

Количественный подход к оценке хиральности в иерархиях белковых структур

А. Р. Котов^{1,*}, А. Э. Сидорова^{1,†}, В. А. Твердислов^{1,‡}, М. Н. Устинин^{2,§}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, физический факультет, кафедра биофизики. Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2

²Институт математических проблем биологии РАН, филиал ИПМ им. М.В. Келдыша Россия, 142290, Московская область, Пущино, ул. проф. Виткевича, д. 1

(Статья поступила 24.04.2018; Подписана в печать 28.04.2018)

Разработан подход к количественной оценке степени хиральности в иерархических структурах макромолекулярных систем. Ранее авторами выявлена феноменологическая закономерность: начиная с уровня «левого» асимметричного углерода в аминокислотных остатках первичной структуры белков происходит чередование знака хиральности структурных уровней L-D-L-D: «правые» α -спирали вторичной структуры, перевиваясь, образуют левую суперспираль, четвертичная структура микрофиламентов — «правая». Предложенный подход позволяет в общем случае количественно оценить знак и степень хиральности вторичных структур белков. Достаточным условием метода для определения знака хиральности вторичной структуры является выбор взаимного расположения α -углеродов, что позволяет на один-два порядка снизить количество обрабатываемой информации по сравнению с полным описанием системы. В результате анализа правых и левых спиральных вторичных структур показано, что угол между вектором направления и суммой векторных произведений выявляет направление закрутки спирали. Наряду с правыми α -спиралями и левыми полипролиновыми спиралями, которые, перевиваясь, образуют правые суперспирали в коллагене, были проанализированы и β -структуры. Данные о пространственной структуре отображаются на специальных «картах хиральности», которые демонстрируют наличие обособленных областей существования для различных типов спиральности. Метод реализован в виде компьютерной программы на языке Python 3.6 с использованием библиотеки SciPy и может быть применен к нуклеиновым кислотам.

PACS: 02.00.00

УДК: 57.012, 57.012.5

Ключевые слова: белки, хиральность, энантиомеры, альфа-углерод, правая альфа-спираль, правая 310 спираль, левая полипролиновая спираль, бета-цепочка, 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 биомолекул и, как следствие, их функциональных особенностей [1, 2]. В работах [2–4] была выявлена фундаментальная закономерность смены знака хиральности в структурно-функциональной иерархии белков и нуклеиновых кислот. Для белковых структур эта закономерность выражается следующим образом: в белках левые аминокислоты образуют полипептидную цепь, которая образует правую α -спираль; правые α -спирали, перевиваясь, образуют левую суперспираль; на четвертом иерархическом уровне белок имеет тенденцию к правой укладке. Последовательность смены знака хиральности в структурно-функциональной иерархии белковых структур L-D-L-D. Первичная структура белка представляет собой последовательность остатков левых аминокислот. Полипептидная цепь укладывается в спираль или в складчатый слой.

Как известно, α -спираль является правым энантиомером. Взаимодействующие правые α -спирали стремятся образовать левую суперспираль. Четвертичная структура белков представлена надмолекулярными структурами, сформированными при правой укладке левых суперспиралей. Наподобие этого, отмечается закономерное чередование знака хиральности D-L-D-L при переходе на более высокий уровень структурно-функциональной организации ДНК. Очевиден сдвиг по фазе, поскольку белковая иерархия «стартовала» с L-аминокислот, а нуклеотидная — с D-углевода дезоксирибозы.

Приведенные иерархии отражают дискретность в макромолекулярных структурах клеток от первичной (точнее, от «первичной» асимметричной структуры) до четвертичной. Несмотря на убедительность качественных оценок в данной теории, принципиально необходимо получить количественные оценки доли и знака хиральности структур разных иерархических уровней.

На сегодняшний день имеется достаточное количество работ, в которых предлагаются различные методы выработки критерия нарушения симметрии. Однако эта проблема на настоящий момент по-прежнему не решена.

Одним из первых подходов количественной оценки хиральности можно считать асимметрическое произведение, которое ввел Гюи в 1890 г. [5, 6]. Однако «функция хиральности» в данном случае специфична для различных классов молекулярных моделей, что неод-

*E-mail: kotov_alexey@inbox.ru

†E-mail: sky314bone@mail.ru

‡E-mail: tverdislov@mail.ru

§E-mail: u_m_n@mail.ru

нозначно определяет правило обхода для разных объектов и затрудняет применение к сложным молекулярным соединениям. Также в качестве меры хиральности использовались отклонения двух множеств, позволяющие применять данный метод как к дискретным множествам точек, так и непрерывным [7]. Концепция Рассата была расширена Мези [8] для облаков электронной плотности с использованием теории нечетких множеств. К недостаткам данного метода можно отнести следующее. Вычисление расстояния Хаусдорфа подразумевает наличие двух множеств для сравнения: первое множество — исследуемый энантиомер, а в качестве второго надо выбрать или противоположный стереоизомер, или эталонный рацемат. Но в молекулярной биологии далеко не на каждом иерархическом уровне можно выделить такие множества для сравнения. Кроме того, данный метод не дает «переключение» знака хиральности для противоположных стереоизомеров. Непрерывные меры симметрии CSM (Continuous Symmetry Measures) и хиральности CCM (Continuous Symmetry Measures) были введены Забродским, Пелегом и Авниром [9–11], однако, по сути, CCM — это не мера хиральности, а лишь мера сходства исходного множества точек со своим зеркальным отображением.

В качестве работы, в которой исследовалась степень хиральности спиральных структур, можно отметить работу [12], в которой «степень хиральности» количественно определялась путем вычисления индекса хиральности на основе перекрытия проекций спиральных лент методом сличения объекта с его зеркальным отображением. В этом случае индекс хиральности принимает только положительные значения, что позволяет оценить симметричность, а не знак хиральности. Метод применим лишь к плоским спиральным лентам, которыми являются далеко не все структуры в биомакромолекулах. К типичным исследованиям количественных аспектов дисимметрии относятся работы [13–17], основанные на геометрических построениях.

Наиболее широко известен метод, основанный на двугранных углах для аминокислотных остатков цепи — карты Рамачандрана [18–20]. Но карты, основанные на этих углах, определяют только преобладающую конформацию аминокислот в белке [21], не позволяют определять знак хиральности и не применимы к нуклеиновым кислотам. Одним из таких направлений является применение среднеквадратичной количественной оценки хиральности как меры симметрии [22] или рассмотрение симметрии как непрерывного свойства, но не обязательно как двоичного свойства [23]. Известным методом оценки хиральности является метод, основанный на анализе моментов вращательной поляризуемости, характеризующей оптическую активность [24]. Наш подход оценки хиральных структур носит более общий характер и позволяет более полно определять вторичную структуру: не только ее тип, но и знак хиральности с информацией о пространственной структуре.

1. МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ

В нашем методе не обязательно обрабатывать всю информацию обо всех атомах молекулы, которая записана в PDB-файлах [25]. 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 наш метод. Несмотря на то, что в PDB-формате существует классификация из 10 различных спиралей [26], наиболее часто встречающимся типом правой спирали является α -спираль. Левая же спираль представлена в виде спирали типа poly(Pro)II (как в коллагене). В данной работе рассмотрены вторичные спиральные структуры белков как две крайности нарушений симметрий на втором уровне структурной иерархии белков.

Предлагаемый подход основан на векторных произведениях. Рассмотрим модель витка правой спирали: остов из α -углеродов и ось спирали, направленную от N-конца к C-концу (рис. 1). Считаем принадлежащий N-концу α -углерод первым атомом остова, а принадлежащий C-концу α -углерод — последним атомом остова. Построив векторы между соседними атомами: от предыдущего атома к следующему, получаем векторы $\mathbf{v}_1, \mathbf{v}_2, \dots, \mathbf{v}_{n-1}$ (рис. 1). Для n атомов получается $(n - 1)$ таких векторов, сумма которых является вектором, направленный от первого атома к последнему. Этот вектор назовем «вектором направления» и обозначим как \mathbf{d} :

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

Для каждой пары соседних векторов строим векторное произведение $[\mathbf{v}_i \times \mathbf{v}_{i+1}]$, которое даст вектор \mathbf{i} , перпендикулярный двум исходным $\mathbf{v}_i, \mathbf{v}_{i+1}$ и образующий с ними «правую тройку» (рис. 1). Использование векторного произведения позволяет заложить в метод чувствительность к направлению закрутки спирали: поднимаясь в правой спирали по оси «вверх», векторные произведения направлены также «вверх» относительно направления оси спирали (рис. 1,а), а поднимаясь «вверх» в левой спирали — векторные произведения, по правилу правой руки, будут направлены уже «вниз» (рис. 1,б).

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

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

Зная длину и направление векторов \mathbf{d} и \mathbf{s} , можно через скалярное произведение найти косинус угла между этими векторами:

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

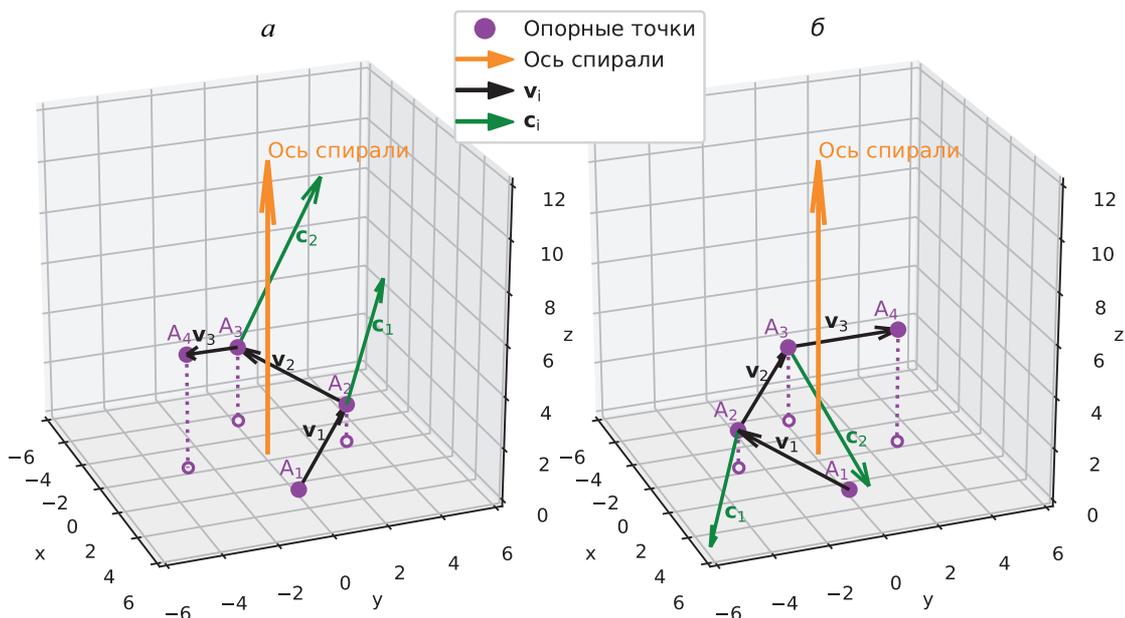


Рис. 1: Модели витков спирали: *a* — виток правой спирали; *b* — виток левой спирали

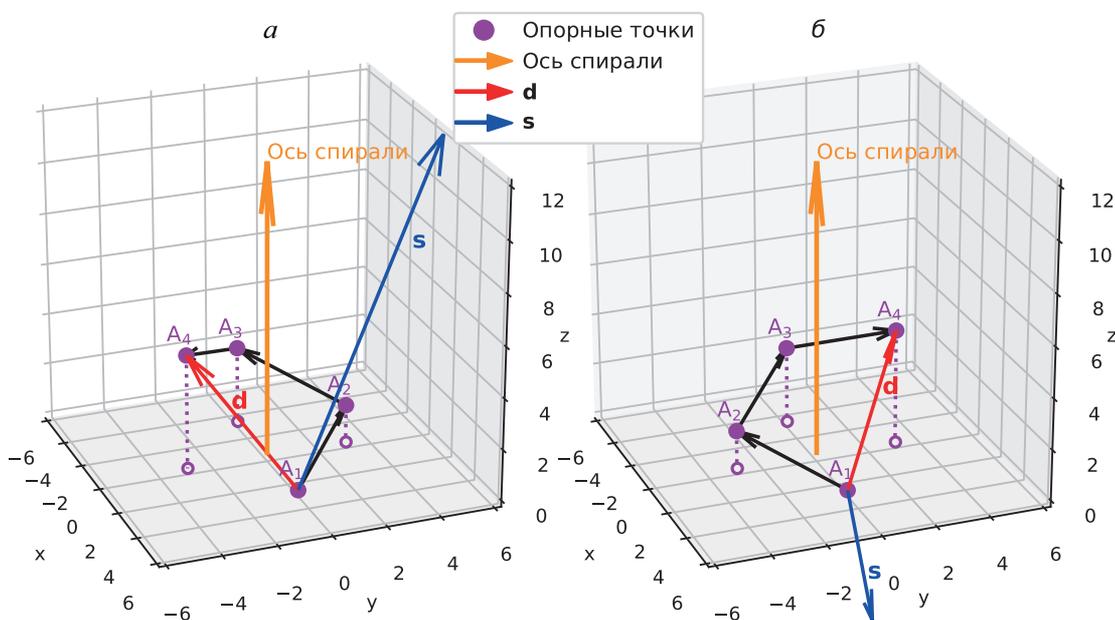


Рис. 2: Направления векторов \mathbf{d} и \mathbf{s} : *a* — правая спираль; *b* — левая спираль

Для наглядности на рис. 2 векторы \mathbf{d} и \mathbf{s} построены из первого атома. Согласно нашему методу, для правых спиралей угол $\angle(\mathbf{d}, \mathbf{s})$ должен быть менее 90° , т.е. $\cos \angle(\mathbf{d}, \mathbf{s}) > 0$ (рис. 2, *a*), а для левой спирали — более 90° , т.е. $\cos \angle(\mathbf{d}, \mathbf{s}) < 0$ (рис. 2, *b*). На рис. 3 и рис. 4 показаны конкретные примеры соответственно правой α -спирали и левой полипролиновой спирали «до» и «после» обработки.

Нами предлагается представлять данные в виде оригинальных «карт хиральности», где по горизонталь-

ной оси откладывается $\cos \angle(\mathbf{d}, \mathbf{s})$, а по вертикальной оси — отношение $|\mathbf{s}| / (L \cdot |\mathbf{v}_{mean}|)$, где \mathbf{s} — сумма векторных произведений, L — длина цепочки, $|\mathbf{v}_{mean}|$ — среднее расстояние между соседними α -углеродами (рис. 5, табл. 1).

На нашей «карте» правые α -спирали располагаются выше, что объясняется плотной упаковкой витков. Левые полипролиновые спирали и β -цепочки располагаются внизу, т.к. это растянутые и плоские структуры соответственно. Как можно видеть, все правые спира-

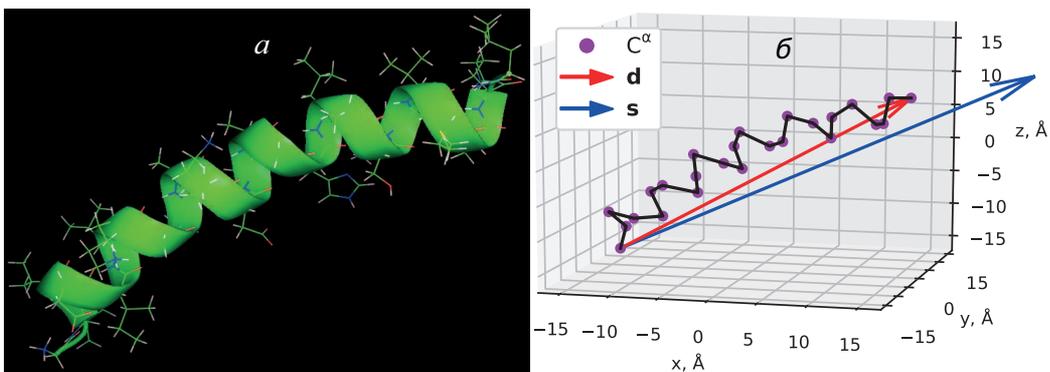


Рис. 3: Изображение правой α -спирали (PDB: 5UA8 [26]): *a* — до обработки; *б* — после обработки

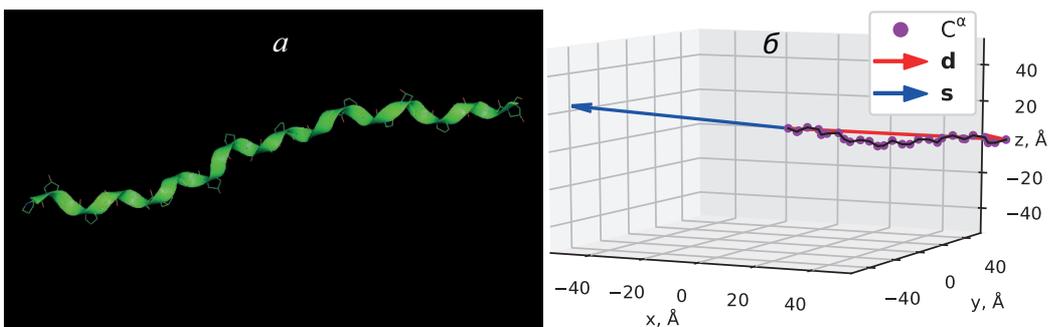


Рис. 4: Изображение левой полипролиновой спирали (PDB: 1CAG [26], chain A): *a* — до обработки; *б* — после обработки

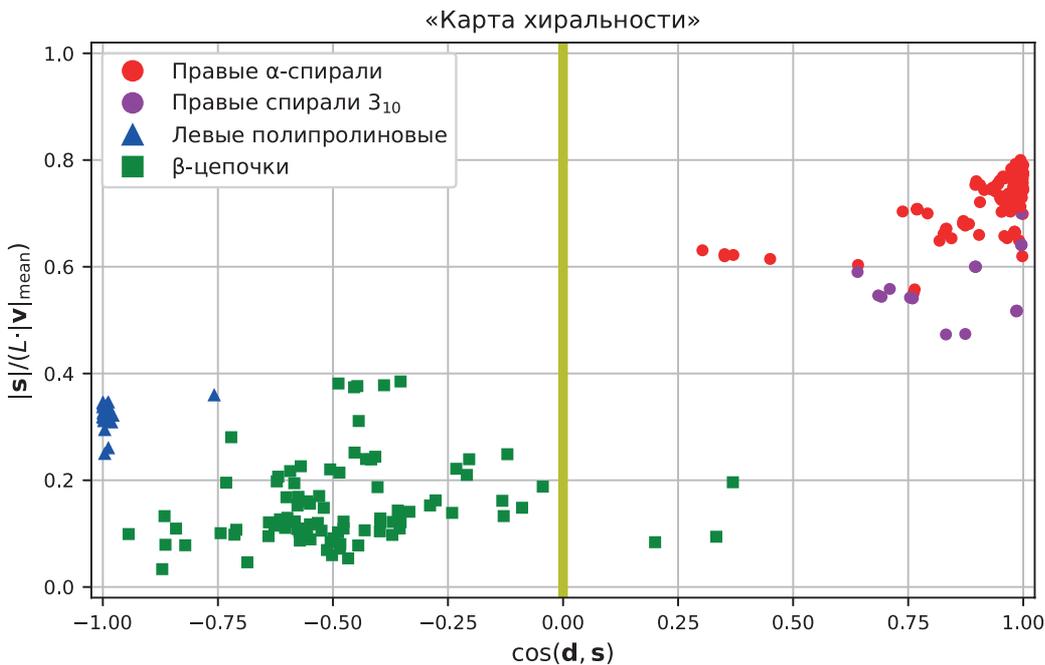


Рис. 5: «Карта хиральности» для вторичных структур белков (количественный состав молекул представлен в табл. 1

ли имеют $\cos \angle(\mathbf{d}, \mathbf{s}) > 0$, а левые полипролиновые — $\cos \angle(\mathbf{d}, \mathbf{s}) < 0$, таким образом, наш метод верно определяет направление закрутки. Также надо отметить, что наш численный метод смог выявить неочевидное

при визуальном анализе молекулы и количественно оценить, что β -цепочки имеют тенденцию к левой закрутки.

Таблица I: Количественный состав исследованных молекул белков

PDB**	Тип вторичной структуры	Количество, шт.
1BKV*, 1CAG*, 1G9W*, 1ITT*, 1K6F*, 1Q7D*, 1QSU*, 1WZB*, 2CUO*, 2D3F*, 2D3H*, 2DRT*, 2G66*, 2KLW*, 3A08*, 3A0A*, 3A0M*, 3A19*, 3A1H*, 3ADM*, 3AH9*, 3B0S*, 3DMW*, 3IPN*, 3P46*, 3POD*, 3PON*, 3T4F*, 3U29*, 3WN8*, 4DMT*, 4GYX*, 4OY5*, 4Z1R*	Левая полипролиновая спираль	34
1BDG	Правая α -спираль	15
	Правая спираль 310	2
	β -цепочка	12
1BMF	Правая α -спираль	87
	Правая спираль 310	6
	β -цепочка	78
1HV4	Правая α -спираль	56
	Правая спираль 310	16

*выбиралась цепь «А» (chain A)
**из банка данных [26]

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложен и разработан новый метод, характеризующий вторичную структуру белков — тип и знак хиральности (направление закрутки) и дающий информацию о пространственной структуре, которая способна сформировать следующий иерархический уровень. Правые α -спирали имеют тенденцию сворачиваться в левые пучки суперспиралей, а левые полипролиновые спираль в коллагене, перевиваясь, образуют правую

суперспираль. Мы можем оценивать хиральность также и β -структур. Предстоит разработать метод количественной оценки хиральности суперспиралей и цельной третичной структуры макромолекулы белка. Следует отметить, что метод применим и к нуклеиновым кислотам.

Авторы благодарят профессора Твердислова В. А. за предложенную тему исследования и обсуждение работы, а также Малышко Е. В. за полезное обсуждение работы.

- [1] Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Роберте К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки: В 3-х т. 2-е изд., перераб. и доп. **1**. Пер. с англ. Мир. М., 1994.
- [2] Tverdislov V. A., Sidorova A. E., Yakovenko L. V. Biophysics. 2012. **57**, N 1. P. 146.
- [3] Твердислов В. А. Биофизика. 2013. **58**, № 1. С. 159.
- [4] Tverdislov V. A., Malysheko E. V., Il'chenko S. A., Zhulyabina O. A., Yakovenko L. V. Biophysics. 2017. **62**, N 3. P. 331.
- [5] Guye P. A. Compt. Rendus. 1890. **110**. P. 714.
- [6] Guye P. A. Compt. Rendus. 1893. **116**. P. 1451.
- [7] Rassat A. Comptes-rendus des séances de l'Académie des sciences. Série 2, Mécanique-physique, chimie, sciences de l'univers, sciences de la terre. 1984. **299**, N 2. P. 53.
- [8] Mezey P. G. J. of Molecular Structure: THEOCHEM. 1998. **455**. P. 183.
- [9] Zabrodsky H., Peleg S., Avnir D. Continuous symmetry measures. J. of the Am. Chem. Soc. 1992. **114**, N 20. P. 7843.
- [10] Zabrodsky H., Peleg S., Avnir D. J. of the Am. Chem. Soc. 1993. **115**, N 18. P. 8278.
- [11] Zabrodsky H., Avnir D. J. of the Am. Chem. Soc. 1995. **117**, N. 1. P. 462.
- [12] Raos G. Macromolecular theory and simulations. 2002. **11**, N 7. P. 739.
- [13] Gilat G., Schulman L. S. Chem. Phys. Lett. 1985. **121**, N 12. P. 13.
- [14] Кузьмин В. Е., Стельмах И. Б. Журн. структур. химии. 1987. **28**, № 4. С. 50.
- [15] Kuzmin V. E., Stalmakh I. B., Bekker M. B., Pozigun D. V. J. Phys. Org. Chem. 1992. **5**, N 2. P. 295.
- [16] Zabrodsky H., Avnir D. Advances In Molecular Structure Research. 1995. **1**. P. 131.
- [17] Pinto Y., Zabrodsky H. Helv. Chim. Acta. 1996. **92**, N 14. P. 2523.
- [18] Ramachandran G. N., Ramakrishnan C., Sasisekharan V. J. Mol. Biol. 1963. **7**, N 1. P. 95.
- [19] Кантор Ч., Шиммель П. Биофизическая химия. **2**. М.: Мир, 1984.

- [20] *Brant D.A., Schimmel P.R.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1967. **58**. P. 428.
- [21] *Овчинников Ю. А.* Биоорганическая химия. М.: Просвещение, 1987.
- [22] *Petitjean M. J.* of Math. Phys. 1999. **40**, N 9. P. 4587.
- [23] *Avnir D., Hel-Or H., Mezey P.* The Encyclopedia of Computational Chemistry. 1998. **4**. P. 2890.
- [24] *Лузанов А. В., Иванов В. В., Миняев Р. М.* Ж. структ. химии. 1998. **39**, № 2. С. 319
- [25] Документация формата PDB файла. URL: <http://www wwpdb.org/documentation/file-format> (accessed 10.04.2018).
- [26] The Protein Data Bank. URL: <http://www.rcsb.org/> (accessed 10.04.2018).

Quantitative approach to the assessment of chirality in hierarchies of protein structures

A.R. Kotov^{1,a}, A.E. Sidorova^{1,b}, V.A. Tverdislov^{1,c}, M.N. Ustinin^{2,d}

¹*Department of Biophysics, Faculty of Physics, M.V. Lomonosov Moscow State University
Moscow 119191, Russia*

²*Mathematical Problems of Biology RAS — the Branch of Keldysh Institute of Applied Mathematics RAS
Moscow Region, Pushchino 142290, Russia*

E-mail: ^akotov_alexey@inbox.ru, ^bsky314bone@mail.ru, ^ctverdislov@mail.ru, ^du_m_n@mail.ru

An approach to the quantitative assessment of the degree of chirality in the hierarchical structures of macromolecular systems is developed. Earlier, the authors revealed a phenomenological regularity: beginning with the level of the «left» asymmetric carbon in the amino acid residues of the primary structure of proteins, the chiral character of the L-D-L-D structural levels alternates: the «right» α -helices of the secondary structure forming a left supercoiling, the quaternary structure of microfilaments — the «right». The proposed approach makes it possible in general to quantify the sign and degree of chirality of the secondary protein structures. A sufficient condition for the method for determining the sign of the chirality of the secondary structure is the choice of the relative arrangement of α -carbons, which allows one or two orders to reduce the amount of information processed compared with the complete description of the system. As a result of the analysis of right and left spiral secondary structures, it is shown that the angle between the direction vector and the sum of vector products reveals the direction of twist of the spiral. Along with the right α -helices and the left polyproline helices, which, forming themselves, form the right super-spirals in the collagen, β -structures were analyzed. Data on the spatial structure are displayed on special «chirality maps», which demonstrate the existence of isolated regions of existence for different types of helicity. The method is implemented as a computer program in Python 3.6 using the SciPy library and can be applied to nucleic acids.

PACS: 02.00.00

Keywords: proteins, chirality, enantiomers, alpha-carbon atom, right-handed alpha helix, right-handed 310 helix, left-handed polyproline helix, beta-chain, cross product, direction vector, chirality map.

Received 24 April 2018.

Сведения об авторах

1. Котов Алексей Русланович — магистрант; e-mail: kotov_alexey@inbox.ru.
2. Сидорова Алла Эдуардовна — канд. техн. наук, ст. науч. сотрудник; тел.: (495) 939-11-95, e-mail: sky314bone@mail.ru.
3. Твердислов Всеволод Александрович — доктор физ.-мат. наук, профессор, зав. кафедрой; тел.: (495) 939-11-95, e-mail: tverdislov@mail.ru.
4. Устинин Михаил Николаевич — доктор физ.-мат. наук, доцент, директор Института математических проблем биологии РАН (филиала ИПМ им. М. В. Келдыша РАН), заместитель директора по научной работе Института прикладной математики им. М. В. Келдыша РАН; тел.: (496) 731-85-02, e-mail: u_m_n@mail.ru.