

高斯软件模拟转谷氨酰胺酶交联大豆分离蛋白机理的研究

臧学丽, 黄志远, 叶春民*

(长春医学高等专科学校药品食品学院, 长春 130031)

摘要: 为了进一步验证转谷氨酰胺酶(TGase)交联大豆分离蛋白(SPI)作用机制, 本研究通过计算化学方法模拟催化过程, 利用在多相催化和生物催化领域来预算物质结构中经常使用的高斯软件(Gaussian)对 TGase 交联 SPI 作用机制进行模拟, 经计算确定了转谷氨酰胺酶活性中心 5 个氨基酸连接的最佳结构。对酶催化 SPI 赖氨酸和谷氨酰胺脱氨反应过程进行了模拟。通过计算发现, 在 8 种可能脱氨的方式中, 只有 2 种方式的反应能顺利进行, 每种方式各占一定比例, 即谷氨酰胺脱 γ 位酰胺的氨基与赖氨酸 ϵ 位氨基氢、谷氨酰胺脱 α 位氨基与赖氨酸 ϵ 位氨基氢发生脱氨反应, 反应过程的能垒分别为 49.50 和 44.35 kcal/mol。SPI 发生随机交联可生成高分子聚合物, 改变 SPI 的功能特性, 提高大豆分离蛋白的凝胶强度。

关键词: 高斯软件; 转谷氨酰胺酶; 交联; 大豆分离蛋白; 机理

引言

计算化学是使用计算机程序计算分子和固体材料结构和性质的科学, 常用来预测物质的结构。作为理论化学的分支, 计算化学在对分子结构和反应活性的研究十分重要, 主要包括两大领域即分子力学和电子结构理论。高斯软件是一个量子化学软件包, 它是目前应用最广泛的计算化学软件之一。通过各种数学近似解薛定谔方程, 得到分子能量及相关性质。杂化密度泛函理论(DFT)常用来模拟催化过程, 主要应用在多相催化和生物催化领域。考虑到体系尺寸大小对计算机时的占用, 目前主要采用杂化方法。此方法同样可以预测与反应过渡态相关的假想复合物结构。由于过渡态在实验中寿命为零, 通过计算模拟可以提供实验手段无法提供的过渡态信息。

大豆(*Glycine max* (L.) Merr.)是我国主要的粮食作物^[1]。大豆中蛋白质含量丰富, 且必须氨基酸含量高, 种类均衡, 是人类获取植物蛋白的主要来源^[2]。大豆分离蛋白(SPI)是大豆中主要的蛋白成分, 主要由 7S 及 11S 球蛋白组成, 是优质的植物蛋白。SPI 具有一定溶解性、凝胶性、乳化性等功能特性^[3]。凝胶性是大豆分离蛋白一个非常重要的功能特性, 在豆制品、乳制品、肉制品等食品加工中应用较广泛^[4]。但天然的大豆分离蛋白凝胶特性不理想, 形成的凝胶强度较差。如何提高现有大豆蛋白的凝胶特性, 改善大豆制品的功能特性, 满足食品生产的需求, 一直是研究者追求的目标。目前大豆蛋白改性的方法有物理法、化学法、生物酶法^[5]。物理法和化学法改性存在凝胶效果不好或食品安全等问题。生物酶法具有安全可靠、反应温和等优点, 已成为研究的热点。生物酶处理可以改善大豆蛋白的功能特性, 提高大豆蛋白的凝胶强度, 但生物酶处理大豆蛋白结构和功能变化的关系及作用机制的研究还不系统, 限制了生物酶法的发展。

为了进一步验证转谷氨酰胺酶交联 SPI 作用机制, 本研究借鉴 Gaussian 软件对转谷氨酰胺酶活性中心氨基酸结合的合理构型及谷氨酰胺与赖氨酸之间脱氨的位点进行模拟, 用计算化学法验证 TGase 交联 SPI 的机理。

1 实验方法

1.1 量子化学计算方法

计算化学是采用经典物理定律预测分子的结构和性质, 进行分子力学模拟, 而电子结构方法的计算基础是

10.14028/j.cnki.1003-3726.2022.10.012

收稿: 2021-09-03; 修回: 2022-01-17;

基金项目: 吉林省教育厅项目(JJKH20221350KJ);

* 通讯联系人: 叶春民(1968-), 博士, 研究方向高分子材料。E-mail: yecm1968@126.com.

量子力学。分子的能量及相关性质由量子力学通过各种数学近似解薛定谔方程得到。目前,量子化学计算方法已经不再使用以前的半经验方法,而采用高精度的从头算(ab initio)和密度泛函理论(DFT)方法^[6,7]。

1.2 密度泛函理论

密度泛函理论是基于量子力学方法而采用电子密度函数模拟电子相关性^[8]。1964年,Hohenberg-Kohn理论证明了与基态能量和密度精确性相关函数的存在,但是该理论并不能得到此函数的表达式^[9]。随后Kohn和Sham通过现代DFT方法将电子能量拆分为几部分,用于精确预测和模拟实际体系的性质。由此Kohn-Sham DFT方法逐渐成功地应用于化学和物理学科各个领域。

1.3 过渡态理论

过渡态理论即活化络合物理论(transition-state theory),以量子力学对反应过程中的能量变化的研究为依据,认为从反应物到生成物之间形成了势能较高的活化络合物,活化络合物所处的状态叫过渡态。过渡态理论认为:反应物分子并不只是通过简单碰撞直接形成产物,而是必须经过一个形成高能量活化络合物的过渡状态,并且达到这个过渡状态需要一定的活化能,再转化成生成物。对于反应 $A+BC \rightarrow AB+C$,当A与B发生反应时,A与B接近并产生一定的作用力,同时B与C之间的键减弱;生成不稳定的 $[A \cdots B \cdots C]$,称为过渡态,或者活性化合物,通常以缩写TS或“‡”表示。反应物 $A+BC$ 和生成物 $AB+C$ 均是能量低的稳定状态,过渡态是能量高的不稳定状态,由于过渡态寿命极短,所以不能分离得到^[12]。过渡态是反应历程中能量最高的点。在反应过程中,反应物A和BC可能会有多种反应的通道,也就是多种反应的可能性。通过理论计算,可以模拟出每条反应通道的能垒(E)。能垒越低,则反应越容易进行,由此可知反应的过程与机理。

1.4 内禀反应坐标理论

化学反应中各原子的运动可近似地看作质点运动,因而服从Lagrange方程。

1.5 振动频率的计算

振动频率是表征分子势能面的一种方法,用于区分局域极小值点(无虚频)和鞍点(仅有一虚频),也就是确定势能面上稳定点。此外,还可预测所优化结构的振动强度、红外光谱和拉曼光谱,且通过零点能校正对热力学活化参数进行校正^[13,14]。

1.6 TGase催化谷氨酰胺与赖氨酸反应计算采用方法

采用Gaussian 09程序包^[15]。几何优化使用m062x方法和6-31+G(d,p)基组。频率计算基于相同理论水平,并考虑了所有能量的零点能校正。内禀反应坐标(IRC)路径计算^[16~18]用于确认过渡态在势能面上连接两个极小值。模型应用GaussView 5.0软件构建,并利用此软件进行分析与作图。

2 结果与讨论

2.1 转谷氨酰胺酶活性中心氨基酸合理构型探究

TGase酶活性中心由5个氨基酸构成,分别为酪氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、半胱氨酸和色氨酸。由图1~6给出了这5种氨基酸的各种同分异构体的结构。

表1给出了这6种氨基酸各种同分异构体的能量。由表1中数据可以看出,酪氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、半胱氨酸四种氨基酸的b种构型能量更低,构型更稳定,所以选择其b种构型进行下面的理论预测。赖氨酸的a种构型时能量更低,构型更稳定,所以选择其a种构型进行下面的理论预测。

2.1.1 转谷氨酰胺酶活性中心酪氨酸与甘氨酸连接合理构型探究 模拟计算酪氨酸与甘氨酸连接的过渡态能垒和合理的构型如图7所示,可以看出,反应过程的能垒为14.30 kcal/mol,反应可以正常进行。

2.1.2 转谷氨酰胺酶活性中心酪氨酸、甘氨酸与谷氨酰胺连接合理构型探究 模拟计算酪氨酸、甘氨酸与谷氨酰胺连接的过渡态能垒和合理的构型如图8所示,可以看出反应过程的能垒为25.83 kcal/mol,反应可以正常进行。

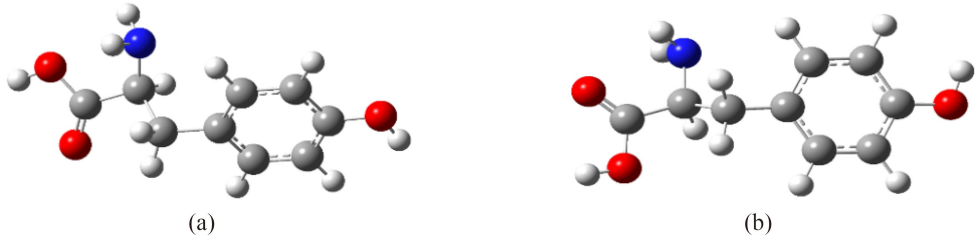


图 1 酪氨酸分子的不同构型同分异构体
 N: 蓝色、C: 灰色、O: 红色、H: 白色

Figure 1 The different configurational isomers of tyrosine molecule
 N: blue, C: grey, O: red, H: white

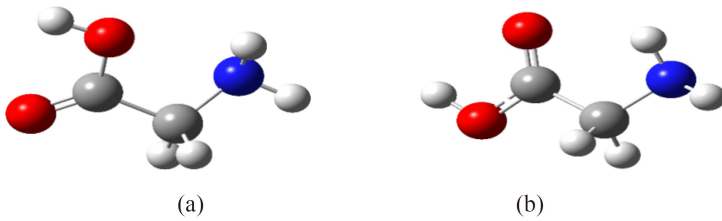


图 2 甘氨酸分子的不同构型同分异构体
 N: 浅蓝色、C: 灰色、O: 红色、H: 白色

Figure 2 The different configurational isomers of glycine molecule
 N: blue, C: grey, O: red, H: white

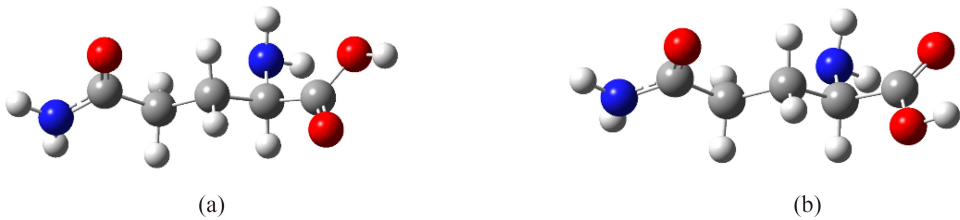


图 3 谷氨酰胺分子的不同构型同分异构体
 N: 蓝色、C: 灰色、O: 红色、H: 白色

Figure 3 The different configurational isomers of glutamine molecule
 N: blue, C: grey, O: red, H: white

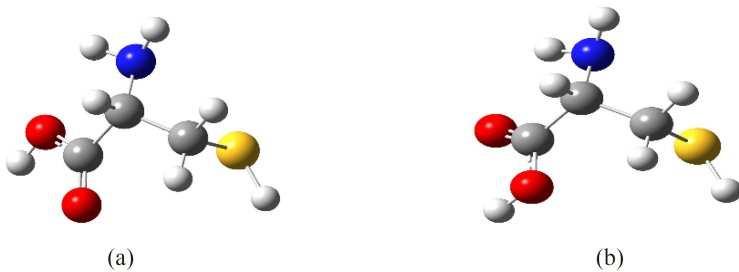


图 4 半胱氨酸分子的不同构型同分异构体
 S: 黄色、N: 蓝色、C: 灰色、O: 红色、H: 白色

Figure 4 The different configurational isomers of cysteine molecule
 S: yellow, N: blue, C: grey, O: red, H: white

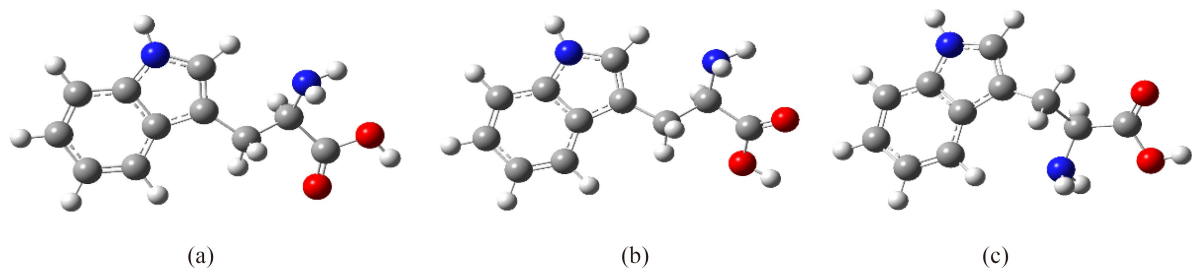


图 5 色氨酸分子的不同构型同分异构体

N: 蓝色、C: 灰色、O: 红色、H: 白色

Figure 5 The different configurational isomers of tryptophan molecule

N: blue, C: grey, O: red, H: white

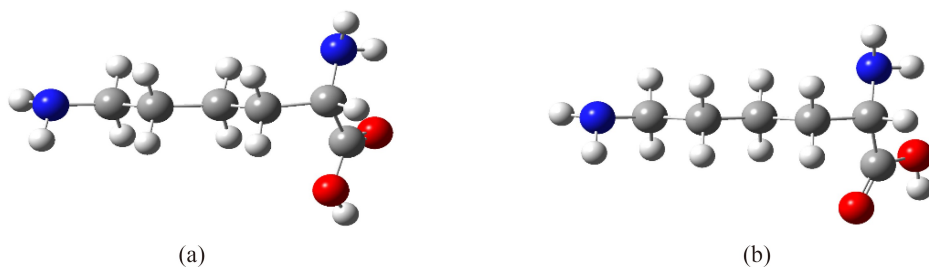


图 6 赖氨酸分子的不同构型同分异构体

N: 蓝色、C: 灰色、O: 红色、H: 白色

Figure 6 The different configurational isomers of lysine molecule

N: blue, C: grey, O: red, H: white

表 1 分子不同构型同分异构体的能量

Table 1 Energy of the different configurational isomers

分子	构型	能量(a. u.)
酪氨酸	a	-629.77006259
	b	-629.77243560
甘氨酸	a	-284.31172647
	b	-284.31383861
谷氨酰胺	a	-531.55102332
	b	-531.55348309
半胱氨酸	a	-721.76197323
	b	-721.76371255
色氨酸	a	-686.10186300
	b	-686.10390802
	c	-686.09954441
赖氨酸	a	-496.84423339
	b	-496.84257036

2.1.3 转谷氨酰胺酶活性中心酪氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺与半胱氨酸连接合理构型探究 模拟计算酪氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺与半胱氨酸连接的过渡态能垒和合理的构型如图 9 所示,从图 9 可以看出反应过程的能垒为 37.21 kcal/mol,反应可以正常进行。

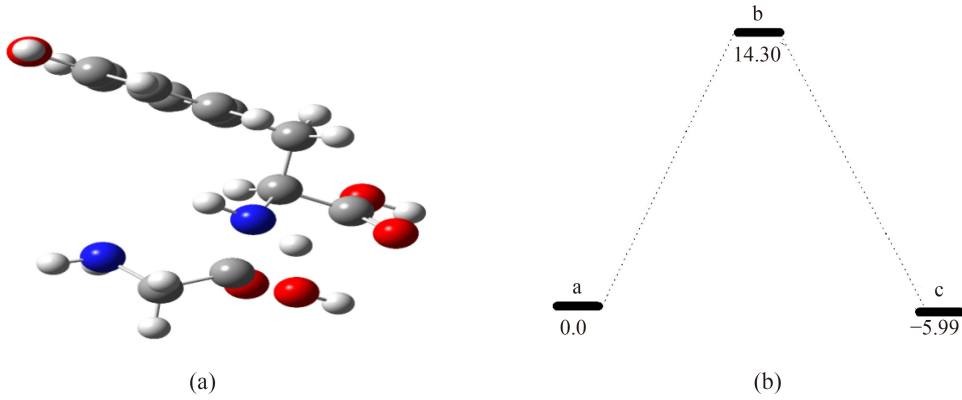


图 7 酪氨酸与甘氨酸反应的过渡态、反应路径的势能面和相对能量 单位:kcal/mol

N: 蓝色、C: 灰色、O: 红色、H: 白色

Figure 7 The transition state, potential energy surface reaction path and relative energy in the reaction of tyrosine with glycine. unit: kcal/mol

N: blue, C: grey, O: red, H: white

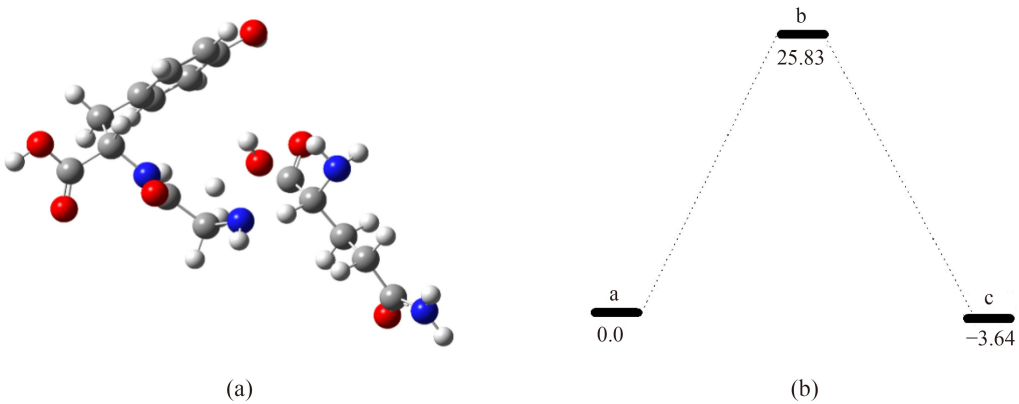


图 8 酪氨酸、甘氨酸与谷氨酰胺反应的过渡态、反应路径的势能面和相对能量 单位:kcal/mol

N: 蓝色、C: 灰色、O: 红色、H: 白色

Figure 8 The transition state, potential energy surface reaction path and relative energy in the reaction of tyrosine, glycine with glutamine unit: kcal/mol

N: blue, C: grey, O: red, H: white

2.1.4 转谷氨酰胺酶活性中心酪氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、半胱氨酸与色氨酸连接合理构型探究 模拟计算酪氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、半胱氨酸与色氨酸连接的过渡态能垒和合理的构型如图 10 所示,从图 10 可以看出反应过程的能垒 41.97 kcal/mol,反应可以正常进行。

据计算推测,酪氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、半胱氨酸和色氨酸分子的连接经过优化之后,其结构如图 11 所示。在此结构下进行催化反应。

2.2 合理反应路径及反应过程探究

为了研究转谷氨酰胺酶催化谷氨酰胺与赖氨酸反应过程,分析了谷氨酰胺与赖氨酸的结构式。可以看出,谷氨酰胺与赖氨酸有 4 种脱氨方式,如图 12 所示。

谷氨酰胺的氨基和酰胺基与赖氨酸的氨基发生反应,脱掉一分子的氨。由于赖氨酸有 2 个氨基,谷氨酰胺有 1 个氨基和 1 个酰胺基,谷氨酰胺与赖氨酸脱掉氨基的位点以及谷氨酰胺和赖氨酸脱氢的位点还不清楚。因此,需要通过理论化学进行计算模拟,推测反应过程机理。

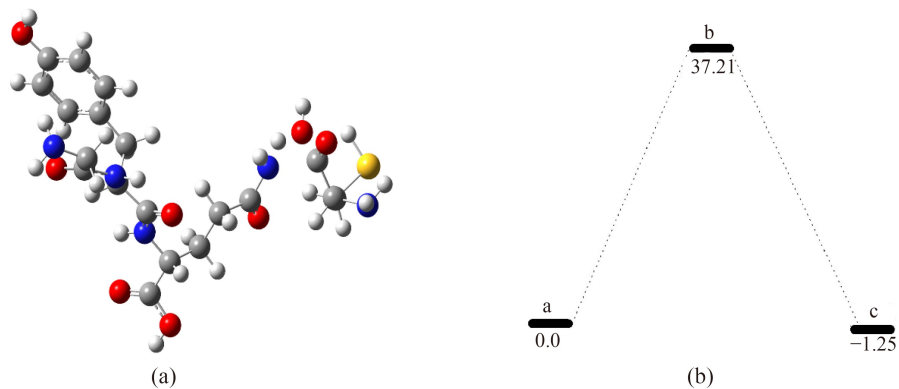


图 9 酪氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺与半胱氨酸反应的过渡态、反应路径的势能面和相对能量 单位:kcal/mol

S:黄色、N:蓝色、C:灰色、O:红色、H:白色

Figure 9 Tyrosine, glycine, glutamine with cysteine reaction transition state, the potential energy surface reaction path and relative energy unit: kcal/mol

S: yellow, N: blue, C: grey, O: red, H: white

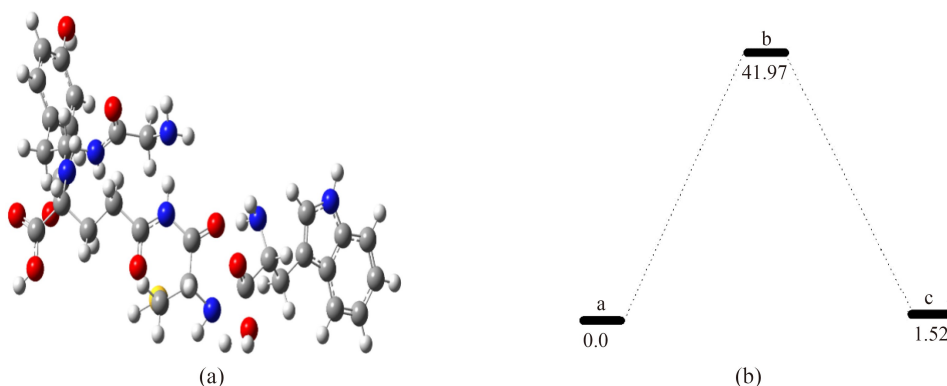


图 10 酪氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、半胱氨酸与色氨酸反应的过渡态、反应路径的势能面和相对能量 单位为 kcal/mol

S:黄色、N:蓝色、C:灰色、O:红色、H:白色

Figure 10 Tyrosine, glycine, glutamine, cysteine with tryptophan reaction transition state, the potential energy surface reaction path and relative energy unit: kcal/mol

S: yellow, N: blue, C: grey, O: red, H: white

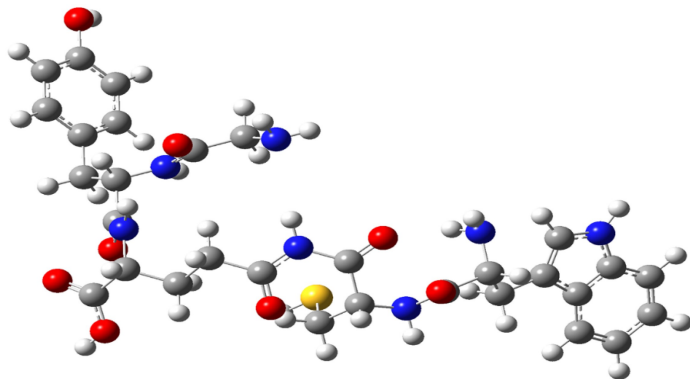


图 11 活性中心优化后结构

S:黄色、N:蓝色、C:灰色、O:红色、H:白色

Figure 11 The structure of optimized reactive center

S: yellow, N: blue, C: grey, O: red, H: white

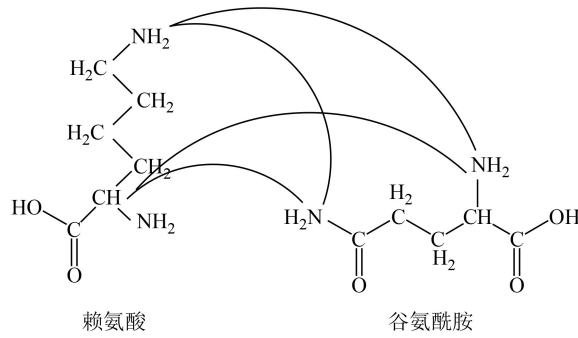


图 12 谷氨酰胺与赖氨酸的化学结构

Figure 12 The chemical structure of glutamine and lysine

2.2.1 谷氨酰胺与赖氨酸反应过程探讨 谷氨酰胺与赖氨酸反应可能过程如图 13~20 所示, a 图为反应发生时反应物优化后的状态, b 图为反应过程中的过渡态, c 图为反应结束后生成物优化后的状态, d 图为势能面和相对能量。由此可以看出, 谷氨酰胺与赖氨酸脱氨过程有 8 种方式可能反应, 只有当谷氨酰胺 α 位氨基与赖氨酸 ϵ 位氨基氢反应过程以及谷氨酰胺脱 γ 位酰胺基与赖氨酸 ϵ 位氨基氢时, 反应可以顺利进行。其他情况下均不能模拟出来合理的过渡态能量。由图 15 可知谷氨酰胺脱 α 位氨基, 而赖氨酸脱 ϵ 位氨基氢原子, 生成一分子氨, 反应可以正常进行。其反应过程能垒如图 15(d) 所示, 能垒为 44.35 kcal/mol, 符合反应规律。在反应过程中, 赖氨酸脱 ϵ 位氨基氢原子进攻谷氨酰胺脱 α 位酰胺基, 谷氨酰胺的氨基与碳原子分离, 与赖氨酸 ϵ 位氨基脱下的氢反应, 生成一分子氨。赖氨酸的 ϵ 位氨基与谷氨酰胺 α 位酰胺的碳原子结合, 生成 NH₃。由图 20 可以看出, 谷氨酰胺脱 γ 位酰胺氨基, 而赖氨酸脱 ϵ 位氨基氢原子, 生成一分子氨, 反应可以正常进行。其反应过程能垒如图 20(d) 所示。反应过程中能垒为 49.50 kcal/mol, 符合反应规律。在反应过程中, 赖氨酸脱 ϵ 位氨基氢原子进攻谷氨酰胺脱 γ 位酰胺基, 谷氨酰胺的氨基与碳原子分离, 与赖氨酸 ϵ 位氨基脱下的氢反应, 生成一分子氨。赖氨酸的 ϵ 位氨基与谷氨酰胺 γ 位酰胺基的碳原子结合。在反应过程中 2 种情况均可能发生, 各占一定比例。

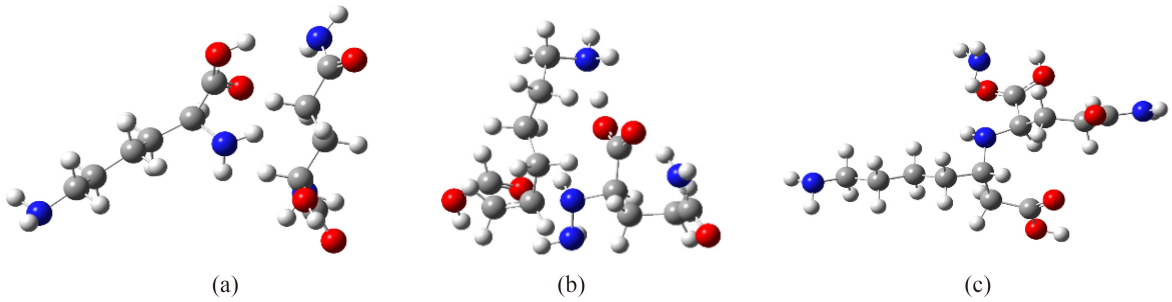


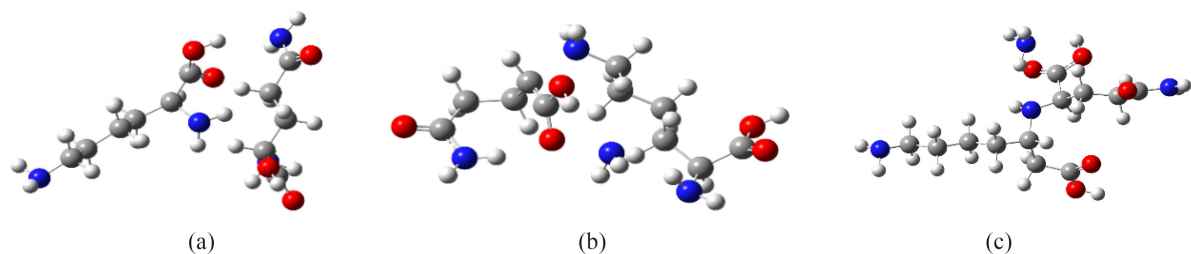
图 13 谷氨酰胺 α 位氨基与赖氨酸 α 位氨基氢脱氨反应过程

a. 反应物, b. 过渡态, c. 生成物

Figure 13 The reaction process of alpha amino in glutamine and the alpha amino hydrogen in lysine

a. reactant; b. transition state; c. product

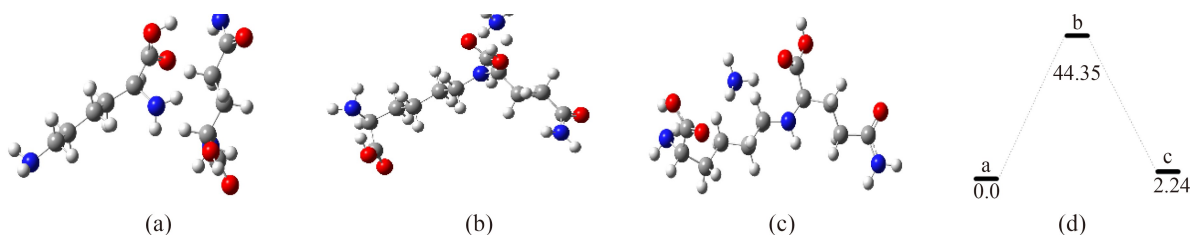
2.2.2 谷氨酸与赖氨酸合理反应过程的前线轨道电子云分布 前线轨道理论, 是一种分子轨道理论, 这一理论将分子周围分布的电子云根据能量细分为不同能级的分子轨道, 能量最高的分子轨道(即最高占据轨道 HOMO)和没有被电子占据的, 能量最低的分子轨道(即最低未占轨道 LUMO)是决定一个体系发生化学反应的关键, HOMO 和 LUMO 便是所谓前线轨道。前线轨道理论认为, HOMO 上的电子在各个原子上有一定的电子云分布, 这个分布的大小次序决定各个原子位置反应的相对难易程度, 即反应最易发生在 HOMO 电子云密度最大的原子上。

图 14 谷氨酰胺 α 位氨基氢与赖氨酸 ϵ 位氨基脱氢反应过程

a. 反应物, b. 过渡态, c. 生成物

Figure 14 The reaction process of glutamine alpha amino hydrogen and lysine amino epsilon

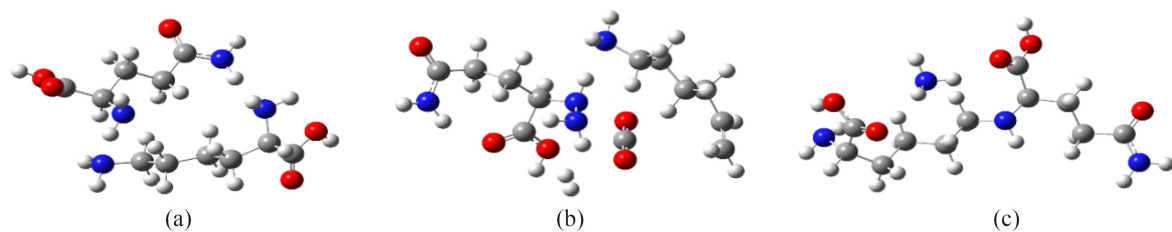
a. reactant; b. transition state; c: product

图 15 谷氨酰胺 α 位氨基与赖氨酸 ϵ 位氨基氢脱氢反应过程、反应路径的势能面和相对能量 单位: kcal/mol

a. 反应物, b. 过渡态, c. 生成物, d. 势能面和相对能量

Figure 15 The reaction process potential energy surface reaction path and relative energy of glutamine alpha amino and lysine epsilon amino hydrogen Unit: kcal/mol

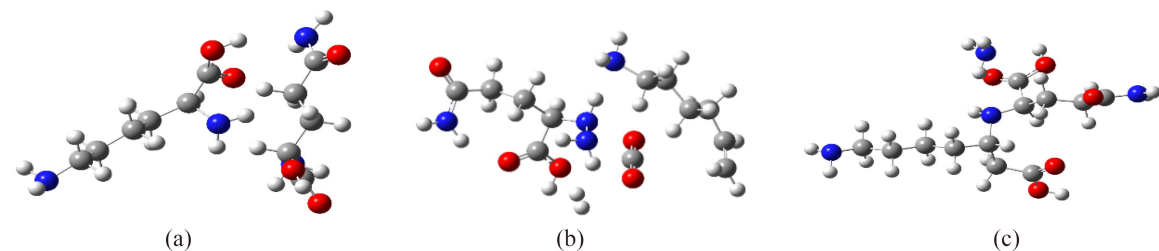
a. reactant; b. transition state; c: product; d: potential energy surface and relative energy

图 16 谷氨酰胺 α 位氨基氢与赖氨酸 ϵ 位氨基脱氢反应过程

a. 反应物, b. 过渡态, c. 生成物

Figure 16 The reaction process of glutamine α amino hydrogen and lysine ϵ amino

a. reactant; b. transition state; c: product

图 17 谷氨酰胺 γ 位酰胺氨基氢与赖氨酸 α 位氨基脱氢反应过程

a. 反应物, b. 过渡态, c. 生成物

Figure 17 Reaction process of lglutamine γ amido hydrogen and lysine α amino

a. reactant; b. transition state; c: product

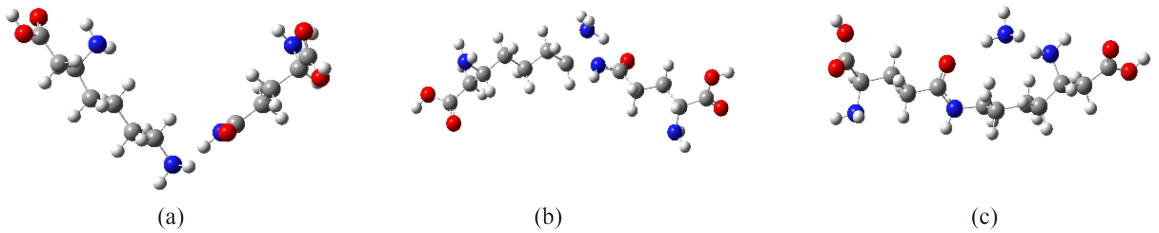


图 18 谷氨酰胺 γ 位酰胺氨基氢与赖氨酸 ϵ 位氨基反应过程

a. 反应物, b. 过渡态, c. 生成物

Figure 18 The reaction process of glutamine γ amido-amino and lysine ϵ amido-amino

a. reactant; b. transition state; c. product

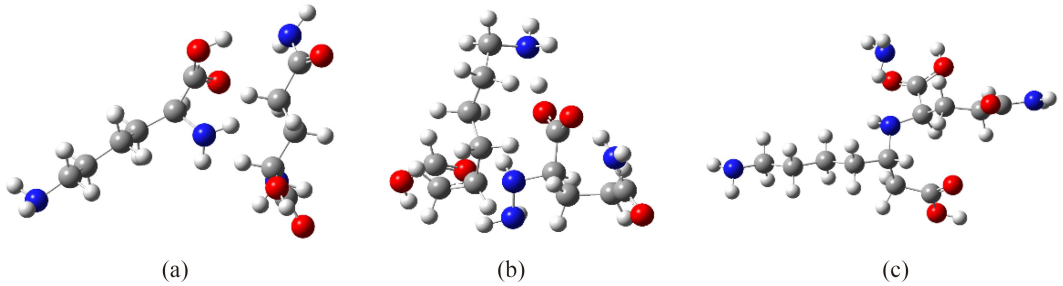


图 19 谷氨酰胺 γ 位酰胺氨基与赖氨酸 α 位氨基氢反应过程

a. 反应物, b. 过渡态, c. 生成物

Figure 19 The reaction process of Glutamine γ amino and lysine α amino hydrogen

a. reactant; b. transition state; c. product

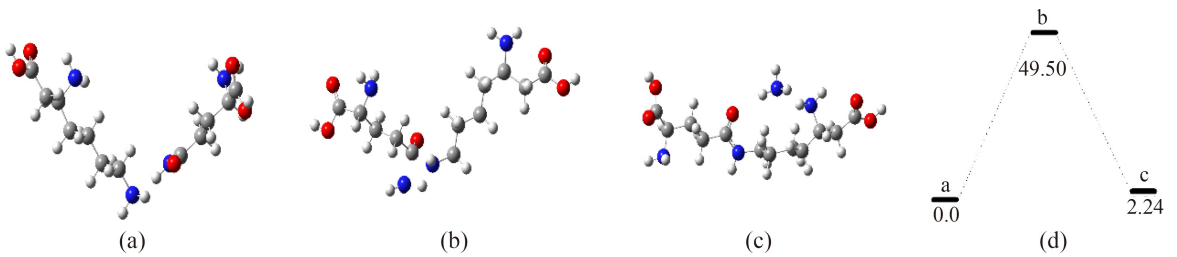


图 20 谷氨酰胺 γ 位酰胺氨基与赖氨酸 ϵ 位氨基氢反应过程, 反应路径的势能面和相对能量 单位: kcal/mol

a. 反应物, b. 过渡态, c. 生成物, d. 势能面和相对能量

Figure 20 The reaction process potential energy surface reaction path and relative energy of glutamine

gamma amino and lysine epsilon amino hydrogen amide unit: kcal/mol

通过计算得出的合理的谷氨酰胺、赖氨酸、反应过程中反应物、过渡态和生成物的前线轨道电子云分布,如图 21 和图 22 所示,由图可以看出,谷氨酰胺的 HOMO 轨道电子云主要分布于整个分子,而 LUMO 轨道电子云主要分布于羧酸基团上。赖氨酸的 HOMO 轨道电子云主要分布于 ϵ 氨基上,而 LUMO 轨道电子云主要分布于羧酸基团上。由此可以看出,赖氨酸的 ϵ 氨基更易于与谷氨酰胺反应。这与模拟的反应过程结果是相一致的。反应过程中的反应物、过渡态和生成物的 HOMO 和 LUMO 电子云没有明显变化。

3 结论

本文利用 Gaussian 软件,密度泛函 m062x/6-31+G(d,p)方法模拟了赖氨酸与谷氨酰胺的反应过程,对其反应机理进行了理论探讨与研究。通过计算确定了转谷氨酰胺酶活性中心 5 个氨基酸结合最佳

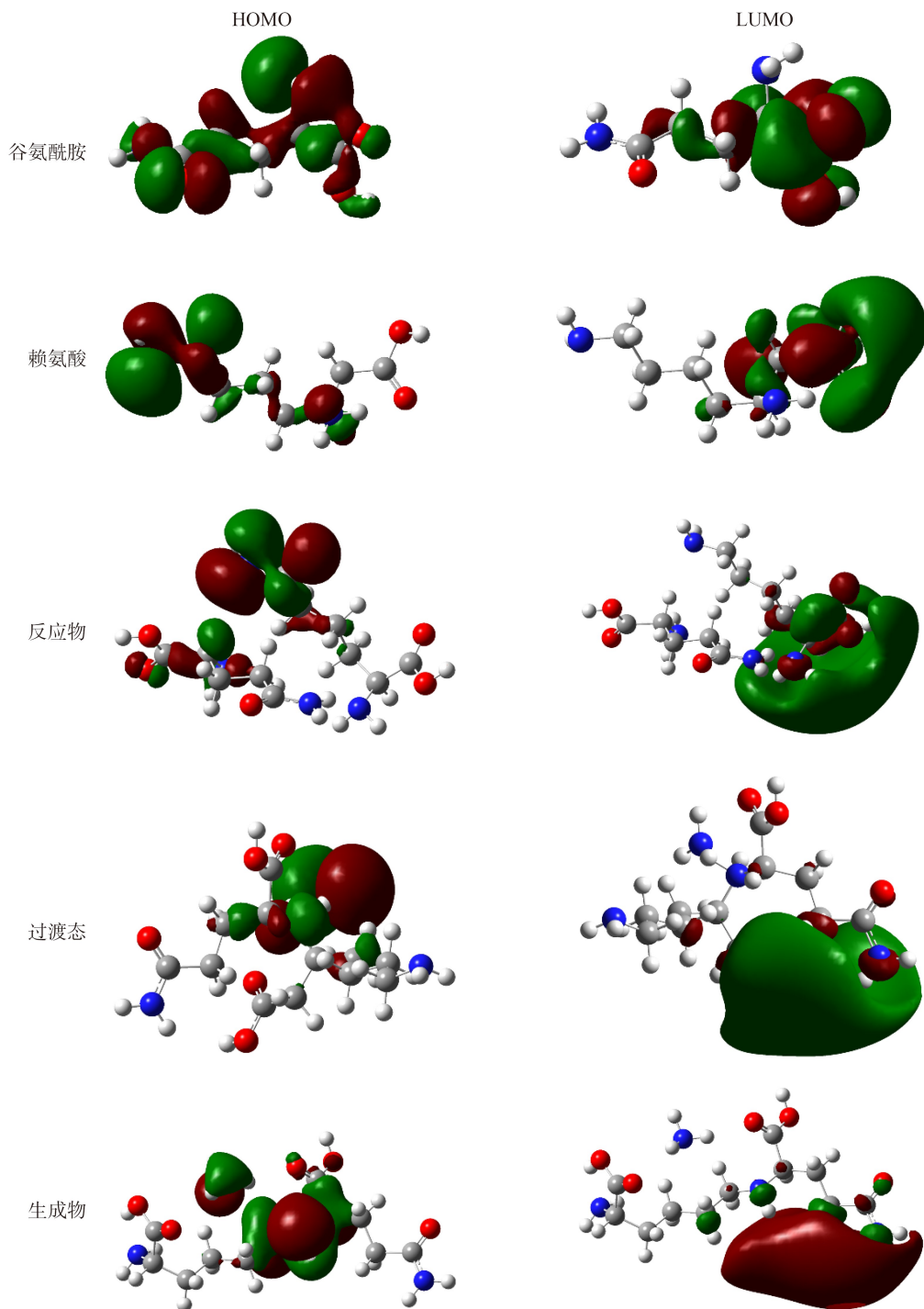


图 21 谷氨酰胺脱 α 位氨基与赖氨酸脱 ϵ 位氨基氢反应过程的前线轨道电子云分布

Figure 21 Glutamine release hydrogen alpha amino and lysine epsilon off bits amino orbital electron density distribution in the forefront of the reaction process

结构, 计算了酶活性中心最佳结构催化 SPI 的赖氨酸和谷氨酰胺脱氨反应。根据计算结果可知, 在 8 种可能脱氨的方式中, 只有 2 种方式反应能顺利进行, 一种方式是 TGase 催化 SPI 反应过程为赖氨酸脱 ϵ 位氨基氢原子进攻谷氨酰胺脱 α 位氨基, 谷氨酰胺的氨基与碳原子分离, 与赖氨酸 ϵ 位氨基脱下的氢结合, 生成一分子氨, 反应过程的能垒为 44.35 kcal/mol; 另一种方式是谷氨酰胺脱 γ 位酰胺的氨基, 赖氨

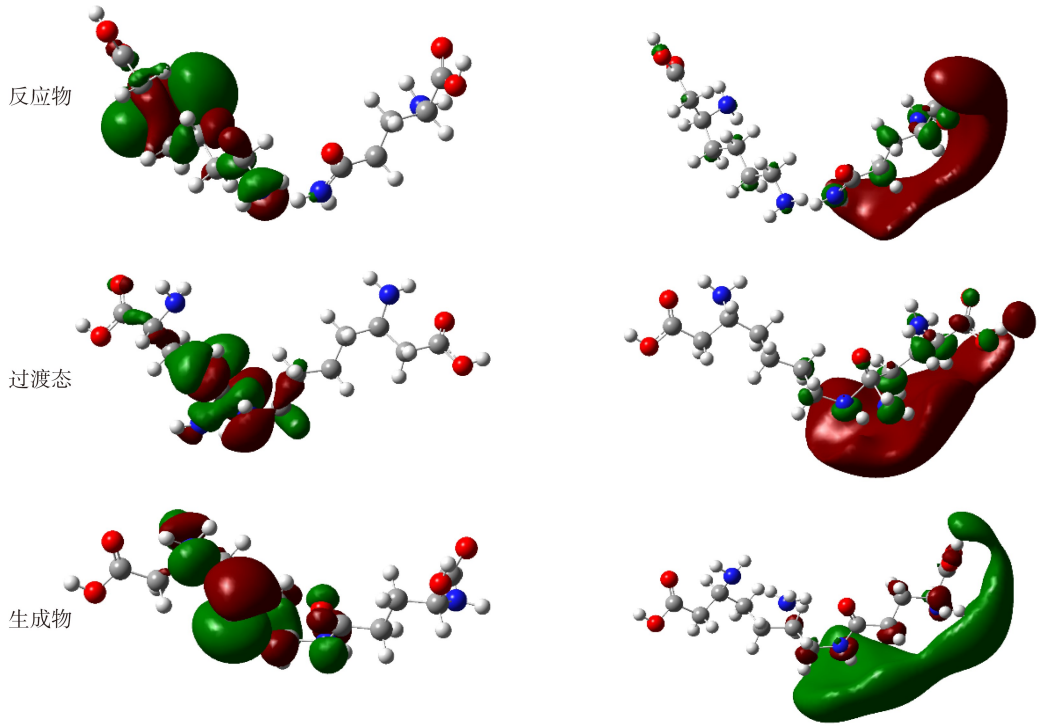


图 22 谷氨酰胺 γ 位酰胺氨基与赖氨酸 ϵ 位氨基氢反应过程的前线轨道电子云分布

Figure 22 glutamine gamma amide amino and lysine epsilon amino hydrogen reaction process of the frontier orbital distribution of electron cloud

酸脱 ϵ 位氢原子,谷氨酰胺 γ 位酰胺的氨基与碳原子分离,与赖氨酸脱下的氢结合,生成一分子氨,反应过程的能垒为 49.50 kcal/mol。通过计算得出转谷氨酰胺酶可以催化 SPI 以 2 种方式随机交联,每种方式各占一定比例,发生脱氨反应,前线轨道分布理论模拟与过渡态理论模拟结果一致。

参考文献:

[1] 孙小媛,王一帆,王韞慧,蒯佳雨,李金红,丘远涛,方小龙,孔凡江,李美娜. 遗传,2021,43(1):52~65.
 [2] 曾艳,郝学财,董婷,孙媛霞. 食品工业科技,2021,42(3):338~345,350.
 [3] 曾剑华,刘琳琳,杨杨,张娜,石彦国,朱秀清. 大豆科学,2019,38(1):142~147,158.
 [4] 吴劲轩,夏文银,夏川林,蒲军,郭俊英,冯俊,王香君,殷浩. 食品工业科技,2020,41(17):345~351.
 [5] 张庆霞. 食品研究与开发,2019,40(10):206~211.
 [6] 王荣顺. 基础量子化学. 长春:东北师范大学出版社,2006.
 [7] 苏培峰,谭凯,吴安安,吕鑫,赵仪,曹泽星,吴玮. 厦门大学学报,2011,50(2):311~318.
 [8] Liu S B. Acta Phys Chim Sin, 2009, 25 (3): 590~600.
 [9] Kohn W, Sham L J. Phys Rev,1965, 140 (4A): A1133~A1138.
 [10] Kohn W, Becke A D, Parr R G. J Phys Chem, 1996,100 (31): 12974~12980.
 [11] Hohenberg P, Kohn W. Phys Rev,1964,136 (3B):B864~B871.
 [12] Anslyn E V, Dougherty D A. Transition State Theory and Related Topics. In Modern Physical Organic Chemistry. California: University Science, 2006:365~373.
 [13] 李严. 几类重要的离子/自由基-分子反应的理论研究. 长春:吉林大学理论化学研究所,2010.
 [14] 郑铁莹水. 或多肽参与的绿色催化反应机制理论研究. 长春:东北师范大学,2011.
 [15] Frisch M J, Trucks, G W, Schlegel, H B, et al. Inc,Wallingford CT,2009.
 [16] Gonzalez C, Schlegel H B. J Phys Chem, 1990, 94(14):5523~5527.
 [17] Gonzalez C, Schlegel H B. J Chem Phys, 1989,90(4):2154~2161.
 [18] Gonzalez C, Schlegel H B. J Chem Phys, 1991,95(8):5853~5860.

Study on Mechanism of Transglutaminase Cross-linking Soybean Protein Isolate Simulated by Gauss Software

ZANG Xue-li, HUANG Zhi-yuan, YE Chun-min*

(Changchun Medical College, Changchun 130031, China)

Abstract: The purpose of this study is to further verify the mechanism of transglutaminase (TGase) cross-linking soybean protein isolate (SPI). The mechanism of SPI cross-linked with transglutaminase is simulated by Gaussian software, which is usually used in the field of the heterogeneous catalysis and biocatalysts. And the catalytic process is simulated by the chemical method. The results show that the center of transglutaminase activity connected with 5 amino acids is the optimal structure by calculation. The enzymatic catalysis of the lysine and glutamine dehydrogenation reactions is simulated. The calculating results indicate that there are 8 possible deamination reactions. However, only 2 reactions can be carried out smoothly. Each method has a certain proportion, that is, glutamine amide γ -amide and lysine ϵ -amino hydrogen. Deamination reaction occurred between amino group and lysine toxic amino hydrogen, and the energy barriers of the reaction process were 49.50 and 44.35 kcal/mol, respectively. SPI can be cross-linked randomly to produce high molecular weight polymers. As a result, the functional characteristics of SPI is changed, and the gel strength of isolated soybean protein is improved.

Key words: Gaussian software; Transglutiminase; Cross-linking; Soy protein isolate; Mechanism