

3. Zhao Y. Facial amphiphiles in molecular recognition: From unusual aggregates to solvophobic driven foldamers. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 2007, vol. 12, pp. 92-97.
4. Feldman Y., Kozlovich N., Garti N., Archipov V., Idiyatullin Z., Zuev Y., Fedotov V. Mechanism of transport of charge carriers in the sodium bis(2-ethylhexyl) sulfosuccinate-water-decane microemulsion near the percolation temperature threshold. *J. Phys. Chem.*, 1996, vol. 100, pp. 3745-3748.
5. Moulik S.P., De G.C., Bhowmik B.B., Panda A.K. Physicochemical studies on microemulsions. 6. Phase behavior, dynamics of percolation, and energetics of droplet clustering in water/AOT/ n-heptane system influenced by additives (sodium cholate and sodium salicylate). *J. Phys. Chem.*, 1999, vol. 103, pp. 7122-7129.
6. Архипов В.П., Идиятуллин З.Ш., Архипов Р.В., Захарченко Н.Л., Зуев Ю.Ф., Федотов В.Д. Диффузия воды в микроэмульсии вода-АэрозольОТ-декан. *Коллоид. журнал*, 2000, т. 62, с. 456-463. [Archipov V.P., Idiyatullin Z.Sh., Archipov R.V., Zakharchenko N.L., Zuev Y.F., Fedotov V.D. Diffusion of water in the water-AOT-decane microemulsion. *Colloid journal*, 2000, vol. 62, pp. 456-463 (In Russ.)]

РАЗРАБОТКА ПОДХОДА К КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКЕ ХИРАЛЬНОЙ АСИММЕТРИИ В ИЕРАРХИЯХ БЕЛКОВЫХ СТРУКТУР

Котов А.Р., Сидорова А.Э., Твердислов В.А., Устинин М.Н.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Физический факультет

ул. Ленинские Горы, 1, стр. 2, г. Москва, 119234, РФ

Институт прикладной математики им. М.В.Келдыша РАН

Миусская площадь, 4, г. Москва, 125047, РФ

e-mail: kotov_alexey@inbox.ru

Аннотация. Предпосылками для представленного исследования явились работы, в которых была выявлена системная закономерность смены знака хиральности при переходе на более высокий уровень структурно-функциональной организации в белках и нуклеиновых кислотах (В.А. Твердислов и соавт., 2012, 2017). Предложен новый подход к оценке знака хиральности (спиральности и суперспиральности) в структурной иерархии белков. Для определения знака и величины хиральности вторичной и третичной структуры белков проведен анализ взаимного расположения α -углеродов. Угол между вектором направления спирали и вектором суммы векторных произведений позволяет однозначно идентифицировать направление вращения спирали в молекуле. Предложен способ построения «карт хиральности», наглядно демонстрирующий области, соответствующие узкому диапазону возможного угла для двух типов вторичной спиральной структуры.

Ключевые слова: белки, хиральность, энантиомеры, альфа-углерод, правая альфа-спираль, левая полипролиновая спираль, векторное произведение, вектор направления, карта хиральности.

DEVELOPMENT OF THE APPROACH TO QUANTITATIVE ASSESSMENT OF CHIRAL ASYMMETRY IN HIERARCHIES OF PROTEIN STRUCTURES

Kotov A.R., Sidorova A.E., Tverdislov V.A., Ustinin M.N.

Lomonosov Moscow State University, Faculty of Physics

Leninskie Gory St., 1, bld. 2, Moscow, 119991, Russia

Keldysh Institute of Applied Mathematics RAS

Miusskaya sq., 4, Moscow, 125047, Russia

e-mail: kotov_alexey@inbox.ru

Abstract. The prerequisites for the presented research were the works in which the system regularity of the chirality sign change in the transition to a higher level of structural and functional organization in proteins and nucleic acids (V.A. Tverdislov et al., 2012, 2017) was revealed. A new approach to the evaluation of the sign of chirality (helicity and supercoiling) in the structural hierarchy of proteins is proposed. An analysis of the mutual arrangement of α -carbon atoms was carried out to determine the sign and magnitude of the chirality of the secondary and tertiary structure of proteins. The angle between the vector of the direction of the helix and the vector of the sum of vector products makes it possible to uniquely identify the direction of rotation of the helix in the molecule. A method for constructing "chirality maps" which clearly demonstrates the areas corresponding to a narrow range of the possible angle for the two types of secondary spiral structure is proposed.

Key words: proteins, chirality, enantiomers, alpha-carbon atom, right-handed alpha helix, left-handed polyproline helix, cross product, direction vector, chirality map.

Введение. Предпосылками для написания данной статьи явились работы В.А. Твердислова и его коллег [1-3], в которых была выявлена закономерность смены знака хиральности (спиральности и суперспиральности) при переходе на более высокий уровень структурно-функциональной организации в белках и нуклеиновых кислотах. Несмотря на убедительность качественных наблюдений в данной теории, принципиально необходимо получить количественные оценки доли и знака хиральности структур разных уровней. Эту проблему можно иначе сформулировать следующим образом: требуется выработать общий подход к количественной оценке смены симметрий (спиральных, суперспиральных) на всех уровнях организации макромолекул. На сегодняшний день

имеется большое количество работ, где предлагается решение этой проблемы [4-7]. Подходы весьма различны, но их объединяет общая цель – получить некоторый параметр, который мог бы однозначно охарактеризовать в определенной выборке нарушение симметрии. Однако, несмотря на значительное количество работ, эта проблема на настоящий момент не решена. Поэтому цель данного исследования: дать начало новому подходу оценки хиральности в структурной иерархии белков.

Обработка PDB-файла. Зададимся вопросом: «Нужно ли нам обрабатывать всю информацию обо всех атомах молекулы, которые записаны в PDB-файле?». Ответ: «вовсе нет». Для определения знака и величины хиральности вторичной и третичной структур белков, в принципе, достаточно лишь анализировать взаимное расположение α -углеродов C^α , которые в PDB-файлах обозначены как «CA». Альфа-углерод является асимметрическим атомом, т.е. хиральным, следовательно, аминокислота может существовать в пространстве в виде двух зеркальных форм – левой L-конфигурации и правой D-конфигурации [8].

Пример изображения исходной молекулы (PDB ID: 1L2P) и изображения после удаления не нужных нам атомов представлены на рисунке 1 (изображения молекул получены с помощью программы PyMol). Стоит отметить, что после удаления из PDB-файла всех атомов, кроме α -углеродов, вес файла уменьшается на 1-2 порядка – это явное преимущество при обработке больших массивов данных. По остову из α -углеродов по-прежнему можно видеть, что молекула представляет собой правую α -спираль, и информации об этом остове будет достаточно для применения метода, о котором речь пойдет ниже.

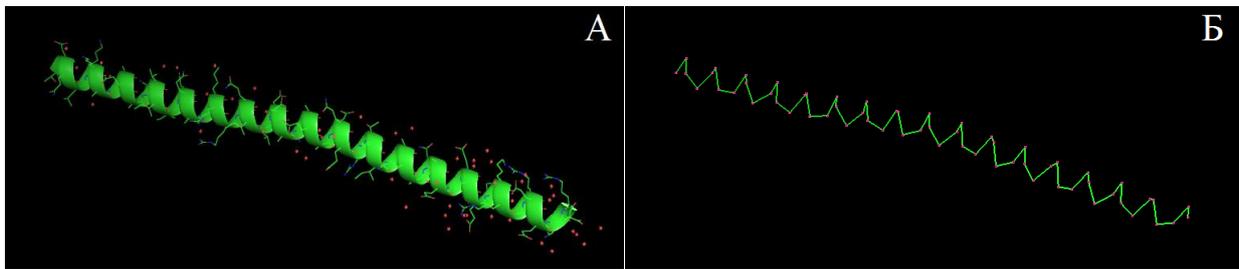


Рисунок 1 – Изображения молекулы 1L2P: А – исходное изображение; Б – изображение остова только из α -углеродов

Несмотря на то, что в PDB-формате существует классификация из 10 различных спиралей, наиболее часто встречающимся типом правой спирали является α -спираль. Левая же спираль чаще представлена в виде спирали типа poly(Pro)II, как в коллагене. В данной работе рассмотрены вторичные структуры белков как две крайности нарушений симметрий на втором уровне структурной иерархии белков. Параметры спиралей представлены в таблице 1, где углы ϕ и ψ – это двугранные углы аминокислот полипептидной цепи. Известным способом визуализации этих углов является карта Рамачандрана – диаграмма разрешенных областей для двугранных углов основной цепи. Несмотря на то, что эти параметры четко определяют разные типы вторичной структуры, они не являются макропараметрами самой вторичной структуры. Забегая вперед, можно сказать, что результатом данной работы и стало определение такого макропараметра вторичной спиральной структуры белков.

Таблица 1 – Параметры наиболее распространенных спиральных структур [8]

| Параметр спирали | Правая α -спираль | Левая спираль poly(Pro)II |
|--|--------------------------|---------------------------|
| Число аминокислотных остатков на виток (шт.) | 3,6 | 3 |
| Шаг спирали (нм) | 0,54 | 0,93 |
| Угол ϕ (град.) | -47 | -76 |
| Угол ψ (град.) | -57 | +146 |

Описание метода. В основе метода лежит несложная математика, которая была программно реализована в среде MATLAB. Итак, после обработки PDB-файла, т.е. удаления лишних для нас атомов из файла, имеем остов из α -углеродов. Считаем α -углерод, принадлежащий N-конечной аминокислоте, первым атомом остова и обозначим как C_1^α , а α -углерод, принадлежащий C-конечной аминокислоте, считаем последним атомом остова и обозначим как C_n^α .

Проведем векторы между соседними атомами: от предыдущего атома к следующему, получим векторы $\overrightarrow{C_1^\alpha C_2^\alpha}$, $\overrightarrow{C_2^\alpha C_3^\alpha}$, ..., $\overrightarrow{C_{(n-1)}^\alpha C_n^\alpha}$ (см. рис. 2). Понятно, что для n атомов получается $(n-1)$ таких векторов. Сумма этих векторов даст вектор $\overrightarrow{C_1^\alpha C_n^\alpha}$, который для простоты обозначим как \vec{d} и назовем «вектором направления»:

$$\overrightarrow{C_1^\alpha C_2^\alpha} + \overrightarrow{C_2^\alpha C_3^\alpha} + \dots + \overrightarrow{C_{(n-1)}^\alpha C_n^\alpha} = \sum_{j=1}^{(n-1)} \overrightarrow{C_j^\alpha C_{(j+1)}^\alpha} = \overrightarrow{C_1^\alpha C_n^\alpha} = \vec{d}. \quad (1)$$

Далее для каждой пары соседних векторов будем выполнять векторное произведение (См. рис. 2), т.е. $\overrightarrow{C_1^\alpha C_2^\alpha} \times \overrightarrow{C_2^\alpha C_3^\alpha}$, $\overrightarrow{C_2^\alpha C_3^\alpha} \times \overrightarrow{C_3^\alpha C_4^\alpha}$, $\overrightarrow{C_3^\alpha C_4^\alpha} \times \overrightarrow{C_4^\alpha C_5^\alpha}$ и т.д. Векторное произведение будет давать вектор, перпендикулярный обоим исходным, и который образует с ними правую тройку (т. е. направление векторного произведения определяется по правилу правой руки) [10]. Именно используя векторное произведение, мы закладываем чувствительность к

направлению закрутки спирали. Поднимаясь «вверх» по правой спирали, будем получать векторные произведения, направленные также «вверх» (см. рис. 2А), поднимаясь же «вверх» по левой спирали – векторные произведения будут направлены уже «вниз» (см. рис. 2Б). Для $(n-1)$ векторов получим $(n-2)$ векторных произведений и также просуммируем их, и эту сумму обозначим как \vec{s} :

$$\overrightarrow{C_1^{\alpha}C_2^{\alpha}} \times \overrightarrow{C_2^{\alpha}C_3^{\alpha}} + \overrightarrow{C_2^{\alpha}C_3^{\alpha}} \times \overrightarrow{C_3^{\alpha}C_4^{\alpha}} + \overrightarrow{C_3^{\alpha}C_4^{\alpha}} \times \overrightarrow{C_4^{\alpha}C_5^{\alpha}} + \dots = \sum_{j=1}^{(n-2)} \overrightarrow{C_j^{\alpha}C_{(j+1)}^{\alpha}} \times \overrightarrow{C_{(j+1)}^{\alpha}C_{(j+2)}^{\alpha}} = \vec{s}. \quad (2)$$

Имея два вектора \vec{d} и \vec{s} и зная длину каждого из них, можно через скалярное произведение найти угол между этими векторами (см. рис. 3):

$$\angle(\vec{d}, \vec{s}) = \arccos\left(\frac{\vec{d} \cdot \vec{s}}{|\vec{d}||\vec{s}|}\right). \quad (3)$$

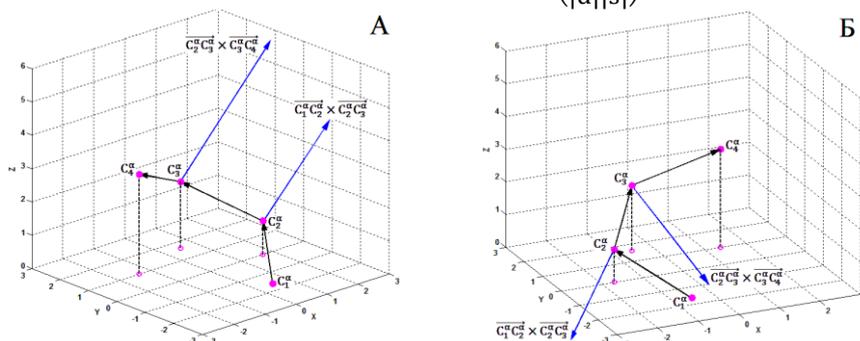


Рисунок 2 – Векторы между соседними атомами: А – виток правой спирали; Б – виток левой спирали (розовые кружочки – α -углероды; черные стрелочки – векторы между соседними атомами; синие стрелочки – векторные произведения соседних векторов)

Для наглядности на рисунках векторы \vec{d} и \vec{s} мы строим из одной точки – из атома C_1^{α} . Согласно нашим исследованиям, для правых спиралей угол $\angle(\vec{d}, \vec{s})$ должен быть менее 90° , а для левых – более 90° (см. рис. 3А и 3Б). На практике оказалось, что для каждого типа спирали (правой α -спирали и левой полипролиновой) этот угол лежит в своем узком диапазоне.

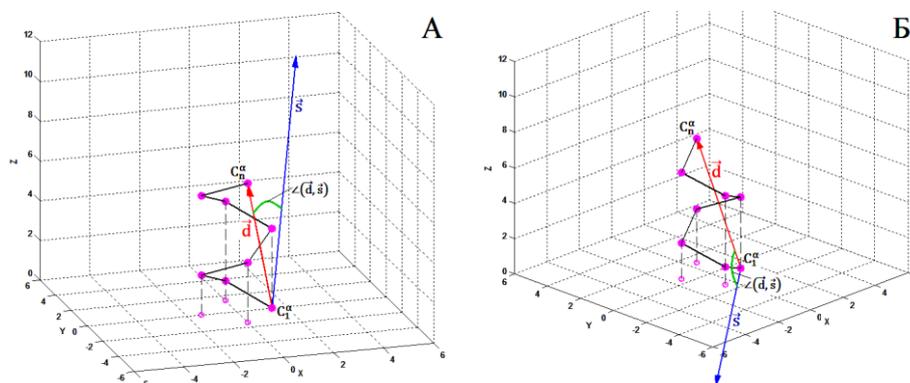


Рисунок 3 – Угол между вектором направления \vec{d} и вектором суммы векторных произведений \vec{s} : А – правая спираль; Б – левая спираль (красная стрелочка – вектор \vec{d} ; синяя стрелочка – вектор \vec{s} ; зеленой дугой показан угол между этими векторами)

Результаты. Угол между вектором направления спирали \vec{d} и вектором суммы векторных произведений \vec{s} , позволяет четко идентифицировать, какая это спираль в молекуле: правая или левая. Результаты обсчета некоторых молекул представлены в таблице 2, на рисунках 4 и 5 показаны соответственно правая и левая спирали «до» и «после» обработки. Согласно полученным данным, для длинных правых α -спиралей в белках угол лежит примерно в диапазоне от 0° до 10° , тогда как для левых полипролиновых спиралей – от 170° до 180° (см. табл. 2). Такие значения углов объясняются: 1) свойством векторного произведения (чувствительностью к направлению закрутки спирали); 2) схожестью молекулярной структуры у однотипных спиралей (см. табл. 1). Различие между правой α -спиралью и левой полипролиновой в величине отношения $|\vec{s}|/|\vec{d}|$, объясняется тем, что в α -спирали витки плотно упакованы. Левая полипролиновая довольно сильно растянута [9], поэтому векторные произведения имеют относительно небольшую общую составляющую в направлении, противоположном вектору направления \vec{d} , следовательно, сумма векторных произведений будет тоже относительно небольшой.

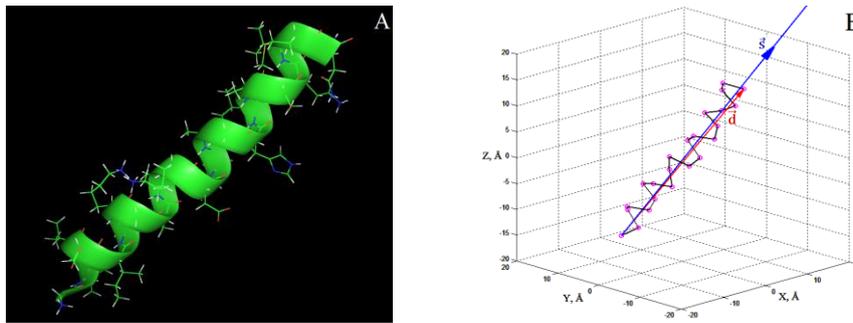


Рисунок 4 – Изображение правой α -спирали (PDB ID: 5UA7 [11]):
 А – до обработки; Б – после обработки

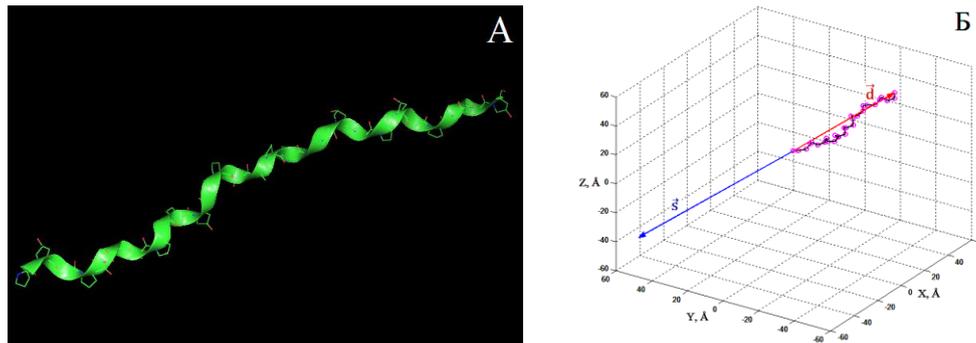


Рисунок 5 – Изображение левой полипролиновой спирали (сегмент молекулы PDB ID: 1CAG [11]):
 А – до обработки; Б – после обработки

Таблица 2 – Результаты обработки спиралей

| № | PDB ID | Тип спирали | $\angle(\vec{d}, \vec{s})$, град. | $ \vec{s} / \vec{d} $, Å | № | PDB ID | Тип спирали | $\angle(\vec{d}, \vec{s})$, град. | $ \vec{s} / \vec{d} $, Å |
|----|----------------|--------------------------|------------------------------------|---------------------------|----|----------------|----------------------|------------------------------------|---------------------------|
| 1 | 1BDG (сегмент) | правая α -спираль | 5.2 | 7.43 | 11 | 1CAG (сегмент) | левая полипролиновая | 173.2 | 1.72 |
| 2 | 1C17 (сегмент) | правая α -спираль | 1.1 | 8.31 | 12 | 5CVB (сегмент) | левая полипролиновая | 176.6 | 1.64 |
| 3 | 1L2P | правая α -спираль | 3.5 | 7.83 | 13 | 3U29 (сегмент) | левая полипролиновая | 171.6 | 1.71 |
| 4 | 1QL2 (сегмент) | правая α -спираль | 2.6 | 7.29 | 14 | 4BKL (сегмент) | левая полипролиновая | 177.6 | 1.62 |
| 5 | 1TJC (сегмент) | правая α -спираль | 8.5 | 7.34 | 15 | 1DZI (сегмент) | левая полипролиновая | 173.0 | 1.62 |
| 6 | 2DGC | правая α -спираль | 3.5 | 7.58 | 16 | 2CUO (сегмент) | левая полипролиновая | 178.5 | 1.60 |
| 7 | 2V5F (сегмент) | правая α -спираль | 8.8 | 7.20 | 17 | 2D3H (сегмент) | левая полипролиновая | 171.2 | 1.67 |
| 8 | 5U9R | правая α -спираль | 1.5 | 7.74 | 18 | 2KLW (сегмент) | левая полипролиновая | 174.9 | 1.51 |
| 9 | 5U9S | правая α -спираль | 9.6 | 6.63 | 19 | 3A1H (сегмент) | левая полипролиновая | 175.8 | 1.60 |
| 10 | 5UA7 | правая α -спираль | 1.4 | 7.03 | 20 | 4AUO (сегмент) | левая полипролиновая | 173.1 | 1.56 |

Нами предлагается представлять данные таблицы 2 в виде оригинальных «карт хиральности», где по одной оси откладывается угол между векторами $\angle(\vec{d}, \vec{s})$, а по другой оси – отношение длин этих векторов $|\vec{s}|/|\vec{d}|$ (см. рис. 6). На «карте хиральности» наглядно видно области, соответствующие узкому диапазону возможного угла для двух типов вторичной спиральной структуры, которые мы рассматривали. Таким образом получаем, что по величине угла можно достоверно определять знак хиральности спиральной структуры (т. е. левое/правое направление закрутки спирали) и ее тип.

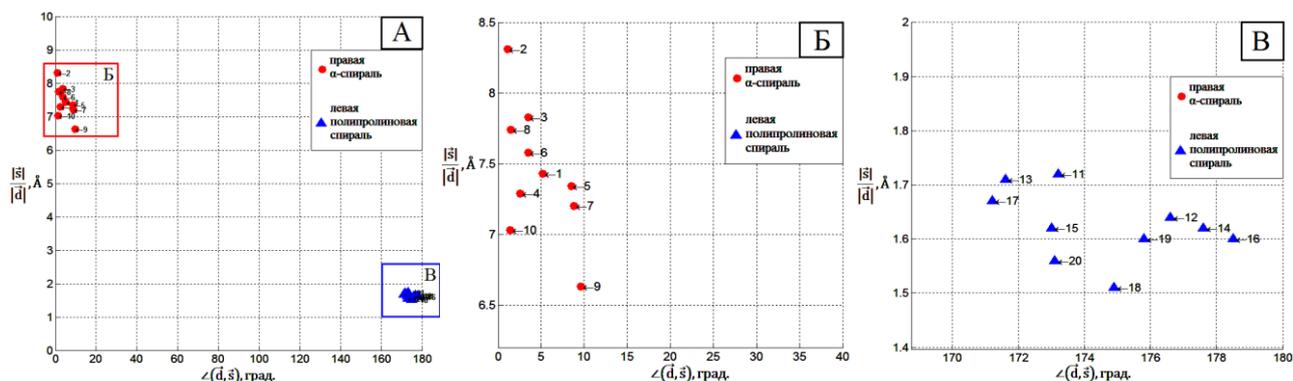


Рисунок 6 – «Карта хиральности» спиральных структур: А – общий вид «карты»; Б – в увеличенном масштабе область правых α -спиралей; В – в увеличенном масштабе область левых полипролиновых спиралей (нумерация точек на графиках соответствует порядковым номерам молекул в таблице 2)

В ходе дальнейших исследований предполагается распространить данный подход на суперспирали (например, левые полипролиновые спирали в коллагене, перевиваясь, образуют правую супер спираль [9]), на параллельные и антипараллельные β -слои, на третичную структуру белков, а также на нуклеиновые кислоты.

Авторы благодарят Е.В. Малышко за полезное обсуждение работы.

Список литературы / References:

1. Твердислов В.А., Сидорова А.Э., Яковенко Л.В. От симметрий – к законам эволюции. I. Хиральность как инструмент стратификации активных сред. *Биофизика*. М.: Изд-во Наука, 2012, т. 57, вып. 1, с. 146-154. [Tverdislov V.A., Sidorova A.E., Iakovenko L.V. From symmetries to the laws of evolution. I. Chirality as a means of active media stratification. *Biophysics*, 2012, vol. 57, no. 1, pp. 146-154 (In Russ.)]
2. Твердислов В.А. Хиральность как первичный переключатель иерархических уровней в молекулярно-биологических системах. *Биофизика*. М.: изд-во Наука, 2013, т. 58, № 1, с. 159-164. [Tverdislov V.A. Chirality as a primary switch of hierarchical levels in molecular biological systems. *Biophysics*. 2013, vol. 58. no. 1, pp. 128-132 (In Russ.)]
3. Твердислов В.А., Малышко Е.В., Ильченко С.А. От волновых механизмов самоорганизации к молекулярным машинам. *Известия РАН. Серия физическая*, 2015, т. 79, № 3, с. 1729-1733 [Tverdislov VA, Malysheko EV, Ilchenko S.A. From the wave mechanisms of self-organization to molecular machines. *Proceedings of the Russian Academy of Sciences. Physical series*, 2015, vol. 79, no. 12, pp. 1728-1732 (In Russ.)]
4. Petitjean M. On the root mean square quantitative chirality and quantitative symmetry measures. *Journal of Mathematical Physics*, 1999, vol. 40, no. 9, pp. 4587-4595.
5. Avnir D., Hel-Or H., Mezey P. Symmetry and chirality: Continuous measures. *The Encyclopedia of Computational Chemistry*, 1998, vol. 4, pp. 2890-2901.
6. Лузанов А.В., Иванов В.В., Миняев. Р.М. Индексы дисимметрии на основе оптической вращательной поляризуемости хиральных молекул. *Журнал структурной химии*. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 1998, т. 39, № 2, с. 319-327. [Luzanov A.V., Ivanov V.V., Minyaev R.M.. Disymmetry indices based on the optical rotational polarizability of chiral molecules. *Journal of Structural Chemistry*. Novosibirsk: Publishing House SB RAS, 1998, vol. 39, no. 2, pp. 319-327 (In Russ.)]
7. Марценюк М.А., Марценюк Н.М., Фуфачев М.А. Тензорные параметры как «меры» киральности молекул. *Вестник Пермского университета. Серия: Химия*, 2011, вып. 4, № 4. с. 61-70. [Martsenyuk M.A., Martsenyuk N.M., Fufachev M.A. Tensor parameters as "measures" of the chirality of molecules. *Perm University Herald. Chemistry*, 2011, vol. 4, no. 4, pp. 61-70 (In Russ.)]
8. Овчинников Ю.А. *Биоорганическая химия*. М.: Просвещение, 1987, 815 с. [Ovchinnikov Yu.A. *Bioorganic chemistry*. Moscow: Prosveshcheniye, 1987, 815 p. (In Russ.)]
9. Финкельштейн А.В. *Физика белковых молекул*. М.–Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2014, 424 с. [Finkelstein A.V. *Physics of protein molecules*. Moscow–Izhevsk: Institute of Computer Science, 2014, 424 p. (In Russ.)]
10. Аленицын А.Г., Бутиков Е.И., Кондратьев А.С. *Краткий физико-математический справочник*. М.: Наука, 1990, 368 с. [Alenitsyn A.G., Butikov E.I., Kondratiev A.S. *Brief physics and mathematics reference book*. Moscow: Nauka, 1990, 368 p. (In Russ.)]