

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 577.112+577.217

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2018-63-4-391-400>

Поступила в редакцию 10.04.2018

Received 10.04.2018

В. В. Побойнев¹, В. В. Хрусталёв¹, Т. А. Хрусталёва², А. Н. Стожаров¹

¹*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*

²*Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

СТАБИЛЬНОСТЬ АЛЬФА-СПИРАЛЬНЫХ И БЕТА-СТРУКТУРНЫХ БЛОКОВ В БЕЛКАХ ЧЕТЫРЕХ СТРУКТУРНЫХ КЛАССОВ

Аннотация. В статье рассмотрены особенности строения групп взаимодействующих альфа-спиралей и групп взаимодействующих бета-тяжей (блоков) в выборках трехмерных структур негомологических белков, относящихся к четырем структурным классам. Стабильность каждого элемента вторичной структуры оценивали с помощью алгоритма PentaFOLD, который способен выявлять альфа-спирали и бета-тяжи с наиболее характерными для данного вида вторичной структуры особенностями чередований аминокислотных остатков. Доказано, что в белках классов «альфа + бета» и «альфа/бета» чаще всего встречаются блоки, состоящие из двух взаимодействующих альфа-спиралей, отличающихся наибольшей степенью стабильности. В альфа-спиральных белках, как правило, встречаются блоки из 4 альфа-спиралей, в бета-структурных – отдельные короткие альфа-спирали, отличающиеся наименьшей степенью стабильности в белках этого класса. Наиболее устойчивыми следует считать бета-структуры из трех бета-тяжей, наименее устойчивыми – отдельные бета-шпильки. В белках класса «альфа + бета» наблюдается характерное расположение стабильных альфа-спиралей в начале альфа-спирального блока, стабильных бета-тяжей – в конце бета-структурного блока. Такое расположение стабильных альфа-спиралей и бета-тяжей способствует формированию устойчивой пространственной структуры, если белок начинается с бета-структурного домена, что наблюдается в большинстве случаев.

Ключевые слова: белок, бета-шпилька, бета-тяж, альфа-спираль, вторичная структура белка, пространственная структура белка

Для цитирования: Стабильность альфа-спиральных и бета-структурных блоков в белках четырех структурных классов / В. В. Побойнев [и др.] // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2018. – Т. 63, № 4. – С. 391–400. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2018-63-4-391-400>

V. V. Poboinev¹, V. V. Khrustalev¹, T. A. Khrustaleva², A. N. Stozharov¹

¹*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

²*Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

STABILITY OF ALPHA-HELICAL AND BETA-STRUCTURAL BLOCKS IN PROTEINS OF FOUR STRUCTURAL CLASSES

Abstract. In this article we showed the characteristic structural features of the groups of interacting alpha-helices and beta-strands (blocks) in four sets of nonhomologous proteins from different structural classes. Stability of each element of secondary structure has been checked with help of the PentaFOLD algorithm that finds intrinsic alpha-helical and beta-structural sequences of amino acid residues. We proved that the most frequent blocks of “alpha + beta” and “alpha/beta” proteins are 2 interacting alpha helices, and they demonstrate the highest level of stability. In alpha-helical proteins the most frequent blocks contain 4 alpha-helices. In beta-structural proteins alpha-helices most frequently do not interact with other helices and demonstrate the lowest level of stability. The most stable type of beta-structure is a block made from three interacting beta-strands, while the less stable one is a beta-hairpin. There is a characteristic distribution of stable alpha-helices in “alpha + beta” proteins: they are usually situated in the beginning of a block while stable beta-strands are usually situated in the end of the block. This type of distribution of stable alpha-helices and beta-strands helps the protein to form its stable three-dimensional structure in case it begins from beta-structural domain which is the most frequent case for the structural class of proteins.

Keywords: protein, beta-hairpin, beta-strand, alpha-helix, secondary structure of protein, three-dimensional structure of protein

For citation: Poboinev V. V., Khrustalev V. V., Khrustaleva T. A., Stozharov A. N. Stability of alpha-helical and beta-structural blocks in proteins of four structural classes. *Vestsi Natsyyanal'най akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 4, pp. 391–400 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2018-63-4-391-400>

Введение. Молекулы белков имеют сложную пространственную структуру. Принято выделять четыре уровня ее организации. Первичная структура представляет собой последовательность аминокислот в одной полипептидной цепи. Вторичная структура обусловлена формированием водородных связей между атомами основной цепи. Следует отметить, что на формирование элементов вторичной структуры указывает определенная степень упорядоченности водородных связей – повторяющийся паттерн [1]. Так, в альфа-спирали водородные связи образуются между –NH группой одной аминокислоты и –C=O группой другой аминокислоты, расположенной на четыре остатка раньше в первичной последовательности. В бета-структуре водородные связи у атомов из основной цепи формируются, как минимум, между двумя фрагментами белка. Каждый бета-тяж образует водородные связи с одним или двумя другими тяжами (с двух сторон). По этой причине бета-структура часто формируется несколькими бета-тяжами, соединенными друг с другом, и приобретает форму бета-слоя (когда все бета-тяжи стремятся находиться в одной плоскости) или бета-бочонка (когда бета-тяжи образуют цилиндр) [1]. Такое сочетание элементов вторичной структуры можно назвать блоком. Альфа-спирали контактируют также друг с другом, формируя группы из нескольких взаимодействующих элементов (блоков). Кроме того, они могут быть взаимосвязаны гидрофобными контактами, дисульфидными связями, ионным взаимодействием, притяжением между ароматическими остатками, а также водородными связями с участием атомов из боковых цепей аминокислотных остатков [2]. Собственно, все эти типы контактов формируют третичную структуру белка. Присущи они не только альфа-спиралям, но и бета-тяжам, и фрагментам белка, лишенным вторичной структуры. На образование четвертичной структуры указывает формирование белка двумя и более полипептидными цепями.

Раскрытие механизмов приобретения белком своей пространственной структуры является одной из актуальных задач протеомики. Согласно классическим представлениям третичная структура детерминирована вторичной, но можно предположить, что часть белка, которая уже приобрела свою третичную структуру, оказывает влияние на образование альфа-спиралей или бета-тяжей в тех участках полипептидной цепи, которые способны менять свою вторичную структуру. Известно, что контакты, отличные от водородных связей между атомами из основной цепи, могут существенно влиять на возможность формирования последних. Наиболее известным примером такого влияния можно считать переход прионного белка из альфа-спирального состояния в бета-структурное при контакте с таким же белком, который уже претерпел данный переход [3]. Вполне вероятно, что похожие механизмы будут работать в процессе нормального формирования пространственной структуры белка. Некоторые фрагменты полипептидной цепи могут являться промоторами [4] формирования структуры (в том числе вторичной) другими фрагментами: такие элементы названы нами активными. С помощью гипотезы об индуцированном формировании части элементов вторичной структуры можно объяснить, почему многие альфа-спирали и бета-тяжи лишены каких-либо характерных особенностей аминокислотного состава.

В среднем альфа-спирали обогащены такими аминокислотными остатками, как аланин, глутаминовая кислота, глутамин, лейцин, аргинин, лизин, метионин [5]. Однако все эти аминокислотные остатки могут включаться и в состав бета-тяжей (в особенности лейцин) [6]. Бета-тяжи в среднем содержат больше валина, изолейцина, фенилаланина, тирозина и треонина, чем альфа-спирали и неструктурированные участки [5], т. е. обогащены гидрофобными остатками. Однако помимо гидрофобных бета-тяжей встречаются и относительно гидрофильные (в особенности в бета-структурных белках), с чередованием гидрофобных и гидрофильных остатков через один [7]. Все особенности альфа-спиралей, бета-тяжей и неструктурированных фрагментов белков хорошо известны и являются основой для алгоритмов, предназначенных для определения вторичной структуры по аминокислотной последовательности. Эффективность работы таких алгоритмов составляет от 50 до 75 % [8]. Обусловлено это не столько техническими причинами, сколько биологическими: характерные особенности аминокислотного состава должны быть присущи только части элементов вторичной структуры.

В соответствии с классификацией на принадлежность белков к определенному структурному классу указывают частота встречаемости элементов вторичной структуры и их чередование друг с другом. Так, в альфа-спиральных белках содержатся в основном альфа-спирали, но могут быть и немногочисленные бета-тяжи. В бета-структурных белках большинство элементов вторичной структуры является бета-тяжами. В белках класса «альфа + бета» существуют как отдельные альфа-спиральные, так и бета-структурные домены, т. е. из одной части первичной последовательности формируются альфа-спирали, а из другой – бета-структура. В первичной последовательности белков класса «альфа/бета» альфа-спирали чередуются с бета-тяжами, в идеале – через один элемент вторичной структуры. В результате отдельные альфа-спиральные и бета-структурные домены в белках класса «альфа/бета» выделить нельзя, но можно найти соответствующие блоки. В настоящей работе нами не использовались белки, которые нельзя классифицировать однозначно (они встречаются довольно часто).

Цель исследования – сравнить процентное содержание активных элементов вторичной структуры в группах взаимодействующих альфа-спиралей и бета-тяжей в белках четырех структурных классов.

В задачу работы входил поиск наименее стабилизированных блоков, а также тех комбинаций элементов вторичной структуры, которые с высокой долей вероятности должны воспроизводиться в составе коротких пептидов. Практическая значимость работы заключалась в том, чтобы установить, какие блоки в наибольшей степени подходят для создания вакцинных пептидов, фундаментальный аспект – в раскрытии механизмов формирования пространственной структуры разными классами белков.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследования послужили 400 трехмерных структур белков человека и других эукариот из международной базы данных Protein Data Bank (www.pdb.org). Эти белки были разделены на четыре выборки (по 100 в каждой) согласно структурному классу: альфа-спиральные, бета-структурные, белки класса «альфа/бета» и белки класса «альфа + бета». Белки, вошедшие в состав каждой из четырех выборок, не являлись гомологичными. По результатам работы алгоритма Decrease Redundancy (www.web.expasy.org/decrease_redundancy) степень сходства между их аминокислотными последовательностями не превышала 25 %.

Все белки были обработаны оригинальным алгоритмом PentaFOLD (www.chemres.bsmu.by), который находит активные фрагменты альфа-спиралей и бета-тяжей по двум паттернам. При работе по альфа-спиральному паттерну алгоритм находит самые специфические для бета-структуры фрагменты, а потом выявляет все фрагменты, которые могут быть альфа-спиральными [9]. При работе по бета-структурному паттерну алгоритм распознает самые специфические фрагменты для альфа-спиралей, а потом выявляет все фрагменты, которые могут быть бета-структурными [9]. Альфа-спиральный паттерн является более жестким для бета-тяжей, а бета-структурный – для альфа-спиралей. Альфа-спираль считали активной в том случае, если хотя бы четыре подряд аминокислотных остатка в ней определялись как альфа-спиральные. При этом допускалось наличие разрыва в один остаток. Бета-тяж считался активным в том случае, если в нем хотя бы два подряд аминокислотных остатка определялись как бета-структурные.

В каждом белке находили группы взаимодействующих альфа-спиралей и группы взаимодействующих бета-тяжей, контакты между спиральями и бета-тяжами игнорировали. Критерием взаимодействия считалось наличие хотя бы одного контакта на расстоянии менее 0,5 нм между аминокислотными остатками двух элементов вторичной структуры. Далее рассчитывали процент активных и пассивных элементов, распределение активных элементов по их количеству и порядку следования в первичной последовательности белка в каждой группе. Для двух взаимодействующих бета-тяжей определяли, представляют ли они собой бета-шпильку. Также выявляли процент коротких (4–5 аминокислотных остатков) альфа-спиралей в белках из каждой выборки. Все рассчитанные показатели сравнивали с помощью *t*-теста для относительных величин. Все статистические расчеты проводили с помощью программы Past3.

Результаты. Группы взаимодействующих альфа-спиралей. Альфа-спирали в составе одного и того же белка, как правило, взаимодействуют друг с другом. Контакты между альфа-спиральями

могут стабилизировать их вторичную структуру, а в некоторых случаях – индуцировать ее образование [4]. Действительно, процент альфа-спиралей, не имеющих контактов с другими спиральями, в альфа-спиральных белках составляет всего 2,31 %, в белках класса «альфа/бета» – 4,91, в белках класса «альфа + бета» – 9,40 %. В бета-структурных белках процент встречаемости отдельных альфа-спиралей, естественно, выше – 28,50 %.

В альфа-спиральных белках наиболее часто образуют контакты друг с другом 4 альфа-спирали. Другими словами, в одном блоке для альфа-спиральных белков чаще всего имеется 4 спирали [2]. В белках классов «альфа + бета» и «альфа/бета», как правило, взаимодействуют друг с другом только две спирали. В бета-структурных белках чаще всего встречаются одиночные альфа-спирали. Пара взаимодействующих альфа-спиралей является довольно устойчивым блоком. В 64,96 % случаев обе взаимодействующие альфа-спирали являются активными, в 30,66 % случаев активна только одна из этих спиралей, в 4,38 % случаев – ни одна из них. Достоверные отличия в порядке следования активной и неактивной спиралей в аминокислотной последовательности отсутствуют для белков всех четырех структурных классов.

Нельзя не отметить, что процент встречаемости пассивных альфа-спиралей минимален в группах из 2 (19,71 %) и 7 (19,75 %) взаимодействующих элементов (рис. 1), максимален – в группах из 5 (30,00 %) элементов. Альфа-спирали, не взаимодействующие с другими спиральями, могут быть пассивными в 26,09 % случаев. Таким образом, примерно четверть одиночных альфа-спиралей являются непредсказуемыми для вероятностных методов. Как ни странно, основной вклад в этот показатель вносят альфа-спирали из бета-структурных белков (они пассивны в 38,18 % случаев). В бета-структурных белках встречается гораздо больше коротких альфа-спиралей (по 4 или 5 остатков – всего 32,44 %), которые предсказываются хуже, чем более длинные. В белках других структурных классов таких коротких спиралей значительно меньше – 12,78–16,54 %.

При образовании контактов между тремя альфа-спиральями чаще всего все три являются активными (43,88 % случаев), а количество таких групп, но уже с двумя активными спиральями также велико (39,80 % случаев). В случае же образования группы из 4 альфа-спиралей активными, как правило, являются только 3 (39,73 %), при этом аминокислотный состав 4-й спирали получает возможность варьировать – в ее состав включаются нехарактерные для данного вида вторичной структуры аминокислотные остатки. Похожая закономерность прослеживается в груп-

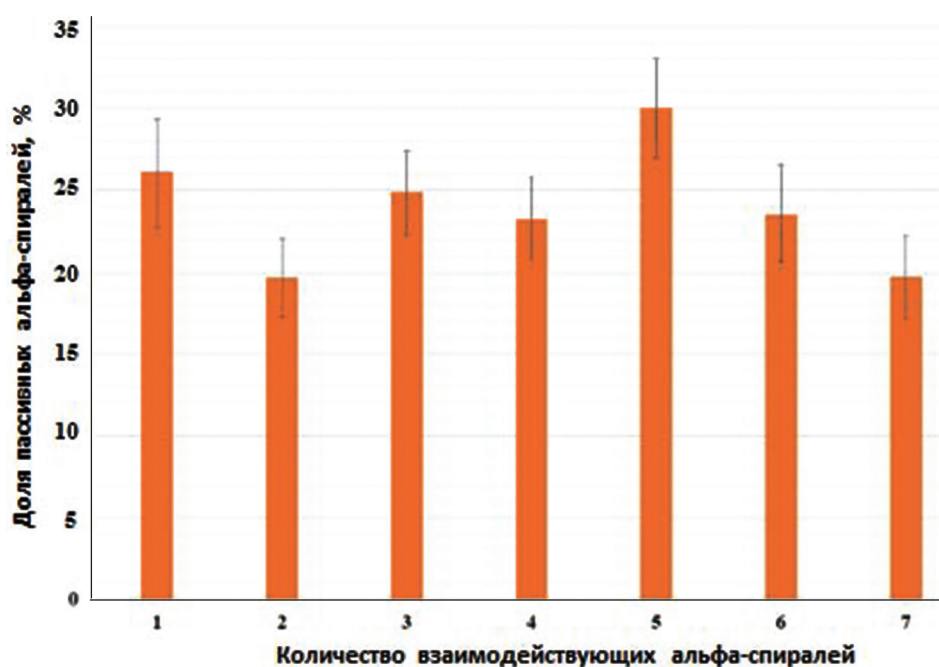


Рис. 1. Доля пассивных альфа-спиралей (%) в блоках с разным количеством взаимодействующих элементов

Fig. 1. Percentage of passive alpha-helices in blocks with different number of interacting elements

пах по 5, 6 и 7 альфа-спиралей: количество активных спиралей в них преимущественно составляет 4, 5 и 6 соответственно. В еще более крупные блоки (по 8 и 9 альфа-спиралей) часто вовлекаются две неактивные спирали. Действительно, аминокислотные замены в альфа-спиралях фиксируются естественным отбором чаще, чем в бета-тяжах [10]. Судя по полученным данным, некоторые альфа-спирали вносят больший вклад в общую скорость накопления аминокислотных замен, чем другие.

Первая (со стороны N-конца) из трех альфа-спиралей в группе является наиболее активной в белках класса «альфа + бета». В белках других структурных классов подобная закономерность не прослеживается.

Только при использовании более жесткого критерия для отбора активных альфа-спиралей можно заметить некоторые достоверные закономерности в их распределении. Так, для двух взаимодействующих спиралей в белках класса «альфа/бета» в 48,39 % случаев одна из альфа-спиралей является абсолютно активной, а в белках класса «альфа + бета» – только в 23,81 % случаев. В последних абсолютно активные спирали в таких парах чаще вообще отсутствуют (в 54,76 % случаев). Полученные результаты свидетельствуют о более важной роли стабилизации альфа-спиралей характерными комбинациями аминокислотных остатков в белках класса «альфа/бета», чем в белках класса «альфа + бета».

Первая альфа-спираль в белке отличается большей активностью как по мягкому, так и по жесткому критерию, причем исключительно в альфа-спиральных белках. Эта спираль играет роль промотора для остальных альфа-спиралей того же белка [11]. В белках других классов, однако, максимально активными могут быть спирали, расположенные далеко от N-конца белка (8-я – в белках класса «альфа/бета»; 7-я – в белках класса «альфа + бета»). Тем не менее, даже в этих классах белков первая альфа-спираль чаще является более активной по сравнению с последующими пятью.

Полученные данные позволяют заключить, что длинные альфа-спирали, образование которых индуцировано взаимодействием с другими такими же элементами вторичной структуры, чаще встречаются в группах по 5 спиралей и более. Весьма стабильными и наиболее распространенными блоками являются пары взаимодействующих спиралей.

Группы взаимодействующих бета-тяжей. При образовании бета-структуры двумя бета-тяжами в 25,81 % случаев ни один из них не является активным. Для бета-структуры, образованной тремя и более бета-тяжами, количество случаев, когда ни один из них не является активным, минимально. Для пары взаимодействующих бета-тяжей активным чаще всего является только один из них (в 40,32 % случаев), в то время как для бета-структурного блока из трех бета-тяжей активными, как правило, являются все три (38,16 % случаев). В бета-структуре из 4 бета-тяжей активными чаще являются 3, в бета-структуре из 5 – 4, в бета-структуре из 6 – 5, в бета-структуре из 7 – 6. Таким образом, в крупных бета-структурных блоках по крайней мере один бета-тяж часто не обладает особенностями аминокислотного состава, характерными для такой разновидности вторичной структуры. На рис. 2 приведены данные о содержании пассивных бета-тяжей в бета-структуре. Заметно, что в блоке из двух бета-тяжей содержание пассивных элементов достигает наибольшего значения (45,97 %). В бета-структуре из 4 бета-тяжей и более пассивных элементов в 2 раза меньше (20,53–22,92 %), чем в группе из 2 бета-тяжей.

Бета-структура, состоящая только из двух бета-тяжей, может представлять собой бета-шпильку, если второй бета-тяж расположен непосредственно за первым в первичной аминокислотной последовательности, а между ними находится петля. Возможно и образование бета-структуры из двух элементов, отдаленных в первичной последовательности белка. Каждый из этих случаев рассмотрен отдельно. Процент пассивных бета-тяжей как в бета-шпильках, так и в остальных бета-структурах из двух элементов практически идентичен (45,76 и 46,15 % соответственно). Однако существуют достоверные различия в распределении пассивных бета-тяжей в них. Бета-шпильки преимущественно формируются двумя активными (44,07 %) или двумя пассивными (35,59 %) элементами. Бета-структурные блоки из двух элементов, не являющиеся бета-шпильками, преимущественно содержат только один активный бета-тяж (58,46 % случаев). Согласно полученным результатам треть бета-шпилек формируется бета-тяжами, не имеющими

никаких особенностей аминокислотного состава, характерных для бета-структуры. Это возможно в том случае, если бета-шпильки не несут какой-либо важной функции и могут легко переходить в неструктурированное состояние. В отдельных случаях такая легкость структурного перехода может играть важную роль в функционировании белка, например при взаимодействии с другими белками или лигандами.

Бета-структурный блок, состоящий из трех элементов, имеет некоторые особенности для белков разных структурных классов. Так, в бета-структурных белках в состав блока обычно входят два (44,83 % случаев) или три (44,83 % случаев) активных бета-тяжа. В альфа-спиральных белках наиболее часто в такой блок включаются два активных бета-тяжа (50 % случаев), в белках класса «альфа/бета» – три активных бета-тяжа (50 % случаев). В отличие от них, белки класса «альфа + бета» в 44 % случаев имеют бета-структуру, состоящую из трех тяжей, содержащую лишь один активный бета-тяж. Некоторая дестабилизация такого типа бета-структуры в белках класса «альфа + бета» отразилась и на общем проценте пассивных бета-тяжей (рис. 2). Следует отметить, что именно первый по отношению к N-концу белка бета-тяж достоверно чаще является пассивным по сравнению со вторым и третьим в белках класса «альфа + бета».

В белках класса «альфа + бета» наблюдается неравномерное распределение активных бета-тяжей и по другим бета-структурным блокам. Например, в группе из 4 тяжей 3-й является достоверно более активным по жесткому критерию. В бета-структуре из 5 тяжей 2-й является достоверно более активным по мягкому критерию, а 5-й – по жесткому. В бета-структурном блоке из 6 тяжей особенно часто пассивным является 1-й.

В белках класса «альфа/бета» пассивный бета-тяж достоверно чаще встречается в конце бета-структуры из 4 элементов по сравнению с первой и второй позицией. По жесткому критерию в блоке из 6 бета-тяжей чаще всего пассивным является последний, а активными – 1-й и 4-й.

В бета-структурных белках пассивные бета-тяжи чаще встречаются во второй позиции блока из 4 тяжей по сравнению с первой, а в бета-структуре из 5 элементов – в четвертой позиции по сравнению со всеми остальными. Если применить более жесткий критерий к отбору активных бета-тяжей, то в структуре из 4 тяжей активными чаще являются 1-й и 3-й.

В альфа-спиральных белках в структуре из 4 элементов активными по мягкому критерию являются 1-й и 3-й бета-тяжи, по жесткому – только 1-й.

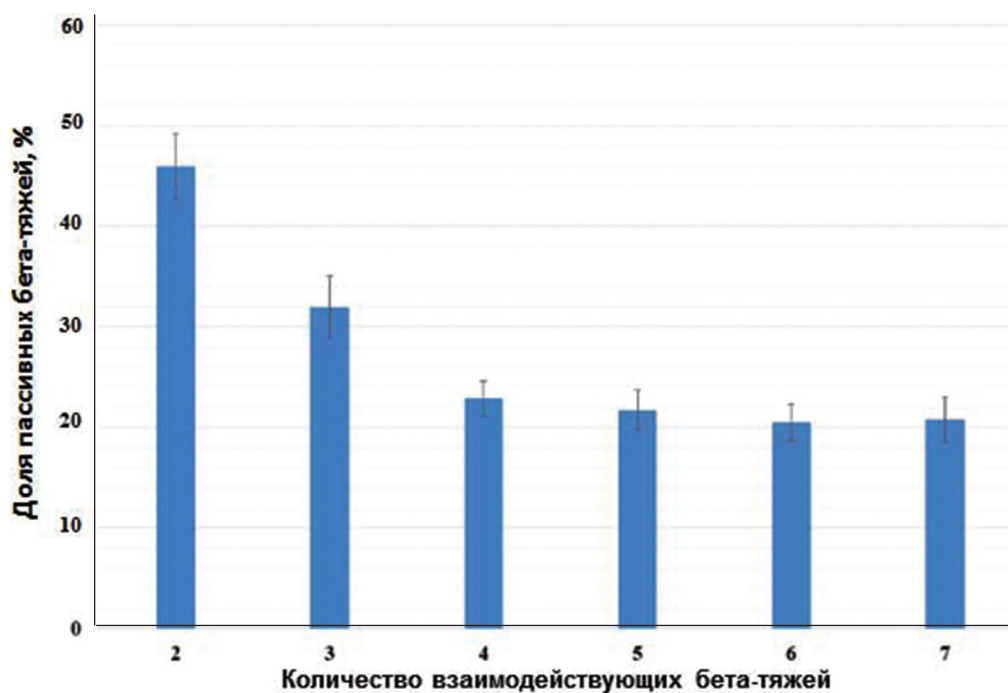


Рис. 2. Доля пассивных бета-тяжей (%) в блоках с разным количеством взаимодействующих элементов
Fig. 2. Percentage of passive beta-strands in blocks with different number of interacting elements

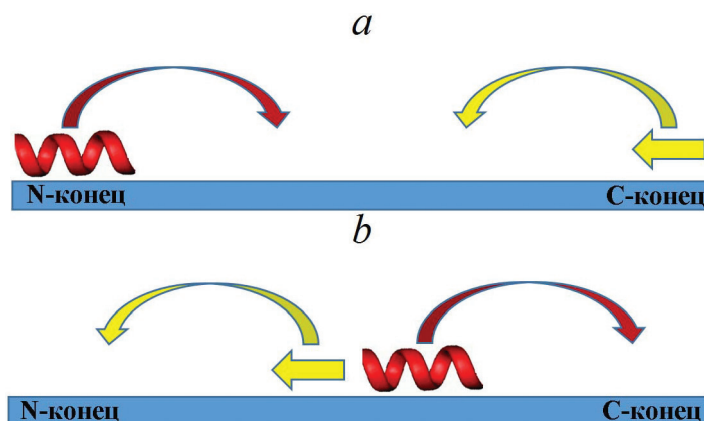


Рис. 3. Схема индуцирующего воздействия активных альфа-спиралей и бета-тяжей на вторичную структуру белков класса «альфа + бета» в дестабилизирующем (*a*) и стабилизирующем (*b*) расположении

Fig. 3. The scheme of the inducing effect of active alpha-helices and beta-strands on the secondary structure of “alpha + beta” proteins in destabilizing (*a*) and stabilizing (*b*) positions

В целом, пассивные бета-тяжи особенно часто встречаются в бета-структуре, состоящей из двух элементов. В более крупных блоках индуцированные бета-тяжи находятся в предпочтительных позициях в зависимости от структурного класса белка: в белках класса «альфа + бета» – в первой позиции, в белках остальных структурных классов, наоборот, во второй и в последней.

Для белков класса «альфа + бета» выявлена следующая закономерность: активная альфа-спираль располагается на N-конце, а активный бета-тяж – на C-конце. В том случае, если N-конец такого белка является альфа-спиральным доменом, а C-конец – бета-структурным, область между ними может подвергаться структурным переходам (рис. 3, *a*). Если же на N-конце находится бета-структурный домен, а на C-конце – альфа-спиральный, вторичная структура такого белка класса «альфа + бета» должна быть более устойчивой (рис. 3, *b*). Действительно, в белках класса «альфа + бета» в 1,6 раза чаще первым элементом вторичной структуры является бета-тяж, а не альфа-спираль. Последним элементом вторичной структуры в белках этого класса с одинаковой вероятностью может быть как бета-тяж, так и альфа-спираль. Таким образом, в большинстве таких белков стабилизирован первый (бета-структурный) и второй (альфа-спиральный) домены. В том случае, если имеется третий домен – бета-структурный, на границе между ним и предыдущим доменом возможно существование структурно изменчивой области. Четвертый (альфа-спиральный) домен в таком белке также должен быть стабильным.

Дискуссия. Настоящее исследование показало, что далеко не все элементы вторичной структуры имеют характерные особенности аминокислотной последовательности: такие элементы вторичной структуры не предсказываются методами, основанными на вероятностных шкалах [8]. Их существование можно объяснить индуцирующим эффектом: контактирующие с данным фрагментом полипептидной цепи аминокислотные остатки способствуют образованию им альфа-спирали или бета-тяжа. В таком случае значительное количество аминокислотных замен в пассивном элементе вторичной структуры не будет подвергаться отрицательному отбору, так как необходимая вторичная структура будет поддерживаться за счет дальних контактов. С этой точки зрения хорошо объясняется наличие пассивных альфа-спиралей в группах по четыре взаимодействующих элемента и более. Факт пассивности многих одиночных альфа-спиралей и изолированных бета-шпилек можно объяснить отсутствием у них важной структурной и функциональной роли.

Блоки из нескольких взаимодействующих альфа-спиралей и бета-тяжей образуют каркас белка, который должен быть сформирован у каждого функционального полипептида. Несущие элементы такого каркаса стабилизированы специфическими комбинациями аминокислотных остатков, что существенно снижает вероятность неправильного фолдинга. В том случае, если каркас остается достаточно стабильным, некоторые из его элементов могут терять (или не приобретать) специфические комбинации, характерные для определенного типа вторичной структуры.

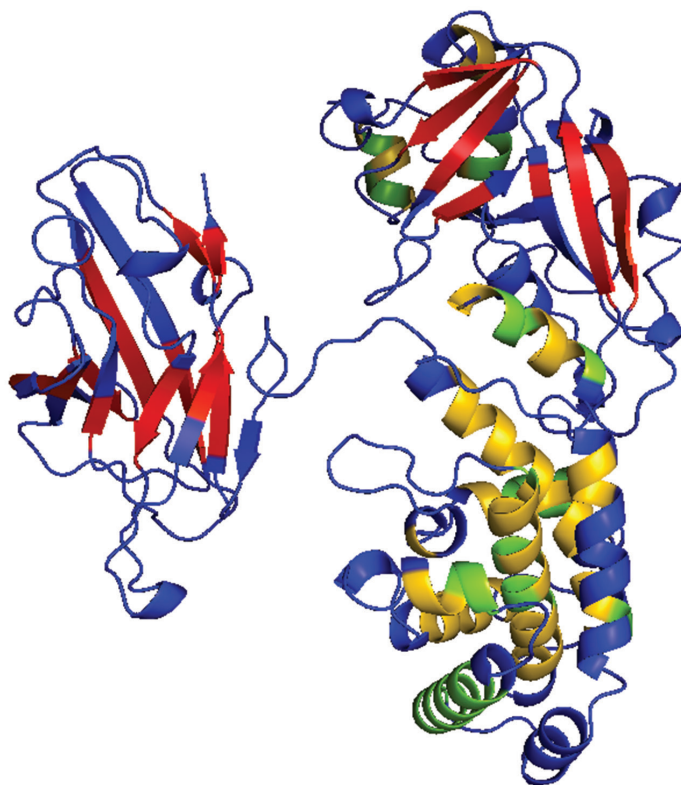


Рис. 4. Расположение активных фрагментов альфа-спиралей и бета-тяжей в дифтерийном токсине (идентификатор в PDB: 1sgk). Абсолютно активные фрагменты альфа-спиралей обозначены зеленым цветом, активные – желтым; абсолютно активные фрагменты бета-тяжей – красным цветом, активные – оранжевым

Fig. 4. Locations of active fragments of alpha-helices and beta-strands in the diphtheria toxin (PDB identifier: 1sgk). Absolutely active fragments of alpha-helices are marked with green color, active – with yellow color; absolutely active fragments of beta-strands – by red color, active – by orange

Комбинации всего из двух взаимодействующих альфа-спиралей и трех взаимодействующих бета-тяжей реже имеют возможность к включению пассивных элементов: все они должны быть несущими, чтобы такая структура вообще сформировалась. Отдельные же короткие альфа-спирали и бета-шпильки могут не стабилизироваться естественным отбором в случае отсутствия у них функции. Именно таким блокам должна быть присуща структурная изменчивость.

С помощью алгоритма PentaFOLD на трехмерной структуре дифтерийного токсина были найдены активные фрагменты альфа-спиралей и бета-тяжей. Действительно, в альфа-спиральном домене дифтерийного токсина (рис. 4) только одна из спиралей (в нижней части рисунка) является абсолютно пассивной, но ее структура поддерживается за счет контактов с двумя соседними активными спиралями. В бета-структурном домене того же белка (рис. 4) пассивным является один короткий бета-тяж, а в «альфа/бета» домене (в верхней части рисунка) пассивными следует считать два бета-тяжа и одну альфа-спираль. Обращают на себя внимание короткие пассивные спирали, которые встречаются в бета-структурном домене дифтерийного токсина. Эти спирали по разным методам классифицируются как альфа-спирали, как спирали 3/10 или как повороты полипептидной цепи без регулярной вторичной структуры.

Если рассматривать возможность использования изолированного бета-структурного домена в качестве антигена, способного заменить полноразмерный дифтерийный токсин, то, судя по рис. 4, структура этого домена полностью воспроизводима и без двух других доменов. Если стремиться создать антиген, содержащий только два бета-тяжа, целесообразно выбрать два активных элемента вторичной структуры. Так, ранее был доказан факт воспроизведения структуры пептидом SF23 (остатки 508–530), состоящим из двух активных бета-тяжей и петли между ними. Антитела, выработанные к полноразмерному дифтерийному токсину, действительно распознают пептид SF23 [12].

Выводы

1. Все элементы вторичной структуры можно разделить на два класса – активные и пассивные. Активные элементы вторичной структуры стабилизированы специфическими комбинациями аминокислотных остатков и могут индуцировать образование пассивных элементов, которые не выявляются вероятностными алгоритмами.

2. Наиболее стабильными блоками, состоящими из одинаковых элементов вторичной структуры, являются: пара взаимодействующих друг с другом альфа-спиралей в белках всех структурных классов и бета-структура из трех бета-тяжей в белках, не относящихся к классу «альфа + бета».

3. В альфа-спиральных белках первая альфа-спираль наиболее часто является активной, что указывает на важность ее формирования для образования альфа-спиралей во всех остальных участках белка.

4. Изолированные бета-шпильки в трети случаев образуются фрагментами белка, не имеющими никаких особенностей, характерных для бета-структуры.

5. Белки класса «альфа + бета» отличаются характерным чередованием активных и пассивных элементов вторичной структуры (активная альфа-спираль – в начале блока, активный бета-тяж – в конце), что позволяет сохранять организацию доменов в случае значительных изменений в аминокислотной последовательности.

Список использованных источников

1. Kabsch, W. Dictionary of protein secondary structure: pattern recognition of hydrogen-bonded and geometrical features / W. Kabsch, C. Sander // *Biopolymers*. – 1983. – Vol. 22, N 12. – P. 2577–2637. <https://doi.org/10.1002/bip.360221211>
2. Energetics of the structure of the four-alpha-helix bundle in proteins / K. C. Chou [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 1988. – Vol. 85, N 12. – P. 4295–4299. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.12.4295>
3. Morales, R. Molecular cross talk between misfolded proteins in animal models of Alzheimer's and prion diseases / R. Morales [et al.] // *J. Neurosci.* – 2010. – Vol. 30, N 13. – P. 4528–4535. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.5924-09.2010>
4. Saunders, R. Signatures of co-translational folding / R. Saunders, M. Mann, C. M. Deane // *Biotech. J.* – 2011. – Vol. 6, N 6. – P. 742–751. <https://doi.org/10.1002/biot.201000330>
5. Chou, P. Y. Prediction of the secondary structure of proteins from their amino acid sequence / P. Y. Chou, G. D. Fasman // *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology* / ed. A. Meister. – New York, 1978. – Vol. 47. – P. 45–148.
6. 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. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2012.08.008>
7. Хрусталёв, В. В. Особенности аминокислотного состава бета-тяжей в белках различных структурных классов // В. В. Хрусталёв, В. В. Побойнев, Т. А. Хрусталёва // *Фундаментальная наука в современной медицине: материалы сателлит. дистанц. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых (Минск, 03 марта 2017 г.)* / Белорус. гос. мед. ун-т; под ред. А. В. Сикорского [и др.]. – Минск, 2017. – С. 331–336
8. NPS@: network protein sequence analysis / C. Combet [et al.] // *Trends Biochem. Sci.* – 2000. – Vol. 25, N 3. – P. 147–150. [https://doi.org/10.1016/s0968-0004\(99\)01540-6](https://doi.org/10.1016/s0968-0004(99)01540-6)
9. The part of a long beta hairpin from the scrapie form of the human prion protein is reconstructed in the synthetic CC36 protein / V. V. Khrustalev [et al.] // *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. – 2016. – Vol. 84, N 10. – P. 1462–1479. <https://doi.org/10.1002/prot.25090>
10. Abrusán, G. Alpha helices are more robust to mutations than beta strands / G. Abrusán, J. A. Marsh // *PLoS Comput. Biol.* – 2016. – Vol. 12, N 12. – P. e1005242. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005242>
11. Saunders, R. Protein structure prediction begins well but ends badly / R. Saunders, C. M. Deane // *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. – 2009. – Vol. 78, N 5. – P. 1282–1290. <https://doi.org/10.1002/prot.22646>
12. Structural and antigenic features of the synthetic SF23 peptide corresponding to the receptor binding fragment of diphtheria toxin / T. A. Khrustaleva [et al.] // *Mol. Immunol.* – 2015. – Vol. 63, N 2. – P. 235–244. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2014.07.008>

References

1. 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. <https://doi.org/10.1002/bip.360221211>
2. Chou K. C., Maggiora G. M., Némethy G., Scheraga H. A. Energetics of the structure of the four-alpha-helix bundle in proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1988, vol. 85, no. 12, pp. 4295–4299. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.12.4295>

3. Morales R., Estrada L. D., Diaz-Espinoza R., Morales-Scheihing D., Jara M. C., Castilla J., Soto C. Molecular cross talk between misfolded proteins in animal models of Alzheimer's and prion diseases. *Journal of Neuroscience*, 2010, vol. 30, no. 13, pp. 4528–4535. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.5924-09.2010>
4. Saunders R., Mann M., Deane C. M. Signatures of co-translational folding. *Biotechnology Journal*, 2011, vol. 6, no. 6, pp. 742–751. <https://doi.org/10.1002/biot.201000330>
5. 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*. New York, 1978, vol. 47, pp. 45–148.
6. 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. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2012.08.008>
7. Khrustalev V. V., Poboinev V. V., Khrustaleva T. A. Features of amino acid composition of beta-strands in proteins of different structural classes. *Fundamental'naya nauka v sovremennoi meditsine: materialy satellitnoi distantsionnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii studentov i molodykh uchenykh (Minsk, 03 marta 2017 goda)* [Fundamental science in modern medicine: materials of the satellite remote scientific-practical conference of students and young scientists (Minsk, March 3, 2017)]. Minsk, 2017, pp. 331–336 (in Russian).
8. Combet C., Blanchet C., Geourjon C., Deleage G. NPS@: network protein sequence analysis. *Trends in Biochemical Science*, 2000, vol. 25, no. 3, pp. 147–150. [https://doi.org/10.1016/s0968-0004\(99\)01540-6](https://doi.org/10.1016/s0968-0004(99)01540-6)
9. Khrustalev V. V., Khrustaleva T. A., Szpotkowski K., Poboinev V. V., Kakhanouskaya K. Y. The part of a long beta hairpin from the scrapie form of the human prion protein is reconstructed in the synthetic CC36 protein. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 2016, vol. 84, no. 10, pp. 1462–1479. <https://doi.org/10.1002/prot.25090>
10. Abrusán G., Marsh J. A. Alpha helices are more robust to mutations than beta strands. *PLoS Computational Biology*, 2016, vol. 12, no. 12, p. e1005242. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005242>
11. Saunders R., Deane C. M. Protein structure prediction begins well but ends badly. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 2009, vol. 78, no. 5, pp. 1282–1290. <https://doi.org/10.1002/prot.22646>
12. Khrustaleva T. A., Khrustalev V. V., Barkovsky E. V., Kolodkina V. L., Astapov A. A. Structural and antigenic features of the synthetic SF23 peptide corresponding to the receptor binding fragment of diphtheria toxin. *Molecular Immunology*, 2015, vol. 63, no. 2, pp. 235–244. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2014.07.008>

Информация об авторах

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

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

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

Стожаров Александр Николаевич – академик, д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: stojarov@mail.ru

Information about the authors

Victor V. Poboinev – trainee-teacher. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskii Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dremozzew@mail.ru

Vladislav V. Khrustalev – Assistant Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskii 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

Aleksander N. Stazharau – Academician, D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskii Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: stojarov@mail.ru