

*Ачинович О.В., Хрусталёв В.В., Побойнев В.В., Гуцу А.И.,  
Петрушенко Л.Г., Контява О.В.*

## **О формировании элементов вторичной структуры белков при рН=9**

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,  
Минск, Республика Беларусь

При повышении рН в растворе белка наблюдается закономерный сдвиг равновесия в сторону процессов депротонирования функциональных групп аминокислотных остатков. Такие процессы должны существенно влиять на возможность образования водородных связей, ионных и полярных контактов между функциональными группами. Так, депротонирование карбоксильной группы аспарагиновой кислоты лишает её возможности быть донором водородной связи, но повышает вероятность формирования ионного контакта, так как группа приобретает отрицательный заряд. Вторичная структура белка, сама по себе являющаяся результатом появления регулярных паттернов водородных связей между атомами кислорода и азота пептидных связей, образуется, в том числе, и благодаря формированию других типов контактов между аминокислотными остатками. Ответить на вопрос, насколько защелачивание среды влияет на способности аминокислотных остатков к образованию альфа-спиралей, бета-тяжей и петель, можно путём анализа трёхмерных структур белков, полученных при рН=9,0 и рН=7,4.

**Цель** исследования – сравнить вероятности формирования аминокислотными остатками альфа-спиралей, бета-тяжей и петель при рН=9,0 и рН=7,4.

**Материалы и методы.** Количество изученных негомологичных белков эукариот из базы данных Protein Data Bank, структуры которых получены при рН=9,0, составило 203. Количество негомологичных белков, структуры которых получены при рН=7,4, равно 116. Вторичная структура белков была определена с помощью метода DSSP. После расчёта аминокислотного состава альфа-спиралей, бета-тяжей и петель этих белков, были рассчитаны вероятности образования каждым остатком соответствующих элементов вторичной структуры. Вероятности сравнивали с помощью t-теста для относительных величин.

**Результаты.** Сравнение вероятностей образования альфа-спиралей, бета-тяжей и петель аминокислотными остатками в выборках белков, структуры которых были получены при рН=9,0 и при рН=7,4, не выявило каких-либо существенных сдвигов: преимущественно альфа-спирали образуют аланин, аргинин, глутаминовая кислота, глутамин, лейцин, метионин и лизин; преимущественно бета-тяжи образуют ва-

лин, изолейцин, треонин, триптофан, цистеин, фенилаланин и тирозин; преимущественно петли образуют глицин, пролин, серин, аспарагиновая кислота, гистидин и аспарагин. Сами по себе величины вероятностей образования элементов вторичной структуры достоверно отличались лишь в трёх случаях. Аспарагиновая кислота, оставаясь формирователем петель в обоих выборках, с достоверно более высокой вероятностью включается в бета-тяжи при  $\text{pH}=9,0$ , чем при  $\text{pH}=7,4$ . При этом общая частота использования Asp в обоих выборках одинакова. Действительно, в экспериментах с короткими пептидами было установлено, что на величину  $\text{pK}_a$  аспарагиновой кислоты существенно влияет гидрофобность микроокружения: в экспонированном состоянии  $\text{pK}_a = 3,83$ , в частично экспонированном  $\text{pK}_a = 6,69$ , в ещё менее экспонированном –  $\text{pK}_a = 9,99$  [1]. Судя по этим данным, защелачивание среды может влиять, в основном, на те остатки аспарагиновой кислоты, которые окружены гидрофобными боковыми цепями, но при этом не лишены возможности взаимодействовать с растворителем. Остатки тирозина с достоверно большей вероятностью формируют петли в белках, структуры которых получены при  $\text{pH}=7,4$ , чем в белках при  $\text{pH}=9,0$ , при этом оставаясь преимущественно формирователями бета-структуры. Действительно,  $\text{pK}_a$  для гидроксильной группы тирозина находится в районе 10,5: при защелачивании происходит сдвиг в сторону его депротонирования, что способствует его включению как в альфа-спирали, так и в бета-тяжи. Остатки лейцина (формирователя альфа-спиралей), наоборот, имеют достоверно большую вероятность включения в состав петель при  $\text{pH}=9,0$ , чем при  $\text{pH}=7,4$ . Такой сдвиг может быть связан с изменением состояния других аминокислотных остатков, в частности, аспарагиновой кислоты: Asp из N-концов альфа-спиралей может депротонироваться, и первый виток спирали, содержащий остатки лейцина, может «раскручиваться», превращаясь в петлю.

**Выводы.** Защелачивание среды не влияет на то, какой именно элемент вторичной структуры преимущественно образует каждый аминокислотный остаток. Тем не менее, некоторые достоверные изменения вероятности образования петель при увеличении  $\text{pH}$  до 9.0 отмечены для остатков Thr и Leu, повышение вероятности образования бета-структуры – для остатков Asp.

#### Литература

1. Urry, D.W., Gowda, D.C., Peng, S., Parker, T.M., Jing, N., Harris, R.D. Nanometric design of extraordinary hydrophobic-induced  $\text{pK}_a$  shifts for aspartic acid: relevance to protein mechanisms. Biopolymers. – 1994. – Vol. 34. – P. 889-896.