

ОБ ОСОБЕННОСТЯХ ХИРАЛЬНЫХ ВТОРИЧНЫХ СТРУКТУР, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ ФУНКЦИИ БЕЛКОВ

Багрова О.Е., Малышко Е.В., Твердислов В.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
ул. Ленинские горы, 1, г. Москва, 119991, РФ; e-mail: o-bagrova@mail.ru
Поступила в редакцию: 29.07.2019

Аннотация. Современные методы исследований позволяют изучить структуру биополимера, но они не раскрывают полностью механизмы структурообразования. Изучение этих механизмов представляет особый интерес для биофизики. Впервые получено распределение вторичных структур с учётом знака хиральности по полипептидной цепи белков из 4 функциональных классов: вирусные белки, изомеразы, шапероны, оксидоредуктазы. Выявлены общие для всех исследуемых классов закономерности, а также отдельные для каждого класса особенности строения. Произведена компьютерная обработка каждого отдельного белка, по результатам которой построены диаграммы распределения вторичных структур по отдельной цепи и произведено усреднение для функционального класса.

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

Выяснение физических принципов формирования уникальных структур биомакромолекул и механизмов их функционирования на протяжении десятилетий остаётся актуальной проблемой молекулярной биофизики. Достижения биохимии и молекулярной биологии, успешное использование разнообразных физических методов в изучении биомолекулярных структур, математическое моделирование структур и взаимодействий в таких системах позволили достаточно много узнать о строении и функциях биомолекул. Вместе с тем, фундаментальные вопросы относительно механизмов внутримолекулярного и межмолекулярного структурообразования, работы макромолекул как молекулярных машин остаются в значительной степени невыясненными.

Настоящая работа посвящена выявлению закономерностей в распределении вторичных структур на полипептидной цепи белков. Исследования по выявлению закономерностей и соответствий между строением белка и его функциями могут позволить определять роль белков в химических реакциях посредством анализа только структуры их полипептидной цепи. Базисной позицией данной работы можно назвать учёт знака хиральности исследуемых структур. Хиральность играет одну из ключевых ролей в фолдинге белка, то есть в сворачивании полипептидной цепи. Так, данное исследование может повлиять на развитие теории фолдинга, в частности, при создании моделей структурообразования.

Попытки прогнозирования вторичных структур белков по известной первичной структуре проводились еще во второй половине прошлого столетия. В частности, в 1970-х годах Питер Чоу и Геральд 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 1987-го года [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.

Последовательность аминокислот в полипептидной цепи называют первичной структурой белка или пептида. Эта последовательность уникальна для каждого белка. Торчащие в разные стороны радикалы аминокислотных остатков определяют функцию белка и отчасти его пространственную организацию [3]. Полипептиды имеют свойство образовывать более сложные структуры: вторичные, третичные, четвертичные. Образование определённой конфигурации неразрывно связано с особенностями строения на предыдущем уровне. Третичная и четвертичная структуры играют важную роль в межмолекулярном взаимодействии, так как известно, что структура белка определяет его функцию. Для протекания реакции важны не только химические или физические свойства молекул, но и их геометрическое соответствие. Именно поэтому некоторые пары белков, участвующие в реакциях, характеризуются высоко специфичными взаимодействиями, подобными ключу и замку.

Однако важным критерием качественного функционирования белков является их принадлежность к определённому типу хиральности. С самого начала аминокислоты, составляющие белки, могут существовать в виде правых (D-тип) и левых (L-тип) энантиомеров [4]. Химически эти два типа не отличаются друг от друга, за исключением реакций с хиральными веществами. Тем не менее, молекулы разных типов могут отличаться биологическим действием в живых организмах. Например, использование широко распространённого в 1950-х годах снотворного на основе талидомида принесло трагические последствия. Талидомид также может существовать в двух формах. Однако одна из них, как и предполагалось, успокаивает, а другая может влиять на репликацию ДНК, что пагубно сказывается на потомстве [5].

Аминокислоты, как хиральные объекты, объединяются в хиральные структуры всё более высокого уровня организации. В настоящее время на кафедре биофизики физического факультета МГУ развивается концепция о закономерной смене знака хиральности в биологических структурах [6]. Установлено, что существует определённая закономерность при переходе с одного уровня структурной организации белков на более высокий,



Рисунок 1. Периодическая таблица знакопеременных хиральных структур [1]

выражающаяся в смене знака хиральности от первичной до четвертичной структуры: L-D-L-D. Так, в первичной полипептидной цепи встречаются аминокислоты исключительно L-типа. На более высоком уровне организации белков, на уровне спиралей, преобладают структуры D-типа, ещё выше – третичные структуры L-типа и четвертичные – D-типа. Для ДНК (и РНК) наоборот: D-L-D-L. Эта закономерность представлена в виде «периодической таблицы» на рисунке 1.

Тот факт, что цепи белка построены из L-аминокислот, не означает полное отсутствие D-аминокислот в биологических системах. Это утверждение подразумевает, что именно L-аминокислоты выбираются транспортной РНК для синтеза цепи белка в рибосомах. В то же время D-аминокислоты скорее отвечают за гормональные, морфогенетические и другие процессы [7].

На данном этапе исследования нами проводился анализ исключительно вторичных структур в полипептидных цепях, при этом нерегулярные вторичные структуры (β -изгибы, полуповороты) исключены из анализа.

Подборка белков производилась с использованием электронной базы данных Protein Data Bank (PDB), которая позволяет исследовать трёхмерные структуры не только белков, но и нуклеиновых кислот. Данные для этой базы данных получены посредством рентгеновской кристаллографии, спектроскопии ядерного магнитного резонанса и криоэлектронной микроскопии. Информация с сайта PDB позволяет учитывать спирали следующих типов: α , ω , π , γ , 3_{10} , 2_7 , отдельно β -листы и полипролиновые спирали.

Структура молекул на электронном ресурсе представлена в виде текстового файла определённого формата (.pdb). Для обработки этих файлов был разработан специальный алгоритм и реализован посредством программы на языке C++:

- 1) Обработка pdb-файла с помощью программы: поиск строк со следующей информацией
 - Название белка
 - PDB ID белка
 - Тип вторичной структуры: спираль или β -лист;
 - Первая аминокислота вторичной структуры;
 - Последняя аминокислота вторичной структуры;
 - Идентификатор цепи;
 - Идентификатор типа спирали (для спирали);
 - Длина данной вторичной структуры;
 - Первая аминокислота цепи;
 - Последняя аминокислота цепи;
- 2) Получение текстового файла с нужными параметрами белков внутри одного функционального класса;
- 3) Расшифровка типов спиралей (для спирали) с помощью файла «PDB_file format» с электронного ресурса RCSB PDB;
- 4) Подсчёт длины каждой цепи;
- 5) Нормировка длины цепи (чтобы та была длиной в 100 единиц)
- 6) Пересчёт длины каждой вторичной структуры в новой нормировке;

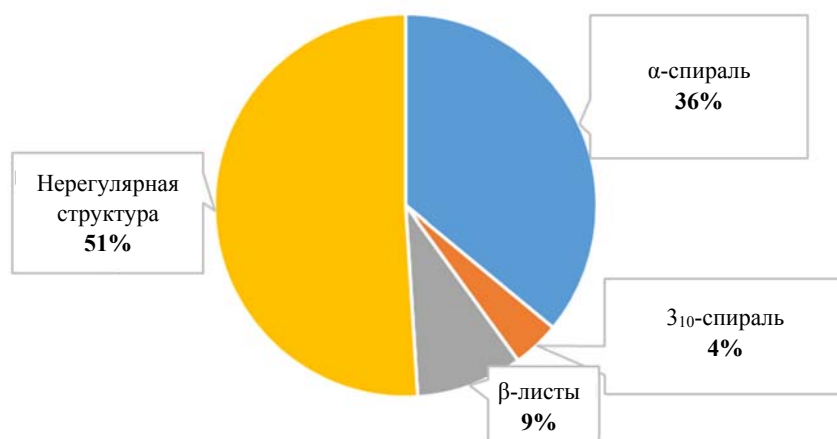


Рисунок 2. Количественное содержание вторичных структур в исследованных белках

- 7) Формирование таблицы результатов для отдельного функционального класса;
- 8) Построение диаграмм распределения вторичных структур по полипептидным цепям белков;
- 9) Усреднение результата (если в файле одного белка присутствует информация о нескольких его цепях)
- 10) Получение итоговых диаграмм распределения.

Для анализа в настоящей работе были выбраны 4 функциональных класса белков:

- 1) Вирусные белки. Учёт структуры вирусов способствует разработке более эффективных лекарств.
- 2) Изомеразы. Эти белки непосредственно превращают один тип энантиомеров в противоположный.
- 3) Шапероны. Исследования данного класса важны для развития теории фолдинга, так как одна из главных функций шаперонов состоит в восстановлении правильной нативной структуры.
- 4) Оксидоредуктазы. Этот класс является одним из самых многочисленных, поэтому его анализ позволяет построить более достоверную и полную картину распределения структур по цепям.

Суммарно было проанализировано 98 уникальных белковых структур: 25 структур вирусных белков, 15 структур шаперонов, 16 структур изомераз и 42 структуры оксидоредуктаз. Файлы с сайта PDB часто хранят в себе информацию о нескольких цепях одного белка, что позволяет получить более достоверный результат. Так, в сумме было проанализировано 325 цепей: 109 цепей вирусов, 40 шаперонов, 38 изомераз, 138 оксидоредуктаз, куда входит более 85 тысяч аминокислотных остатков.

В результате анализа было выявлено, что 51% аминокислотных остатков не образуют регулярные вторичные структуры, 40% остатков входят в спирали, 36% из которых приходится на α -спирали и 4% на спирали 3_{10} , 9% остатков образуют β -листы. Полученное процентное соотношение приведено на рисунке 2.

Данный результат можно сравнить со значениями из исследований Чоу и 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. Заметное расхождение по β -листам можно объяснить выборкой белков. В данной работе результаты основаны на анализе лишь четырёх функциональных классов белков, а количественное содержание тех или иных вторичных структур связано с функцией белка.

Также следует отметить, что все исследованные спирали относились к D-типу, то есть были правозакрученными, что в очередной раз подтверждает концепцию о закономерной смене знака хиральности. Однако в работе [2] 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 рассмотренным функциональным классам.

Результаты анализа представлены в виде диаграмм распределения вторичных структур по цепям на рисунке 3.

Общая длина каждой цепи нормирована и представляет собой ось длиной в 100 ячеек. Для наглядности диаграммы разделены на 4 части. Глубина цвета и цифры ячеек отражают количество аминокислотных остатков, относящихся к данной структуре в единицах диаграммы.

На основе представленных диаграмм выявлено общее свойство, замеченное у исследованных биополимеров: преобладание нерегулярных участков в начале и в конце цепей, за исключением начала оксидоредуктаз, где наблюдается короткий экстремум по β -листам. Это наблюдение согласуется с представлением о белковой глобуле как гидрофобном ядре с гидрофильной оболочкой.

Также найдены закономерности для структуры цепей каждого из 4-х классов. Для вирусов характерно большое количество α -спиралей, особенно в первой половине цепи. Во второй половине это преобладание сменяется преобладанием спиралей 3_{10} . В первой четверти наблюдается экстремум по β -листам. Можно предположить, что большое количество α -спиралей у вирусных белков обеспечивает жесткость молекулы и направленность взаимодействия с инфицированной клеткой.

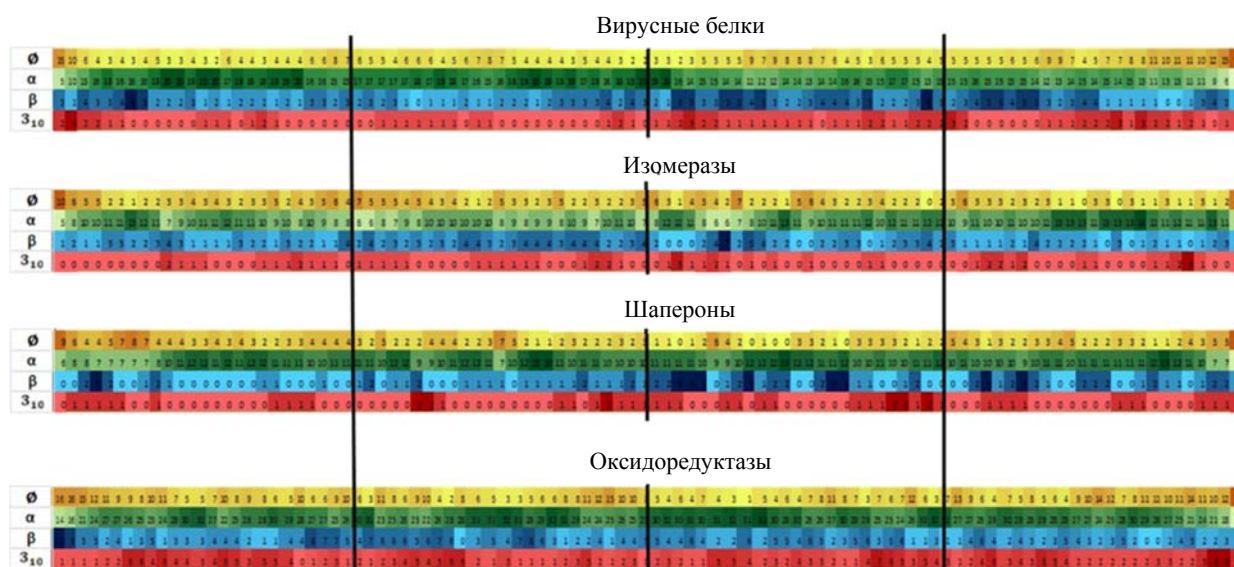


Рисунок 3. Диаграммы распределения: Ø (желтый) – нерегулярные участки, α (зелёный) – α-спирали, β (синий) – β-листы, Z₁₀ (красный) – спирали Z₁₀

У изомераз заметно скопление α-спиралей ближе к концу молекул, при этом явных максимумов по каким-либо вторичным структурам не наблюдается.

При рассмотрении шаперонов, было замечено несколько максимумов по β-структурам во всех четвертях, за исключением второй, где преобладают спирали Z₁₀. Наличие β-листов обеспечивает образование «бочонков» шаперонов, в которых происходит формирование нативной структуры белка.

Для оксидоредуктаз характерен экстремум по Z₁₀-спиралям ближе к концу цепи, а α-спирали расположены ближе к середине, в отличие от изомераз, хотя и те, и другие являются ферментами. Данные структурные свойства могут быть обусловлены особенностями ферментативной специфичности, связанной с переносом электронов.

В настоящей работе выявлены закономерности и особенности в распределении вторичных структур по полипептидным цепям белков выбранных функциональных классов: вирусные, изомеразы, шапероны, оксидоредуктазы.

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. Дальнейшее изучение связи структуры и функций белков может позволить понять, как работают и взаимодействуют те или иные биополимеры. Также подобные исследования важны для понимания, как последовательность аминокислот, то есть первичная структура, приобретает определённую, нужную ей форму. Это позволит иметь представления о выполняемых белком функциях, имея информацию только о его строении, и создавать более совершенные модели фолдинга, решая фундаментальные проблемы биофизики.

Список литературы / References

1. Chou P.Y., Fasman G.D. Prediction of the secondary structure of proteins from their amino acid sequence. *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.*, 1978, vol. 47, pp. 45-148.
2. Adzhubei A.A., Eisenmenge F.R., Tumanyan V.G., Zinke M., Brodzinski S., Esipova N.G. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 1987, vol. 5, iss. 3.
3. Финкельштейн А.В., Птицын О.Б. *Физика белка: курс лекций с цветными и стереоскопическими иллюстрациями и задачами*. М: КДУ, 2012, 491 с. [Finkelstein A.V., Ptitsyn O. B. *Protein physics: a course of lectures with color and stereoscopic illustrations and tasks*. М: KDU, 2012, 491 p. (In Russ.)]
4. Тейлор Д., Грин Н., Стаут У. *Биология: в 3 т. Т 1*. М.: Лаборатория знаний, 2018, 454 с. [Taylor D., Green N., Stout W. *Biology: in 3 vol. Vol. 1*. М.: Laboratory of knowledge, 2018, 454 p. (In Russ.)]
5. Солдатенков А.Т. *Основы органической химии лекарственных веществ*. М.: Химия, 2001, 192 с. [Soldatenkov A. T. *Fundamentals of organic chemistry of drugs*. М.: Chemistry, 2001, 192 p. (In Russ.)]
6. Твердислов В.А., Малышко Е.В., Ильченко С.А., Жулябина О.А., Яковенко Л.В. Периодическая система хиральных структур в молекулярной биологии. *Биофизика*, 2017, т. 62, вып. 3, с. 421-434. [Tverdislov V.A., Malyshko E.V., Ilchenko S.A., Zhulebino O.A., Yakovenko L.V. The periodic system of chiral structures in molecular biology. *Biophysics*, 2017, vol. 62, iss 3, pp. 421-434. (In Russ.)]
7. Твердислов В.А., Сидорова А.Э., Яковенко Л.В. От симметрий – к законам эволюции. I. Хиральность как инструмент стратификации активных сред. *Биофизика*, 2012, т. 57, вып. 1, с. 146-154. [Tverdislov V.A., Sidorova A.E., Yakovenko L.V. From symmetries to the laws of evolution. I. Chirality as an instrument of stratification of the active medium. *Biofizika*, 2012, vol. 57, no. 1, pp.146-154. (In Russ.)]

ON THE FEATURES OF CHIRAL SECONDARY STRUCTURES DETERMINING THE FUNCTIONS OF PROTEINS**Bagrova O.E., Malyshko E.V., Tverdislov V.A.**

Lomonosov Moscow State University

Leninskie Gory str., 1, Moscow, 119991, Russia; e-mail: o-bagrova@mail.ru

Abstract. Modern research methods allow us to study the structure of the biopolymer, but the mechanisms of structure formation are not clear for us. The study of these mechanisms is particular interest for Biophysics. In this paper, the distribution of secondary structures was considered taking into account the sign of chirality of the polypeptide chain of proteins from 4 functional classes: viral proteins, isomerases, chaperones, oxidoreductases. Common patterns for all classes and individual features of the structure for each class were found. Then computer processing of each protein was carried out. The distribution diagrams of each individual chain were constructed on the basis of the obtained results. As a result, several general patterns were revealed.

Key words: *chirality, proteins, secondary structure, α -helix, β -sheet.*