

## МЕТОДИКА ОЦЕНКИ ХИРАЛЬНОСТИ СУПЕРСПИРАЛЬНЫХ СТРУКТУР БЕЛКОВ

Луценко А.О., Шпигун Д.К., Сидорова А.Э.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова  
ул. Ленинские Горы, 1, стр. 2, г. Москва, 119234, РФ; e-mail: aleksluchrus@yandex.ru, denish.den@mail.ru,  
sky314bone@mail.ru

Поступила в редакцию: 16.07.2021

**Аннотация.** Настоящая работа представляет научное исследование, развивающее недавно разработанный на кафедре биофизики физического факультета МГУ метод оценки знака хиральности суперспиральных структур белков. Метод исходно разработан для суперспиралей типа «coiled-coil», как наиболее распространенных суперспиральных структур белков, однако применим и к другим типам суперспиралей. В основе метода лежит концепция, согласно которой, направление угла между осью суперспирали и осями составляющих спиралей позволяет определять знак хиральности всей структуры. Для проведения расчетов необходимо знать, какие аминокислотные остатки полипептидной цепи участвуют в образовании суперспирали, а также обладать информацией о взаимном пространственном расположении альфа-углеродов аминокислотных остатков спиралей, составляющих суперспираль. В работе исследованы, в основном, суперспирали типа «coiled-coil» как наиболее распространенный тип левых суперспиралей, а также правые суперспирали коллагена. Использование небольшого количества исходных данных и простота расчетов делают метод удобным в применении, а достоверность результатов настоящего исследования подтверждается проверкой, проведенной на структурах реальных белков. Данный метод можно рассматривать как шаг к определению не только знака хиральности суперспиральных белковых структур, но и степени их хиральности, и, следовательно, к распространению понятия хиральности на белковые глобулы.

**Ключевые слова:** белки, хиральность, спираль, суперспираль, coiled-coil.

Свойство хиральности является одним из ключевых природных инструментов самоорганизации и создания структурных иерархий в биологических системах, что подтверждается выявленной закономерностью чередования знака хиральности в иерархиях нуклеиновых кислот и белков [1]. Для белков эта закономерность заключается в том, что из левых аминокислот, представляющих собой первичную структуру белков, образуются вторичные структуры, представленные в основном правыми альфа-спиралями; которые, в свою очередь, имеют тенденцию к образованию левых суперспиралей типа «coiled-coil» [1,2]. Однако в настоящее время в научной литературе не отмечено наличие универсального метода определения знака хиральности таких структур.

### ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ ОБ ОБЪЕКТЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Известно, что правые альфа-спирали являются самыми распространенными из вторичных структур белка и энергетически самыми выгодными [3]. Их закрученность в правую сторону обусловлена взаимным расположением атомов радикалов аминокислот и атомов основной цепи [4]. Принципиальной для дальнейшего рассмотрения характеристикой является то, что в среднем на один виток альфа-спирали приходится около 3,6 аминокислотных остатков [3].

Образование несколькими альфа-спиралями нетривиальных конструкций заинтересовало исследователей после работ Полинга и Кори [5] и Крика [6,7]. Классическая структура типа «coiled-coil» представляет собой несколько длинных альфа-спиралей, перевитых между собой. Удерживаются суперспирали посредством гидрофобных межспиральных взаимодействий, а также ионных взаимодействий для суперспиралей, состоящих из трех и более спиралей [8]. Таким образом, для стабилизации суперспирали необходимо, чтобы составляющие альфа-спирали были приспособлены к этим взаимодействиям; т.е. только специфические альфа-спирали способны к образованию структур типа «coiled-coil». В частности, необходимо, чтобы гидрофобные остатки из разных альфа-спиралей располагались достаточно близко в пространстве, так же, как и полярные аминокислотные остатки, участвующие в ионных взаимодействиях.

Таким образом, для того, чтобы между двумя отдельными спиральями возникли взаимодействия, нужно, чтобы гидрофобные остатки находились друг напротив друга, и в природе это достигается тем, что структура каждой альфа-спирали несколько видоизменяется: вместо сравнительно произвольной последовательности аминокислотных остатков в цепи она становится определенной. В классической суперспирали типа «coiled-coil» аминокислотная последовательность спиралей делится на гептады — последовательности из семи аминокислотных остатков [9], где позиции остатков принято обозначать латинскими буквами *a, b, c, d, e, f, g*: в позициях *a* и *d*, как правило, находятся гидрофобные остатки, а в позициях *e* и *g* — полярные аминокислотные остатки, участвующие в ионных взаимодействиях [9]. Для того, чтобы остатки в позициях *a* и *d* двух различных спиралей находились напротив друг друга, каждая гептада распределяется по двум виткам, что

уменьшает среднее количество остатков на виток в  $\alpha$ -спирали с 3,6 до 3,5. Такое перераспределение остатков относительно отдельной  $\alpha$ -спирали достигается посредством левой закрутки всей суперспирали [10].

Следует отметить, что помимо гептадных «coiled-coil» существуют и другие, значительно более редкие их разновидности [10], в частности, суперспирали, в составляющих спиралах которых 11 остатков распределены на 3 витка, 15 остатков на 4 витка и пр. Распределение остатков по виткам в таких спиралах близко к такому для недеформированных альфа-спиралей, например, у спиралей с повтором в 11 аминокислотных остатков приходится 3,67 остатков на оборот. Направление закрутки такой суперспирали – вправо или влево – будет зависеть от того, как именно нарушена естественная последовательность альфа-спиралей: в сторону увеличения либо уменьшения плотности остатков на виток [10]. Повышенная концентрация остатков на виток приведет к правосторонней закрутке суперспирали, пониженная – к левосторонней.

За прошедшее со времени открытия структур типа «coiled-coil» время было произведено немало попыток их математического описания, начиная с основополагающих работ Ф. Крика [6,7], в которых он построил свою модель суперспиралей. Однако, хотя в них и приведено полноценное математическое описание «coiled-coil», показавшее, в частности, что направления закрутки суперспирали и отдельных спиралей различны, оно не могло дать возможности эффективно определять направление закрутки отдельных суперспиралей по координатам их атомов. В дальнейшем этот подход был использован во множестве разработок других авторов, например, в работах [11,12]. Но оба представленных описания не позволяли определить хиральность структуры; возможность того, что суперспираль будет правозакрученной, не учитывается в этих работах. В работе [13] используется принципиально другой подход. Авторы предлагают определять хиральность «поверхностной кривой», то есть линии, находящейся посередине между кривой, соединяющей гептадные остатки в позициях  $a$ , и кривой, соединяющей гептадные остатки в позициях  $d$  отдельных альфа-спиралей для классической суперспирали. При последующем расчете поверхностная кривая получилась левой, однако авторы отмечают, что из этого не следует, что суперспираль также является левой. Таким образом, данный подход также не дает объективной оценки знака хиральности суперспиральных структур.

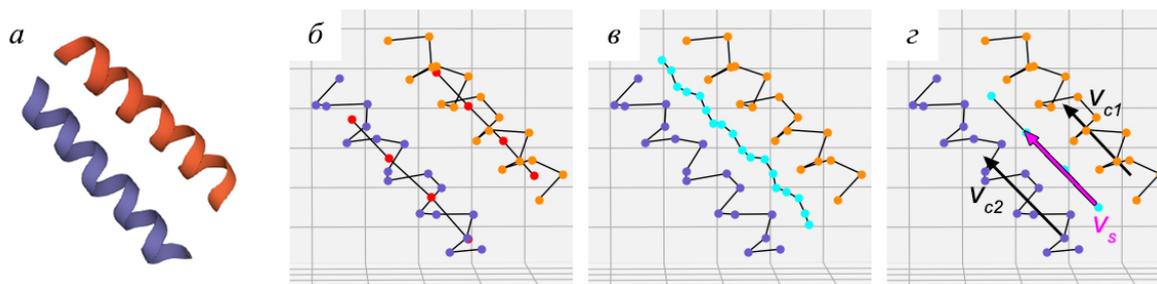
### МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЗНАКА ХИРАЛЬНОСТИ СУПЕРСПИРАЛЕЙ

В настоящей работе представлен авторский способ оценки знака хиральности суперспиральных белковых структур на примере суперспиралей типа «coiled-coil». Для использования метода достаточно знания взаимного пространственного расположения альфа-углеродов цепи. В основе метода лежит определение направления закрутки каждой отдельной альфа-спирали относительно оси всей суперспирали, и в качестве критерия для определения этого направления был выбран угол между осью суперспирали и осями образующих ее спиралей. Ориентация этого угла относительно оси суперспирали (по часовой или против часовой стрелки) служит показателем для определения знака хиральности суперспирали. Для определения ориентации угла используется свойство векторного произведения образовывать правые тройки векторов.

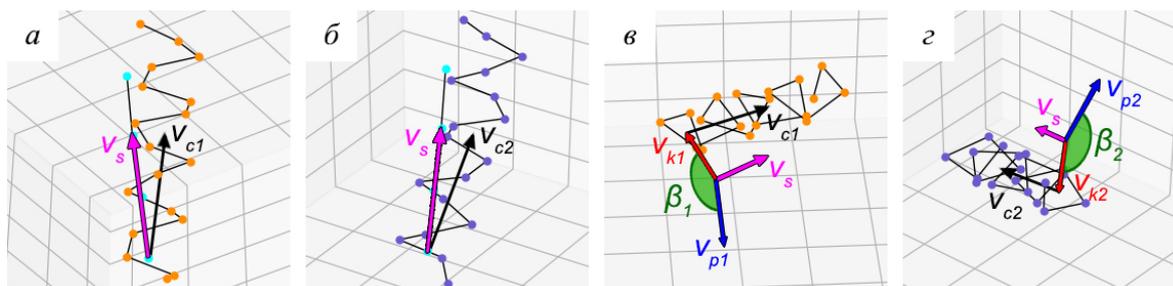
В качестве примера рассмотрим белок 1A36 [14], состоящий из двух альфа-спиралей (рис. 1,  $a$ ). На первом этапе строятся оси альфа-спиралей. Поскольку в альфа-спирали на один виток в среднем приходится 3,6 аминокислотных остатков, в качестве условного центра витка спирали взят геометрический центр 4 последовательных альфа-углеродов: для первого витка – точки  $C_1, C_2, C_3, C_4$ , для второго витка –  $C_5, C_6, C_7, C_8$  и т.д. Таким образом получаются точки  $A_1, A_2, \dots, A_m$ , через которые проводится ось альфа-спирали (рис. 1,  $b$ ). На следующем этапе строится «средняя спираль»: геометрический центр первых атомов каждой альфа-спирали ( $C_{1,1}, C_{2,1}$ ) используется в качестве первой точки средней спирали, геометрический центр вторых атомов ( $C_{1,2}, C_{2,2}$ ) – в качестве второй точки средней спирали и т.д. (рис. 1,  $b$ ). Для средней спирали строится ось вышеизложенным способом, которая, согласно излагаемому методу, определяется в качестве оси суперспирали (рис. 1,  $c$ ). Далее строится угол между направлением оси суперспирали (вектор  $v_s$ ) и направлениями осей составляющих спиралей (векторы  $v_{c1}, v_{c2}$ ). В общем случае как ось средней спирали, так и оси альфа-спиралей являются ломаными линиями в трехмерном пространстве, но для данного метода достаточно информации о взаимных направлениях осей только в узком поперечном сечении суперспирали (два полных витка альфа-спиралей), и на таком интервале оси можно рассматривать как прямые линии, что позволяет непосредственно строить для них векторы направления. Поскольку метод является качественным, а не количественным, и оценивает лишь знак, но не степень хиральности, такое приближение вполне уместно.

Общий геометрический анализ суперспиралей показывает, что для левой суперспирали составляющие спирали будут отклонены в правую сторону относительно оси суперспирали, и угол между векторами  $v_s$  и  $v_{ci}$  будет отсчитываться против часовой стрелки. Соответственно для правой суперспирали составляющие спирали будут отклонены в левую сторону, и угол будет отсчитываться по часовой стрелке. Таким образом, определение знака хиральности суперспирали сводится к определению направления угла между осью суперспирали и осью составляющей спирали.

Обозначим вектор от оси суперспирали к оси  $i$ -той спирали как  $v_{ki}$ , а векторное произведение векторов  $v_{ci}$  и  $v_s - v_{pi}$ . Если вектор  $v_{ci}$  отклонен от вектора  $v_s$  по часовой стрелке, и суперспираль является левой (рис. 2,  $a, b$ ), то угол между векторами  $v_{ki}$  и  $v_{pi}$  будет тупым (рис. 2,  $b, c$ ). Если же вектор  $v_{ci}$  отклонен от вектора  $v_s$  против часовой стрелки, и суперспираль является правой, то угол между векторами  $v_{ki}$  и  $v_{pi}$  будет острым.



**Рисунок 1.** Схематическое изображение работы метода по определению знака хиральности структуры типа «coiled-coil» на примере белка 1A36 [14]: отображение 1A36 в базе данных PDB (а); оси спиралей (б), средняя спираль (в) и ось суперспирали (г)



**Рисунок 2.** Определение знака хиральности структуры типа «coiled-coil» по углу между векторами

Величина угла между  $v_{ki}$  и  $v_{pi}$  определяется с помощью скалярного произведения, которое для тупых углов отрицательно, а для острых – положительно.

Окончательная оценка знака хиральности получается с помощью усреднения косинуса соответствующего угла для всех спиралей, образующих суперспираль:

$$\cos(\beta) = \frac{1}{q} \sum_{i=1}^q \cos(\beta_i)$$

где  $\beta_i$  – угол между направлением оси  $i$ -той альфа-спирали и направлением оси суперспирали, т.е. между векторами  $v_{ki}$  и  $v_{pi}$ ,  $q$  – число спиралей, образующих суперспираль;  $\beta$  – некоторый эффективный угол, являющийся промежуточным по абсолютному значению углом между углами для отдельных спиралей. Если косинус угла  $\beta$  является положительной величиной, то суперспираль правая, если отрицательной – левая.

Необходимо отметить, что в файлах формата PDB напрямую не содержится информации ни о том, какие спиральи участвуют в межспиральных взаимодействиях, ни, тем более, информации о том, какие конкретно аминокислотные остатки образуют суперспираль. Для получения этих сведений, являющихся, однозначно, принципиально необходимыми для построения вышеизложенной модели структуры, требуется пользоваться дополнительными источниками данных. В настоящей работе в этом качестве была использована база данных CC+ Database [15].

Для автоматизации определения знака хиральности написана компьютерная программа на языке Python. Для расчетов использовались координаты атомов из файлов PDB. Метод был опробован на 114 суперспиралях «coiled-coil» из восьми классов природных белков (гидролазы – 25 белков, оксидоредуктазы – 23 белка, вирусные – 22 белка, изомеразы – 16 белков, шапероны – 11 белков, структурные – 11 белков, транспорта электронов – 3 белка, экзоцитоза/эндоцитоза – 3 белка), а также одна суперспираль из искусственного белка (1RN4). Все суперспирали природных белков метод определил как левые, а суперспираль из искусственного белка – как правую.

Для проверки корректности работы метода был также определен знак хиральности суперспиралей коллагена. Поскольку коллагеновые фибриллы являются правыми суперспиралями, косинус угла  $\beta$  для них должен быть положителен. Расчеты проводились для трех коллагеновых структур из PDB – 1BKV, 1CAG, 6HG7. Все три суперспирали получились правыми.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одним из ключевых вопросов молекулярной биофизики является определение механизмов образования и функционирования белков, в частности, определение свойств и особенностей отдельных характерных белковых элементов и выявление закономерностей в иерархиях белковых структур. Суперспирали типа «coiled-coil» являются значимым звеном в такой иерархической последовательности, и хиральность является их важным свойством.

Представлен принципиально новый метод оценки знака хиральности суперспиральных белковых структур. Метод использует координаты альфа-углеродов аминокислотных цепей белков в качестве исходных данных.

Метод основывается на оригинальном математическом описании суперспиралей и представляет собой алгоритм, использованный впоследствии в компьютерной программе, позволяющей оценивать знак хиральности суперспиралей. Метод отличается небольшим количеством необходимой информации и простотой вычислений, что является его существенным преимуществом при обработке больших массивов данных. Полученные результаты соответствуют данным, представленным в научной литературе, и полностью согласуются с концепцией хиральности белковых структур. Метод также демонстрирует высокую степень универсальности, позволяя обрабатывать суперспирали с различным количеством и различной структурой составляющих спиралей.

Хотя изложенный метод является вполне самостоятельным, следует отметить, что его разработку можно рассматривать как шаг к определению, помимо знака хиральности, степени хиральности суперспиральных белковых структур, что, в свою очередь, может привести к распространению понятия хиральности на иерархически вышестоящие категории – белковые глобулы, тем самым способствуя раскрытию общих принципов и закономерностей, а также механизмов фолдинга белков.

#### **Список литературы / References:**

1. Сидорова А.Э., Твердислов В.А. Самоорганизация в иерархии активных сред как движущая сила эволюции биосферы. *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 3. Физ. Астрон.*, 2012, № 2, 65 с. [Sidorova A.E., Tverdislov V.A. Self-organization as the driving force for the evolution of the biosphere. *Moscow University Physics Bulletin*, 2012, vol. 67, no. 2, 213 p. (In Russ.)]
2. Brandrn C.-I., Tooze J. *Introduction to Protein Structure*. New York: Garland Publishing, 1999, 35 p.
3. Pauling L., Corey R.B., Branson H.R. The structure of proteins: two hydrogen-bonded helical configurations of the polypeptide chain. *PNAS*, 1951, vol. 37, 205 p. doi: 10.1073/pnas.37.4.205
4. Branden C.-I., Tooze J. *Introduction to Protein Structure*. New York: Garland Publishing, 1999, 16 p.
5. Pauling L., Corey R.B. Compound Helical Configurations of Polypeptide Chains: Structure of Proteins of the  $\alpha$ -Keratin Type. *Nature*, 1953, vol. 171, 59 p. DOI: 10.1038/171059a0
6. Crick F.H.S. The Fourier Transform of a Coiled-Coil. *Acta Cryst.*, 1953, vol. 6, 685 p. doi: 10.1107/S0365110X53001952
7. Crick F.H.S. The Packing of  $\alpha$ -Helices: Simple Coiled-Coils. *Acta Cryst.*, 1953, vol. 6, 689 p. doi: 10.1107/S0365110X53001964
8. Yu Y.B. Coiled-coils: stability, specificity, and drug delivery potential. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2002, vol. 54, 1113 p. doi: 10.1016/S0169-409X(02)00058-3
9. Финкельштейн А.В., Птицын О.Б. *Физика белка: курс лекций с цветными и стереоскопическими иллюстрациями и задачами*. Москва: КДУ, 2012, 142 с. [Finkelstein A.V., Ptitsyn O.B. *Physics of protein: course of lectures with colored and stereoscopic illustrations and tasks*. Moscow: KDU, 2012, 142 p. (In Russ.)]
10. Lupas A.N., Gruber M. The structure of  $\alpha$ -helical coiled coils. *Advances in Protein Chemistry*, 2005, vol. 70, 37 p. doi: 10.1016/S0065-3233(05)70003-6
11. Fraser R.D.B., MacRae T.P. *Conformation in Fibrous Proteins and Related Synthetic Polypeptides*. London: Academic Press, 1973, 456-465 pp.
12. Phillips G.N. What Is the Pitch of the  $\alpha$ -Helical Coiled Coil? *PROTEINS: Structure, Function, and Genetics*, 1992, vol. 14, 425 p. doi: 10.1002/prot.340140403
13. Neukirch S., Goriely A., Hausrath A.C. Chirality of Coiled Coils: Elasticity Matters. *Physical review letters*, 2007, vol. 100, 038105 p. doi: 10.1103/PhysRevLett.100.038105
14. RCSB PDB: Protein 1A36. URL: <https://www.rcsb.org/structure/1a36> (accessed: 12.07.2021).
15. CC+, a relational database of coiled-coil structures. URL: <http://coiledcoils.chm.bris.ac.uk/ccplus/search/> (accessed: 12.07.2021).

## METHOD FOR CHIRALITY ASSESSMENT OF SUPERHELICAL PROTEIN STRUCTURES

Lutsenko A.O., Shpigun D.K., Sidorova A.E.

Lomonosov Moscow State University

*Leninskie Gory St., 1/2, Moscow, 119234, Russia; e-mail: aleksluchrus@yandex.ru, denish.den@mail.ru, sky314bone@mail.ru*

**Abstract.** This paper is an advancement of a method recently developed at the Department of Biophysics of the Faculty of Physics of Moscow State University for evaluating the chirality sign of superhelical protein structures. The method was originally developed for superhelices of "coiled-coil" type, as the most common superhelical protein structures, but it is applicable also to other types of superhelices. The method is based on the concept that states that the direction of the angle between the axis of the superhelix and the axes of the constituent helices allows to determine the sign of chirality of the entire structure. To perform calculations it is necessary to know which amino acid residues of the polypeptide chain are involved in the formation of the superhelix, as well as to have information about the mutual spatial arrangement of the alpha-carbons of the amino acids of the helices that make up the superhelix; this information can be obtained from the CC+ Database and the PDB file for a specific superhelix. The use of a small amount of initial data and the simplicity of calculations make the method convenient and fast to use, the reliability of the results of this study is confirmed by a validation carried out on the protein structures presented in the PDB database. This method can be considered as a step towards determining not only the sign of chirality of superhelical protein structures, but also the degree of their chirality, which, in its turn, can lead to the extension of the concept of chirality to hierarchically higher categories of objects – protein globules and supramolecular structures.

**Key words:** *proteins, chirality, helix, superhelix, coiled-coil.*