

ХИРАЛЬНОСТЬ КАК ФИЗИЧЕСКАЯ ОСНОВА ИЕРАРХИЧЕСКОЙ ПЕРИОДИЗАЦИИ СТРУКТУР БИОМАКРОМОЛЕКУЛ

© 2020 г. Е.В. Малышко, А.Р. Муртазина, В.А. Твердислов

*Физический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,
119991, Москва, Ленинские горы, 1/2*

E-mail: katyamalyshko@mail.ru

Поступила в редакцию 28.12.2019 г.

После доработки 15.01.2020 г.

Принята к публикации 16.01.2020 г.

Предложена и обоснована универсальная система классификации уровней молекулярных структур живой клетки как иерархии знакопеременных хиральных конструкций, отражающая физическую (термодинамическую/энтропийную) основу внутримолекулярного и надмолекулярного фолдинга. Выделены тенденции межмолекулярных хиральных соответствий, характерных для взаимодействий макромолекул одного и разного типов на соответствующих уровнях молекулярной организации (белок–белок–L-L; нуклеиновые кислоты–ДНК–РНК–D-D; белок–нуклеиновые кислоты L-D; белки и нуклеиновые кислоты с L-липидами мембран – в соответствии со знаком хиральности соответствующего уровня организации структуры макромолекул).

Ключевые слова: хиральность, энантимеры, белки, цитоскелет.

DOI: 10.31857/S0006302920020015

Понятия симметрии и нарушения симметрии имеют фундаментальное значение не только в физике, но, по-видимому, и в науках о живых системах. При этом речь идет не столько о проявлениях симметрии, формирующих структуры и явления, сколько о базовых принципах. Важной особенностью живых систем является иерархическая сопряженность их структур и функций. Мы полагаем, что воспроизведение характерных паттернов в самоорганизующихся структурах разного уровня с изменяющимися физическими механизмами структурообразования основывается на единых симметричных принципах. Эволюционно сформировавшаяся и ставшая базовой система четко стратифицированных уровней макромолекулярных и надмолекулярных биологических структур основана на явлении хирального дуализма [1, 2]. В живых системах был замечен, а затем обнаружен и в неживых системах, общий системный принцип спонтанного формирования дискретных иерархических структур в исходно гомохиральных системах. Его характерная особенность проявляется в формировании череды вложенных или параллельно развивающихся структур с подобным или изменяющимся типом симметрии, возрастающим масштабом и, что принципиально важно, изменяющимся знаком хиральности [3]. Как мы поясним ниже, гомохиральные системы в принципе неравновесны и

способны к структурным перестройкам в ходе диссипации свободной энергии.

Явление хиральности в живых системах в последнее время привлекает все большее внимание исследователей. При этом множатся экспериментальные данные, подходы и мнения по вопросу о земном или космическом его происхождении. Однако странным образом не поднимается вопрос о биологической значимости данного феномена – эволюционно отобранного и закрепившегося общебиологического признака живого. В принципе, можно представить себе «живую материю», полностью составленную из ахиральных молекул.

Анализируя проблему структурных и функциональных иерархий в живых системах, мы встречаемся с ярким воплощением реализуемого природой системного принципа – «использовать» удачные структурные находки или какие-либо спонтанно протекающие процессы неживой природы, обращая их в подходящие функции. Так, всеобщая иерархичность природы является функционально значимым атрибутом всех биологических систем, поскольку позволяет сочетать разномасштабные процессы в пространстве и времени, сопрягая их в различных жизненных проявлениях. Центральным утверждением в развиваемой нами концепции является положение о том, что образование молекулярно-биологиче-

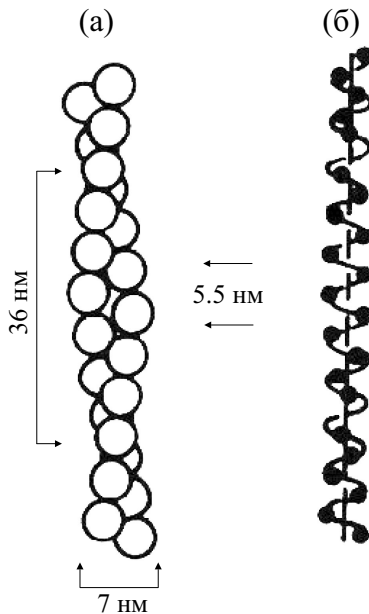


Рис. 1. Схематическое изображение структуры F-актина, определенное с помощью электронной микрофотографии: (а) — микрофиламент — двухцепочечная правая спираль; (б) — воображаемая спираль, проходящая через каждый мономер актима, следующая выше по оси микрофиламента (адаптировано из работы [6]).

ских иерархий непосредственно связано с явлением хиральности.

Ранее нами была описана новая общая закономерность, характерная для процессов структурообразования в исходно гомохиральных системах живой и неживой природы [1–5]. Было обнаружено, что в молекулах белков и нуклеиновых кислот, имеющих гомохиральную основу (L-аминокислоты в первичных полипептидных цепях и углеводов D-дезоксирибоза/рибоза в ДНК и РНК), спонтанно формируются иерархические структуры с изменяющимся масштабом и сменой типа симметрии, принципиальной особенностью которых является чередование знака хиральности. Отмечено чередование знака хиральности D–L–D–L при переходе на более высокий уровень структурно-функциональной организации ДНК для наиболее распространенной В-формы. Последовательность смены знака хиральности в структурно-функциональной иерархии белковых структур подобна той, что мы наблюдаем для ДНК, но со сдвигом по фазе на 180° : L–D–L–D.

Подобный эффект описан нами и для искусственных модельных полимерных и жидкокристаллических систем, ранее не замеченный в неживой природе, где в естественных условиях гомохиральные системы практически не встречаются, поскольку не являются устойчивы-

ми вследствие известных процессов рацемизации [3, 4].

В развитие разрабатываемой концепции в данной работе внимание сфокусировано на переходе от макромолекул к надмолекулярным структурам (элементам цитоскелета внутри живой клетки — микрофиламентам, промежуточным филаментам и микротрубочкам). Высказывается гипотеза о том, что закономерность периодичности внутримолекулярных хиральных структур распространяется на надмолекулярный уровень — уровень цитоскелета.

ВНУТРИМОЛЕКУЛЯРНЫЕ И НАДМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ХИРАЛЬНЫЕ СТРУКТУРЫ КЛЕТОК

Особый интерес представляет изменение знака хиральности на более высоких уровнях внутриклеточных структур, а именно в таких супрамолекулярных белковых конструкциях, как элементы цитоскелета. К ним относятся микрофиламенты, промежуточные филаменты и микротрубочки.

Микрофиламенты подстилают мембрану клетки, что придает ей механическую прочность. Благодаря способности образовывать различные пространственные конфигурации микрофиламенты участвуют в образовании ламеллоподий, филоподий, что необходимо для перемещения клетки в пространстве. Пучки микрофиламентов закоривают мембранные белки и формируют фокальные контакты. Микрофиламент сложен из мономеров глобулярного актима (G-актина). Далее G-актин выстраивается в одноцепочечную левую спираль с поворотом на -166° вокруг оси спирали [6]. Молекулы расположены на одной спирали с повторением через 13 молекул за почти ровно шесть левых поворотов. Повышение на молекулу составляет 2.76 нм, а закрутка на молекулу составляет $-166.6 \pm 0.6^\circ$ [7, 8]. Это четвертичная структура микрофиламента.

Наконец, две левозакрученные цепочки G-актина, свитые в правую спираль, образуют супрамолекулярную структуру — сам микрофиламент (также называемый F-актином) (рис. 1) [6].

Скрученные правым образом двойные спирали (микрофиламенты) ориентированы на взаимодействие с левыми фосфолипидами мембраны клетки эукариот, что подтверждает выдвинутую нами ранее гипотезу о взаимодействии между разнотипными молекулами с разным знаком хиральности (L с D или D с L) [5].

Промежуточные филаменты — следующий вид элементов цитоскелета — имеют каркасную функцию. Они пронизывают всю клетку от одной десмосомы до другой, придавая клетке механическую прочность. Отдельный вид промежуточных

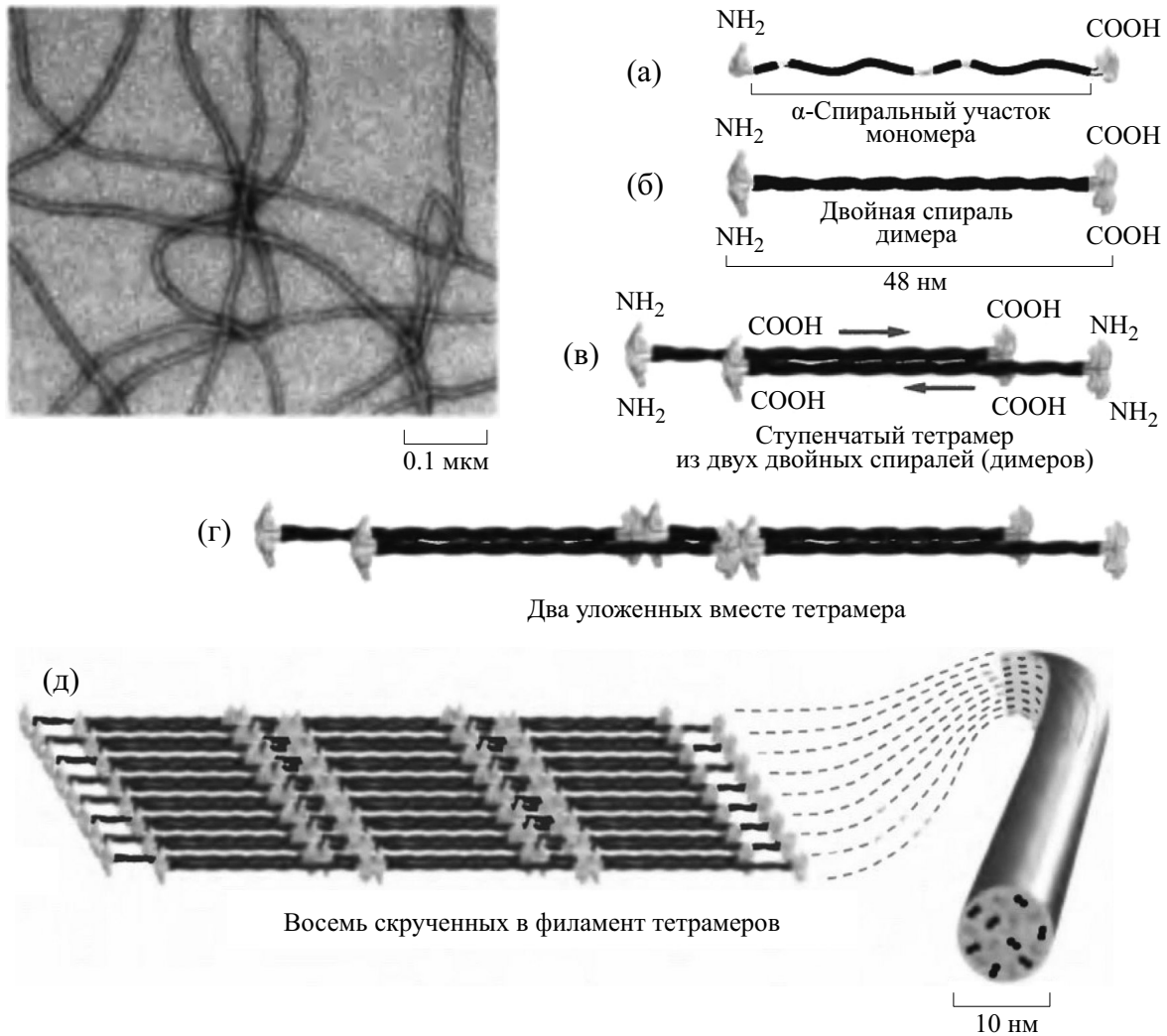


Рис. 2. Электронная микрофотография и модель сборки промежуточных филаментов (адаптировано из работы [13]).

филаментов – ядерная ламина – представляет собой сеть, подстилающую ядерную мембрану и влияющую на компактизацию хроматина. Промежуточный филамент имеет структуру, похожую на веревку, – суперспираль из 32-х протяженных правых α -спиралей в поперечном сечении филамента (рис. 2) [9].

Необходимо отметить, что на сегодняшний день окончательно не выяснено экспериментально относительное расположение этих 32 α -спиралей внутри промежуточного филамента. Разрабатываются различные модели его сборки [10]. Однако известно, что две α -спирали образуют левозакрученный димер по принципу «голова к голове, хвост к хвосту» [9, 11]. Два таких димера объединяются по принципу «голова к хвосту», образуя тетрамер, также называемый протофиламентом, причем скручиваются эти димеры друг относительно друга вправо, чтобы максимизировать площадь контакта [12]. Правозакрученный

тетрамер – четвертичный уровень структуры промежуточного филамента. Наконец, восемь тетрамеров собираются в промежуточный филамент, скручиваясь влево [13, 14], что соответствует супрамолекулярному структурному уровню.

У человека обнаружено около семидесяти различных видов промежуточных филаментов, отличающихся по расположению в клетке и по функциям, но очень сходных по строению, за исключением хвостовых доменов [9, 13]. Так, есть цитоплазматические промежуточные филаменты и ядерные. К цитоплазматическим промежуточным филаментам относятся следующие их типы: виментин-подобные, эпителиальные и аксональные промежуточные филаменты. Ядерные промежуточные филаменты – ламины – подстилают мембрану клеточного ядра. Левозакрученные ядерные промежуточные филаменты – ламины – ориентированы на взаимодействие с хромосом-

Взаиморасположение хиральных структур в системе филаментов цитоскелета эукариотов

Структурные уровни организации белка	Микрофиламент	Промежуточный филамент	Микротрубочка
I	Аминокислоты L	Аминокислоты L	Аминокислоты L
II	α -Спирали D	α -Спирали D	α -Спирали D
III	G-актин (глобула) ???	Суперспирали-димеры L	Мономер тубулина (α/β - тубулин) ???
IV	Одна нить из G-актина L	Тетрамеры-протофиламенты D	Гетеродимер тубулина (α - и β -тубулин) ???
Супрамолекулярная структура	Две нити из G-актина D	Веревкоподобный филамент из восьми тетрамеров L	Трехзаходная спираль L

ной ДНК (которая в расплетенном виде является правой двойной спиралью) [15, 16].

Микротрубочки на супрамолекулярном уровне своей структуры представляют собой трехзаходную левозакрученную спираль [17, 18]. Они направлены от ядра к периферии и необходимы для сравнительно быстрого направленного внутриклеточного транспорта, что критически важно в митозе при растаскивании хромосом к полюсам дочерних клеток. Левозакрученные микротрубочки, как мы полагаем, эволюционно «нацелены» на взаимодействие (хоть и опосредованное) с хромосомной ДНК при митозе [13].

В таблице нами систематизированы данные о знаке хиральности структурных уровней элементов цитоскелета.

Отдельные ячейки в таблице (как, например, для третичной структуры мономера тубулина) не содержат знака хиральности, характерного для этой структуры, поскольку оценка хиральности глобулы в настоящее время не представляется возможной из-за отсутствия универсальной меры хиральности подобных структур.

Таким образом, в работе отмечено чередование знака хиральности на более высоких, нежели внутримолекулярные, уровнях организации кле-

точных структур. Поскольку цитоскелет — это система, пронизывающая клетку, можно предположить, что хиральность его элементов служит направляющим мотивом для внутриклеточных взаимодействий между структурами, включающими молекулы различного типа хиральности. Обнаружено взаимодействие между разнотипными молекулами с разным знаком хиральности. Так, правозакрученные микрофиламенты ориентированы на взаимодействие с левыми фосфолипидами мембраны клетки. Левозакрученные ламинины и микротрубочки направлены на взаимодействие с ДНК — правыми двойными спиралью. Напомним, что при взаимодействии между однотипными макромолекулами на разных структурных уровнях, как мы предполагаем, сходство характеризуется одинаковым знаком хиральности (белок-белок — L, нуклеиновые кислоты (ДНК, РНК) — D) [5].

Ранее мы отмечали, что чередование знака хиральности прослеживается на надмолекулярных структурных уровнях комплексов актина, тропомиозина и миозина [5]. Фибриллярный белок тропомиозин представляет собой структуру типа coiled-coil, для которой характерно образование левозакрученной суперспирали из двух правозакрученных α -спиралей [19]. Тропомиозин взаимодействует только с F-актином, с G-актином взаимодействия нет [20]. Левая суперспираль тропомиозина наматывается на F-актин правым образом (рис. 3) [7]. Взаимодействие этих белков — яркий пример взаимодействия супрамолекулярных структур.

Хвосты миозина II на четвертичном уровне своей структуры образуют правозакрученную фибриллу, при этом на третичном уровне имея левозакрученное перекрытие α -спиралей. При

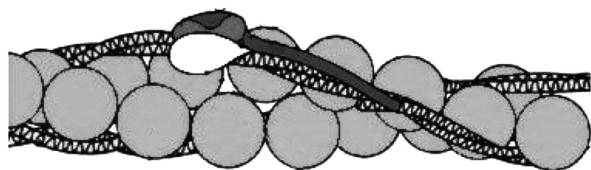


Рис. 3. Левая суперспираль тропомиозина наматывается на F-актин правым образом.

мышечном сокращении правозакрученная миофибрилла взаимодействует с правозакрученной актиновой фибриллой.

Образование знакопеременных хиральных иерархий в макромолекулярных структурах связано с существованием энергетической воронки в конфигурационном пространстве на поверхности потенциальной энергии со сложным ландшафтом, которая втягивает процесс сворачивания полипептидной цепи в нативную конформацию [3, 21]. Такая воронка, по-видимому, характеризуется семейством близко расположенных минимумов свободной энергии и задает направление траектории фолдинга, проходящей через цепочку таких локальных минимумов. Данный процесс обусловлен четкой физической причиной — стремлением системы понизить исходный уровень свободной энергии, образующийся при энергозависимом отборе гомохиральных мономеров первичных структур макромолекул из их рацемических смесей. Однако совершенно не очевидно, что система достигает своего глобального минимума, поскольку должна сохранять возможность реализации конформационных переходов, необходимых для функционирования макромолекул разного типа как молекулярных машин.

В живых клетках антиэнтропийная выборка левых аминокислот молекулами тРНК происходит с затратой энергии АТФ [22]. Из этого следует, что первичная структура белков — полипептидная цепь из остатков левых аминокислот — содержит распределенный запас свободной энергии. Поэтому можно полагать, что обнаруженные нами знакопеременные хиральные комплементарные друг к другу последовательности структурных уровней L–D–L–D для белков определяют траекторию, по которой направляется фолдинг макромолекул. Происходит процесс «вертикальной рацемизации».

Переключение знака хиральности на первичном, вторичном и третичном уровнях структуры белков обусловлено гомохиральностью элементов, составляющих эти уровни (L-аминокислоты, правые α -спирали, левые суперспирали) [3]. Эти структуры в процессах функционирования не претерпевают разборки, уровни функционируют как единое целое. На более высоких надмолекулярных структурных уровнях белков (на четвертичном и супрамолекулярном уровнях) процесс спонтанного формирования знакопеременных хиральных иерархий может продолжаться, что мы и наблюдаем. До этого момента внешние источники энергии не требуются. Однако эти сократительные структуры или структуры цитоскелета в процессе функционирования должны подвергаться разборке. Тут уже требуется энергия, которую поставляют для F-актина связанные при

полимеризации молекулы АТФ. Для разборки же тубулиновых микротрубочек используется ГТФ. У микрофиламентов молекула АТФ (или АДФ) связана с каждым мономером актина. У микротрубочек ГТФ/ГДФ являются частью димера тубулина (с мономером α -тубулина всегда связан ГТФ, с мономером β -тубулина — ГТФ, гидролизующийся в ГДФ) [13]. Существенно, что включение в названные системы негидролизующихся аналогов макроэргических соединений не препятствует их самосборке, но останавливает их разборку. Это прямое свидетельство того, что именно разборка или расслабление надмолекулярных структур является энергоакцепторным процессом.

В отличие от микрофиламентов и микротрубочек субъединицы промежуточных филаментов не включают в себя нуклеозидтрифосфаты. Их сборка на более высоких структурных уровнях сходна со сборкой на первичном, вторичном и третичном уровнях структуры: решающую роль играют латеральные контакты между спиралями различных уровней: правыми α -спиралями, затем левыми суперспиральными димерами, далее — правыми тетрамерами, образующими в итоге «веревкоподобную» структуру. Однако и здесь разборка связана с фосфорилированием при участии киназ [23].

В заключение мы хотели бы отметить, что введение представлений о хиральном дуализме в рассмотрение молекулярных и надмолекулярных структур клетки позволило увидеть их «тонкую структуру»: в дополнение к периодическим структурам каждого уровня спонтанно формируются вертикальные периодические структуры, причем сам процесс их формирования можно представить как процесс автоволновой самоорганизации в активных средах, где распределенный ресурс свободной энергии определяется гомохиральностью первичных структур.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-74-00082).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. V. A. Tverdislov, arXiv **1212**, 1677 (2012).
2. В. А. Твердислов, Биофизика **58** (1), 159 (2013).
3. В. А. Твердислов и Е. В. Малышко, Успехи физ. наук **189**, 375 (2019).
4. В. А. Твердислов, Е. В. Малышко и С. А. Ильченко, Изв. РАН. Сер. физ. **79** (12), 1728 (2015).
5. В. А. Твердислов, Е. В. Малышко, С. А. Ильченко и др. Биофизика **62** (3), 421 (2017).
6. E. D. Korn, *Physiol. Rev.* **62** (2), 672 (1982).
7. R. A. Milligan, M. Whittaker, and D. Safer, *Nature* **348** (6298), 217 (1990).
8. R. Dominguez and K. C. Holmes, *Annu. Rev. Biophys.* **40**, 169 (2011).
9. H. Herrmann and U. Aebi, *Annu. Rev. Biochem.* **73** (1), 749 (2004).
10. N. S. Murthy, W. Wang, and Y. Kamath, *J. Struct. Biol.* **206** (3), 295 (2019).
11. F. H. C. Crick, *Acta Crystallographica* **6**, 689 (1953).
12. D. J. Bray, T. R. Walsh, M. G. Noro, et al., *PloS One* **10** (7), (2015).
13. Б. Альбертс, А. Джонсон, Д. Льюис и др., *Молекулярная биология клетки* (НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», Институт компьютерных исследований, М. – Ижевск, 2013).
14. E. Fuchs and K. Weber, *Annu. Rev. Biochem.* **63** (1), 345 (1994).
15. L. E. Kapinos, P. Burkhard, H. Herrmann, et al., *J. Mol. Biol.* **408** (1), 135 (2011).
16. T. Dechat, S. A. Adam, P. Taimen, et al., *Cold Spring Harbor Perspectives Biol.* **2** (11), (2010).
17. L. A. Amos, A. Klug *J. Cell Sci.* **14** (3), 523 (1974).
18. D. Chrétien, J. M. Kenney, S. D. Fuller, et al., *Structure* **4** (9), 1031 (1996).
19. И. А. Невзоров и Д. И. Левицкий, Успехи биол. химии **51**, 283 (2011).
20. S. V. Perry, *J. Muscle Res. Cell Motil.* **22** (1), 5 (2001).
21. C. Levinthal, *Mossbauer Spectroscopy in Biological Systems Proc.* **67** (41), 22 (1969).
22. B. Lewin, et al., *Cells* (Jones & Bartlett Publ., London, 2007).
23. A. A. Hyman, S. Salser, D. N. Drechsel, et al. *Mol. Biol. Cell* **3**, 1155 (1992).

Chirality as a Physical Basis of Hierarchical Periodization of Biomacromolecular Structures

E.V. Malyshko, A.R. Murtazina, and V.A. Tverdislov

Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/2, Moscow, 119991 Russia

A unified system of classification of levels of molecular structures of a living cell as the hierarchy of alternating-sign chiral structures that reflects a physical (thermodynamic/entropic) basis of intramolecular and supramolecular folding has been proposed and substantiated. The tendencies for intermolecular chiral correspondences characteristic of the interactions between macromolecules of the same and different types at the corresponding levels of molecular organization (protein–protein–L-L; nucleic acids–DNA–RNA–D-D; protein–nucleic acids L-D; proteins and nucleic acids with L-lipids of membranes – according to the sign of chirality of the corresponding level of organization of the structure of macromolecules) have been identified.

Keywords: chirality, enantiomers, proteins, cytoskeleton