

В. В. Побойнев

СТАБИЛЬНЫЕ ТИПЫ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ БЕЛКОВ РАЗЛИЧНЫХ СТРУКТУРНЫХ КЛАССОВ

Научный руководитель: канд. биол. наук, доц. Хрусталёв В. В.

Кафедра общей химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Резюме. В статье определены наиболее стабильные элементы вторичной структуры белков и разработан алгоритм PentaFOLD 2.0, способный не только предсказывать вторичную структуру белков и пептидов, но и определять её стабильность.

Ключевые слова: вторичная структура, структурный класс, стабильность, алгоритм.

Resume. In this article the most stable elements of the secondary structure of proteins are defined and PentaFOLD 2.0 algorithm is developed, which capable not only to predict the secondary structure of proteins and peptides, but also to determine its stability.

Keywords: secondary structure, structural class, stability, algorithm.

Актуальность. Основными элементами вторичной структуры белков являются альфа-спирали и бета-тяжи, формирование которых зависит не только от первичной последовательности белка, но и от третичной структуры белка [1]. Поэтому, выяснение механизмов образования вторичной структуры и её поддержание является одним из наиболее актуальных вопросов в протеомике. Помимо развития теоретических представлений данная работа имеет 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. А это возможно лишь при условии использования наиболее стабильных микродоменов для синтеза. В обратном случае антитела, выработанные к ним, не будут распознавать антигены возбудителей.

Цель: выявить наиболее стабильные типы альфа-спиралей, бета-тяжей и неструктурированных участков белков и создать компьютерный алгоритм, позволяющий не только предсказывать вторичную структуру белков и пептидов, но и определять её стабильность.

Материалы и методы. В ходе работы использованы выборки 3D структур белков человека и животных, относящиеся к четырём структурным классам: альфа-спиральным, бета-структурным, «альфа+бета» и «альфа/бета». Каждая выборка включает по 100 негомологичных аминокислотных последовательностей (максимальный процент сходства аминокислотных последовательностей белков в каждой выборке друг с другом не превышает 25% по алгоритму Decrease Redundancy (web.expasy.org/decrease_redundancy)), полученных из международной базы данных PDB. Информация по границам альфа-спиралей и бета-тяжей получена из PDB файлов с помощью алгоритма DSSP [2]. 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. Достоверность выявленных различий определяли с помощью t-теста для относительных величин.

Результаты и их обсуждение. В результате данной работе нами выявлены характерные особенности распределения аминокислотных остатков по элементам вторичной структуры белков четырёх структурных классов, проведена оценка влияния фланкирующих элементов вторичной структуры на частоты использования аминокислотных остатков в альфа-спиралях, бета-тяжах и неструктурированном состоянии каждого класса белков. И, как результат, создан алгоритм для предсказания и определения стабильности вторичной структуры белков и пептидов PentaFOLD 2.0.

Бета-тяжи, расположенные между двумя альфа-спиралями, являются наиболее стабильными и защищены от перехода в альфа-спираль. Это достигается благодаря повышенным частотам использования гидрофобных и бета-структурных аминокислотных остатков и пентапептидов. Бета-тяжи могут образоваться из аминокислот, характерных для альфа-спирали или для койла в том случае, если под влиянием другого фрагмента полипептидной цепи они перейдут в бета-структуру или бета-шпильку. Иногда только одного «активного» бета-тяжа может быть достаточно, чтобы сформировать бета-шпильку.

Самыми стабильными являются альфа-спирали, расположенные между двумя бета-тяжами (ЕНЕ) или между альфа-спиралью и бета-тяжем (ННЕ). Альфа-спирали типа ЕНЕ защищены от перехода в бета-тяжи благодаря повышенному использованию гидрофильных аминокислот и повышенной частоте использования альфа-спиральных пентапептидов в центрах альфа-спиралей по сравнению с альфа-спиралями, расположенными между двумя другими альфа-спиралями (ННН).

Самым стабильным койлом является тот, который расположен между двумя бета-тяжами (ЕСЕ), так как в нём чаще встречаются гидрофильные аминокислотные остатки, а гидрофобные – чаще наблюдаются в таких типах неструктурированных участков, как НСЕ и ЕСН, и, особенно, НСН, поэтому койл типа ЕСЕ менее всего склонен к переходу в бета-тяж. Особенности койла типа НСН повторяются в альфа-спирали типа ННН, что может быть свидетельством частых переходов койла типа НСН в альфа-спираль и обратно.

Заключение. После выяснения особенностей распределения аминокислотных остатков и пентапептидов в различных элементах вторичной структуры белков и пептидов четырёх структурных классов, определения наиболее стабильных типов вторичных структур, созданы оригинальные вероятностные шкалы, которые заложены в основу работы алгоритма PentaFOLD 2.0. Данный алгоритм предсказывает элементы вторичной структуры на основании двух вероятностных шкал: аминокислотной и пентапептидной. На основании анализа аминокислотного состава альфа-спиралей, бета-тяжей и участков полипептидной цепи, находящихся в неструктурированном состоянии, была получена первая вероятностная шкала. В алгоритме PentaFOLD 2.0 вероятность включения аминокислотного остатка в тот или иной элемент вторичной структуры рассчитывается как среднее значение для пентапептида, в центре которого находится рассматриваемый остаток. Вторая вероятностная шкала PentaFOLD 2.0 основана на частотах использования 32 возможных типов пентапептидов в альфа-спиралях, бета-тяжах и неструктурированных фрагментах, состоящих из гидрофобных и гидрофильных

аминокислотных остатков. То есть, вместо 20 видов протеиногенных аминокислот, во второй шкале используются только два общих класса: гидрофобные и гидрофильные. Особенностью второй версии данного алгоритма является наличие дополнительных дипептидных шкал, содержащих вероятности образования той или иной структуры парой аминокислотных остатков в рамках 1-2, 2-3, 3-4, 4-5; 1-3, 2-4, 3-5; 1-4, 2-5; 1-5, а также возможность определения стабильности вторичных структур исследуемых белков.

После создания данного алгоритма мы определили его чувствительность и специфичность для каждого элемента вторичной структуры белков по двум паттернам. Чувствительность к альфа-спиралям по альфа-спиральному паттерну равна 66,99%; 65,33%; 65,55% и 67,32% для белков класса «альфа+бета», «альфа/бета», бета-структурных и альфа-спиральных, соответственно. Специфичность к альфа-спиралям демонстрирует ярко выраженную зависимость от структурного класса. По альфа-спиральному паттерну наибольшего значения (74,55%) специфичность достигла в выборке альфа-спиральных белков, наименьшего (15,77%) – в выборке бета-структурных белков, специфичность в выборке белков «альфа/бета» класса (52,84%) превысила таковую в выборке белков «альфа+бета» (48,15%). Чувствительность к бета-тяжам как по бета-паттерну, так и по альфа-паттерну находится примерно на одном и том же уровне для белков «альфа+бета», бета и альфа классов (61,64% и 29,70%; 59,84% и 27,97%; 56,12% и 26,40%). Несколько более высокие значения характерны для чувствительности к бета-тяжам среди «альфа/бета» белков: 66,42% и 36,09%. Что касается специфичности к бета-тяжам, то самые высокие её значения достигаются в выборке бета-структурных белков: 61,92% и 69,97%.

Информация о внедрении результатов исследования. По результатам настоящего исследования опубликованы 2 статьи в сборниках материалов, одна статья в рецензируемом журнале, двое тезисов докладов, получено 2 акта внедрения в образовательный процесс (кафедра общей химии БГМУ, кафедра биоорганической химии БГМУ).

V. V. Poboinev

STABLE TYPES OF SECONDARY STRUCTURE OF PROTEINS OF DIFFERENT STRUCTURAL CLASSES

Tutors: PhD, associate professor V. V. Khrustalev

Department of general chemistry

Belarusian State Medical University, Minsk

Литература

1. Zhang, G. Inferences from structural comparison: flexibility, secondary structure wobble and sequence alignment optimization / G. Zhang, Z. Su. // BMC Bioinformatics. – 2012. – Vol. 13. – S12.
2. 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.