

В. В. Побойнев¹, В. В. Хрусталеv¹, Т. А. Хрусталева²¹*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*²*Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь***ОСОБЕННОСТИ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА
АЛЬФА-СПИРАЛЬНЫХ УЧАСТКОВ В ПОЛИПЕПТИДНЫХ ЦЕПЯХ
БЕЛКОВ РАЗЛИЧНЫХ СТРУКТУРНЫХ КЛАССОВ**

Аннотация. В статье проанализированы особенности распределения аминокислотных остатков по альфа-спиральным фрагментам 3D-структур негомологичных белков четырех структурных классов. По результатам сравнения вероятностных шкал выяснено, что высокая вероятность включения в альфа-спирали лизина, аргинина и гистидина отмечается не во всех классах белков, в отличие от постоянно формирующих альфа-спирали аланина, лейцина, глутаминовой кислоты, глутамина и метионина. Для альфа-спиралей бета-структурных белков характерно обеднение лейцином на фоне повышения частоты использования глутамина, а также комбинаций гидрофильных и гидрофобных аминокислотных остатков, стабилизирующих альфа-спираль, по сравнению с альфа-спиралями из белков альфа-спирального класса. Особенности аминокислотного состава альфа-спиральных участков, расположенных между двумя бета-тяжами в белках бета-структурного класса и в смешанных белках, указывают на то, что они в наибольшей степени защищены от перехода в бета-структурное состояние. Полученные сведения важны при отборе антигенных фрагментов белков, имеющих в своем составе альфа-спиральные участки, отличающиеся наибольшей стабильностью вторичной структуры, для дальнейшего дизайна вакцинных пептидов.

Ключевые слова: альфа-спираль, структурный класс белка, гидрофобный аминокислотный остаток, гидрофильный аминокислотный остаток, бета-тяж

Для цитирования: Побойнев, В. В. Особенности аминокислотного состава альфа-спиральных участков в полипептидных цепях белков различных структурных классов / В. В. Побойнев, В. В. Хрусталеv, Т. А. Хрусталева // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2017. – № 4. – С. 58–66.

V. V. Poboinev, V. V. Khrustalev, T. A. Khrustaleva¹*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*²*Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus***THE CHARACTERISTIC PROPERTIES OF AMINO ACID CONTENT OF ALPHA HELICES FRAGMENTS
IN POLYPEPTIDE CHAINS OF DIFFERENT STRUCTURAL CLASSES OF PROTEINS**

Abstract. In this study we analyzed the amino acid content of alpha helices from proteins that belong to four structural classes in nonhomologous sets of 3D structures. Comparison of probability scales revealed that lysine, arginine and histidine show high probabilities to be included in alpha helices only in certain structural classes of proteins, unlike the constant formers of alpha helices: alanine, leucine, glutamic acid, glutamine and methionine. Alpha helices of beta structural proteins show lower usage of leucine and higher usage of glutamine, as well as the elevated usage of combinations of hydrophilic and hydrophobic amino acids that are characteristic to beta strands, relative to alpha helices from alpha helical proteins. The properties of amino acid content of alpha helices situated between two beta strands in beta structural and mixed proteins show that they are protected from the shift to beta strands. Obtained data are important in the process of the selection of antigenic fragments of proteins that contain alpha helices with highly stabilized secondary structure, with the aim to use them in vaccine design studies.

Keywords: alpha helix, structural class of a protein, hydrophobic amino acid residue, hydrophilic amino acid residue, beta strand

For citation: Poboinev V. V., Khrustalev V. V., Khrustaleva T. A. The characteristic properties of amino acid content of alpha helices fragments in polypeptide chains of different structural classes of proteins. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2017, no. 4, pp. 58–66 (in Russian).

Введение. Альфа-спираль является одним из основных элементов вторичной структуры белков. Выяснение механизмов образования альфа-спиралей и поддержания их структуры является одним из наиболее интригующих вопросов в протеомике. Помимо развития теоретических представлений об архитектуре белка исследования в данной области имеют и важный практический

аспект. В частности, вакцинные антигены, представляющие собой не полноразмерные белки, а их фрагменты, должны обладать вторичной структурой, аналогичной таковой в полноразмерных молекулах. В обратном случае выработанные к ним антитела не будут распознавать антигены возбудителей.

Идея о том, что вторичная структура белка детерминирована его аминокислотной последовательностью (т. е. первичной структурой), нашла свое подтверждение в трудах Chou и Fasman [1]. Так, по вероятностным шкалам Chou и Fasman в альфа-спирали чаще включены такие аминокислотные остатки, как аланин, глутамин, глутаминовая кислота, аргинин, лейцин, метионин, лизин [1]. Из этих аминокислот четыре (глутамин, глутаминовая кислота, аргинин, лизин) являются гидрофильными, а три (аланин, лейцин, метионин) – гидрофобными. По мере увеличения международной базы данных, содержащей сведения о трехмерном строении биологических макромолекул, дальнейшие исследования предполагали изучение все большего количества белков [2]. В результате этих исследований предложены новые методы для предсказания вторичной структуры. Однако ни один из вероятностных методов предсказания вторичной структуры не мог перешагнуть за 70 % в эффективности определения границ альфа-спиралей и бета-тяжей по аминокислотной последовательности [3]. При дальнейшем увеличении количества трехмерных структур эффективность каждого ранее созданного метода закономерно падала до 50–60 % [4]. Помимо непосредственно аминокислотного состава в расчет принимался дипептидный состав [5], трипептидный состав [6, 7], комбинации аминокислотных остатков [8]. Методы предсказания значительно отличались по статистическим подходам к расчету вероятности включения данного аминокислотного остатка в соответствующий элемент вторичной структуры [9]. Элементы вторичной структуры классифицировали в зависимости от особенностей их строения и состава [10], уделяя особое внимание их концевым участкам (кэпам) [11], анализировали распределение гидрофильных и гидрофобных остатков по ним [12], но предсказать вторичную структуру с эффективностью свыше 70 % это не помогло.

Закономерный вопрос о том, почему не удается точно определить границы альфа-спиралей, требует своего решения. Согласно нашей гипотезе, некоторые альфа-спирали формируются индуцировано – под воздействием других альфа-спиралей, образующих контакты с соответствующим фрагментом белка. Протестировать эту гипотезу представляется возможным при сравнении строения альфа-спиралей из преимущественно альфа-спиральных белков с альфа-спиралями из белков других структурных классов. Если индуцированное образование альфа-спиралей широко распространено, то в альфа-спиралях из альфа-спиральных белков будут чаще встречаться фрагменты, не имеющие предрасположенности к формированию именно такой вторичной структуры. С другой стороны, те альфа-спирали, которые расположены между двумя бета-тяжами (в первичной последовательности белка), наоборот, должны отличаться наиболее характерными для альфа-спиралей комбинациями аминокислотных остатков.

Цель исследования – выявить особенности аминокислотного состава и частоту использования пентапептидов в альфа-спиралях белков, относящихся к четырем структурным классам, оценить влияние фланкирующих участков на частоту использования аминокислотных остатков в альфа-спиралях каждого класса белков.

Задачи: 1) сформировать выборки негомологичных белков четырех структурных классов; 2) создать вероятностные шкалы для каждой выборки; 3) сравнить аминокислотный состав и частоту использования пентапептидов в альфа-спиралях белков четырех структурных классов; 4) выявить особенности строения альфа-спиралей в зависимости от фланкирующих их участков белков четырех структурных классов.

Материалы и методы исследования. В ходе работы были использованы выборки 3D-структур белков человека и животных, относящиеся к четырем структурным классам: альфа-спиральным, бета-структурным, «альфа + бета» и «альфа/бета». Каждая выборка включала по 100 негомологичных аминокислотных последовательностей, полученных из международной базы данных PDB. Для исключения гомологии максимальный процент сходства аминокислотных последовательностей белков в каждой выборке друг с другом не превышал 25 % по алгоритму Decrease Redundancy (web.expasy.org/decrease_redundancy). Информация по границам альфа-спиралей и бета-тяжей

была получена из PDB файлов по результатам работы алгоритма DSSP [13]. Регионы белков, которые не содержали ни альфа-спиралей, ни бета-тяжей, были отнесены к неструктурированному состоянию (койлу). Вероятностные шкалы были построены для аминокислот и комбинаций гидрофобных (O) и гидрофильных (W) остатков в пентапептидах для белков из каждого структурного класса.

Согласно шкале гидрофобности Айзенберга [8], к гидрофильным аминокислотам относятся аргинин, лизин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты, аспарагин, глутамин, серин, треонин и гистидин, а к гидрофобным аминокислотам – глицин, пролин, аланин, валин, изолейцин, лейцин, метионин, тирозин, фенилаланин, цистеин и триптофан. Так как в каждом пентапептиде может присутствовать только два вида аминокислотных остатков (гидрофобный или гидрофильный), то максимальное количество пентапептидов равно 32 (2^5). Разделение элементов вторичной структуры на пентапептиды проводилось методом скольжения с шагом в одну аминокислоту [14]. Если элемент вторичной структуры включал менее пяти аминокислотных остатков, то он не попадал в выборку. Достоверность различий в аминокислотном составе определяли с помощью *t*-теста для относительных величин.

Результаты и их обсуждение. Сравнение вероятностных шкал для четырех структурных классов белков. В табл. 1 приведены результаты расчета предпочтительности включения аминокислотных остатков в альфа-спираль (H), бета-тяж (E) или в неструктурированный участок (C) для выборок белков четырех структурных классов. К аминокислотным остаткам, которые преимущественно образуют альфа-спирали во всех белках, относятся глутаминовая кислота, глутамин, аланин, метионин и лейцин.

Таблица 1. Сравнение вероятностных шкал включения аминокислотных остатков в альфа-спирали (H), бета-тяжи (E) и неструктурированные фрагменты (C) для четырех структурных классов белков

Table 1. Comparison of probabilistic scales of incorporating amino acid residues in alpha helices (H), beta-strands (E) and unstructured fragments (C) for four structural classes of proteins

Аминокислотный остаток	Структурный класс белка				Аминокислотный остаток	Структурный класс белка			
	Альфа	Бета	Альфа + бета	Альфа/бета		Альфа	Бета	Альфа + бета	Альфа/бета
Аспарагиновая кислота (D)	C	C	C	C	Глицин (G)	C	C	C	C
Глутаминовая кислота (E)	H	H	H	H	Пролин (P)	C	C	C	C
Лизин (K)	C	H	H	H	Фенилаланин (F)	E	E	E	E
Аргинин (R)	H	E	H	H	Тирозин (Y)	E	E	E	E
Гистидин (H)	E	H	C	C	Метионин (M)	H	H	H	H
Серин (S)	C	C	C	C	Изолейцин (I)	E	E	E	E
Треонин (T)	E	E	E	E	Лейцин (L)	H	H	H	H
Аспарагин (N)	C	C	C	C	Валин (V)	E	E	E	E
Глутамин (Q)	H	H	H	H	Цистеин (C)	E	E	E	E
Аланин (A)	H	H	H	H	Триптофан (W)	E	E	E	E

Лизин является аминокислотным остатком, предпочитающим включаться в альфа-спирали всех структурных классов белков, за исключением альфа-спиральных, в которых он чаще образует неструктурированные участки. Объяснить этот феномен можно тем, что остатки лизина часто стабилизируют С-конец альфа-спирали [11]. Так называемые кэпы альфа-спиралей поддерживают их структуру за счет образования водородных связей с помощью боковых цепей и за счет создания дипольного момента: на N-конце альфа-спирали часто несут отрицательный заряд, а на С-конце – положительный [11]. В случае наличия в белке бета-структуры лизиновые С-кэпы должны быть особенно востребованными – они могут предотвращать переход от альфа-спирали к бета-структуре. В альфа-спиральных белках вероятность такого индуцированного перехода значительно ниже, так как бета-тяжи в них встречаются редко. В результате важность кэпов может снижаться, так как вторичная структура будет воспроизводиться и без них.

Как правило, остатки аргинина включаются в состав альфа-спиралей всех классов белков, кроме бета-структурных. С одной стороны, аргинин обладает гидрофильным положительно заряженным боковым радикалом. С другой стороны, положительный заряд его сконцентрирован

только в гуанидиновой группе, а большая часть его боковой цепи является гидрофобной. В бета-структурных белках аргинин чаще вовлекается в состав бета-тяжей, играя роль аминокислоты, создающей гидрофильный интерфейс протеина. Гистидин же демонстрирует весьма изменчивые предпочтения по включению в элементы вторичной структуры: это альфа-спиральная аминокислота в бета-структурных белках и бета-структурная аминокислота – в альфа-спиральных. В смешанных белках гистидин находится преимущественно в неструктурированном состоянии.

Обращает на себя внимание симметричность строения пентапептидов, как правило, формирующих альфа-спирали во всех четырех классах белков. Такие пентапептиды (табл. 2) содержат в середине или один гидрофобный остаток (все остальные остатки – гидрофильные), или один гидрофильный остаток (все остальные – гидрофобные). Другой вариант альфа-спиральных комбинаций: два гидрофильных остатка подряд, а за ними два гидрофобных остатка подряд (в пентапептидах WWOOW, WOOWW, OOWWO и OWWOO).

Таблица 2. Сравнение вероятностных шкал включения пентапептидов, состоящих из гидрофильных (W) и гидрофобных (O) остатков, в альфа-спирали (H), бета-тяжи (E) и неструктурированные фрагменты (C) для четырех структурных классов белков

Table 2. Comparison of probabilistic scales of incorporating pentapeptides composed of hydrophilic (W) and hydrophobic (O) residues in alpha helices (H), beta-strands (E) and unstructured fragments (C) for four structural classes of proteins

Пентапептид	Структурный класс белка				Пентапептид	Структурный класс белка			
	Альфа	Бета	Альфа + бета	Альфа/бета		Альфа	Бета	Альфа + бета	Альфа/бета
WWWWW	C	C	C	C	WOOOO	H	H	C	C
OWWWW	C	C	C	C	OWWOO	H	H	H	H
WOWWW	C	C	C	C	OOWWO	H	H	H	H
WWOWW	H	H	H	H	OOOWW	H	E	E	C
WWWOW	C	C	C	C	WOWOO	E	E	E	E
WWWWO	C	C	C	C	OWOWO	E	E	E	E
OOWWW	C	C	C	C	OOWOW	E	E	E	C
WOOWW	H	H	H	H	WOOWO	E	H	H	H
WOOOW	H	H	H	H	OWOOW	E	H	H	H
WWWOO	C	C	C	C	WOOOW	H	E	E	E
OWOWW	E	C	C	C	WOOOO	E	E	E	E
WOWOW	E	E	E	C	OWOOO	E	E	E	E
WWOWO	C	C	C	C	OOWOO	H	H	H	H
OWWOW	C	C	C	H	OOOWO	H	E	E	E
WOWWO	C	C	C	C	OOOOW	E	E	E	E
OOWWO	C	C	C	C	OOWOO	E	E	E	E

Некоторые пентапептиды, содержащие три подряд гидрофобных остатка (WOOOO, OOWWW, WOOOW и OOWWO) становятся альфа-спиральными в белках альфа-спирального класса. В белках других классов они чаще образуют бета-тяжи или неструктурированные фрагменты полипептидной цепи – в белках класса «альфа/бета» (табл. 2). Общая тенденция для белков всех классов заключается в том, что кластеры гидрофильных аминокислотных остатков не образуют ни альфа-спиралей, ни бета-тяжей, а кластеры гидрофобных остатков формируют преимущественно бета-тяжи [14]. Чередование гидрофильных и гидрофобных остатков через один в большей степени характерно для бета-структуры [14].

Сравнение частоты использования аминокислотных остатков в альфа-спиралях четырех классов белков. При рассмотрении аминокислотного состава альфа-спиралей белков четырех структурных классов обнаружены некоторые достоверные различия. По сравнению с альфа-спиралями альфа-спиральных белков альфа-спирали бета-структурных белков обеднены лейцином и метионином, но обогащены глутамином, триптофаном и аспарагиновой кислотой. Для лейцина вероятность включения в бета-тяж выше, чем для глутамина (хотя оба они преимущественно образуют альфа-спирали) [14]. Вполне вероятно, что наличие в альфа-спиралях глутамина делает их более устойчивыми к альфа-бета переходам. Присутствие лейцина, наоборот, несколько по-

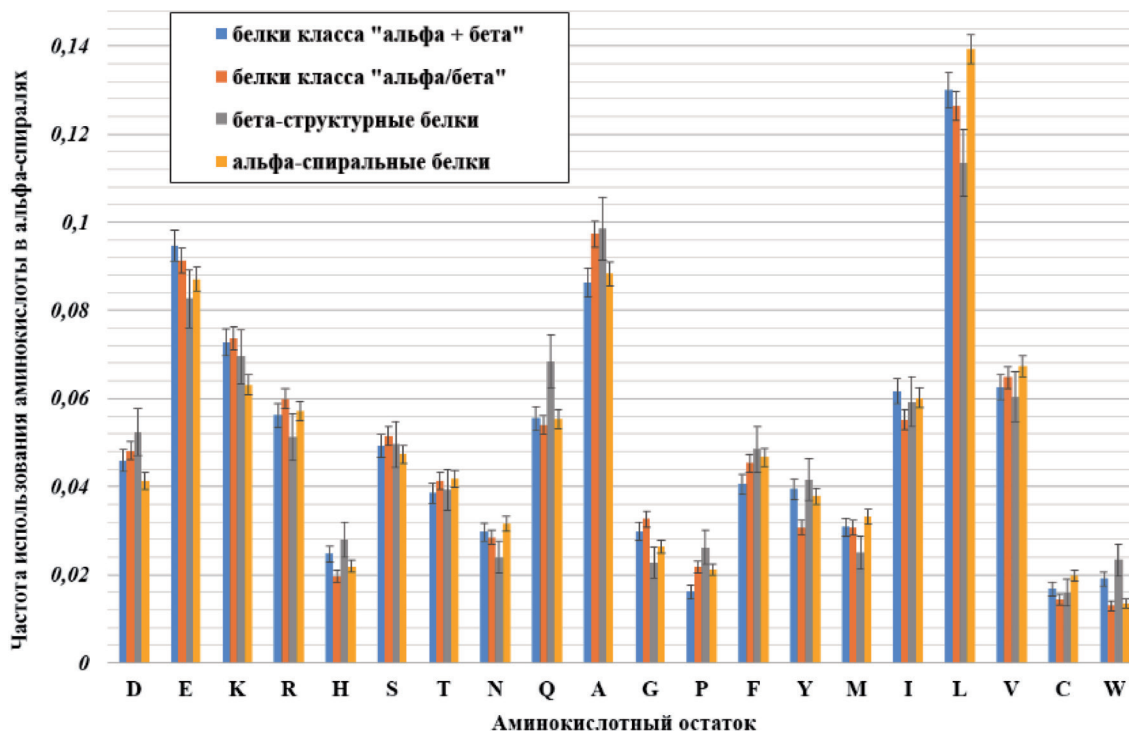


Рис. 1. Аминокислотный состав альфа-спиральных участков белков четырех структурных классов

Fig. 1. Amino acid composition of alpha-helical fragments of four structural classes of proteins

вышает такую вероятность. В результате в немногочисленных (но устойчивых) альфа-спиралях бета-структурных белков частота использования глутамина находится на более высоком уровне, а частота использования лейцина – на более низком. Аспарагиновая кислота – наиболее «популярная» аминокислота для начала альфа-спирали [11]. Наличие кэпа на N-конце становится менее важным для альфа-спиральных белков, когда многочисленные взаимодействующие альфа-спирали и так стабилизируют друг друга. В результате ослабления отрицательного естественного отбора замена аспарагиновой кислоты на другие остатки зачастую фиксируется в альфа-спиралях именно альфа-спиральных белков. Еще один общий тренд – достоверное снижение частоты использования пролина в альфа-спиралях белков класса «альфа + бета» по сравнению с белками всех остальных классов. Альфа-спирали белков класса «альфа/бета» имеют несколько отличительных черт по сравнению со спиралями из белков класса «альфа + бета»: в них достоверно чаще используется аланин, а аминокислотные остатки гистидина, тирозина и триптофана используются реже. Аланин отличается наибольшей частотой включения в состав альфа-спиралей во всех структурных классах белков, в отличие от тирозина и триптофана, которые преимущественно входят в состав бета-тяжей, и гистидина, предпочитающего койл в классах «альфа + бета» и «альфа/бета». Действительно, при чередовании альфа-спиралей и бета-тяжей по ходу первичной последовательности белка особенно важна стабилизация каждой альфа-спирали специфическими комбинациями аминокислот. В целом же аминокислотный состав альфа-спиралей отличается высокой степенью сходства для белков всех структурных классов (рис. 1).

Если рассматривать частоту использования каждого пентапептида отдельно (рис. 2), то число достоверных отличий между альфа-спиралями белков четырех классов будет не столь велико. Такие гидрофобные бета-структурные пентапептиды, как WOOOO, OWOOO и OOOOWO, а также амфифильный бета-структурный пентапептид OWOWO, достоверно чаще встречаются в альфа-спиралях альфа-спиральных белков, чем в альфа-спиралях бета-структурных белков. Два бета-структурных пентапептида (WOOOO и OOOOO) реже встречаются в альфа-спиралях белков класса «альфа + бета», чем в альфа-спиралях альфа-спиральных белков. В то же время альфа-спиральный пентапептид WWOOW в альфа-спиралях белков класса «альфа + бета» встречается чаще, чем в альфа-спиралях альфа-спиральных белков. Эти особенности объясняются тем, что

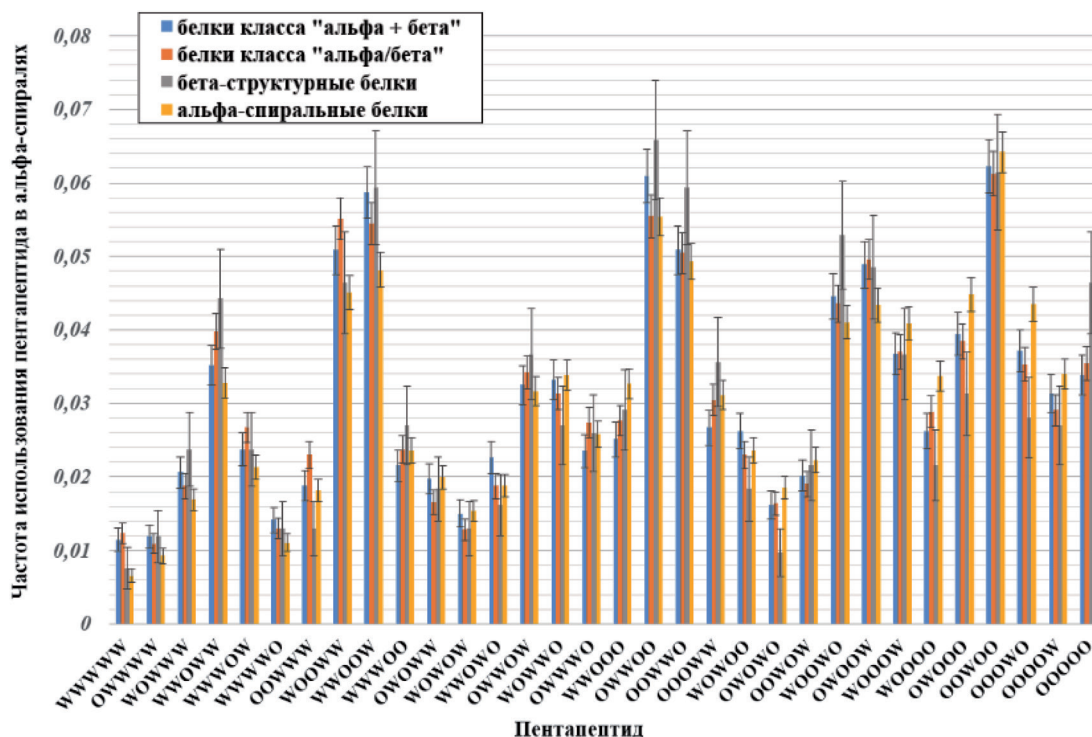


Рис. 2. Пентапептидный состав альфа-спиральных участков белков четырех структурных классов

Fig. 2. Pentapeptide composition of alpha-helical fragments of four structural classes of proteins

в альфа-спиральных белках даже те комбинации аминокислот, которые весьма характерны для бета-тяжей, могут включаться в состав альфа-спиралей за счет индуцирующего эффекта. Следует отметить, что в белках класса «альфа + бета», в которых существуют отдельные альфа-спиральные домены, стабилизация альфа-спиралей характерными комбинациями аминокислот становится более важной, чем в альфа-спиральных белках.

Более информативный подход – вычисление суммы частот использования чисто альфа-спиральных, бета-структурных и неструктурированных пентапептидов в альфа-спиральных фрагментах четырех структурных классов белков с последующим их сравнением. При таком сравнении частота использования чисто альфа-спиральных пентапептидов (WWWW, WOOWW, WWOOW, OWOOO, OOWWO и OOWWO) в альфа-спиральных альфа-спиральных белков достоверно ниже, чем в альфа-спиральных всех остальных структурных классов белков. Разница в частоте их использования для спиралей альфа-спиральных белков по сравнению со спиральями бета-структурных белков составила 14,10 %. Этот парадокс объясняется тем, что «активные» альфа-спиральи в альфа-спиральных белках чаще, чем в белках других классов, индуцируют формирование альфа-спиралей из таких фрагментов полипептидной цепи, которые вообще не обладают собственным альфа-спиральным потенциалом. О справедливости данной гипотезы свидетельствует факт достоверно более высокой частоты использования в альфа-спиральных альфа-спиральных белков пентапептидов, характерных для бета-тяжей (WOWOO, OWOWO, WOOWO, OWOWO, OOWWO и OOWWO), по сравнению с альфа-спиральями трех оставшихся классов (разница с бета-структурными белками составила 22,13 %).

Еще одной интересной особенностью альфа-спиральных белков является повышенная гидрофобность их альфа-спиралей по сравнению с альфа-спиральями смешанных белков. Вместо ядра из гидрофобной бета-структуры, характерного для бета-структурных и смешанных белков, в альфа-спиральных белках появляется ядро из гидрофобных альфа-спиралей. От перехода этого ядра в бета-структуру предохраняют взаимодействия с другими альфа-спиральями, в том числе с теми, которые одной из поверхностей контактируют с водной средой. В пользу этого свидетельствует не только повышение частоты использования гидрофобных бета-структурных пентапептидов в альфа-спиральных альфа-спиральных белков, но и достоверное снижение суммарной частоты использования гидрофильных неструктурированных пентапептидов (WWWWW, OWWWW, WOWWW,

WWWW, WWWO, OOWWW, WWOO, WWOW, WOWWO и OWWWO) в этих элементах вторичной структуры по сравнению со смешанными белками.

Влияние фланкирующих элементов вторичной структуры на аминокислотный состав альфа-спиралей четырех структурных классов белков. Наиболее выраженные изменения в аминокислотном составе альфа-спиралей в зависимости от того, какие элементы вторичной структуры находятся по направлению к N- и C-концу от них, найдены в бета-структурных белках (рис. 3). Частота использования глутамина в альфа-спиралях, расположенных между двумя бета-тяжами, достоверно превосходит таковые в альфа-спиралях, расположенных между альфа-спиралью и бета-тяжем и между бета-тяжем и альфа-спиралью. Лейцина достоверно меньше в альфа-спиралях, расположенных между двумя бета-тяжами, чем в альфа-спиралях между двумя альфа-спиралями и между альфа-спиралью и бета-тяжем. Пролин гораздо реже присутствует в альфа-спиралях между двумя бета-тяжами и между бета-тяжем и альфа-спиралью, чем в спиралях между двумя спиральями и между альфа-спиралью и бета-тяжем. Аспарагиновой кислоты, наоборот, достоверно больше в альфа-спиралях между двумя бета-тяжами и между бета-тяжем и альфа-спиралью, чем в альфа-спиралях между двумя альфа-спиралями и между альфа-спиралью и бета-тяжем.

Такие особенности альфа-спиралей в бета-структурных белках свидетельствуют о том, что альфа-спирали между двумя бета-тяжами особенно часто стабилизируются за счет включения в них (в N-концы) глутамина и аспарагиновой кислоты, а также за счет избегания частого использования пролина и лейцина. Похожие сдвиги в меньшей степени выражены для альфа-спиралей, расположенных между бета-тяжем и альфа-спиралью. По всей видимости, для фолдинга белка непосредственно по мере его синтеза на рибосоме имеет значение, какой элемент вторичной структуры уже сформировался на N-конце полипептидной цепи. Если на N-конце имеется бета-тяж, то вероятность индуцированного образования бета-структуры вновь синтезированным фрагментом цепи резко возрастает. Некоторые особенности аминокислотного состава, описанные выше, должны препятствовать превращению альфа-спирали в бета-структуру в процессе синтеза белка.

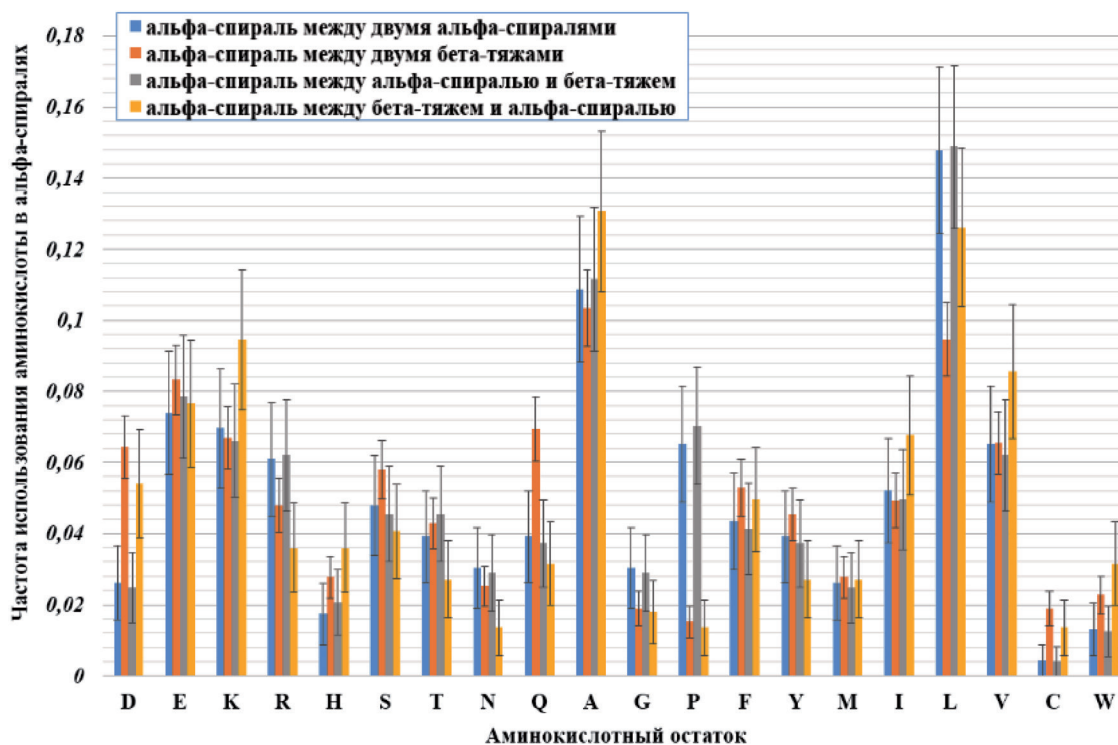


Рис. 3. Аминокислотный состав альфа-спиралей бета-структурных белков в зависимости от фланкирующих элементов вторичной структуры

Fig. 3. Amino acid composition of alpha helices of beta structural proteins depending on flanking secondary structure elements

В белках класса «альфа + бета» также существуют некоторые механизмы стабилизации альфа-спиралей, расположенных между двумя бета-тяжами. В таких альфа-спиралях достоверно чаще используется аланин – аминокислота, с наиболее высокой вероятностью формирующая альфа-спираль [14]. Кроме того, в альфа-спиралях между двумя бета-тяжами достоверно реже используется лейцин, чем в альфа-спиралях между двумя альфа-спиралями. В последних также чаще, чем в спиралах между спиралью и бета-тяжем, между бета-тяжем и спиралью, используется пролин. Похожие сдвиги в аминокислотном составе обнаружены и в альфа-спиралях белков класса «альфа/бета»: аланин чаще используется в спиралах между двумя бета-тяжами, чем в спиралах между двумя спиральями и между альфа-спиралью и бета-тяжем; пролин и лейцин чаще сохраняются в альфа-спиралях между спиральями, чем в спиралах между бета-тяжами и альфа-спиралью и бета-тяжем соответственно. Следует отметить, что в альфа-спиральных белках такие закономерности почти не прослеживаются. В частности, аланин и глутамин в них чаще встречаются в альфа-спиралях между двумя альфа-спиралями, чем в спиралах между двумя бета-тяжами и между альфа-спиралью и бета-тяжем соответственно.

Выводы

1. Созданы вероятностные шкалы для включения аминокислот и пентапептидов, состоящих из гидрофильных и гидрофобных аминокислотных остатков, в элементы вторичной структуры в каждом из четырех структурных классов белков. Определены те аминокислоты и пентапептиды, в которых образование элементов вторичной структуры меняется в зависимости от структурного класса белка.

2. Установлен факт повышения частоты использования пентапептидов, свойственных для бета-тяжей, в альфа-спиралях белков альфа-спирального класса на фоне снижения в них частоты использования пентапептидов, стабилизирующих альфа-спирали. Эти факты свидетельствуют о значительном вкладе дальних взаимодействий в формирование альфа-спиралей в альфа-спиральных белках.

3. Альфа-спирали, расположенные между двумя бета-тяжами, в большей степени стабилизированы характерными аминокислотными остатками, чем альфа-спирали, расположенные между двумя альфа-спиралями. Данная закономерность особенно выражена в бета-структурных белках, менее четко – в белках классов «альфа + бета» и «альфа/бета», практически не прослеживается в белках альфа-спирального класса.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках гранта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований № Б16М-083.

Acknowledgements. This work was financially supported by the grant of the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research no. B16M-083.

Список использованных источников

1. Chou, P. Y. Prediction of the secondary structure of proteins from their amino acid sequence / P. Y. Chou, G. D. Fasman // *Adv. Enzymol. Relat. Areas. Mol. Biol.* – 1978. – Vol. 47. – P. 45–48.
2. Munoz, V. Intrinsic secondary structure propensities of the amino acids, using statistical phi-psi matrices: comparison with experimental scales / V. Munoz, L. Serrano // *Proteins.* – 1994. – Vol. 20. – P. 301–311.
3. Pirovano, W. Protein secondary structure prediction / W. Pirovano, J. Heringa // *Methods Mol. Biol.* – 2010. – Vol. 609. – P. 327–348.
4. Predicting protein secondary structure using consensus data mining (CDM) based on empirical statistics and evolutionary information / G. Kandoi [et al.] // *Methods Mol. Biol.* – 2017. – Vol. 1484. – P. 35–44.
5. Барковский, Е. В. Карты преимущественного конформационного состояния дипептидов в структурированных участках глобулярных белков / Е. В. Барковский, Д. В. Кириленко // *Биофизика.* – 1985. – Т. 30, вып. 5. – С. 786–790.
6. Anishetty, S. Tripeptide analysis of protein structures / S. Anishetty, G. Pennathur, R. Anishetty // *BMC Struct. Biol.* – 2002. – Vol. 2. – P. 9.
7. Costantini, S. PreSSAPro: a software for the prediction of secondary structure by amino acid properties / S. Costantini, G. Colonna, A. M. Facchiano // *Comput. Biol. Chem.* – 2007. – Vol. 31. – P. 389–392.
8. Analysis of membrane and surface protein sequences with the hydrophobic moment plot / D. Eisenberg [et al.] // *J. Mol. Biol.* – 1984. – Vol. 179. – P. 125–142.
9. NPS@: network protein sequence analysis / C. Combet [et al.] // *Trends Biochem. Sci.* – 2000. – Vol. 25. – P. 147–150.

10. Tendulkar, A. V. Characterization and sequence prediction of structural variations in α -helix / A. V. Tendulkar, P. P. Wangikar // *BMC Bioinformatics*. – 2011. – Vol. 12, suppl. 1. – P. S20.
11. Aurora, R. Helix capping / R. Aurora, G. D. Rose // *Protein Sci.* – 1998. – Vol. 7, N 1. – P. 21–38.
12. Лим, В. И. Стереохимическая теория вторичной структуры глобулярных белков. II. Методы локализации α -спиральных и β -спиральных участков // *Биофизика*. – 1974. – Т. 19, вып. 3. – P. 562–575.
13. Kabsch, W. Dictionary of protein secondary structure: pattern recognition of hydrogen-bonded and geometrical features / W. Kabsch, C. Sander // *Biopolymers*. – 1983. – Vol. 22. – P. 2577–2637.
14. Khrustalev, V. V. Stabilization of secondary structure elements by specific combinations of hydrophilic and hydrophobic amino acid residues is more important for proteins encoded by GC-poor genes / V. V. Khrustalev, E. V. Barkovsky // *Biochimie*. – 2012. – Vol. 94, N 12. – P. 2706–2715.

References

1. Chou P. Y., Fasman G. D. Prediction of the secondary structure of proteins from their amino acid sequence. *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*, 1978, vol. 47, pp. 45–48.
2. Munoz V., Serrano L. Intrinsic secondary structure propensities of the amino acids, using statistical phi-psi matrices: comparison with experimental scales. *Proteins*, 1994, vol. 20, pp. 301–311.
3. Pirovano W., Heringa J. Protein secondary structure prediction. *Methods in Molecular Biology*, 2010, vol. 609, pp. 327–348.
4. Kandoi G., Leelananda S. P., Jernigan R. L., Sen T. Z. Predicting protein secondary structure using consensus data mining (CDM) based on empirical statistics and evolutionary information. *Methods in Molecular Biology*, 2017, vol. 1484, pp. 35–44. DOI:10.1007/978-1-4939-6406-2_4
5. Barkovskii E. V., Kirilenko D. V. Maps of the preferential conformational state of dipeptides in structured regions of globular proteins. *Biofizika* [Biophysics], 1985, vol. 30, iss. 5, pp. 786–790 (in Russian).
6. Anishetty S., Pennathur G., Anishetty R. Tripeptide analysis of protein structures. *BMC Structural Biology*, 2002, vol. 2, p. 9. DOI: 10.1186/1472-6807-2-9
7. Costantini S., Colonna G., Facchiano A. M. PreSSAPro: a software for the prediction of secondary structure by amino acid properties. *Computational Biology and Chemistry*, 2007, vol. 31, pp. 389–392. DOI:10.1016/j.compbiolchem.2007.08.010
8. Eisenberg D., Schwarz E., Komaromy M., Wall R. Analysis of membrane and surface protein sequences with the hydrophobic moment plot. *Journal of Molecular Biology*, 1984, vol. 179, pp. 125–142. DOI: 10.1016/0022-2836(84)90309-7
9. Combet C., Blanchet C., Geourjon C., Deleage G. NPS@: network protein sequence analysis. *Trends in Biochemical Sciences*, 2000, vol. 25, pp. 147–150. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/S0968-0004(99)01540-6
10. Tendulkar A. V., Wangikar P. P. Characterization and sequence prediction of structural variations in α -helix. *BMC Bioinformatics*, 2011, vol. 12, suppl. 1, p. S20. DOI: 10.1186/1471-2105-12-S1-S20
11. Aurora R., Rose G. D. Helix capping. *Protein Science*, 1998, vol. 7, no. 1, pp. 21–38. DOI: 10.1002/pro.5560070103.
12. Lim V. I. Stereochemical theory of the secondary structure of globular proteins. II. Methods of localization of α -helical and β -helical sites. *Biofizika* [Biophysics], 1974, vol. 19, iss. 3, pp. 562–575 (in Russian).
13. Kabsch W., Sander C. Dictionary of protein secondary structure: pattern recognition of hydrogen-bonded and geometrical features. *Biopolymers*, 1983, vol. 22, no. 12, pp. 2577–2637. DOI: 10.1002/bip.360221211
14. Khrustalev V. V., Barkovsky E. V. Stabilization of secondary structure elements by specific combinations of hydrophilic and hydrophobic amino acid residues is more important for proteins encoded by GC-poor genes. *Biochimie*, 2012, vol. 94, no. 12, pp. 2706–2715. DOI: 10.1016/j.biochi.2012.08.008

Сведения об авторах

Побойнев Виктор Витольдович – магистрант. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: dremozzev@mail.ru.

Хрусталеv Владислав Викторович – доцент, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: vvkhrustalev@mail.ru.

Хрусталева Татьяна Александровна – ст. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tanissia.lir@gmail.com.

Information about the authors

Victor V. Poboinev – Undergraduate. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskiy Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dremozzev@mail.ru.

Vladislav V. Khrustalev – Assistant Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskiy Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vvkhrustalev@mail.ru.

Tatyana A. Khrustaleva – Senior researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tanissia.lir@gmail.com.