

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ХИРАЛЬНОСТИ СПИРАЛЬНЫХ СТРУКТУР БЕЛКОВ

Луценко А.О., Сидорова А.Э.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
ул. Ленинские Горы, 1, стр. 2, г. Москва, 119234; e-mail: sky314bone@mail.ru
Поступила в редакцию: 26.07.2019

Аннотация. Предложен новый подход к оценке знака хиральности (спиральности и суперспиральности) в структурной иерархии белков. Для определения знака и величины хиральности вторичной 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. Данный метод позволяет построение карт хиральности, где четко обозначены 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.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из важнейших физических проблем молекулярной биологии является определение механизмов стратификации в иерархиях первичных, вторичных, третичных и четвертичных структур биомакромолекул и их функциональных особенностей. Авторами [1-2]. Выявлена последовательность смены знака хиральности белковых структур (L-D-L-D) и ДНК (D-L-D-L) при переходе на более высокий уровень структурно-функциональной организации. Несмотря на убедительность данной теории, принципиально необходимо получить количественные оценки доли и знака хиральности структур разных уровней. На сегодняшний день имеется большое количество работ, где предлагается решение этой проблемы [3-7 и др.]. Развиваемые разными авторами подходы различны, но их объединяет общая цель – получить параметр, который мог бы однозначно охарактеризовать нарушение симметрии и определить знак хиральности. Однако эта проблема на настоящий момент не решена. Поэтому целью данного исследования: дать начало новому подходу оценки хиральности в структурной иерархии белков.

МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ ХИРАЛЬНОСТИ СПИРАЛЬНЫХ СТРУКТУР БЕЛКОВ

В последние годы на кафедре биофизики был разработан принципиально новый метод оценки меры и знака хиральности [8-9]. Для определения знака хиральности вторичной структуры достаточным условием анализа является лишь взаимное расположение α -углеродов C_α . Это позволяет на порядок снизить количество обрабатываемой информации, что является явным преимуществом при обработке больших массивов данных, на что и направлен данный метод. После обработки PDB-файла имеем остов из α -углеродов (рис. 1). Несмотря на то, что в PDB-формате существует классификация из 10 различных спиралей [10], наиболее часто встречающимся типом правой спирали является α -спираль. Левая спираль представлена в виде спирали типа poly(Pro)II (как в коллагене).

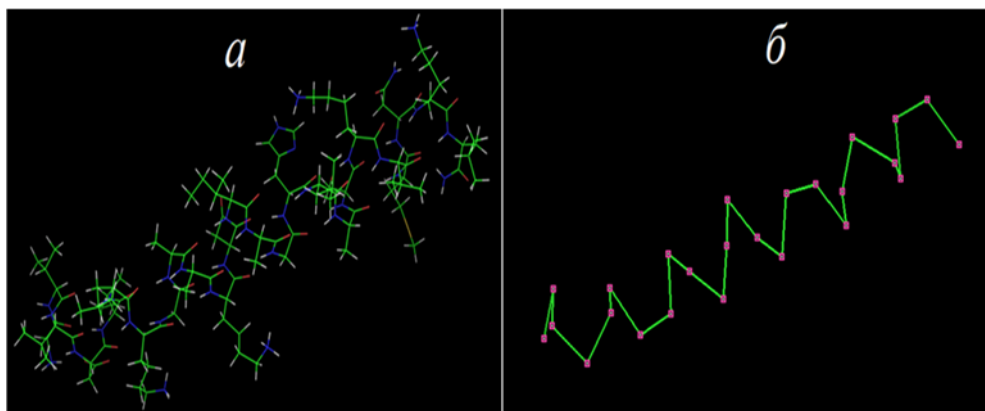


Рисунок 1. Правая α -спираль (PDB: 5UA8 [11]): а – исходное изображение молекулы (380 атомов); б – остов из α -углеродов (25 атомов)

Считаем α -углерод, принадлежащий N-конечной аминокислоте, первым атомом остова – C_1^α , а α -углерод, принадлежащий C-конечной аминокислоте, последним атомом остова – C_n^α . Построив векторы между соседними атомами (от предыдущего к последующему), получаем $(n-1)$ векторов $\mathbf{v}_1, \mathbf{v}_2, \dots, \mathbf{v}_{n-1}$, сумма которых – вектор направления (рис. 2):

$$\mathbf{v}_1 + \mathbf{v}_2 + \dots + \mathbf{v}_{n-1} = \sum_{i=1}^{n-1} \mathbf{v}_i = \mathbf{d}. \quad (1)$$

Для $(n-1)$ векторов между соседними атомами получаем $(n-2)$ векторных произведений, сумма которых – вектор \mathbf{s} :

$$\sum_{i=1}^{n-2} [\mathbf{v}_i \times \mathbf{v}_{i+1}] = \sum_{i=1}^{n-2} \mathbf{v}_i = \mathbf{s}. \quad (2)$$

Скалярное произведение между этими векторами дает косинус угла:

$$\cos \angle(\mathbf{d}; \mathbf{s}) = \frac{\mathbf{d} \cdot \mathbf{s}}{|\mathbf{d}| \cdot |\mathbf{s}|}. \quad (3)$$

Ограничение метода: для определения направления закрутки спирали необходимо минимум 4 опорных точек (атомов), поскольку для построения минимум двух векторных произведений нужно минимум 3 вектора \mathbf{v}_i , т.е. минимум 4 точки-атома A_i . Любые 3 точки образуют плоскость, которая в трехмерном пространстве ахиральна.

Угол между вектором направления спирали \mathbf{d} и вектором суммы векторных произведений \mathbf{s} позволяет четко идентифицировать направление закрутки спирали в молекуле: правая или левая. Абсолютная величина суммы векторных произведений $|\mathbf{s}|$ фактически является количественной оценкой закрученности спиральной структуры, своеобразным «запасом хиральности». А знак косинуса угла между векторами \mathbf{d} и \mathbf{s} – $\text{sign}[\cos \angle(\mathbf{d}, \mathbf{s})]$ – позволяет определить направление закрутки: если $\cos \angle(\mathbf{d}, \mathbf{s}) < 0$ – закрутка левая, если $\cos \angle(\mathbf{d}, \mathbf{s}) > 0$ – закрутка правая. Таким образом, величина χ_{total} представляет собой меру хиральности спиральных и суперспиральных структур:

$$\chi_{\text{total}} = \text{sign}[\cos \angle(\mathbf{d}, \mathbf{s})] \cdot |\mathbf{s}|. \quad (4)$$

Увеличение количества правых витков увеличивает χ_{total} , а увеличение количества левых витков уменьшает χ_{total} . Если количество правых и левых витков совпадает, получаем ахиральный объект, где $\chi_{\text{total}} = 0$. Данные по вторичным структурам белков предлагается представлять в виде карт хиральности. По горизонтальной оси на карте хиральности откладывается величина χ_{norm} :

$$\chi_{\text{norm}} = \frac{\chi_{\text{total}}}{(n-2) \cdot |v|_{\text{mean}}^2} = \frac{\text{sign}[\cos \angle(\mathbf{d}, \mathbf{s})] \cdot |\mathbf{s}|}{(n-2) \cdot |v|_{\text{mean}}^2}, \quad (5)$$

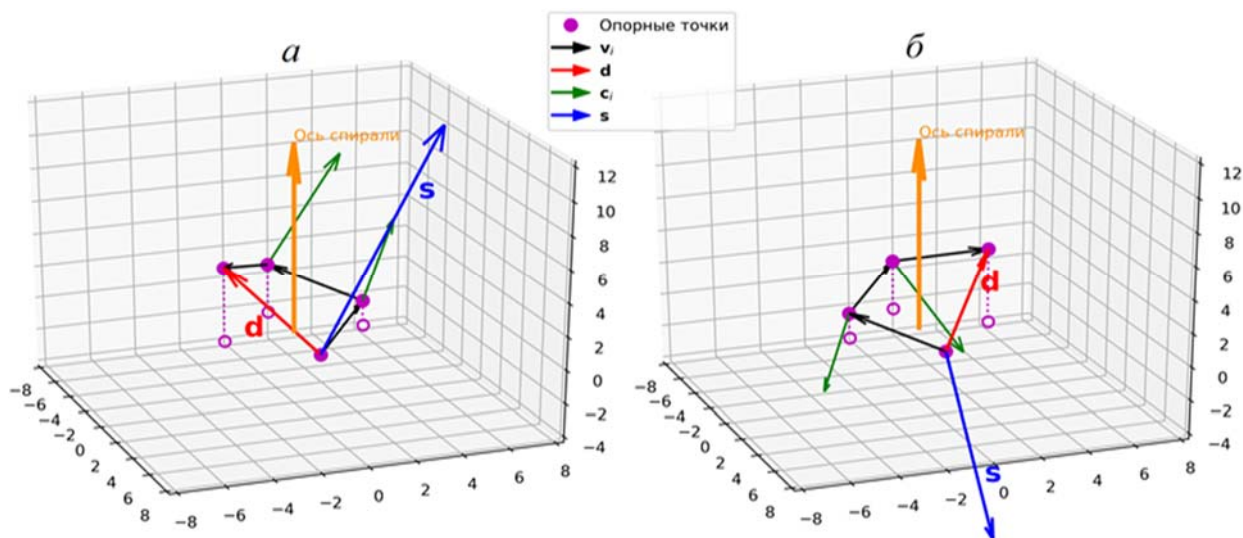


Рисунок 2. Векторы направления и векторных произведений: а – виток правой спирали; б – виток левой спирали

где нормировка представляет собой произведение количества векторных произведений $(n-2)$ на квадрат среднего расстояния между каждыми двумя соседними опорными точками. По вертикальной оси откладывается степень растянутости структуры – отношение $|d|/L$, где L – длина цепочки.

КАРТЫ ХИРАЛЬНОСТИ ВТОРИЧНЫХ БЕЛКОВЫХ СТРУКТУР

Рассмотрено 836 белков из 7 классов ферментов по международной классификации: оксидоредуктазы – 152, трансферазы – 86, гидролазы – 145, лиазы – 132, изомеразы – 98, лигазы – 90, транслоказы – 133. Из этого перечня было проанализировано 36,2 тыс. вторичных белковых структур (17,4 тыс. α -спиралей, 15,2 тыс. β -структур, 3,5 тыс. спиралей 3₁₀), более 9,0 тыс. осей вторичных структур (8,6 тыс. осей α -спиралей, 388 осей спиралей 3₁₀) [10-11]. В белках-ферментах полипролиновые спирали встречаются крайне редко, поэтому они не вошли в выборку. В соответствии с вышеизложенным методом и на основе разработанной на кафедре биофизики компьютерной программы на языке Python 3.7 с использованием библиотеки SciPy построены карты хиральности вторичных структур белков. Данные анализа вторичных белковых структур представлены на (рис.3).

На картах хиральности правые α -спирали и спирали 3₁₀ располагаются в области положительных значений $\cos\angle(d, s) > 0$ (т.е. $0^\circ \leq \angle(d, s) < 90^\circ$), а левые полипролиновые – в области $\cos\angle(d, s) < 0$ (т.е. $90^\circ < \angle(d, s) \leq 180^\circ$). На картах хиральности около 90% правых α -спиралей располагается в области $1,1^\circ < \angle(d, s) < 33,9^\circ$, а около 90% правых спиралей 3₁₀ – в области $0,7^\circ < \angle(d, s) < 44,1^\circ$; около 90% левых α -спиралей располагается в области $94,4^\circ < \angle(d, s) < 147,0^\circ$, а около 90% левых спиралей 3₁₀ – в области $94,9^\circ < \angle(d, s) < 161,0^\circ$. Таким образом, можно утверждать, что данный метод позволяет верно определять направление закрутки спирали.

Некоторое количество спиралей 3₁₀ и α -спиралей попало в область левых структур – это левые спирали, зашифрованные в PDB-файле как правые. Визуальный анализ показывает правильность определения направления закрутки представленным методом и демонстрирует наличие ошибок в PDB-файле. Следует отметить, что это существенные ошибки, поскольку левые и правые спирали принципиально различаются по характеристикам.

На карте хиральности правые α -спирали, в целом, располагаются ниже спиралей 3₁₀, что объясняется плотной упаковкой витков. Почти все α -спирали имеют $\chi_{\text{norm}} > 0$, что подтверждает адекватность метода. Можно также отметить соответствие с картами Рамачандрана: правые α -спирали располагаются рядом с правыми спиральями 3₁₀.

β -цепочки располагаются выше, т.к. это растянутые и плоские структуры. Пространственную структуру β -структур можно определить как «почти плоские зигзаги». Здесь проявляется общее свойство двоякоизогнутой поверхности. Отдельный β -тяж имеет левое скручивание, и в этом случае скрученность β -листа считается левой, и, если смотреть на поворот линии водородных связей вдоль β -тяжей, считается правой.

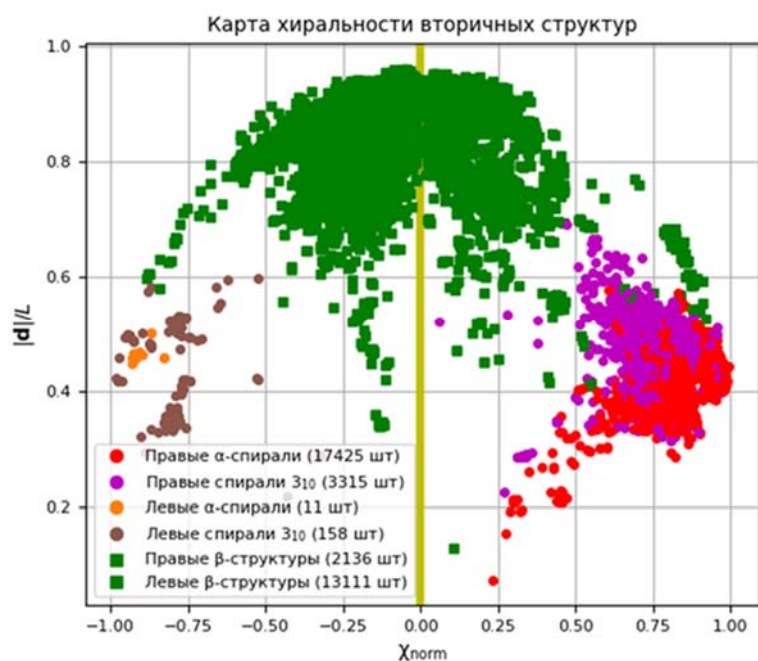


Рисунок 3. Обобщающая карта хиральности вторичных структур белков для 7 классов ферментов: по вертикальной оси отложена степень растянутости структуры (отношение $|d|/L$, где L – длина цепочки)



Рисунок 4. Обобщающая карта хиральности осей вторичных структур белков для 7 классов ферментов: по вертикальной оси отложена степень растянутости структуры (отношение $|d|/L$, где L – длина цепочки)

Данные для определения знака хиральности использовались из базы данных PDB [10-11], где представлены оба метода определения характеристик этих структур. Поэтому на карте хиральности большая часть β -структур расположена в области $72,2^\circ < \angle(d; s) < 141,6^\circ$ (в среднем). Это обстоятельство требует разработки метода определения хиральности именно данных структур.

Расчет хиральности осей вторичных структур белков проводился в соответствии вышеизложенным методом и данными PDB [10-11] (рис. 4). На картах хиральности осей вторичных структур (рис. 4) отмечается более слабая степень закрутки осей по сравнению с закруткой спиралей (рис. 3). Для правых α -спиралей и спиралей 310 этот угол составляет, в среднем, 70° - 90° , а для левых структур (α -спиралей и спиралей 310) – 90° - 110° . Эти данные подтверждают общую тенденцию знака хиральности правых и левых вторичных структур белков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Принципиально новый метод количественной оценки хиральных структур носит общий характер и позволяет достаточно полно характеризовать вторичную структуру белков: тип и знак хиральности, а также получить информацию о пространственной структуре. Результаты обработанных данных подтвердили, что достаточным условием для определения знака хиральности белковых структур является взаимное расположение α -углеродов аминокислот, а знак косинуса угла между векторами позволяет определить направление закрутки вторичных структур. Метод посвящен поиску возможности описать единым физическим параметром иерархию структур белковых молекул в представлениях «нарушений симметрии», связанных с энтропией системы. Принципиально важно, что все эти структурные уровни, независимо от типа симметрии, обладают общим симметричным свойством – хиральностью. Метод расчета и оценки хиральности вторичных структур белков реализован посредством компьютерной программы на языке Python 3.7 с использованием библиотеки данных PDB. В отличие от широко известных карт Рамачандрана [6], определяющих только преобладающую конформацию аминокислот в белке [12], не позволяющих определять знак хиральности и не применимых к нуклеиновым кислотам, наш метод позволяет определять хиральность сурспиралей, -структур и нуклеиновых кислот.

Список литературы / References:

1. Tverdislov V.A., Malyshko E.V. On regularities in the spontaneous formation of structural hierarchies in chiral systems of nonliving and living matter. *Physics Uspekhi*, 2019, vol. 62, no. 4, pp. 354-363.
2. Твердислов В.А. Хиральность как первичный переключатель иерархических уровней в молекулярно-биологических системах. *Биофизика*, 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. 159-164. (In Russ.)]
3. 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.
4. Avnir D., Hel-Or H., Mezey P. Symmetry and chirality: Continuous measures. *The Encyclopedia of Computational Chemistry*, 1998, vol. 4, pp. 2890-2901.
3. Luzanov A.V., Nerukh D. Simple one-electron invariants of molecular chirality. *Journal of mathematical chemistry*, 2007, vol. 41, no. 4. P. 417-435.

4. Pinsky M. [et al.] Analytical methods for calculating continuous symmetry measures and the chirality measure. *Journal of computational chemistry*, 2008, vol. 29, no. 16, pp. 2712-2721.
6. Ramachandran G.N., Ramakrishnan C., Sasisekharan V. Stereochemistry of polypeptide chain configurations. *J Mol. Biol.*, 1963, vol. 7, no. 1, pp. 95.
7. Randic M. Graph theoretical descriptors of two-dimensional chirality with possible extension to three-dimensional chirality. *Journal of chemical information and computer sciences*, 2001, vol. 41, no. 3, pp. 639-649.
7. Raos G. Degrees of chirality in helical structures. *Macromolecular theory and simulations*, 2002, vol. 11, no. 7, pp. 739-750.
8. Sidorova A.E., Malyshko E.V., Kotov A.R., Tverdislov V.A., Ustinin M.N. Quantitative Criteria of Chirality in Hierarchical Protein Structures. *Biophysics*, vol. 64, no. 2, pp. 155-166.
9. Sidorova A.E., Malyshko E.V., Kotov A.R., Levashova N.T., Ustinin M.N., Tverdislov V.A. Protein Folding as an Autowave Process of Self-Organization in Active Media. *Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics*, 2019, vol. 83, no. 1, pp. 85-90.
10. The Protein Data Bank. URL: <http://www.rcsb.org/>
11. PDB File Format Documentation. URL: <http://www.wwpdb.org/documentation/file-format> (accessed: 04.05.2019)
12. Овчинников Ю.А. *Биоорганическая химия*. Просвещение. М., 1987, 815 с. [Ovchinnikov Y.A. *Bioorganic chemistry*. Enlightenment. M., 1987, 815 p. (In Russ.)]

QUANTIFICATION OF CHIRALITY SPIRAL PROTEIN STRUCTURES

Lutsenko A.O., Sidorova A.E.

Lomonosov Moscow State University

Leninskie Gory str., 1/2, Moscow, 119234, Russia; e-mail: sky314bone@mail.ru

Abstract. A new approach to evaluating the sign of chirality (helicity and superhelicity) in the structural hierarchy of proteins is proposed. To determine the sign and magnitude of the chirality of the secondary structure of proteins, an analysis of the relative location of α -carbons was carried out. The angle between the vector of the helix direction and the vector of the sum of vector products allows to unambiguously identify the direction of rotation of the helix in the molecule. This method allows the construction of chiral maps, where the areas corresponding to the narrow range of possible angles for the two types of secondary helix structure are clearly marked.

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