charges of the ionizable groups in different residues at different pH values

Residue	Atom	pH								
		3.0	4.0	4.4	5.5	6.3	7.0	8.5	9.7	10.4
Asp	OD1	-0.05	-0.25	-0.36	-0.48	-0.50	-0.50	-0.50	-0.50	-0.50
	OD2	-0.05	-0.25	-0.36	-0.48	-0.50	-0.50	-0.50	-0.50	-0.50
Glu	OE1	0.00	0.14	-0.25	-0.46	-0.50	-0.50	-0.50	-0.50	-0.50
	OE2	0.00	0.14	-0.25	-0.46	-0.50	-0.50	-0.50	-0.50	-0.50
Arg	NH1	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
	NH2	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Lys	NZ	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.50	0.00
His	ND1	0.50	0.50	0.50	0.43	0.25	0.08	0.00	0.00	0.00
	NE2	0.50	0.50	0.50	0.43	0.25	0.08	0.00	0.00	0.00
Tyr	OH	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-0.07	-0.50	-1.00
C-tecrrminal	O1	-0.07	-0.31	-0.40	-0.49	-0.50	-0.50	-0.50	-0.50	-0.50
	O2	-0.07	-0.31	-0.40	-0.49	-0.50	-0.50	-0.50	-0.50	-0.50
N-tecrrminal	N	1.00	1.00	1.00	1.00	0.94	0.76	0.08	0.00	0.00

面上残基 S 变化情况、相对变化率及极性和非极性溶剂可及性表面积组成情况, 由于篇幅有限, 只列出相对变化率大于 90% 的界面残基可及性表面积组成情况. 从表中可以看出 TGEV 3CL 蛋白酶二聚体界面处主要由 Gly, Leu, Val, Phe 和 Ile 等疏水性氨基酸所组成, $NON S$ 所占面积要大于 $POL S$, 使单体间具有较强的疏水相互作用. 将相对变化率大于 25% 的界面残基可及性表面积代入公式(5)计算得到疏水率为 66%. 这说明两单体在形成二聚体时, 单体和单体之间能形成较强的疏水性相互作用.

2.2 溶液的 pH 值对二聚体结构稳定性的影响

2.2.1 pH 值对静电相互作用的影响

TGEV 3CL 蛋白酶二聚体中存在五类侧链带电荷氨基酸残基: 天冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)、赖氨酸(Lys)、精氨酸(Arg)和组氨酸(His), 它们在不同 pH 值下侧链可发生不同程度的电离, 从而具有不同

的电荷. 在计算静电势时, 给这些残基赋上相应的形式电荷(表 2)^[13], 其它原子电荷均设为 0, 大致地估算二聚体静电相互作用能和静电去溶剂化能随 pH 值的变化趋势.

图 3 和图 4 分别显示了 TGEV 3CL 蛋白酶二聚体中单体间静电相互作用(ΔE)能及静电去溶剂化能(ΔG_d)随 pH 值的变化趋势. 由图 3 可见, 二聚体的 ΔE 在 $pH \leq 5$ 和 $pH \geq 9.7$ 时较大, 而位于 5.5~8.5 时较小. 从图 4 也可以看出, 在 $pH \leq 5$ 和 $pH \geq 9.7$ 时 ΔG_d 较大, 这说明在该 pH 条件下单体之间的静电相互作用不利于二聚体的稳定存在, 对二聚体的形成起阻碍作用. 而在 pH 值为 5.5~8.5 时, ΔG_d 远远小于零, 静电作用促进单体聚集形成二聚体. 这从不同 pH 值下 TGEV 3CL 蛋白酶二聚体接触界面上的静电势分布变化中可以得到很好的解释. 图 5 为不同 pH 值下 TGEV 3CL 蛋白酶

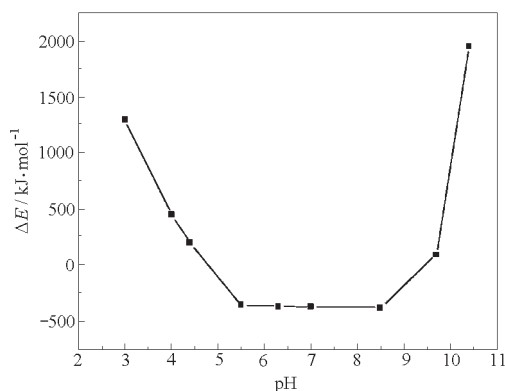


图 3 TGEV 3CL 蛋白酶二聚体 ΔE 随 pH 值变化
Fig. 3 Changes of the electrostatic interaction energies (ΔE) with different pH values for the TGEV 3CL proteinase dimer

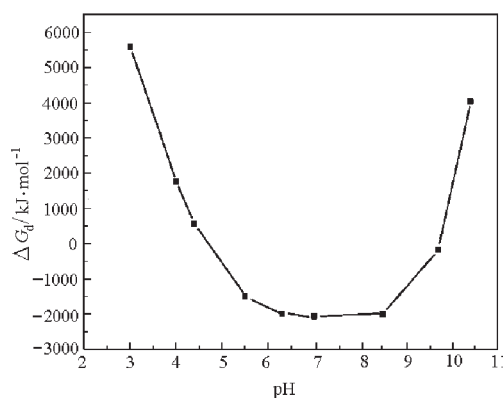


图 4 TGEV 3CL 蛋白酶二聚体 ΔG_d 随 pH 值变化
Fig. 4 The electrostatic desolvation free energies ΔG_d versus different pH values for the TGEV 3CL proteinase dimer

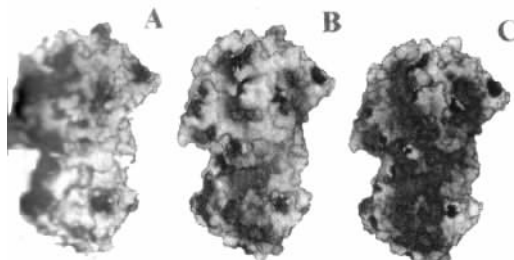


图 5 TGEV 3CL 蛋白酶分子表面静电势分布
Fig. 5 The electrostatic potential distributions at TGEV 3CL proteinase

solution at pH: (A) 4.0, (B) 6.2, (C) 9.7

分子表面的静电势分布变化情况。由图可见,在酸性时,由于 pH 值小于带电残基等电点,分子表面上带电残基侧链一般未发生电离,分子表面主要以带正电势分布为主(图 5A),单体与单体之间主要为静电势排斥作用。当 pH 值增大时,酸性氨基酸残基侧链开始发生电离,体系中负电势分布增强(图 5B),单体与单体之间由静电排斥作用趋于吸引作用,使单体之间能保持较稳定结合状态。当 pH 值再增大到大于带电残基侧链的等电点时,体系负电势分布增强,正电势分布减弱(图 5C),单体间的静电吸引作用相对减弱,负电势排斥作用增强,从而使单体不能形成稳定的二聚体。

2.2.2 pH 值对疏水相互作用的影响

不同 pH 值的溶液对 TGEV 3CL 蛋白酶二聚体结合程度和构象均会产生一定的影响,本文通过二聚体接触界面上的疏水率(φ)及疏水自由能(ΔG_N)随 pH 的变化来考察 pH 值对疏水作用的影响。

图 6 为蛋白酶在溶液中的 φ 随 pH 值的变化,当 pH 值为 7.0 时, TGEV 3CL 蛋白酶二聚体的 φ

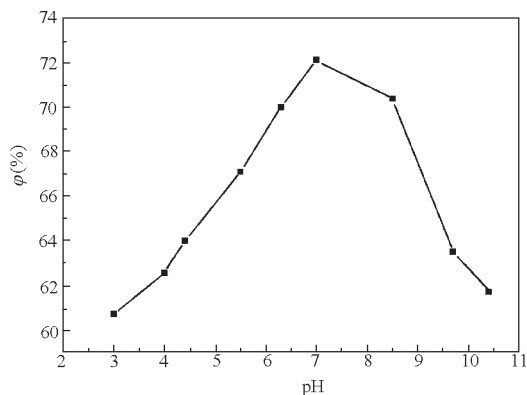


图 6 TGEV 3CL 蛋白酶二聚体疏水率随 pH 值变化
Fig. 6 The changes of the hydrophobic effect for the TGEV 3CL proteinase dimer in solution with different pH values

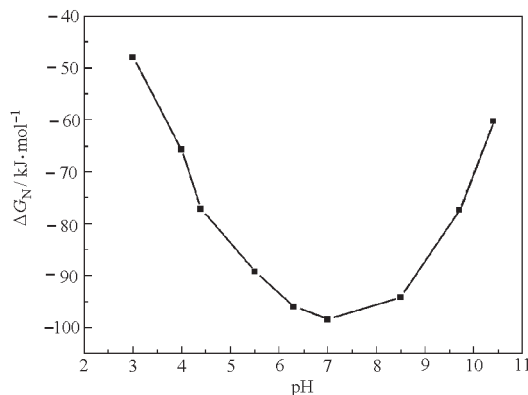


图 7 TGEV 3CL 蛋白酶二聚体疏水自由能随 pH 值变化
Fig. 7 The hydrophobic desolvation free energies ΔG_N versus different pH values

达到高峰,并从图中曲线变化斜率可以看出,在碱性条件下的曲线变化斜率要缓于酸性条件下的情况,这说明在碱性条件下单体间具有较强的疏水作用,利于二聚体结构的稳定存在,这一结果与 1P9U 二聚体晶体获得条件相吻合^[1]。图 7 为 ΔG_N 随 pH 值的变化情况,由图可见,与对静电相互作用的影响相似,在 pH 5.5~8.5 下的 ΔG_N 小于在 pH ≤ 5 和 pH ≥ 9.7 条件下的 ΔG_N ,这说明在 pH = 5.5~8.5 条件下疏水相互作用较强。这是因为在酸性和碱性条件下,蛋白质表面带有较强的正电势和负电势分布,蛋白质单体具有更强的亲水性,从而具有较弱的疏水作用。而在 pH = 5.5~8.5 条件下疏水相互作用较强,从而使单体与单体结合时界面残基易于从溶剂中转移到蛋白质内部形成稳定结合的疏水界面。

由 pH 值对 ΔG_d 和 ΔG_N 的影响大小可知, ΔG_d 所受 pH 值的影响要远远大于 pH 值对 ΔG_N 的影响,这说明二聚体的静电相互作用对 pH 值的敏感度要大于疏水作用,静电作用是造成强酸或强碱条件下二聚体不能稳定存在的主要原因。

3 结论

由上述分析可知, TGEV 3CL 蛋白酶二聚体界面处具有较好的静电互补区域,单体和单体之间产生较强的静电相互作用,具有较高疏水率的疏水表面, φ 为 66%,产生较强的疏水相互作用,有效地驱动单体形成二聚体。当 pH 值为 5.5~8.5 时,单体结合成二聚体时的 ΔE 、 ΔG_d 和 ΔG_N 均小于 pH ≤ 5 和 pH ≥ 9.7 条件下的 ΔE 、 ΔG_d 和 ΔG_N ,说明在该 pH 值条件下具有较强的静电吸引作用和疏水作

用, 利于二聚体的稳定存在, 这与结晶实验条件所一致. 二聚体静电作用较疏水作用更易受 pH 值的影响, 静电作用是造成强酸或强碱条件下二聚体不能稳定存在的主要原因.

References

- Ahand, K.; Ziebuhr, J.; Wadhwani, P.; Mesters, J. R.; Hilgenfeld, R. *Science*, **2003**, **300**: 1763
- Anand, K.; Palm, G. J.; Mesters, J. R.; Siddell, S. G.; Ziebuhr, J.; Hilgenfeld, R. *EMBO J.*, **2002**, **21**: 3213
- Xiong, B.; Gui, C.; Xu, X.; Luo, C.; Chen, J. Luo, H.; Chen, L.; Li, G.; Sun, T.; Yu, C.; Yue, L.; Duan, W.; Shen, J.; Qin, L.; Shi, T.; Li, Y.; Chen, K.; Luo, X.; Shen, X.; Shen, J.; Jiang, H. *Acta Pharmacol Sinica*, **2003**, **24**(6): 497
- Liu, S. Y.; Pei, J. F.; Chen, H.; Zhu, X. L.; Liu, Z. M.; Ma, W. Z.; He, F. L.; Lai, L. H. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis*, **2003**, **35**: 62 [刘士勇, 裴剑锋, 陈浩, 祝小雷, 刘振明, 马文喆, 贺风雷, 来鲁华. 北京大学学报 (*Beijing Daxue Xuebao*), **2003**, **35**: 62]
- Chou, K. C.; Wei, D. Q.; Zhong, W. Z. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2003**, **308**: 148
- Tripos Inc. Sybyl version 6. 8 user manual, 1999
- Department of Biophysical Chemistry of Groningen University, Gromacs version 3. 1. 4 user manual, 2002
- Accelrys Inc. DS Modeling version 1. 0 user manual, 2003
- Melo, F.; Feytmans, E. *J. Mol. Biol.*, **1997**, **267**: 207
- Honig, B.; Salituro, G.; Szalkowski, D.; Li, Z. H. *Science*, **1999**, **284**: 974
- Mehloer, E. L. *J. Phys. Chem.*, **1996**, **100**: 16006
- Sitkoff, D.; Sharp, K. A.; Honing, B. *J. Phys. Chem.*, **1993**, **98**: 1978
- Ma, X. H.; Chen, W. Z.; Zhuang, Y.; Wang, C. X.; Hou, T. J.; Qiao, X. B.; Xu, X. J. *Acta Biophysica Sinica*, **2001**, **17**: 329 [马晓慧, 陈慰祖, 庄彦, 王存新, 侯廷军, 乔学兵, 徐筱杰. 生物物理学报 (*Shengwu Wuli Xuebao*), **2001**, **17**: 329]
- Lee, B. K.; Richards, F. M. *J. Molec. Biol.*, **1971**, **55**: 379
- Tsai, C. J.; Lin, S. L.; Walfson, H. J.; Nussinov, R. *Protein Sci.*, **1997**, **6**: 53
- Sharp, K. A.; Nicholls, A.; Friedman, R.; Honig, B. *Biochemistry*, **1991**, **30**: 9686
- Zheng, K. W.; Yu, Q. S.; Zeng, M.; Ma, G. Z.; Wang, Y. H.; Zhang, B. *Acta Chim. Sinica*, **2004**, **62**: 542 [郑柯文, 俞庆森, 曾敏, 马国正, 王艳花, 张兵, 化学学报 (*Huaxue Xuebao*), **2004**, **62**: 542]

Effects of Electrostatic and Hydrophobic Interaction on the Stability of the TGEV Main Proteinase Dimer*

Zheng Ke-Wen Yu Qing-Sen Zeng Min¹ Ma Guo-Zheng Wang Yan-Hua Zhang Bing

(Department of Chemistry, Zhejiang University, Hangzhou 310027; ¹Key Laboratory for Molecular Design and Nutrition Engineering of Ningbo City, Ningbo Institute of Technology, Zhejiang University, Ningbo 315100)

Abstract The crystal structures of the TGEV 3CL proteinase is used to study the electrostatic and hydrophobic interactions between two monomers. Solving the Poisson-Boltzmann equation using the finite difference method is used to calculate the electrostatic potential. The solvent accessible surface model is supplied for the molecular surface and hydrophobicity. The electrostatic and hydrophobic interactions are explored in the condition of different pH values. The electrostatic interaction energy, electrostatic desolvation free energy, and hydrophobic desolvation free energy show smaller values when pH values are between 5. 5 and 8. 5, which indicates that, in the condition, the electrostatic and hydrophobic interaction are favorable to the stability of the TGEV 3CL proteinase dimer. The results are consistent with the experimental condition for the crystallization of the TGEV 3CL proteinase dimer. pH values have stronger influence on the electrostatic desolvation free energy than on the hydrophobic desolvation free energy, which implies that the electrostatic interaction is the key factor to the instability of the TGEV 3CL proteinase dimer in acid or alkali condition.

Keywords: TGEV (transmissible gastroenteritis virus of swine) 3CL proteinase dimer, Electrostatic interaction, Hydrophobic effects, pH value

Received: November 11, 2003; Revised: February 17, 2004. Correspondent: Zeng Min (E-mail: zengmin@nit.net.cn; Tel: 0574-88229517).

*The Project Supported by NSFC(20173050)