

УДК 577.3

СВЯЗЬ ХИРАЛЬНЫХ ИЕРАРХИЧЕСКИХ СТРУКТУР БЕЛКОВ С ИХ ФУНКЦИЯМИ

© 2020 г. Е.В. Малышко, О.Е. Багрова, 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 28.12.2019 г.

Принята к публикации 10.02.2020 г.

Впервые исследованы особенности распределения вторичных структур и суперспиралей coiled coil с учетом знака хиральности в полипептидных цепях белков, входящих в восемь функциональных классов: белки вирусов, шапероны, оксидоредуктазы, гидролазы, структурные белки, белки экзо- и эндоцитоза и белки транспорта электронов. Выявлены общие для всех исследуемых классов закономерности, а также характерные для каждого класса особенности строения.

Ключевые слова: хиральность, белки, вторичная структура, α -спираль, β -лист, суперспираль.

DOI: 10.31857/S0006302920030023

Выяснение физических принципов формирования уникальных структур биомолекул и механизмов их функционирования на протяжении десятилетий остается актуальной проблемой молекулярной биофизики. Фундаментальные вопросы относительно механизмов внутримолекулярного и надмолекулярного структурообразования, работы макромолекул как молекулярных машин остаются в значительной степени невыясненными.

Настоящая работа посвящена выявлению закономерностей в распределении вторичных структур, образующих динамичный каркас белковых молекул. Исследования по выявлению закономерностей и соответствий между «хиральным» строением белка и его функциями могут позволить глубже понять тонкие механизмы конформационных подвижек в глобулах белков при их функционировании, в частности, посредством анализа структуры их полипептидной цепи. В основе данной работы лежит анализ знака хиральности исследуемых структур. А само явление хиральности, как мы считаем, играет одну из ключевых ролей в фолдинге белка, т.е. в сворачивании полипептидной цепи.

Попытки прогнозирования вторичных структур белков по известной первичной структуре проводились еще во второй половине прошлого столетия. В частности, в 1970-х годах П. Чоу и Г. Фасман сумели разработать метод прогнозирования

вторичных структур с точностью в пределах от 50 до 60% [1]. Анализ наличия вторичных структур в белках встречается в значимой работе Н.Г. Есиповой и соавт. [2]. Однако в предыдущих исследованиях не было получено распределение структур по цепи, а только их количественное содержание в белке в целом. Кроме того, не учитывался знак хиральности вторичных структур белков. В работах А.А. Замятина было замечено, что многие молекулы олигопептидов равной длины выполняют одинаковую функцию [3]. Возможно, что для более высоких, нежели первичные, структурных уровней организации белков «хиральные» закономерности их строения будут более явно отражать их функции.

Ранее нами было выдвинуто и обосновано положение относительно закономерной регулярности хиральных соответствий во внутри- и надмолекулярных структурах, а также в сетях биосинтеза и метаболизма. Показано, что система хиральных соответствий молекулярных структур составляет своего рода периодическую таблицу молекулярной биологии. В макромолекулярных системах впервые были выделены как хиральные инварианты знакопеременные иерархии хиральных структур в последовательностях от «нижнего» ассиметричного атома углерода в sp^3 -гибридизации до суперспиралей и надмолекулярных структур [4–7]. Последовательность смены знака хиральности в структурно-функциональной иерархии белковых структур стартует с лево-

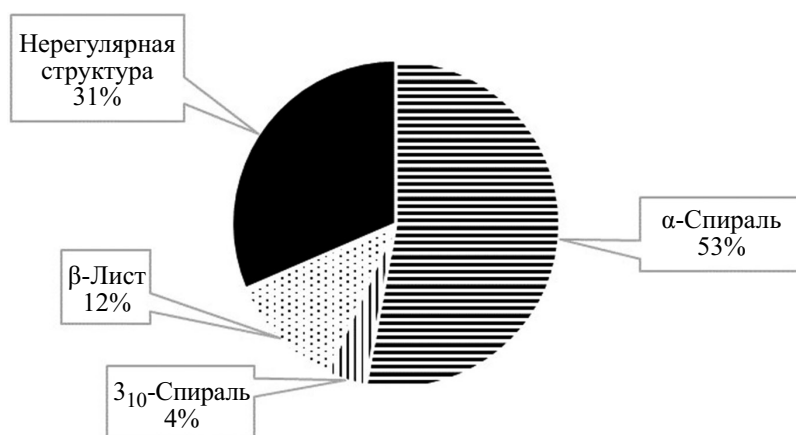


Рис. 1. Количественное содержание вторичных структур в исследованных белках.

го энантиомера: L–D–L–D. Белки, как известно, – линейные полимеры, сложенные из остатков L-аминокислот [8]. Образую вторичную структуру, полипептидная цепь может укладываться в правую α -спираль или в складчатый β -слой. Встречаются и другие регулярные структуры, но значительно реже. Элемент третичной структуры белков – суперспираль coiled coil – представлен взаимодействующими α -спиралями. Практически во всех случаях, когда визуально наблюдается внутримолекулярное тесное перекрывание α -спиралей, выявлена однозначная тенденция их свивания в левую суперспираль. Четвертичная структура белков представлена надмолекулярными структурами, сформированными преимущественно при правой укладке левых суперспиралей.

Тот факт, что цепи белка построены из L-аминокислот, не означает полное отсутствие D-аминокислот в биологических системах. L-аминокислоты отбираются транспортной РНК для синтеза первичной цепи белка в рибосомах. В то же время D-аминокислоты, как известно, отвечают за регуляторные – гормональные, морфогенетические и другие – процессы [9].

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ВТОРИЧНЫХ СТРУКТУР ПО ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПИ БЕЛКОВ

На данном этапе исследования мы проводили анализ распределения вторичных структур в полипептидных цепях. Подборку белков проводили с использованием электронной базы данных Protein Data Bank (PDB) [10]. Структура молекул в электронном ресурсе представлена в виде текстового файла определенного формата (.pdb). Для обработки этих файлов был разработан специальный алгоритм и реализован в виде программы на языке C++.

В настоящей работе были рассмотрены восемь функциональных классов белков в соответствии с классификацией PDB: белки вирусов (всего исследовано 109 белковых цепей, из которых уникальных – 26), шапероны (40 цепей, уникальных – 15), изомеразы (39 цепей, уникальных – 17), оксидоредуктазы (141 цепь, уникальных – 42), гидролазы (90 цепей, уникальных – 41), структурные (29 цепей, уникальных – 22), белки экзо- и эндоцитоза (9 цепей, уникальных – 6) и белки транспорта электронов (8 цепей, уникальных – 5). Таким образом, суммарно проанализированы 174 уникальные белковые структуры, рассмотрено 465 цепей, состоящих из более 145 тысяч аминокислотных остатков.

В результате анализа было выявлено, что 31% аминокислотных остатков не образует регулярные вторичные структуры, 57% остатков входят в спирали, 53% из которых приходится на α -спираль и 4% – на спираль 3_{10} , 12% остатков образуют β -листы. Полученное распределение приведено на рис. 1.

Данный результат можно сравнить со значениями из исследований П. Чоу и Г. Фасмана [1]. Согласно результатам их работы, на α -спирали должно приходиться 38% аминокислотных остатков, 20% – на β -структуры и 42% – на так называемые спонтанные кольца. В работе [11] указано, что от 32 до 38% всех аминокислотных остатков глобулярных белков входят в состав α -спиралей. Заметные расхождения можно объяснить выбором белков. В нашей работе результаты основаны на анализе выбранных восьми функциональных классов белков, а количественное содержание тех или иных вторичных структур связано с функцией белка.

Также следует отметить, что все исследованные спирали были правозакрученными, что в очередной раз подтверждает концепцию о зако-

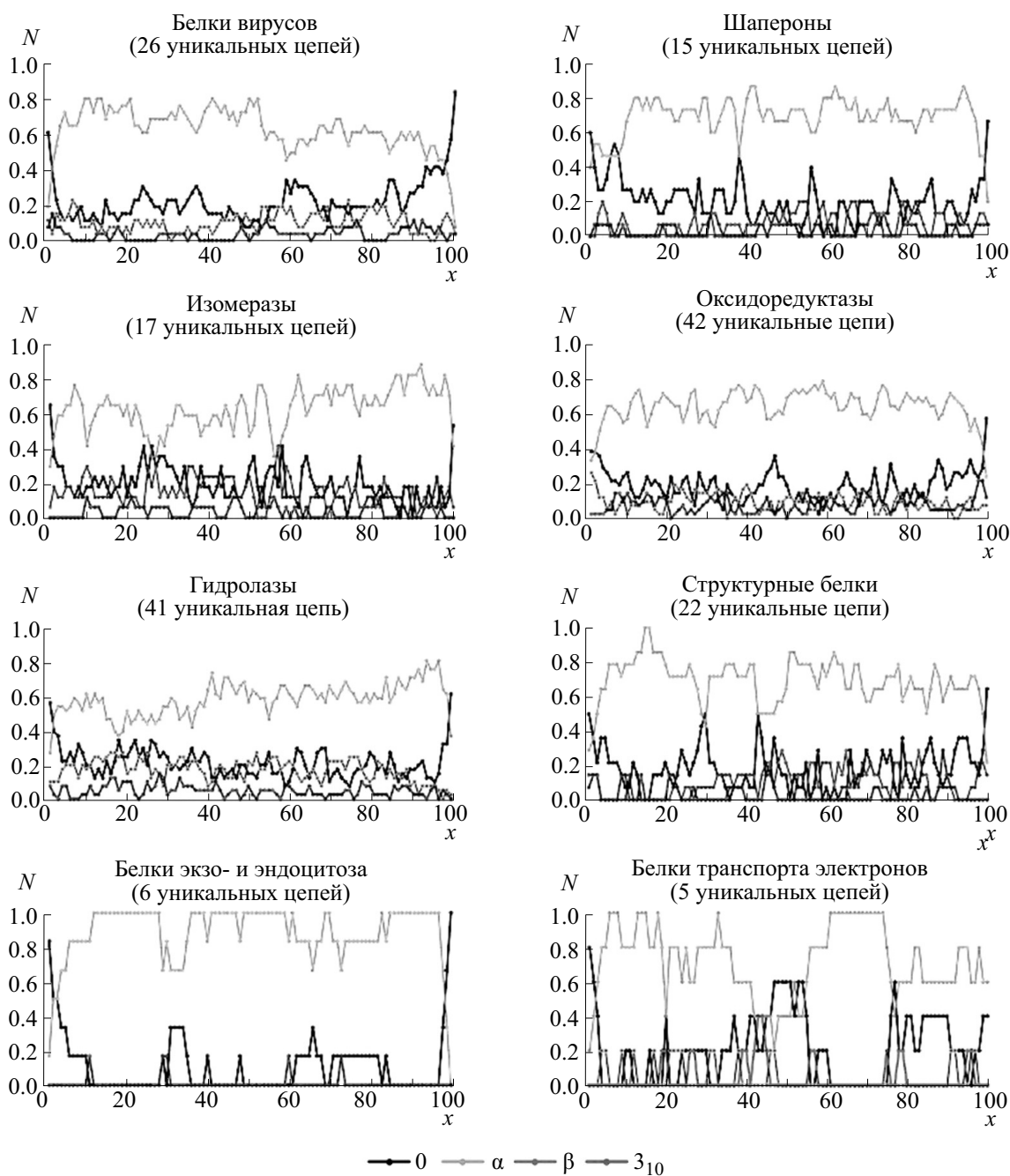


Рис. 2. Распределения вторичных структур по полипептидной цепи. По оси абсцисс отложены нормированные координаты, по оси ординат – количество структур, нормированное на общее число цепей.

номерной смене знака хиральности. Однако в работе [2] было показано, что в исследованных группой образцах в состав правозакрученных спиралей входят лишь 55.7% аминокислотных остатков. В первую очередь, это можно объяснить наличием в рассмотренных исследователями белках левых спиралей типа полипролин II, характерных для исследованных функциональных классов.

Результаты анализа представлены в виде графиков распределения вторичных структур по цепям (рис. 2).

Общая длина каждой цепи нормирована и представляет собой горизонтальную ось длиной в 100 ячеек-координат (x). Вертикальная ось отражает общее количество вторичных структур, нормированных на общее число рассматриваемых цепей, приходящееся на данную координату (N).

На основе представленных диаграмм выявлено общее свойство, замеченное у белков исследованных групп: преобладание нерегулярных участков в начале и в конце цепей, что согласуется с упрощенным представлением о белковой глобуле как о гидрофобном ядре в гидрофильной оболочке.

Обнаружены закономерности для структур каждого из рассмотренных классов. У *вирусных белков* обнаружено высокое содержание α -спиралей на протяжении всей первичной цепи белка. Исследованные белки являются молекулами, имеющими палочкообразную форму. Обилие распределенных по первичной цепи α -спиралей может объяснять палочковидную структуру многих молекул, что обуславливает их прочность для формирования жесткого капсида.

В начале цепей *шаперонов* отмечено высокое содержание нерегулярных структур, которое позже постепенно уменьшается, но в то же время есть несколько заметных максимумов на протяжении всей цепи. Интересно, что в исследованных цепях присутствует не слишком большое количество β -листов, что абсолютно не характерно для данного класса. Это связано с тем, что в базе данных хранится информация о субъединице, которая не образует характерную для данного класса структуру «бочонка».

В исследованных *изомеразах* выявлено высокое содержание и α -спиралей, и β -листов. При этом во второй половине цепи α -спиралей становится еще больше по сравнению с первой. Возможно, скопление α -спиралей в последней четверти соответствует формированию активного центра: жесткие спирали могут образовать структуру, которая будет избирательно специфична к субстрату, определяя четкую комплементарность.

В *оксидоредуктазах* вероятно появление как регулярных вторичных структур, таких как α -спирали, β -листы, спирали 3_{10} , так и нерегулярных структур вдоль всей цепи. Четких тенденций в распределении не обнаружено, за исключением наличия заметного максимума скопления нерегулярных структур в середине цепи. Возможно, отсутствие четких закономерностей связано со специфичностью взаимодействия фермента и субстрата, когда включается кофермент. Возможно, что для специфики данного типа ферментов, связанных с переносом электрона или протона, важна не столько локальная жесткая структура, сколько химический набор аминокислотных остатков молекулы в определенных местах цепи.

В *гидролазах*, так же как и в оксидоредуктазах, не выявлены закономерности в распределении вторичных структур по цепи. Однако содержание α -спиралей постепенно увеличивается от одного конца молекулы к другому. Соображения о

специфике результата могут быть подобны предыдущим.

В *структурных белках* выявлено низкое содержание β -листов, спиралей 3_{10} и нерегулярных структур. Здесь содержание α -спиралей имеет несколько минимумов, естественно, совпадающих с максимумами содержания нерегулярных структур. Большое количество спиралей обеспечивает жесткую структуру всей молекулы, что, безусловно, важно для структурных белков, отвечающих за механическую прочность клетки. Несколько максимумов по нерегулярным структурам могут обеспечивать механическую подвижность молекулы в определенных местах — каркасные функции.

В белках экзо- и эндоцитоза отмечено полное отсутствие β -листов. Спиральи 3_{10} располагаются у концов α -спиралей, а α -спирали образуют целые плато. Такое распределение структур может обеспечивать локальную жесткость молекул как элементов механических конструкций, необходимую для формирования везикул.

У белков транспорта электронов β -листы присутствуют только в цепи одного белка (*sulerythrin, a rubrerythrin-like protein*, PDB ID: 1J30). Максимумам содержания α -спиралей соответствует нулевое содержание других структур. Как и в белках экзо- и эндоцитоза, здесь можно заметить плато α -спиралей, но нерегулярных структур становится больше, что, возможно, делает молекулу не такой жесткой.

Необходимо заметить, что во всех исследованных классах максимумы вероятности появления спиралей 3_{10} на данном участке полипептидной цепи совпадают с минимумами вероятностей появления α -спиралей. Это наблюдение согласуется с литературными данными [11], согласно которым спирали 3_{10} часто располагаются на концах α -спиралей.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ СУПЕРСПИРАЛЕЙ COILED COIL ПО ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПИ БЕЛКОВ

Подборку белков для анализа распределения суперспиралей coiled coil по полипептидной цепи проводили с использованием электронной базы данных Protein Data Bank и CC+database [12]. Результаты представлены на рис. 3.

В *вирусных белках* отмечено высокое содержание суперспиралей coiled coil вдоль всей цепи. В образовании суперспиралей участвуют α -спирали, расположенные на разных полипептидных цепях. Большое количество α -спиралей и суперспиралей coiled coil может отражать особенности взаимодействия с инфицированной клеткой. В *шаперонах* суперспирали coiled coil распределены доменами на протяжении всей цепи, что может

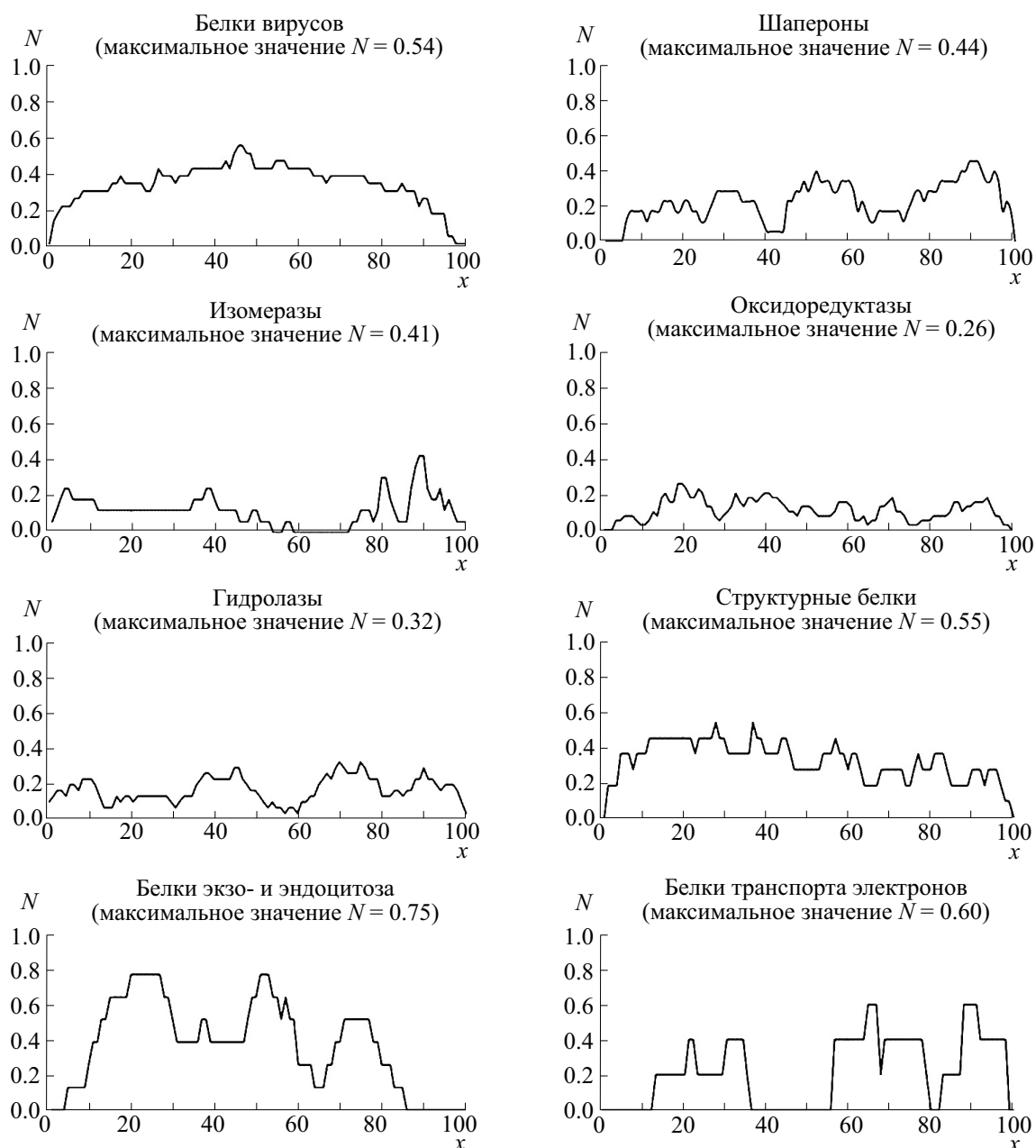


Рис. 3. Распределения суперспиралей coiled coil по полипептидной цепи. По оси абсцисс отложены нормированные координаты, по оси ординат – количество структур, нормированное на общее число рассматриваемых цепей.

обеспечивать фрагментарную локальную жесткость молекул, по существу, имеющих функции и особенности «конструкций-трансформеров». Суперспирали в *изомеразах* в первой половине распределены равномерно, затем наблюдается продолжительный минимум, точнее, полное отсутствие в каждой из рассматриваемых цепей. В месте заметного скопления α -спиралей выявлены максимумы вероятности появления суперспиралей coiled coil, что может указывать на их привязку к активному центру у одного из концов. У *оксидоредуктаз*, как мы уже говорили, ма-

лое количество суперспиралей coiled coil может свидетельствовать о том, что оксидоредуктазам важнее обладать определенным химическим составом для ферментативной активности, чем иметь особую, характерную для всего класса, геометрию. В *гидролазах* суперспирали coiled coil распределены доменами на протяжении всей цепи, что пока нам сложно охарактеризовать каким-то специфическим качеством. Для *структурных белков* характерно равномерное распределение суперспиралей coiled coil по всей цепи, однако вероятность появления такой структуры

постепенно снижается ближе к одному из концов. Coiled coil у белков экзо- и эндоцитоза расположены тремя крупными доменами и вовсе отсутствуют у обоих концов молекул. В белках транспорта электронов суперспиралей мало по обоим концам, но в середине располагается заметный максимум.

Таким образом, в настоящей работе выявлены некоторые закономерности и особенности в распределении вторичных структур и суперспиралей coiled coil по полипептидным цепям белков выбранных функциональных классов: белки вирусных, шапероны, оксидоредуктазы, гидролазы, структурные белки, белки экзо- и эндоцитоза и белки транспорта электронов. Полученные данные относительно распределения в белковых глобулах упомянутых выше жестких молекулярных конструкций, по всей вероятности, могут непосредственно коснуться развития концепции «белок–машина», причем не только в представлениях о «рычагах», «шарнирах» и «балках», но и в новых соображениях о машинах как о хиральных образованиях и о вентильных спиральных конструкциях в них [7]. В целом речь идет о тех самых «выделенных механических степенях свободы» в молекулярных машинах, которые были постулированы в работах Л.А. Блюменфельда, Д.С. Чернавского и их коллег и которые изменяют физический смысл термодинамических систем, преобразующих энергию и вещество: с ними происходит переход от молекулярных статистических систем к макроскопическим конструкциям [13, 14]. Заметим, что наши обсуждения, касающиеся специфики отдельных классов белков, имеют сугубо предварительный характер и будут, несомненно, уточняться.

В заключение мы хотели бы также отметить, что выявление закономерностей и соответствий между строением белка и его функциями в будущем может способствовать созданию новых бионических материалов, а также разработке более эффективных лекарственных препаратов.

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. P. Y. Chou and G. D. Fasman, *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* **47**, 45 (1978).
2. A. A. Adzhubei, F. Eisenmenger, V. G. Tumanyan, et al., *J. Biomol. Structure & Dynamics* **5** (3), 689 (1987).
3. А. А. Замятин, *Актуальные вопросы биологической физики и химии* **3** (1), 225 (2018).
4. V. A. Tverdislov, *arXiv*:1211.4272 (2012).
5. В.А. Твердислов, *Биофизика* **58** (1), 159 (2013).
6. В. А. Твердислов, Е. В. Малышко, С. А. Ильченко и др., *Биофизика* **62** (3), 421 (2017).
7. В. А. Твердислов и Е. В. Малышко, *Успехи физ. наук* **189**, 375 (2019).
8. А. В. Финкельштейн и О. Б. Птицын, *Физика белка: курс лекций с цветными и стереоскопическими иллюстрациями и задачами. 3е изд., испр. и доп.* (КДУ, М., 2012).
9. В. А. Твердислов, А. Э. Сидорова и Л. В. Яковенко, *Биофизика* **57** (1), 146 (2012).
10. RCSB PDB: <http://www.rcsb.org>.
11. А. С. Иванов, *Биомед. химия* **57** (1), 31 (2011).
12. CC+ database: <http://coiledcoils.chm.bris.ac.uk/ccplus>.
13. Ю. И. Хургин, Д. С. Чернавский и С. Э. Шноль, *Молекуляр. биология* **1**, 419 (1967).
14. Л. А. Блюменфельд, *Решаемые и нерешаемые проблемы биологической физики* (Едиториал УРСС, М., 2002).

The Relationship between Protein Chiral Hierarchical Structures and Functions

E.V. Malyshko, O.E. Bagrova, and V.A. Tverdislov

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

For the first time, the particular characteristics of distributions of secondary structures and coiled-coil superhelix structures were explored while taking into account the sign of chirality in polypeptide chains of proteins belonging to eight functional classes: viral proteins, chaperones, oxidoreductases, hydrolases, structural proteins, proteins involved in exocytosis and endocytosis and electron transport proteins. The protein structure patterns, which are common for all studied classes and typical of each class, are identified.

Keywords: chirality, proteins, secondary structure, α -helix, β -sheet, superhelix