

¹Хрусталёв В. В., ¹Побойнев В. В., ²Хрусталёва Т. А.

ОСОБЕННОСТИ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА БЕТА-ТЯЖЕЙ В БЕЛКАХ РАЗЛИЧНЫХ СТРУКТУРНЫХ КЛАССОВ

*¹Белорусский государственный медицинский университет, кафедра
общей*

химии, г. Минск

*²ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», лаборатория клеточ-
ных*

технологий, г. Минск

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

Резюме: бета-тяжи различных структурных классов имеют особенности, заключающиеся как в частотах использования аминокислотных остатков, так и в характере специфических чередований гидрофобных и гидрофильных остатков. В наибольшей степени бета-тяжи стабилизированы в белках класса альфа/бета.

Resume: beta-strands of various structural classes demonstrate characteristic features both in amino acid content, and in specific combinations of hydrophobic and hydrophilic residues. The most stabilized beta-strands are found in proteins of alpha/beta structural class.

Актуальность. Бета-тяж – один из основных элементов вторичной структуры, встречающейся в белках. По вероятностным шкалам Chou и Fasman в бета-тяжи чаще включены такие аминокислотные остатки, как валин, изолейцин, цистеин, фенилаланин, тирозин, триптофан, треонин [1]. Однако, ранее нами было показано, что для образования бета-тяжей предпочтительно сочетание двух факторов: природы боковых цепей аминокислотных остатков и специфического чередования гидрофобных и гидрофильных остатков [2].

Цель: выявить особенности аминокислотного состава бета-тяжей белков, относящихся к четырём структурным классам.

Задачи: 1) формирование выборки негомологичных белков четырёх структурных классов; 2) создание вероятностных шкал для каждой выборки; 3) сравнение аминокислотного состава бета-тяжей из четырёх структурных классов.

Материалы и методы. В ходе данной работы использовались выборки 3D структур белков человека и животных, относящиеся к четырём структурным классам: альфа-спиральные, бета-структурные, альфа+бета и альфа/бета. Каждая выборка включает по 100 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. Вероятностные шкалы были построены для аминокислот и комбинаций гидрофобных и гидрофильных остатков в пентапептидах. Достоверность различий в аминокислотном составе определяли с помощью t-теста для относительных величин.

Результаты и обсуждение. Если сравнить вероятностные шкалы, то выяснится, что такие остатки, как треонин, фенилаланин, тирозин, изолейцин, валин, цистеин и триптофан образуют предпочтительно бета-тяжи во всех четырёх классах белков. Из них только треонин классифицируется как гидрофильный остаток. Аргинин становится «формирователем» бета-тяжей только в преимущественно бета-структурных белках (в остальных классах белков он остаётся формирователем альфа-спиралей).

Следует подчеркнуть, что общая картина распределения аминокислот в бета-структуре остаётся одинаковой вне зависимости от структурного класса белка: самые сильные формирователи бета-тяжей (валин и изолейцин) имеют наиболее высокие частоты использования, наравне с лейцином, который преимущественно образует альфа-спирали (рисунок 1). Тем не менее надо отметить, что лейцин довольно часто включается в бета-тяжи, особенно, если находится в способствующих этому комбинациях с другими аминокислотами.

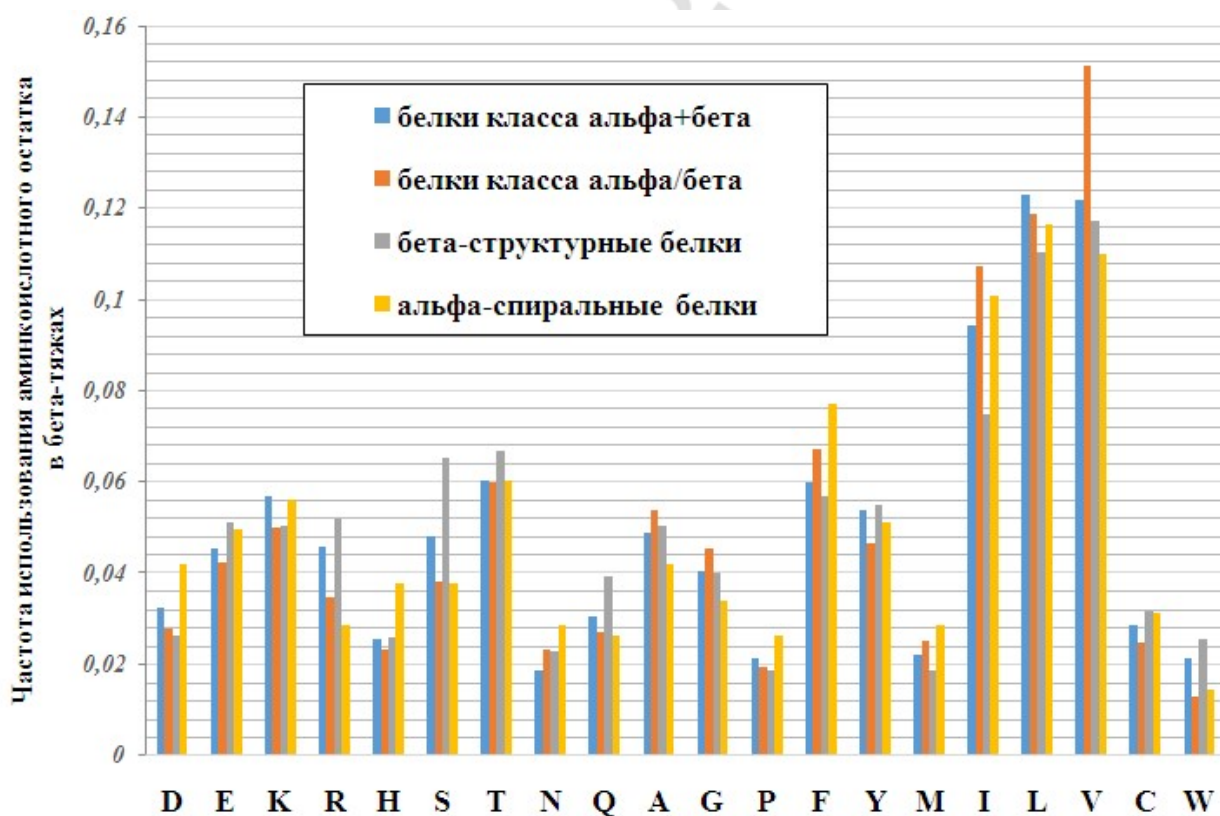


Рис. 1 Частоты использования аминокислотных остатков в бета-тяжах четырёх структурных классов белков

Различия, затрагивающие весь структурный класс, немногочисленны, но важны для понимания архитектуры рассматриваемых биополимеров. Так, серин и глутамин достоверно чаще используются в бета-тяжах бета-структурных белков, а изолейцин, наоборот, достоверно реже встречается в бета-тяжах бета-структурных белков, чем в бета-тяжах белков любого другого класса. Такие особенности бета-тяжей из бета-структурных белков на первый взгляд кажутся странными: сильного формирователя бета-структуры

(изолейцина) в них меньше, а формирователей альфа-спиралей (глутамина) и неструктурированных фрагментов (серина), наоборот, больше. Ещё одно универсальное отличие касается бета-тяжей из белков класса альфа/бета: в них частота использования валина достоверно выше, чем в белках всех остальных структурных классов.

Упомянутый выше аргинин достоверно чаще входит в состав бета-тяжей из бета-структурных белков и белков класса альфа+бета, по сравнению с альфа-спиральными белками и белками класса альфа/бета. То есть, аргинин чаще включается в состав бета-тяжей или полностью бета-структурных белков, или белков, в которых есть бета-структурные домены. Тренд для серина и изолейцина также воспроизводится при сравнении белков класса альфа+бета и альфа/бета: серин предпочитает бета-структуры из бета-структурных доменов, а изолейцин – отдельные бета-тяжи.



Рис. 2 Частоты использования пентапептидов, состоящих из гидрофильных (W) и гидрофобных (O) аминокислотных остатков в бета-тяжах четырёх структурных классов белков

Интерпретация найденных закономерностей становится возможной исключительно после анализа частот распределения пентапептидов, состоящих из гидрофобных (O) и гидрофильных (W) остатков, по бета-тяжам (состоящим из пяти и более остатков). Пентапептиды с комбинациями WOWOW и OWOWO имеют значительно большие частоты использования в бета-тяжах альфа-спиральных и бета-структурных белков, по сравнению с белками классов альфа+бета и альфа/бета (рисунок 2). Если комбинация OWOWO является преимущественно бета-структурной во всех классах белков, то комбинация

ция WOWOW является таковой во всех белках, кроме белков класса альфа/бета, где она становится характерной для неструктурированного состояния. В целом же, чередование гидрофильных и гидрофобных остатков через один должно способствовать образованию бета-структуры. Причины накопления таких пентапептидов в альфа-спиральных и бета-структурных белках, очевидно, различаются.

Если в альфа-спиральных белках всё-таки остаются отдельные бета-тяжи, они должны обладать весьма стабильной структурой, чтобы не подвергаться индуцирующему воздействию многочисленных альфа-спиралей. Изменение чередования гидрофобных и гидрофильных аминокислот в бета-тяже из альфа-спирального белка, по-видимому, способно привести к формированию альфа-спирали на его месте. Отрицательный отбор закрепляет пентапептиды WOWOW и OWOWO в том случае, если соответствующие бета-тяжи несут важную функцию в альфа-спиральных белках.

В бета-структурных белках только часть бета-тяжей следует считать «активными», остальные же формируются под воздействием расположенных рядом элементов вторичной структуры. То есть, в состав бета-структуры должны быть включены особо устойчивые элементы, благодаря которым формируется структура всего домена. К таким опорным конструкциям можно отнести пентапептиды WOWOW и OWOWO. Однако не только такие пентапептиды являются сильными формирователями бета-структуры. Помимо них, высокий бета-потенциал характерен для абсолютно гидрофобных (OOOOO) и преимущественно гидрофобных пентапептидов (WOOOO; OWOOO; OOOOW; OOOOW; WOOOW). Два из них (OOOOW и WOOOW) становятся формирователями альфа-спиралей исключительно в альфа-спиральных белках, подобно универсальному альфа-спиральному пентапептиду OOWOO.

Частоты использования гидрофобных пентапептидов WOOOO, OWOOO, OOOOW и OOOOO в бета-тяжах резко повышены именно в белках класса альфа/бета (рисунок 2). Частоты использования гидрофобных пентапептидов WOOOO, OWOOO и OOOOO достоверно выше в бета-тяжах белков класса альфа+бета, нежели чем в бета-тяжах бета-структурных белков. Из этого следует, что при наличии в белке как альфа-спиралей, так и бета-тяжей, бета-структура гораздо чаще (и в большем процентном соотношении) может становиться гидрофобной. Этот процесс, связанный с накоплением валина и изолейцина в бета-тяжах, должен способствовать повышению устойчивости бета-структуры, так как гидрофобные фрагменты полипептидной цепи (в водном растворе) действительно проявляют высокий бета-потенциал.

Для бета-тяжей в белках альфа/бета класса важно наличие характерных особенностей первичной структуры, препятствующих «спирализации» под воздействием расположенных рядом альфа-спиралей, которые, предпочтительно, включают в себя как гидрофильные, так и гидрофобные аминокислоты, чередующиеся попарно (в частности, в пентапептидах WOOWW,

WWOOW, OWWOO, OOWWO). В результате, одна поверхность альфа-спирали становится гидрофобной, а другая – гидрофильной. При наличии «интерфейса», образованного альфа-спиралями, бета-структура может быть весьма гидрофобной. Если же белок относится к бета-структурному классу, на его поверхности должны быть не только неструктурированные участки, но и бета-тяжи. Именно в таких «поверхностных» бета-тяжах и будет наблюдаться высокое содержание относительно гидрофильных пентапептидов WOWOW и OWOWO. В качестве гидрофильных аминокислот в них часто должны выступать упомянутые выше остатки серина, глутамина и аргинина. Благодаря изменению аминокислотного состава бета-тяжей в бета-структурных белках, они сохраняют свою растворимость. Другими словами, замены, приводящие к гидрофобизации бета-тяжей гораздо чаще «разрешены» отрицательным отбором в альфа+бета и альфа/бета белках, но «запрещены» в бета-структурных белках (такие замены должны вызывать перестройку гидрофильного «интерфейса») и альфа-спиральных белках (по причине превращения соответствующих бета-тяжей в альфа-спирали).

Вероятность перехода от бета-структурного состояния к альфа-спиральному должна быть выше в белках, в которых присутствуют альфа-спирали, способные индуцировать такой структурный переход. Эта гипотеза подтверждается тем, что в альфа-спиральных белках бета-тяжи достоверно обеднены такими «альфа-спиральными» пентапептидами, как WWOWW (относительно всех остальных классов белков), WOOWW, WWOOW и OWWOO (относительно белков класса альфа/бета). Бета-тяжи с такими комбинациями гидрофильных и гидрофобных остатков, которые характерны для альфа-спиралей, имеют большой шанс подвергнуться структурному переходу именно в альфа-спиральных белках. Поэтому нестабильные бета-тяжи часто подвергаются отрицательному отбору в альфа-спиральных белках. В белках класса альфа/бета стабильность бета-тяжей, обусловленная «правильными» комбинациями гидрофильных и гидрофобных остатков, должна быть более важным критерием сохранения ими структуры, чем в белках класса альфа+бета. Этим можно объяснить достоверное снижение частот использования «альфа-спиральных» пентапептидов OWWOO и OOWWO в бета-тяжах белков класса альфа/бета по сравнению с таковыми в белках класса альфа+бета.

Выводы: 1. Аминокислотный состав бета-тяжей и предпочтительность включения в них некоторых аминокислот зависит от структурного класса белка; 2. Серин, аргинин и глутамин чаще используются в бета-тяжах бета-структурных белков и бета-структурных доменов белков класса альфа+бета в составе пентапептидов с чередованием гидрофильных и гидрофобных остатков через один; 3. Остатки изолейцина реже встречаются в бета-тяжах бета-структурных белков, чем в бета-тяжах белков остальных структурных классов; 4. Бета-тяжи белков класса альфа/бета отличаются более высокой частотой использования гидрофобных пентапептидов с участием валина и изолейцина; 5. Бета-тяжи, находящиеся в преимущественно альфа-спиральных бел-

ках, чаще стабилизированы характерными для бета-структуры комбинациями гидрофобных и гидрофильных аминокислот (через один остаток) и обеднены комбинациями, характерными для альфа-спиралей (через два остатка); 6. Полученные данные необходимы для оценки вероятности воспроизведения вторичной структуры фрагментов белков в коротких пептидах, что важно для создания синтетических вакцин и наборов для иммуноферментного анализа.

Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках гранта БРФФИ № Б16М-083.

Литература

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. Хрусталёв, В. В. О вкладе специфических чередований гидрофобных и гидрофильных аминокислотных остатков в формирование элементов вторичной структуры белков / В. В. Хрусталёв, В. В. Побойнев, Т. А. Хрусталёва // *Фундаментальная наука в современной медицине: материалы саттел. дистанционной научно-практич. конф. студентов и молодых учёных.* – 2016. – С. 312-317.