

ЛЕКЦИЯ

УДК 577.1

©Иванов

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ КОНФОРМАЦИОННОГО РАЗНООБРАЗИЯ БЕЛКОВ ДЛЯ МЕДИКО-БИОЛОГОВ

А.С. Иванов

Учреждение Российской академии медицинских наук, Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича РАМН, 119121, Москва, Погодинская ул., д.10; факс: (095) 245-0857; эл. почта: alexei.ivanov@ibmc.msk.ru

В лекции кратко описаны основные факторы, обуславливающие конформационную подвижность белковой цепи и разнообразие белковой конформации. Рассмотрены основные принципы конформационного анализа белков. Данная лекция входит в теоретический курс “Путь от гена до лекарства” для студентов Медико-биологического факультета РГМУ (специальности – биохимия, биофизика, медицинская кибернетика) и может быть также рекомендована для студентов и аспирантов других медико-биологических специальностей.

Ключевые слова: лекция, белки, конформационная подвижность, карта Рамачандрана, вторичные структуры

1. ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ.

Начнём с краткого повторения известных фактов о строении белков:

1) Белки представляют собой линейные макромолекулы, состоящие из остатков аминокислот, соединенных пептидной связью (общий вид структуры аминокислот и схема образования пептидной связи показаны на рис. 1А и Б, соответственно).

2) Все аминокислоты состоят всего из 5 химических элементов: С, Н, О, N, S.

3) Практически все белки живых систем построены из 20 типов аминокислот (список приведен в табл. 1). Аминокислоты имеют общий принцип строения и различаются только строением боковой цепи (на рис. 1А обозначена символом **R**).

4) Центральный атом углерода в аминокислотах, обозначаемый как **C α** (С-альфа атом), является хиральным центром. Поэтому для каждой из аминокислот возможны два варианта конфигурации - L и D стереоизомеры.

При компьютерном анализе пространственной структуры белка конфигурацию аминокислот можно легко распознать пользуясь так называемым правилом “CORN” (рис. 2): если карбоксильную группировку обозначить как CO, боковую цепь - как **R** и аминогруппу - как **N**, то если смотреть вдоль химической связи от **H** к **C α** (направление обозначено стрелкой на рис. 2), то можно прочесть по часовой стрелке слово **CORN** для L-конфигурации аминокислоты. Соответственно, в случае D-конфигурации это слово будет читаться в направлении против часовой стрелки.

5) В природе так устроено, что все белки эукариот состоят только из L-аминокислот. У прокариот в ряде случаев встречаются D-аминокислоты (так, например, молекула циклического депсипептидного антибиотика валиномицина построена из шести L- и шести D-аминокислотных остатка).

6) Аминокислотные остатки в белках принято обозначать с помощью трёх-буквенного или одно-буквенного кода (табл. 1).

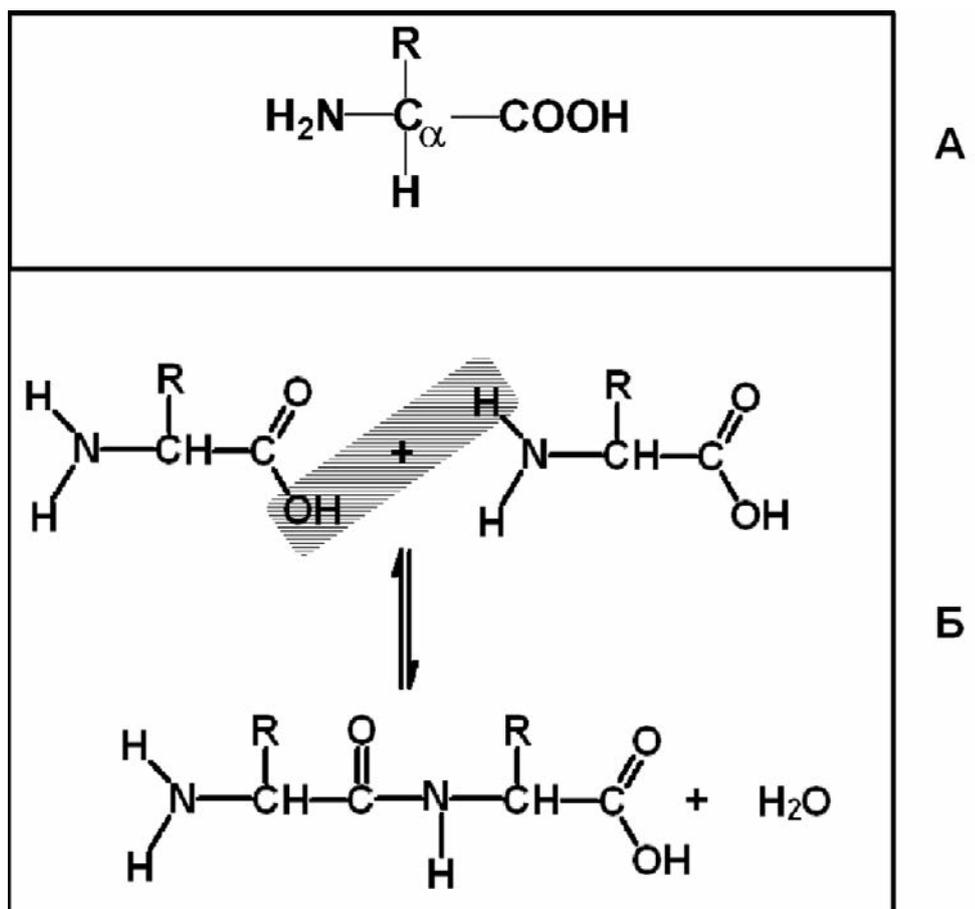


Рисунок 1.

Общий вид структуры аминокислот (А) и схема образования пептидной связи при реакции карбоксильной группы и аминогруппы двух аминокислот (Б).

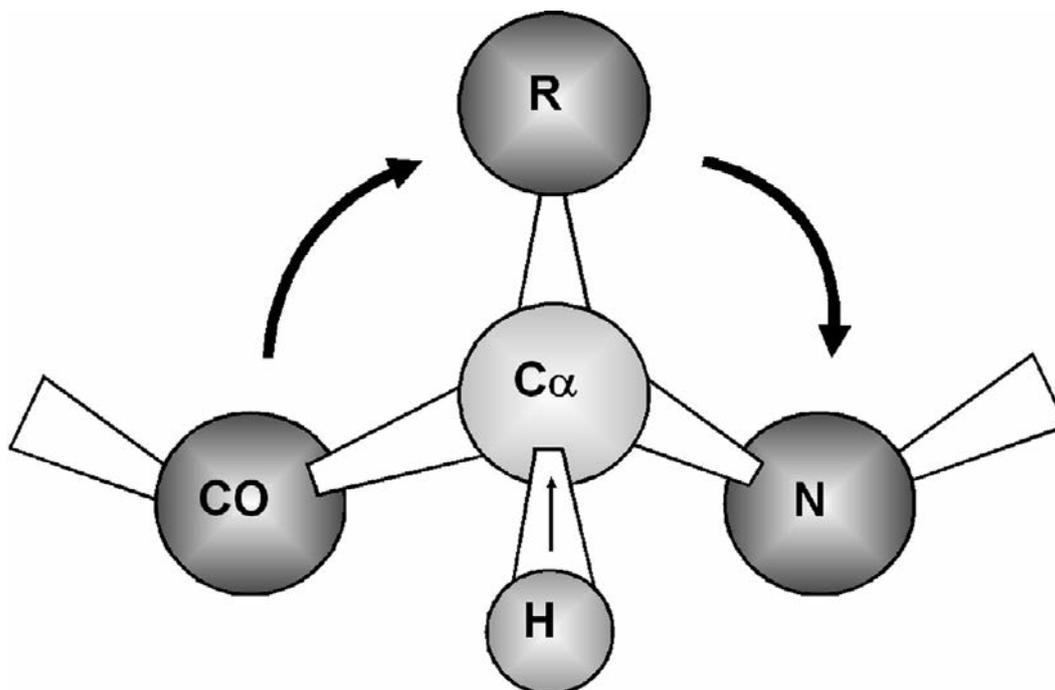


Рисунок 2.

Правило "CORN" для определения L-конфигурации аминокислоты.

Таблица 1. Список 20 аминокислот, из которых построены белки живых систем.

№	Аминокислоты		Код	
	Русское название	Английское название	3-буквенный	1-буквенный
1.	Аланин	Alanine	Ala	A
2.	Цистеин	Cysteine	Cys	C
3.	Аспарагиновая к-та	Aspartic Acid	Asp	D
4.	Глутаминовая к-та	Glutamic Acid	Glu	E
5.	Фенилаланин	Phenylalanine	Phe	F
6.	Глицин	Glycine	Gly	G
7.	Гистидин	Histidine	His	H
8.	Изолейцин	Isoleucine	Ile	I
9.	Лизин	Lysine	Lys	K
10.	Лейцин	Leucine	Leu	L
11.	Метионин	Methionine	Met	M
12.	Аспарагин	Asparagine	Asn	N
13.	Пролин	Proline	Pro	P
14.	Глутамин	Glutamine	Gln	Q
15.	Аргинин	Arginine	Arg	R
16.	Серин	Serine	Ser	S
17.	Треонин	Threonine	Thr	T
18.	Валин	Valine	Val	V
19.	Триптофан	Tryptophan	Trp	W
20.	Тирозин	Tyrosine	Tyr	Y

Трёх-буквенный код представляет собой аббревиатуру от английских названий аминокислот и поэтому интуитивно понятен и удобен. По этой причине трёх-буквенный код часто используется в научной литературе для обозначения конкретных аминокислотных остатков с добавлением их порядковых номеров в аминокислотной последовательности белка (например, Gly32, Val64, Ser112 и так далее).

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ КОНФОРМАЦИОННОГО РАЗНООБРАЗИЯ БЕЛКОВ

Одно-буквенный код абсолютно необходим для работ в области биоинформатики, так как позволяет представить аминокислотную последовательность в виде биологического текста, с которым могут производиться разнообразные математические действия. В качестве примера на рисунке 3 приведена такая запись аминокислотной последовательности белка. В научной литературе для удобства чтения подобный текст, как правило, разбивается на группы по 10 символов и на строки, каждая из которых начинается с цифры, обозначающей порядковый номер аминокислотного остатка, с которого начинается строка. Так как одно-буквенный код по большей части не имеет интуитивно понятной связи с названиями аминокислот, то он менее удобен и для работы с ним потребуется его заучить (начнём прямо с данной лекции - будем, по-возможности, везде дублировать названия аминокислот этим кодом).

```

1  MAKKTLPAGV KSPPIYIFSPI PFLGHAIAFG KSPIEFLENA YEKYGPVFSF TMVGKTFTYL
61  LGSDAALLF NSKNEDLNAE DVYSRLTTPV FGKGVAYDVP NPVFLEQKKM LKSGLNIAHF
121 KQHVSIIEKE TKEYFESWGE SGEKNVFEAL SELIILTASH CLHGKEIRSQ LNEKVAQLYA
181 DLDGGFSHAA WLLPGWLPLP SFRRRDRahr EIKDIFYKAI QKRRQSQEKI DDILQTL LDA
241 TYKDGRPLTD DEVAGMLIGL LLAGQHTSST TSAWMGFFLA RDKTLQKKCY LEQKTVCGEN
301 LPPLTYDQLK DLNLLDRCIK ETLRLRPPVM IMMRMARTPQ TVAGYTIPPG HQVCVSPTVN
361 QRLKDSWVER LDFNPDRYLQ DNPASGEKFA YVFGAGRHR CIGENFAYVQ IKTIWSTMLR
421 LYEFDLIDGY FPTVNYTTMI HTPENPVIRY KRRSTNNNNN H
    
```

Рисунок 3.

Пример записи аминокислотной последовательности белка с помощью одно-буквенного кода (показана аминокислотная последовательность цитохрома P450(51) человека).

Чтобы закончить с различными обозначениями, необходимо отметить, что при описании структуры белка часто используются символы греческого алфавита для обозначения определенных атомов, торсионных углов и элементов вторичных структур. В качестве справочного материала в таблице 2 приведены те буквы греческого алфавита, которые используются для этих целей.

Таблица 2. Буквы греческого алфавита, которые используются для обозначения атомов, торсионных углов и элементов вторичных структур в белках.

Символ	Название	Символ	Название	Символ	Название
α	альфа	ε	эпсилон	φ	фи
β	бета	ζ	зета	χ	хи
γ	гамма	η	эта	ψ	пси
δ	дельта	θ	тета	ω	омега

Мы уже упоминали об обозначении центрального атома в структуре аминокислоты как $C\alpha$. Аналогично греческими буквами обозначаются позиции атомов боковой цепи (см. схему на рис. 4А) и торсионные углы основной цепи (рис. 4Б).

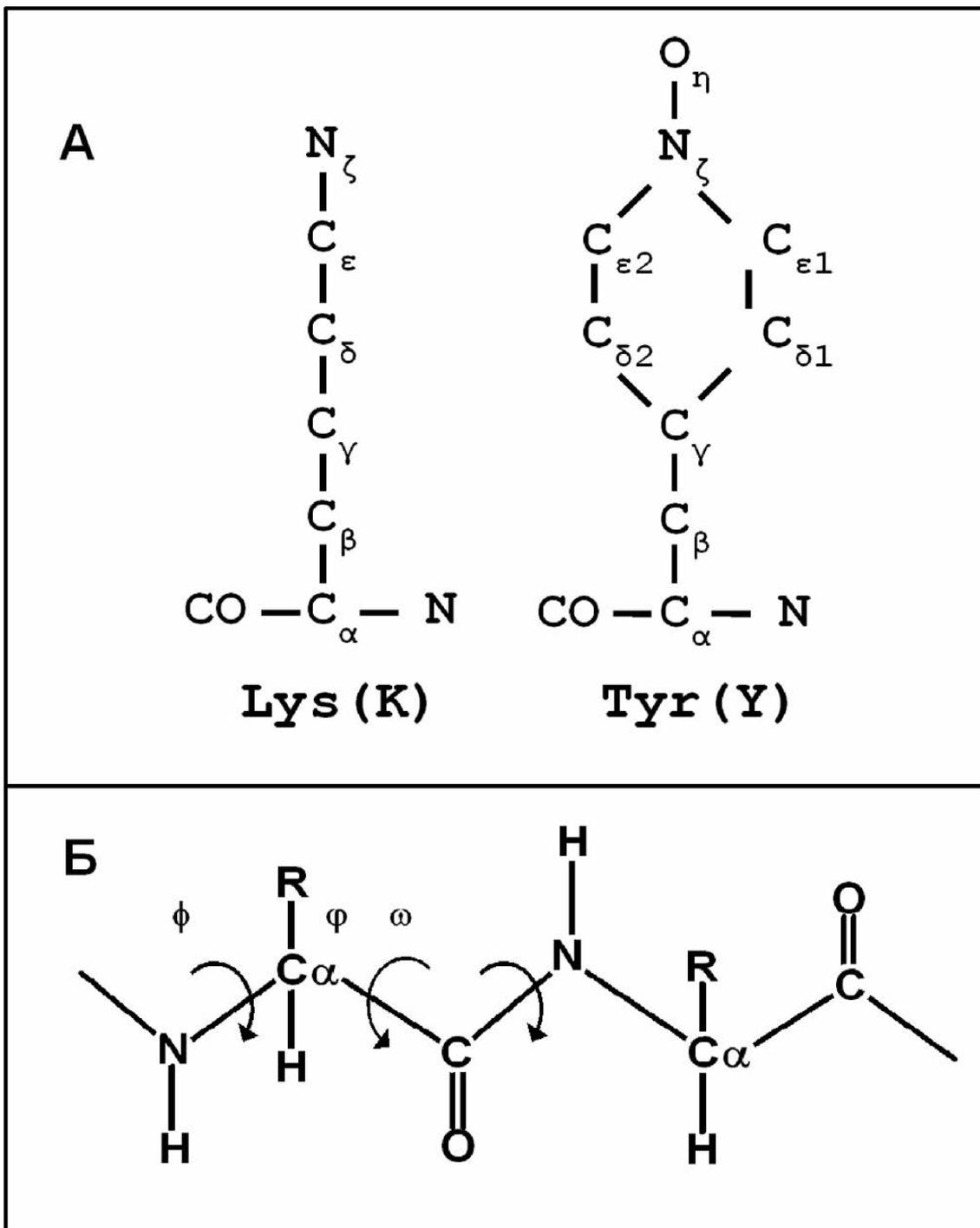


Рисунок 4.

Схема обозначения (А) позиций атомов в структуре боковой цепи аминокислот на примере лизина и тирозина (водородные атомы не показаны) и схема обозначения (Б) торсионных углов основной цепи белка.

2. АМИНОКИСЛОТЫ.

2.1. Систематика аминокислот.

Аминокислоты различаются как по строению, так и по своим физико-химическим свойствам. Поэтому различные аминокислоты играют разную роль в формировании конформации белков. В соответствии с этим аминокислоты могут быть систематизированы по группам.

1) Гидрофобные алифатические аминокислоты (табл. 3А).

В данную группу входят 4 аминокислоты: аланин (**A**), валин (**V**), лейцин (**L**) и изолейцин (**I**). Боковые цепи этих аминокислот представлены метиловыми или метиленовыми группами. Как правило, данные аминокислотные остатки располагаются внутри белковой глобулы, так как по своей природе они являются гидрофобными и их контакт с водой крайне не выгоден с энергетической точки зрения. Боковые цепи этих аминокислот (за исключением аланина) имеют разветвление, а в случае валина и изолейцина разветвление находится близко к основной белковой цепи, что стерически ограничивает её конформационную подвижность.

2) Гидрофобные ароматические аминокислоты (табл. 3Б).

Данная группа состоит из 3 аминокислот: фенилаланин (**F**), тирозин (**Y**) и триптофан (**W**). Среди них только остаток фенилаланина является полностью неполярным, в то время как у тирозина фенольное кольцо содержит в качестве заместителя ОН группу, а триптофан имеет в индольном кольце атом азота. Остатки данных аминокислот также в большинстве случаев обнаруживаются в гидрофобном ядре белковой глобулы, так как они преимущественно неполярны. В тоже время, полярные атомы тирозина и триптофана могут участвовать в образовании водородных связей с другими аминокислотными остатками и даже с молекулами растворителя (воды).

3) Нейтральные полярные аминокислоты (табл. 3В).

Группа состоит из 6 аминокислот: серин (**S**), треонин (**T**), цистеин (**C**), метионин (**M**), аспарагин (**N**) и глутамин (**Q**). Данные аминокислоты имеют небольшие алифатические боковые цепи с полярными группами. Гидроксильные группы серина и треонина могут образовывать водородные связи с основной цепью, что может влиять на локальную конформацию полипептидной цепи. Аспарагин и глутамин содержат в боковых цепях амидные группы, которые обычно участвуют в водородном взаимодействии.

4) Кислые аминокислоты (табл. 3Г).

К ним относятся всего 2 аминокислоты: аспарагиновая (**D**) и глутаминовая (**E**) кислоты, которые часто еще называются аспартат и глутамат. Так как при физиологических значениях рН карбоксильные группы боковых цепей этих аминокислот находятся в диссоциированном состоянии, то их остатки в белке несут отрицательный заряд. Эти аминокислоты являются сильно полярными по своей природе и часто обнаруживаются на поверхности белка, где они могут взаимодействовать преимущественно с молекулами растворителя. Они также принимают участие в электростатических взаимодействиях с положительно заряженными аминокислотными остатками и ионами металлов.

5) Щелочные аминокислоты (табл. 3Д).

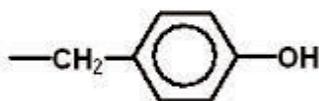
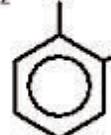
Группа состоит из 3 аминокислот: гистидин (**H**), лизин (**K**) и аргинин (**R**). Гистидин имеет рКа около 6 и следовательно остается нейтральным при физиологических значениях рН и может выступать очень эффективным кислотно-щелочным катализатором. Лизин и аргинин - более щелочные и положительно заряжены при физиологических рН, а также, как правило, сольватированы. В ряде случаев они встречаются внутри белка, где вовлекаются в электростатические взаимодействия с отрицательно заряженными аспартатом и глутаматом.

Таблица 3. Структуры боковых цепей аминокислот.

(А) Гидрофобные алифатические аминокислоты (структуры боковых цепей).

Аланин (А)	Валин (V)	Лейцин (L)	Изолейцин (I)
$-\text{CH}_3$	$\begin{array}{c} -\text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} -\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} -\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$

(Б) Гидрофобные ароматические аминокислоты (структуры боковых цепей).

Фенилаланин (F)	Тирозин (Y)	Триптофан (W)
$-\text{CH}_2-$ 	$-\text{CH}_2-$ 	$-\text{CH}_2-\text{C}-\text{CH}$  NH

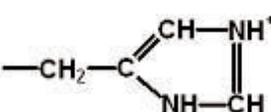
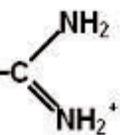
(В) Нейтральные полярные аминокислоты (структуры боковых цепей).

Серин (S)	Треонин (T)	Цистеин (C)
$-\text{CH}_2-\text{OH}$	$\begin{array}{c} -\text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{OH} \end{array}$	$-\text{CH}_2-\text{SH}$
Метионин (M)	Аспарагин (N)	Глутамин (Q)
$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_2-\text{C}-\text{NH}_2$ O	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}-\text{NH}_2$ O

(Г) Кислые аминокислоты (структуры боковых цепей).

Аспарагиновая к-та (Аспаргат) (D)	Глутаминовая к-та (Глутамат) (E)
$-\text{CH}_2-\text{COOH}$	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$

(Д) Щелочные аминокислоты (структуры боковых цепей).

Гистидин (H)	Лизин (K)
$-\text{CH}_2-\text{C}$ 	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_3^+$
Аргинин (R)	
$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}$ 	

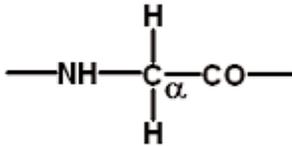
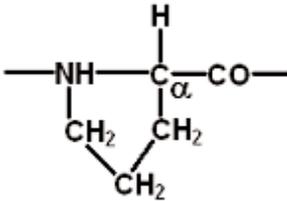
ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ КОНФОРМАЦИОННОГО РАЗНООБРАЗИЯ БЕЛКОВ

б) Конформационно важные аминокислоты (табл. 4).

Группа представлена 2 аминокислотами: глицин (**G**) и пролин (**P**). Эти аминокислоты уникальны по своему строению и представляют собой крайние противоположности по влиянию на конформацию полипептидной цепи. У остатка глицина полностью отсутствует боковая цепь (**R = H**), что позволяет основной белковой цепи иметь в этом месте максимальную подвижность и принимать такие конформации, которые для других аминокислот стерически невозможны. Глицин часто встречается в элементах вторичной структуры, называемых “поворотами”, где полипептидная цепь делает крутой поворот на 180 градусов.

Прямой противоположностью является пролин, имеющий максимальные конформационные ограничения из-за боковой цепи, имеющей дополнительную связь с азотом основной цепи.

Таблица 4. Конформационно-важные аминокислоты (показаны полные структуры аминокислотных остатков).

Глицин (G)	Пролин (P)
	

2.2. Свойства аминокислот.

2.2.1. Размер.

Плотность упаковки внутренней части белковой глобулы сравнима с плотностью твёрдых органических веществ. Эта упаковка возникает в результате пространственного сворачивания (фолдинга) полипептидной цепи и обусловлена геометрической комплиментарностью контактирующих поверхностей Ван-дер-Ваальса аминокислотных остатков. Такая плотно подогнанная упаковка обуславливает жесткость всей белковой структуры. Поэтому, если произойдет мутация с заменой аминокислоты с маленькой боковой цепью на большую, возникнет по крайней мере локальное нарушение конформации белка, так как без изменения конформации больший по размеру аминокислотный остаток не сможет разместиться в области мутации. С другой стороны, возникновение пустоты в структуре белка также энергетически невыгодно. Поэтому замена большого аминокислотного остатка на маленький также приведет к дестабилизации конформации белка (хотя в этом случае возможны исключения, так как возникшая полость может быть заполнена молекулами воды, что зависит от природы выступающих её групп). Таким образом, размеры аминокислот (в первую очередь их объем и площадь поверхности) играют крайне важную роль в формировании белковой конформации. В таблице 5 приведены соответствующие физические свойства аминокислот. Минимальный объем имеет молекула глицина (**G**) (60 \AA^3), который всего-лишь в 2 раза больше объема молекулы воды (30 \AA^3). Максимальный объем у триптофана (**W**) - около 228 \AA^3 .

2.2.2. Заряд.

Как было отмечено выше, при физиологических условиях 2 аминокислоты (аспарагиновая (**D**) и глутаминовая (**E**) кислоты) имеют по одному отрицательному заряду, а 2 аминокислоты (лизин (**K**) и аргинин (**R**)) - по одному положительному заряду. Гистидин (**H**) в зависимости от локального окружения может быть положительно заряженным или нейтральным. Значения pK_a некоторых аминокислот приведены в таблице 5.

Таблица 5. Физические свойства аминокислот (молекулярный вес, объём, площадь, рКа и гидрофобность).

№	Наименование	Мол. вес	Объём (Å ³)	Площадь (Å ²)	рКа	Гидрофобность*
1.	Ala (A)	89,09	88,6	115	-	0,616
2.	Cys (C)	121,16	108,5	135	9,1- 9,5	0,680
3.	Asp (D)	133,10	111,1	150	4,5	0,028
4.	Glu (E)	147,13	138,4	190	4,6	0,043
5.	Phe (F)	165,19	189,9	210	-	1,00
6.	Gly (G)	75,07	60,1	75	-	0,501
7.	His (H)	155,16	153,2	195	6,2	0,165
8.	Ile (I)	131,18	166,7	175	-	0,943
9.	Lys (K)	146,19	168,6	20	10,4	0,283
10.	Leu (L)	131,18	166,7	170	-	0,943
11.	Met (M)	149,21	162,9	185	-	0,738
12.	Asn (N)	132,12	114,1	160	-	0,236
13.	Pro (P)	115,13	112,7	145	-	0,711
14.	Gln (Q)	146,15	143,8	180	-	0,251
15.	Arg (R)	174,20	173,4	225	~ 12	0,000
16.	Ser (S)	105,09	89,0	115	-	0,359
17.	Thr (T)	119,12	116,1	140	-	0,450
18.	Val (V)	117,15	140,0	155	-	0,825
19.	Trp (W)	204,23	227,8	255	-	0,878
20.	Tyr (Y)	181,19	193,6	230	9,7	0,880

Примечание. * - Относительный параметр гидрофобности аминокислот - за 0 принята гидрофобность аргинина, за 1 - гидрофобность фенилаланина.

Между противоположно заряженными аминокислотами происходит электростатическое взаимодействие, описываемое законом Кулона. Как известно данное взаимодействие обратно пропорционально расстоянию, и, соответственно, возрастает на коротких расстояниях. В случае контакта противоположно заряженных аминокислот между ними возникает специфический тип взаимодействия - образование так называемых "солевых мостиков" (называемых также "ионными парами"). Название указывает на то, что данное явление сходно образованию нейтральных молекул солей из катионов и анионов. Это явление играет большую роль в формировании и стабилизации белковой конформации. Статистика по анализу различных белковых структур показывает, что данный тип взаимодействия наблюдается довольно часто - примерно 1 ионная пара на 30 аминокислотных остатков.

Суммарный баланс зарядов в молекуле белка определяет её общий заряд. При изменении рН среды происходит титрование различных групп, что приводит к их ионизации (или наоборот). В результате баланс зарядов меняется и общий заряд молекулы может принимать как отрицательные, так и положительные значения. Значение рН, при котором общий заряд равен нулю, называется изоэлектрической точкой белка и обозначается как **pI**. Заряд белка также играет определённую роль в стабилизации его конформации. Как правило, белок наиболее стабилен когда его общий заряд близок к нулю, то есть в районе изоэлектрической точки.

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ КОНФОРМАЦИОННОГО РАЗНООБРАЗИЯ БЕЛКОВ

2.2.3. Полярность.

Заряженные и нейтральные полярные боковые цепи аминокислот могут участвовать в образовании водородных связей как друг с другом, так и с полярными атомами основной цепи, а также с молекулами растворителя (водой). На рисунке 5 показаны примеры возможных доноров и акцепторов водородных связей в белках. Статистика белковых структур показывает, что как правило более 90% этих групп в белке участвует в водородном взаимодействии. Рассмотрим эти группы у конкретных аминокислот.

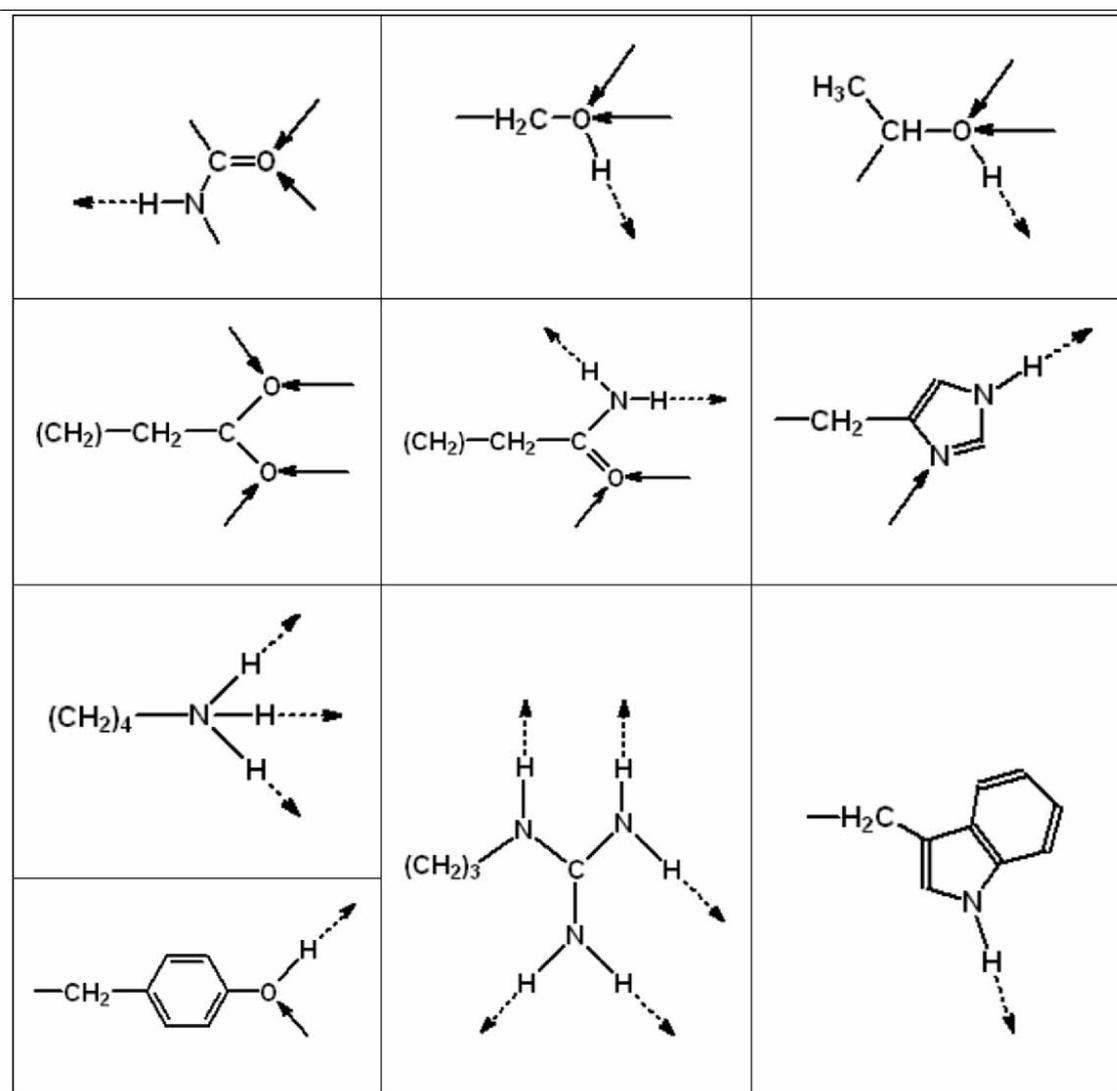


Рисунок 5.

Доноры и акцепторы водородных связей в белках. Возможные направления водородных связей: для доноров - пунктирные стрелки; для акцепторов - сплошные стрелки.

Серин (S) и триптофан (T) имеют гидроксильные группы в sp^3 -гибридизации и могут выступать в качестве доноров в одной водородной связи или в качестве акцепторов в двух водородных связях. Тирозин (Y) имеет гидроксильную группу в sp^2 -гибридизации, которая может быть донором в одной водородной связи и акцептором в другой. Аспарагиновая (D) и глутаминовая кислоты (E) имеют по два sp^2 -гибридизированных карбоксильных кислорода и каждый из них может

акцептировать водород в двух водородных связях. Аспарагин (**N**) и глутамин (**Q**) имеют карбонильный кислород, который может выступать в качестве акцептора в двух водородных связях. Гистидин (**H**) имеет два имидазольных азота, каждый из которых или оба сразу могут быть протонированы. Каждый из этих атомов азота может выступать в качестве акцептора в одной водородной связи, если он не протонирован, или в качестве донора в одной водородной связи, если протонирован. Аргинин (**R**) имеет гуанидиновую группу, которая обычно протонирована и имеет планарную структуру - атом углерода находится в sp^2 -гибридизации. Каждая из двух $-NH_2$ групп может быть донором двух водородов и $-NH$ группа - донором одного водорода. Лизин (**K**) может быть донором трёх водородов - атом азота находится в sp^3 -гибридизации. Триптофан (**W**) может быть донором в одной водородной связи - атом азота находится в sp^2 -гибридизации.

Таким образом, водородное взаимодействие играет большую роль в стабилизации пространственной структуры белка.

2.2.4. Гидрофобность.

Алифатические боковые цепи аланина (**A**), валина (**V**), лейцина (**L**) и изолейцина (**I**), а также глицин (**G**) не содержат полярных атомов и поэтому более предпочтительно взаимодействуют с другими неполярными группами, чем с водой. Общее свойство глобулярных белков состоит в том, что такие гидрофобные остатки обнаруживаются внутри белковой глобулы, в то время как полярные остатки встречаются на поверхности. В этом плане фолдинг белка сравним с формированием липидных мицелл в водном растворе - белковая цепь сворачивается таким образом, что неполярные группы размещаются в глубине белковой глобулы, а полярные располагаются на поверхности. Однако заметим, что данный порядок не применим в чистом виде для сворачивания полипептидной цепи, так как все аминокислотные остатки имеют полярные атомы в составе основной цепи (азот и карбонильный кислород) и частое их участие в образовании водородных связей является основой формирования более высоких порядков структурной организации. С другой стороны, ряд заряженных и нейтральных полярных боковых цепей имеют значительные неполярные области. Однако несмотря на эти моменты, гидрофобность является очень важным фактором, определяющим стабильность белка. Действительно, "гидрофобный эффект" играет фундаментальную роль в спонтанном фолдинге белков.

Пролин (**P**) также является алифатическим, однако его расположение в белках часто обусловлено его специфическими конформационными свойствами.

Не только алифатические цепи являются гидрофобными, боковая цепь серосодержащего метионина (**M**) имеет дипольный момент, что также является неполярным свойством. Дисульфидные связи, формируемые остатками цистеина (**C**) также имеют неполярные области. Боковая цепь фенилаланина (**F**) - сильно гидрофобна, хотя его делокализованная π -электронная система и может участвовать в слабом электростатическом взаимодействии. Триптофан (**W**) имеет наибольшую боковую цепь, поверхность которой в основном гидрофобна, за исключением полярного атома азота. Точно также боковая цепь тирозина (**Y**) имеет частично гидрофобные свойства.

Таким образом, гидрофобность аминокислот представляет собой непростой вопрос. Однако существуют некоторые средние оценки - в последнем столбике таблицы 5 приведены значения относительной гидрофобности аминокислот. За крайние значения относительной шкалы гидрофобности выбраны 0 для аргинина (**R**) и 1 для фенилаланина (**F**).

2.2.5. Ароматичность.

Как известно из органической химии, делокализованные электроны в ароматических структурах обуславливают возможность слабых электростатических взаимодействий. В белках это выражается в предпочтительном образовании "стеков" ароматических аминокислотных остатков по сравнению с водородным взаимодействием.

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ КОНФОРМАЦИОННОГО РАЗНООБРАЗИЯ БЕЛКОВ

Так как мы здесь рассматриваем физические свойства аминокислот, то уместно также отметить, что только ароматические аминокислоты поглощают в ультрафиолетовой части спектра. В таблице 6 приведены максимумы поглощения и значения молярной экстинкции фенилаланина (F), тирозина (Y) и триптофана (W). Как видно из таблицы, имеются различия в данных свойствах, поэтому конкретные спектры поглощения растворов белков в ультрафиолете зависят от количества и относительного содержания этих аминокислот в белках.

Таблица 6. Спектральные максимумы поглощения и молярная экстинкция ароматических аминокислот.

Ароматическая аминокислота	Максимум поглощения λ_{max} (нм)	Коэффициент молярной экстинкции ($M^{-1}cm^{-1}$)
Фенилаланин (F)	257,4	197
Тирозин (Y)	274,6	1420
Триптофан (W)	279,8	5600

2.2.6. Конформационно необычные боковые цепи.

Как было сказано выше, существует 2 необычных аминокислоты - глицин (G) и пролин (P), составляющие шестую группу классификации аминокислот. Полное отсутствие у глицина и наоборот - наличие значительных стерических ограничений у пролина обуславливают специфическую роль данных аминокислот в формировании вторичных и третичных структур.

3. ПОЛИПЕПТИДНАЯ ЦЕПЬ.

3.1. Пептидная связь.



Историческая справка. Нобелевские лауреаты Лайнус Полинг (Linus Pauling) и Роберт Кори (Robert Corey) в 30-х годах прошлого столетия исследовали геометрию и размеры химических связей в кристаллических структурах небольших молекул, содержащих одну или несколько пептидных связей. Полученные ими результаты приведены в обобщённом виде на рисунке 6. Было обнаружено, что пептидная связь примерно на 10% короче (1,32 Å) обычной C-N связи в органических соединениях (1,47 Å) (рис. 6А). Это обусловлено тем, что за счёт существующего резонанса между двумя каноническими структурами (рис. 6Б) пептидная связь примерно на 40% является двойной. Следствием этого эффекта является планарность пептидной связи (атомы C α (i), C(i), N(i+1) и C α (i+1) всегда находятся примерно в одной плоскости, рис. 6В) и вращение торсионного угла ω заторможено (он может принимать значения только 0 или 180, что соответствует цис (cis) и транс (trans) конфигурациям, соответственно).

На практике пептидная связь почти всегда имеет **trans** конфигурацию (рис. 7А), так как она более предпочтительна по стерическим и энергетическим соображениям. Что касается **cis** конфигурации пептидной связи (рис. 7Б), то она изредка встречается в белках. Это наблюдается в основном у остатков пролина (рис. 7В), так как циклическая природа боковой цепи этой аминокислоты делает обе конфигурации энергетически равными.

Таким образом, жёсткость пептидной связи уменьшает количество степеней свободы полипептидной цепи, что играет большую роль в процессе фолдинга.

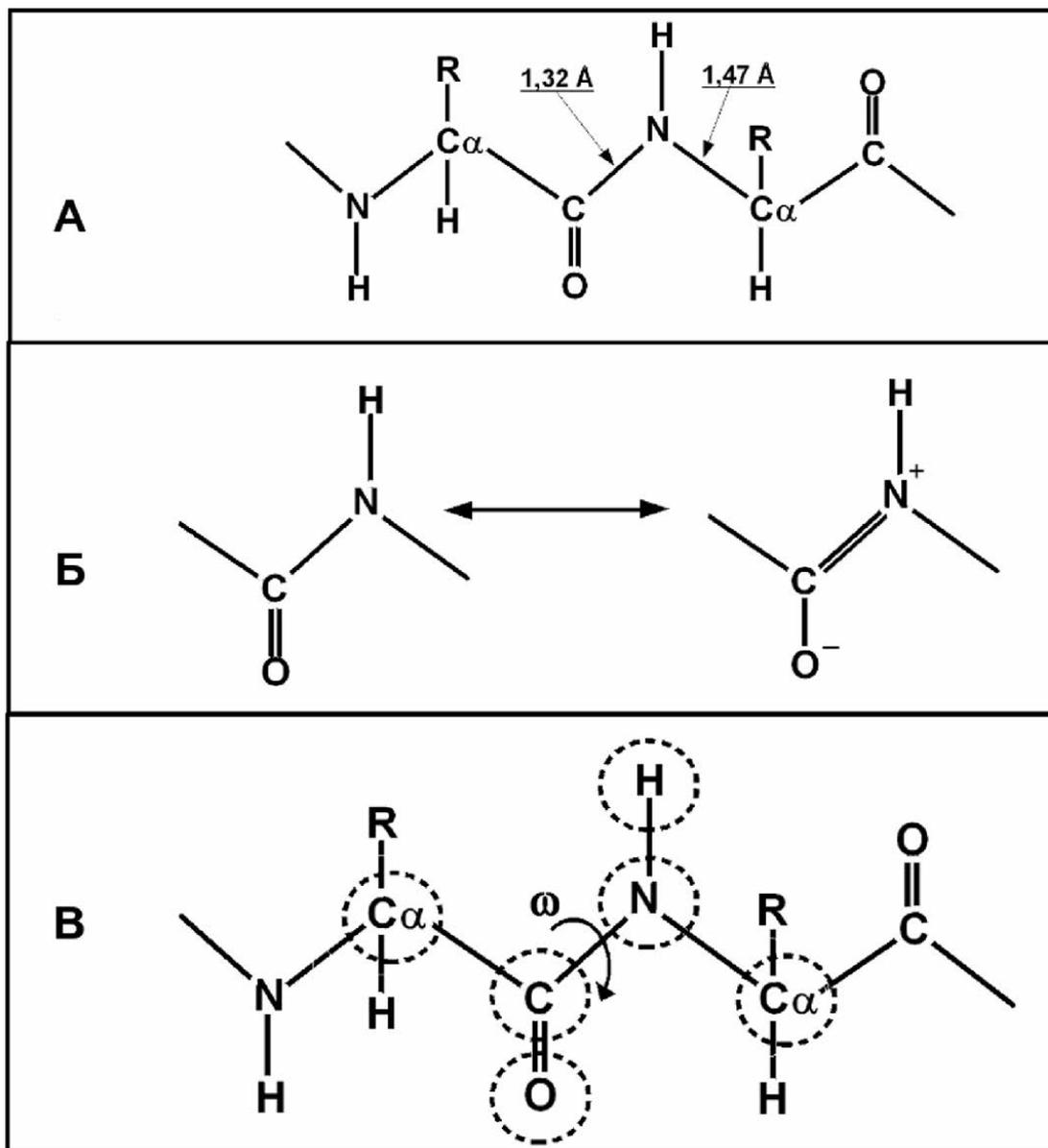


Рисунок 6.

Структура пептидной связи.

А - длина связи; Б - резонанс между двумя каноническими структурами; В - планарность пептидной связи (все атомы, обведенные пунктиром находятся примерно в одной плоскости).

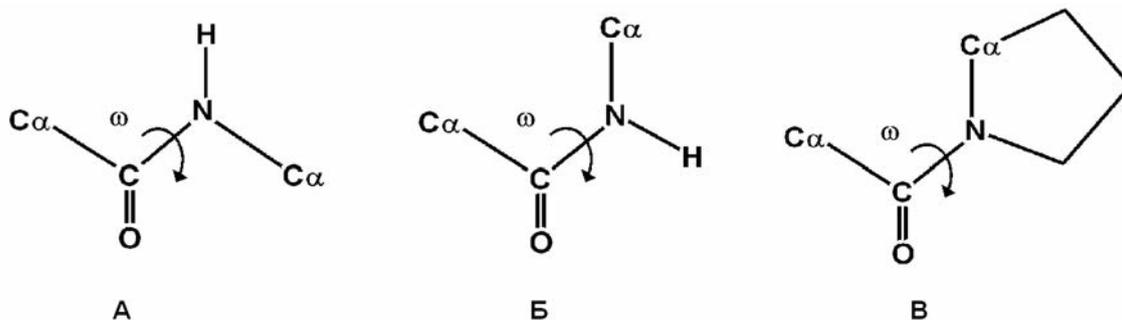


Рисунок 7.

Конфигурации пептидной связи. А - транс конфигурация; Б - цис конфигурация; В - цис конфигурация при участии пролина.

3.2. Торсионные углы пептидной цепи.

Выше мы рассматривали обозначения трех основных торсионных углов полипептидной цепи (ϕ , ψ и ω) (см. рис. 4Б). Вращение торсионного угла ω , соответствующего пептидной связи, мы тоже уже рассмотрели - из-за планарности пептидной связи оно сильно заторможено угол может иметь значения - 180° (**trans** конфигурация, в подавляющем числе случаев) и 0° (**cis** конфигурация, в редких случаях).

Вращение торсионных углов ϕ и ψ свободно и они могут принимать любые значения (теоретически). Именно это обстоятельство обуславливает все существующее разнообразие пространственных структур белков, так как на каждый аминокислотный остаток приходится по 2 степени свободы (исключение - пролин, у которого только 1 степень свободы). На практике в структурах белков часто обнаруживаются локальные ограничения у конкретных участков белковой цепи для вращения торсионных углов ϕ и ψ , обусловленные как стерическими факторами (контакты боковых цепей аминокислот, близко расположенных по последовательности), так и взаимодействиями аминокислотных остатков друг с другом при формировании элементов вторичных структур (взаимодействие аминокислотных остатков, далеко расположенными по последовательности, но сближенными в пространстве).

3.3. Карта Рамачандрана.

Конформацию белковой цепи можно представить в виде набора точек на двумерной диаграмме, где каждая точка будет соответствовать одному аминокислотному остатку в структуре белка, а значения двух торсионных углов ϕ и ψ этого остатка будут выступать в качестве ее координат на плоскости. Такая универсальная диаграмма является довольно удобным средством формального описания и конформационного анализа пространственной структуры белков. Эта диаграмма называется картой Рамачандрана (Ramachandran Plot).



Историческая справка. Индийский учёный Г. Рамачандран (G.N. Ramachandran) в 1963 году использовал компьютерные модели небольших пептидов для систематического анализа возможных стабильных конформаций при варьировании ϕ и ψ углов. Для наглядного отображения результатов автор предложил использовать двумерную диаграмму, где конформация каждого аминокислотного остатка отображается в виде точки с координатами, равными торсионным углам ϕ и ψ . Для каждой конформации структура пептида исследовалась на близкие контакты между атомами. Атомы рассматривались как твердые сферы с радиусами Ван-дер-Ваальса. Таким образом, автор описал предпочтительные области значений торсионных углов для основных типов вторичных структур. На рисунке 8 приведена упрощённая схема расположения таких областей на карте Рамачандрана.

Рассмотрим конформацию полипептидной цепи у наиболее часто встречающихся элементов вторичной структуры белков с использованием карты Рамачандрана для их формального описания.

4. ЭЛЕМЕНТЫ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ.

4.1. Спирали.

Существуют различные варианты спиральных структур в белках. Они могут быть как право-, так и лево-закрученными. Простое правило их распознавания приведено на рисунке 9. Если направить как показано на рисунке большие пальцы рук вдоль оси спирали в направлении от N к C концу белковой цепи, то остальные загнутые пальцы левой и правой руки будут указывать соответствующее направление закручивания спирали.

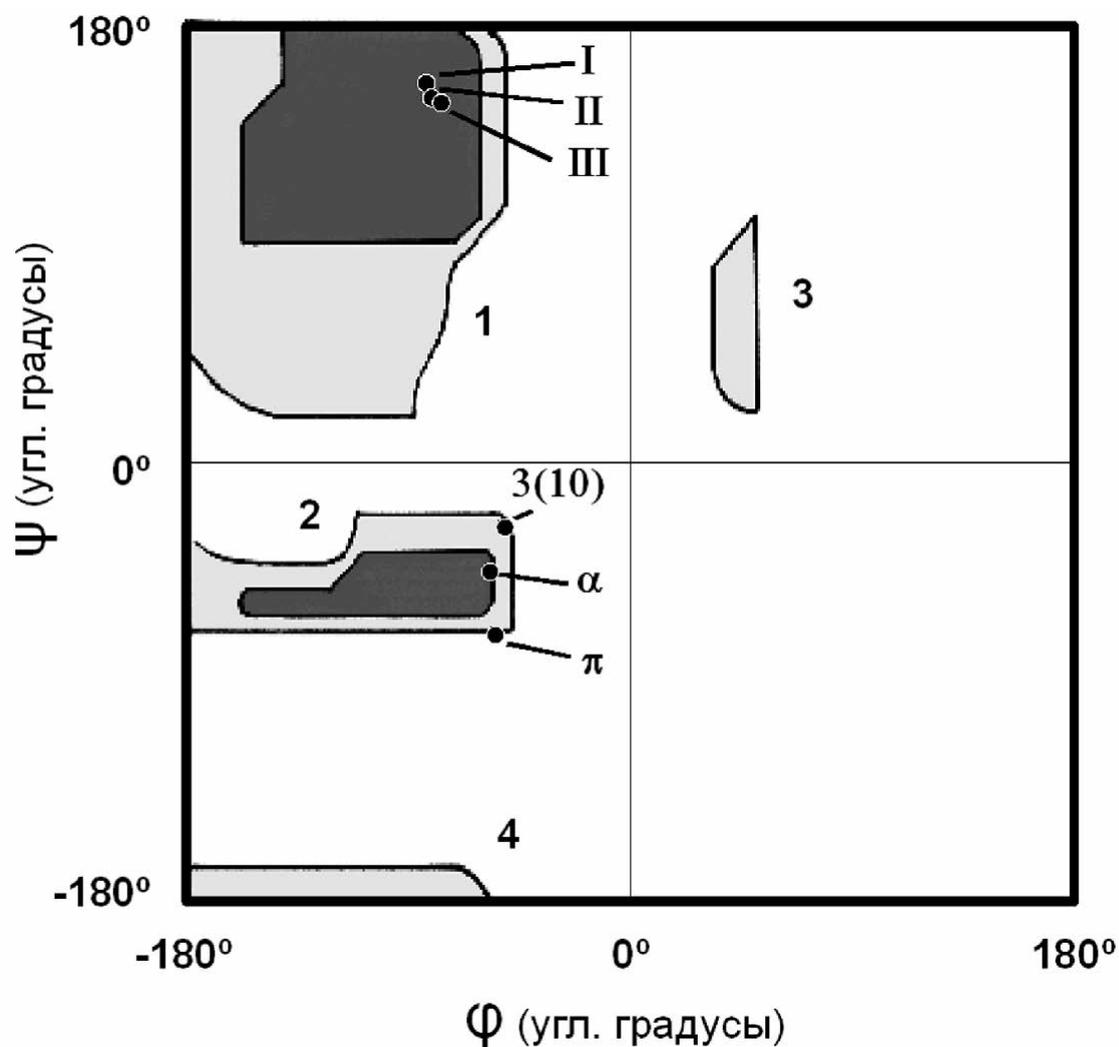


Рисунок 8.

Карта Рамачандрана со схемой расположения областей ряда вторичных структур белков. По осям отложены значения торсионных углов ϕ и ψ . Тёмно-серый цвет обозначает разрешённые области ϕ и ψ углов, светло-серый - условно разрешённые и белый - запрещённые. Основные разрешённые области: 1 - β -структуры; 2 - право-закрученные спирали; 3 - лево-закрученные спирали; 4 - растянутые полипептидные цепи. Точки 3(10), α и π - средние значения для соответствующих типов право-закрученных спиралей. Точки I, II и III - средние значения для соответствующих типов лево-закрученных полипролиновых спиралей.

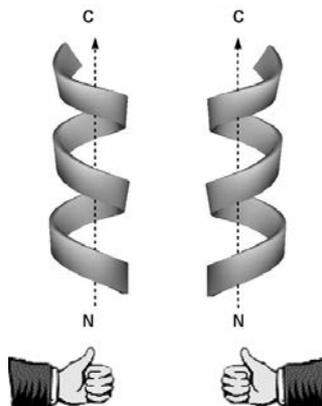


Рисунок 9.

Правило распознавания лево- и право-закрученных спиралей в белках.

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ КОНФОРМАЦИОННОГО РАЗНООБРАЗИЯ БЕЛКОВ

На практике в глобулярных белках чаще встречаются право-закрученные спирали, отличающиеся друг от друга диаметром, длиной витка спирали (число аминокислотных остатков, приходящееся на 1 виток), а также шагом (называется также периодичностью) спирали (смещение вдоль оси спирали в ангстремах, приходящееся на 1 виток). Среди право-закрученных спиралей наиболее часто встречается так называемая **альфа-спираль (α -спираль)**, реже - спираль “три-десять” (обозначаемая как **3(10)** или **3₁₀**) и совсем редко - **пи-спираль (π -спираль)**. Для сравнения на рисунке 10 показаны модели всех трёх вариантов спиралей для полипептидной цепи, состоящей из 12 остатков аланина. Видно, что спираль 3(10) и π -спираль являются как-бы отклонениями в разные стороны от α -спирали: первая - в сторону растягивания и уменьшения диаметра спирали, а вторая - в сторону увеличения диаметра и укорочения длины спирали. Средние значения конформационных параметров спиралей приведены в таблице 7.

Левозакрученные спирали в белках представлены двумя типами полипролиновых спиралей (см. табл. 7), которые встречаются преимущественно в фибриллярных белках (например, в коллагене).

Таблица 7. Средние значения конформационных параметров различных спиралей в белках.

Тип спирали	Торсионные углы			Длина витка (а.к.)	Шаг спирали (Å)	Водородные связи (CO, NH)
	φ	ψ	ω			
α-спираль	-57	-47	180	3,6	5,4	i, i+4
спираль 3(10)	-49	-26	180	3,0	6,0	i, i+3
π-спираль	-57	-70	180	4,4	5,06	i, i+5
Полипролин I	-83	+158	0	3,33	6,33	
Полипролин II	-78	+149	180	3,0	9,36	
Полипролин III	-80	+150	180	3,0	9,3	

4.1.1. Альфа-спираль.



Историческая справка. Нобелевские лауреаты Лайнус Полинг (Linus Pauling) и Роберт Кори (Robert Corey) открыли α -спираль в 1951 г. когда моделировали на основе данных рентгеновской дифракции регулярную конформацию полипептидной цепи фибриллярного белка альфа-кератина. Авторами была построена наиболее простая и элегантная модель в виде право-закрученной спирали, названной ими альфа-спиралью, которая и оказалась верной.

Альфа-спираль является одним из основных элементов вторичной структуры в глобулярных белках (от 32 до 38% всех аминокислотных остатков этих белков входят в состав α -спиралей). Из статистического анализа трёхмерных структур белков в белковом банке данных PDB известно, что средняя длина α -спиралей в белках - 10 аминокислотных остатков, а торсионные углы (φ и ψ) аминокислотных остатков отрицательны по значению и колеблются в диапазоне $-64 \pm 7^\circ$ и $-41 \pm 7^\circ$, соответственно. Эти данные довольно близки значениям углов геометрически идеальной α -спирали: $-57,8^\circ$ и -47° , соответственно. На карте Рамачандрана все указанные значения торсионных углов соответствуют зоне право-закрученных спиралей (эта зона отмечена цифрой 2 на рисунке 8).

Структура α -спирали имеет периодичность (или шаг спирали) равный $5,4 \text{ \AA}$ (рис. 10). На один виток спирали приходится $3,6$ аминокислотного остатка, то есть 10 витков состоят ровно из 36 остатков. Соответственно на один аминокислотный остаток приходится смещение вдоль оси спирали на $1,5 \text{ \AA}$.

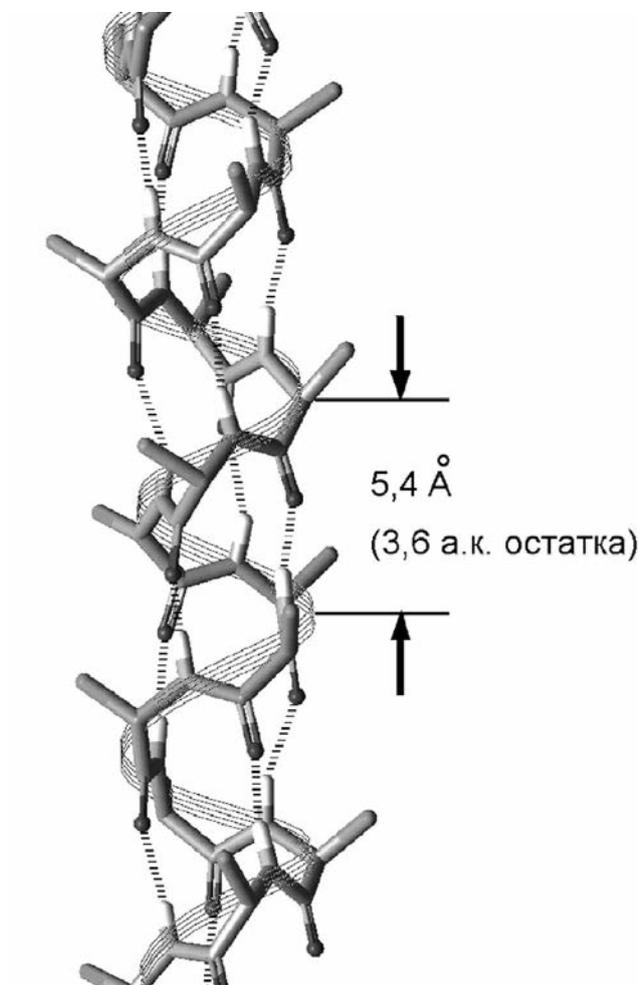


Рисунок 10.

Структура α -спирали. Стрелками показан период (шаг) спирали. Пунктирными линиями показаны водородные связи между группами, стабилизирующие α -спираль.

Структура α -спирали стабилизирована водородными связями, ориентированными примерно параллельно оси спирали (рис. 10). В образование этих водородных связей вовлечены все группы $\text{C}=\text{O}$ и $\text{N}-\text{H}$ основной полипептидной цепи. Геометрия α -спирали обуславливает образование водородных связей между аминокислотными остатками, расположенными в аминокислотной последовательности через 4 остатка. В общем виде это выглядит как взаимодействие атома кислорода $\text{O}(i)$ с атомом азота $\text{N}(i+4)$, где i - номер аминокислоты в последовательности.

Большинство α -спиралей в глобулярных белках имеет изгибы или другие искажения по сравнению с классической моделью Полинга-Кори. Эти искажения могут возникать в результате нескольких факторов:

1) Упаковка α -спирали внутри белковой глобулы. Взаимодействие спиралей с другими элементами вторичной структуры белка при упаковке внутри белковой глобулы часто приводит к отклонениям от их классической структуры.

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ КОНФОРМАЦИОННОГО РАЗНООБРАЗИЯ БЕЛКОВ

2) Наличие в составе α -спирали остатка пролина (P). Пролин вызывает надлом (искривление) оси спирали приблизительно на 20° (рис. 11). Это происходит из-за стерических ограничений, обусловленных циклической структурой пролина, не позволяющей сформировать правильную регулярную α -спираль. Атом азота в остатке пролина не может участвовать в образовании водородной связи, и более того, вносимые пролином искажения в структуру спирали препятствуют формированию водородной связи с атомом азота следующего остатка. Таким образом, в месте расположения пролина происходит выпадение двух водородных связей, стабилизирующих структуру α -спирали.

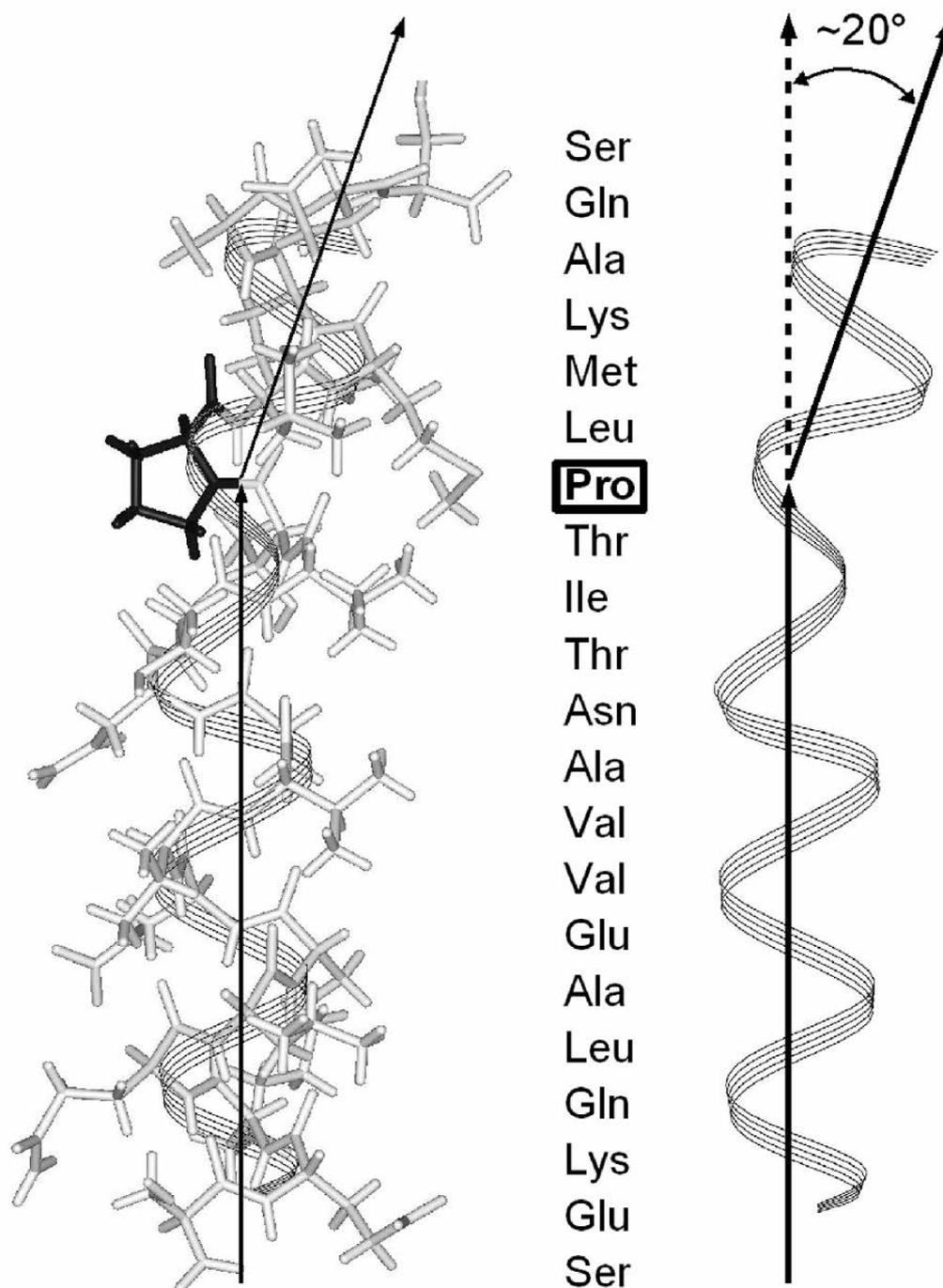


Рисунок 11.

Искривление оси α -спирали в районе остатка пролина.

3) Несимметричное взаимодействие α -спирали с водой. Если α -спираль находится на поверхности белковой глобулы и её ось ориентирована параллельно поверхности глобулы (спираль “лежит плашмя”), то она контактирует только одним своим боком с растворителем (водой). Это приводит к разрыву стабилизирующих водородных связей между группами C=O и N-H белковой цепи и образованию водородных связей с молекулами воды, что является энергетически более выгодным. В результате ось спирали выгибается в сторону водной фазы (рис. 12).

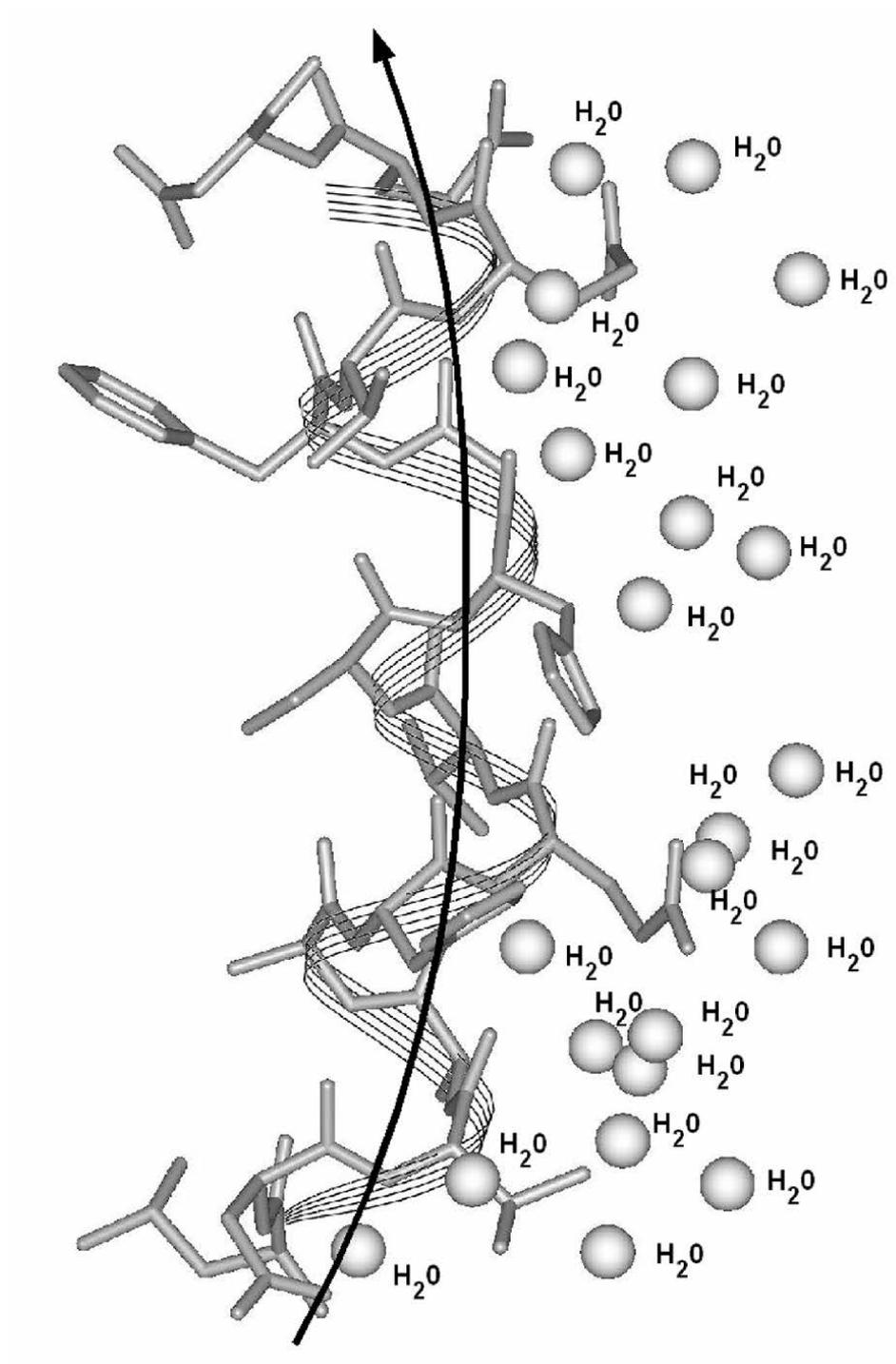


Рисунок 12.

Изгиб оси α -спирали, расположенной плашмя на поверхности белковой глобулы.

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ КОНФОРМАЦИОННОГО РАЗНООБРАЗИЯ БЕЛКОВ

4.1.2. Спираль 3(10).

Встречающиеся в белках спирали 3(10) всегда короткие и чаще всего обнаруживаются на концах регулярных α -спиралей. Поэтому их иногда рассматривают не как самостоятельный вид, а как своеобразное искажение α -спирали.

Название спирали “3(10)” происходит из ее структуры - полный виток спирали образован ровно 3 аминокислотными остатками и каждая водородная связь замыкает белковую цепь в кольцевую структуру из 10 атомов (включая атом водорода) (рис. 13).

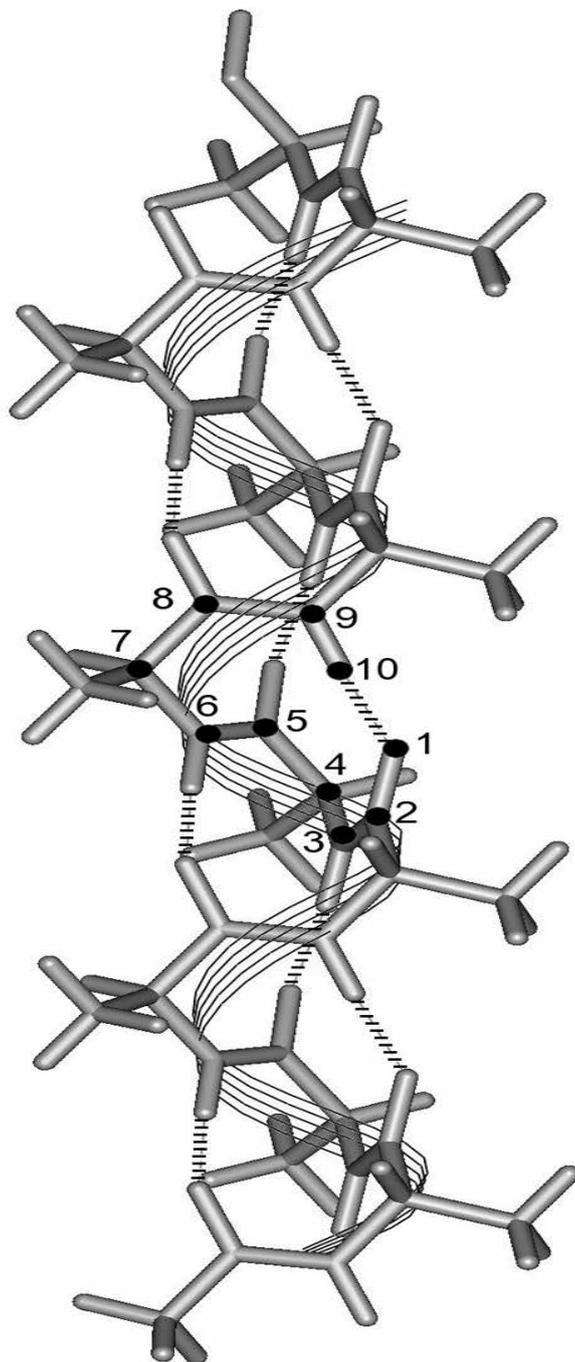


Рисунок 13.

Модель спирали 3(10). Чёрными кружками и номерами помечены 10 атомов, замкнутых в кольцо одной водородной связью (между 1 и 10 атомами). Пунктирными линиями показаны водородные связи.

Если применить данный принцип номенклатуры к α -спирали, то её обозначение будет выглядеть как “3,6(13)”.

Структура спирали 3(10) также стабилизирована водородными связями между группами C=O и N-H основной полипептидной цепи. Однако в отличие от α -спирали водородные связи в спирали 3(10) образованы между аминокислотными остатками, расположенными по последовательности через 3 остатка. Соответственно в общем виде это выглядит как взаимодействие атома кислорода O(i) с атомом азота N(i+3), где i - номер аминокислоты в последовательности.

Значения торсионных углов ϕ и ψ геометрически идеальной спирали 3(10) соответствуют -49° и -26° , соответственно. На карте Рамачандрана указанные значения торсионных углов также соответствуют зоне право-закрученных спиралей (цифра 2 на рис. 8).

4.1.3. Пи-спираль.

Это ещё один редкий вариант спиральной структуры в белках. Её геометрия основана на образовании водородных связей между аминокислотными остатками, разделёнными друг от друга 5 другими остатками в белковой последовательности. В общем виде это выглядит как взаимодействие атома кислорода O(i) с атомом азота N(i+5), где i - номер аминокислоты в последовательности (рис. 14). Первоначально исследователи считали, что данный вид спирали в природе не встречается, однако позже π -спирали были открыты в белках.

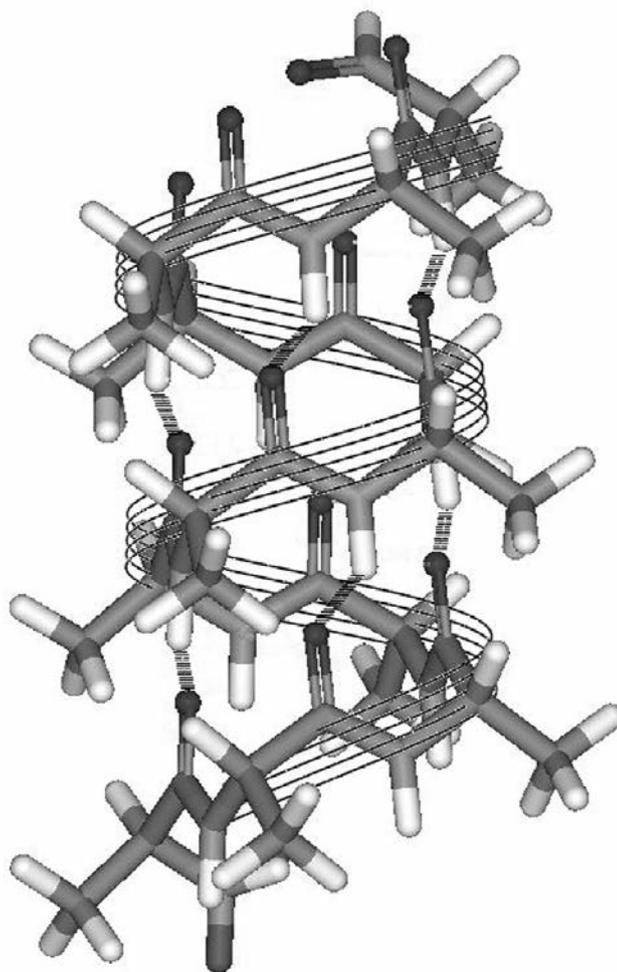


Рисунок 14.

Модель π -спирали. Пунктирными линиями показаны водородные связи между группами CO(i) и NH(i+5), стабилизирующие спираль. Пунктирными линиями показаны водородные связи.

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ КОНФОРМАЦИОННОГО РАЗНООБРАЗИЯ БЕЛКОВ

Примером может служить растительный белок - соевая липоксигеназа (pdb файл 2SBL). Он содержит спиральную структуру из 43 а.к. остатков, в которой есть участки, играющие важную роль в функции фермента и его стабильности и проходящие через центр молекулы. Три витка увеличенной в диаметре спирали (на 1 виток приходится 4,4 а.к. остатка) и стабилизированных 8 водородными связями типа $(i, i + 5)$, представляют собой настоящую π -спираль (рис. 15).

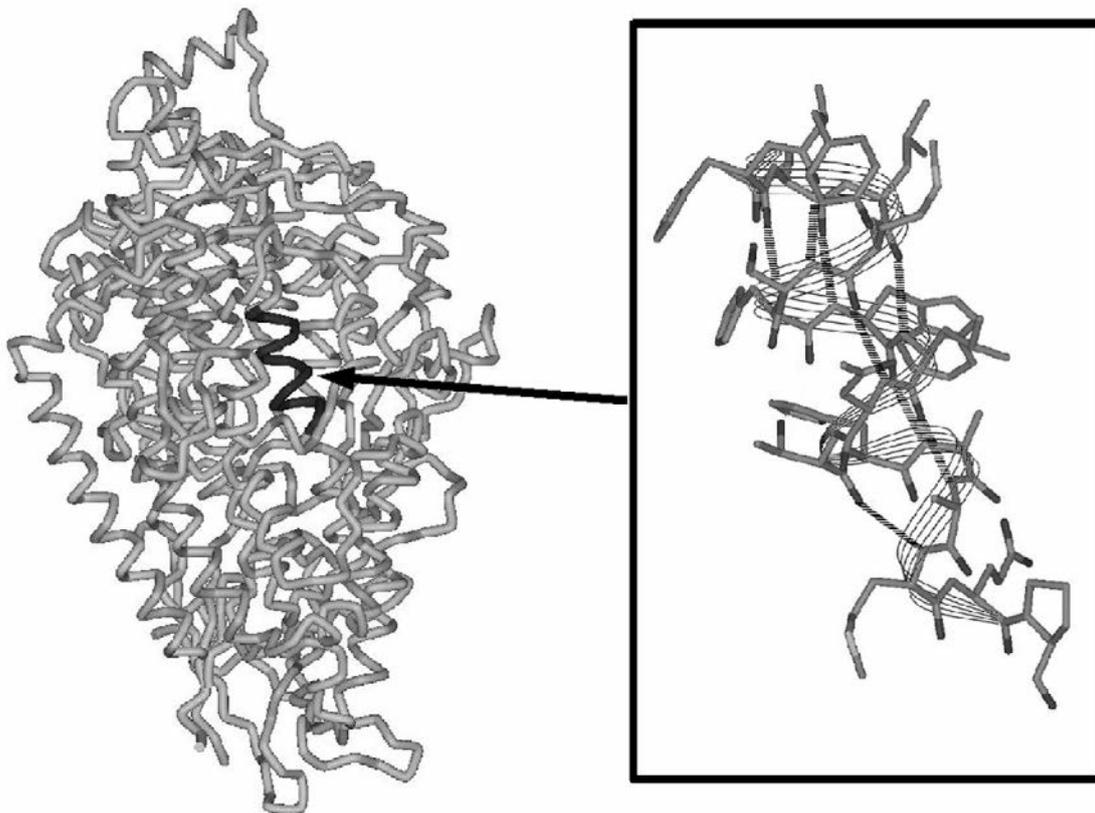


Рисунок 15.

Структура соевой липоксигеназы (pdb файл 2SBL). Аминокислотные остатки 494-506 (отмечены чёрным цветом) формируют 3 витка π -спирали, стабилизированные 8 водородными связями (показаны пунктирными линиями).

Надо отметить, что спирали данного вида крайне редки в белках. Это обусловлено по крайней мере двумя причинами:

1) ϕ/ψ углы π -спирали (-57° , -70°) лежат на краю разрешённой области на карте Рамачандрана (рис. 8);

2) большой радиус π -спирали означает, что атомы основной цепи не формируют контактов Ван-дер-Ваальса поперёк оси спирали, что приводит к образованию пустоты в её центре, которая в тоже время слишком мала для заполнения её водой. Наличие таких пустот (по сути - вакуума) в структуре белковой глобулы крайне не выгодно энергетически.

4.1.4. Полипролиновые спирали.

Различают три типа полипролиновых спиралей. Средние значения конформационных параметров этих спиралей представлены в таблице 7. Можно видеть, что типичные значения торсионных углов ϕ и ψ у всех трёх типов

спиралей близки, но не идентичны. Первый тип полипролиновой спирали (PP-I) принципиально отличается от двух других (PP-II и PP-III), так как представляет собой плотную, право-закрученную спираль, в то время как два других типа - менее плотные лево-закрученные спирали (см. табл. 7).

Более плотная упаковка PP-I по сравнению с PP-II и PP-III обусловлена *cis*-изомеризацией пептидной связи. Ранее в данной лекции при описании свойств пептидной связи мы уже отмечали, что её *cis* изомеры энергетически менее выгодны, поэтому PP-I встречаются значительно реже, чем PP-II и PP-III, у которых пептидные связи находятся в *trans* конформации.

Несмотря на отсутствие внутренних водородных связей полипролиновые спирали являются стабильными и жесткими элементами вторичной структуры белков. Они даже использовались в биофизических исследованиях в качестве "молекулярной линейки" для калибровки расстояний, измеряемых методом FRET (эффект флуоресценции с резонансным переносом энергии).

Взаимопревращения между спиралями PP-II (или PP-III) и PP-I крайне медленны, из-за высокой энергии активации *cis-trans* изомеризации пролина (~20 ккал/моль). В живых системах это взаимодействие как правило катализируется специальными ферментами - пролилизомеразами.

4.2. Бета-структуры (β-структуры).

4.2.1. Геометрия β-листа.



Историческая справка. Уже упоминавшиеся в данной лекции нобелевские лауреаты Лайнус Полинг (Linus Pauling) и Роберт Кори (Robert Corey) создали модель конформации фибриллярных белков, известных как бета-кератины. В них полипептидная цепь формирует не спиральную, а зигзагообразную и более растянутую структуру. Аминокислотные остатки в бета конформации имеют отрицательные Φ углы и положительные Ψ углы. Типичные значения торсионных углов: $\Phi = -140$ и $\Psi = 130$. Область β-структур на карте Рамачандрана (рис. 8) отмечена цифрой 1.

Участок полипептидной цепи, состоящий из аминокислотных остатков в β-конформации, образует так называемый β-тяж (β-strand). Боковые радикалы аминокислотных остатков расположены перпендикулярно основной белковой цепи и направлены в противоположные стороны у соседних остатков (рис. 16А). Расстояние между Cα атомами соседних аминокислотных остатков равно 3,5 Å. Повторяющаяся структурная единица β-тяжа состоит из двух остатков и имеет соответственно протяжённость 7 Å.

Такие тяжи могут взаимодействовать друг с другом с образованием водородных связей между C=O и N-H группами основной белковой цепи и формировать так называемый β-лист (β-sheet). Возможны два варианта взаимодействия β-тяжей в зависимости от направления хода основной белковой цепи с образованием параллельного или антипараллельного β-листа (рис. 16Б). Если во взаимодействии участвует более двух β-тяжей, то уже возможно формирование трёх типов β-листов (рис. 16В): параллельный (все тяжи направлены параллельно), антипараллельный (все соседние тяжи имеют противоположное направление) и смешанный (лист может состоять из различных комбинаций параллельных и антипараллельных участков).

Обычно β-листы часто встречаются в глобулярных белках и содержат не более, чем 6 β-тяжей. Ширина листа, состоящего из 6 тяжей, равна примерно 25 Å.

Статистика по известным структурам белков не выявляет каких-либо преимуществ между параллельными и антипараллельными β-листами, однако отмечает, что параллельные β-листы, состоящие из менее четырех тяжей, встречаются редко, что отражает их низкую стабильность. Статистика также показывает, что смешанные β-листы встречаются гораздо реже, чем чисто параллельные или антипараллельные.

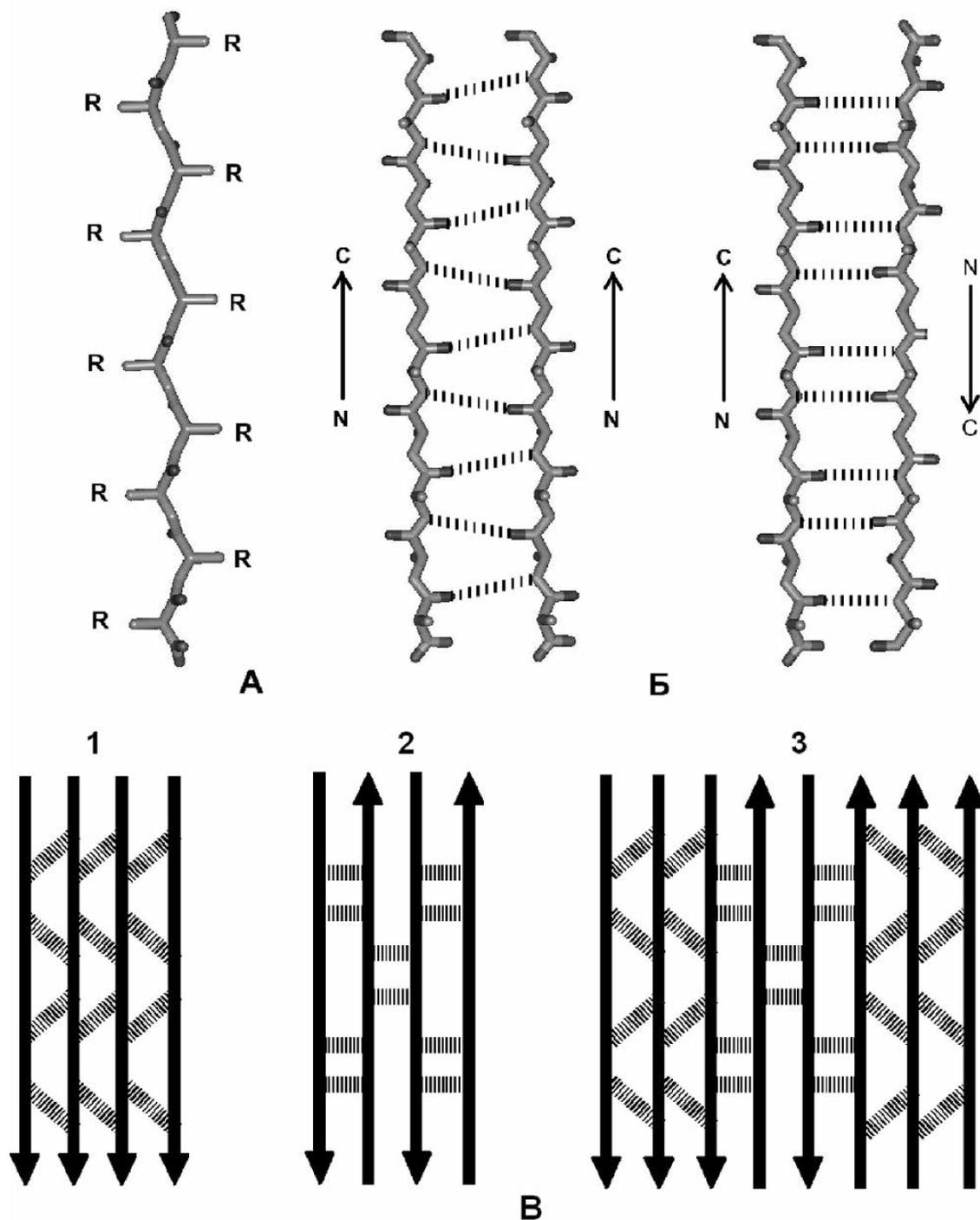


Рисунок 16.

(А) Зигзагообразная структура β -тяжа (R - боковые радикалы аминокислотных остатков).

(Б) Образование параллельного (слева) и антипараллельного (справа) β -листов за счёт водородного взаимодействия соседних β -тяжей.

Водородные связи показаны пунктирными линиями.

(В) Три типа β -листов: параллельный (1), антипараллельный (2) и смешанный (3).

Модель β -листа, построенная Полингом и Кори, была планарной, однако на практике в глобулярных белках β -листы закручены влево. Это обусловлено поворотом вправо каждого аминокислотного остатка в β -тяжах на угол от 0° до 30° , что может дать искривление β -листа до 25° в расчёте на каждый β -тяж (рис. 17А). Во многих белках за счет такого закручивания β -листов формируются цилиндрические структуры - так называемые β -бочонки (рис. 17Б).

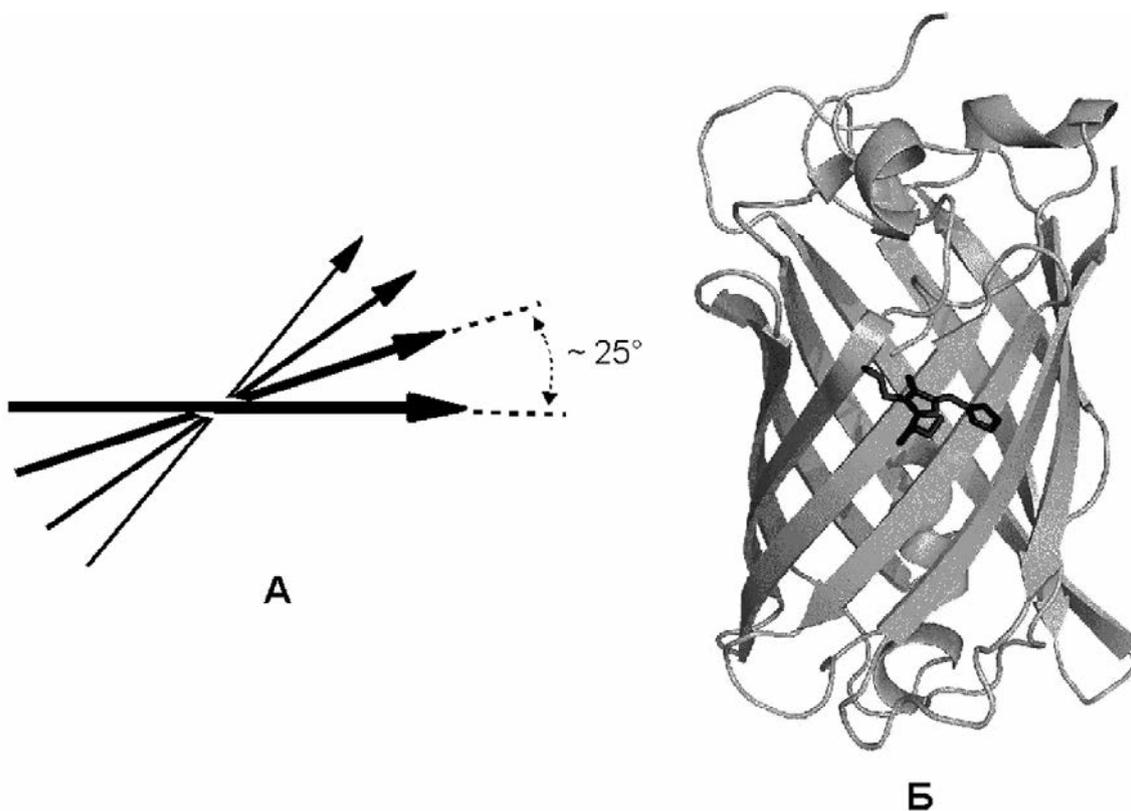


Рисунок 17.

- (А) Искривление β -листа (закручивание влево) может достигать 25° (угол между осями соседних β -тяжей).
 (Б) Голубой флуоресцентный белок (Blue Fluorescent Protein, BFP) (PDB индекс 1BFP) - пример белка с цилиндрической структурой, сформированной закрученным β -листом (так называемый β -бочонок).

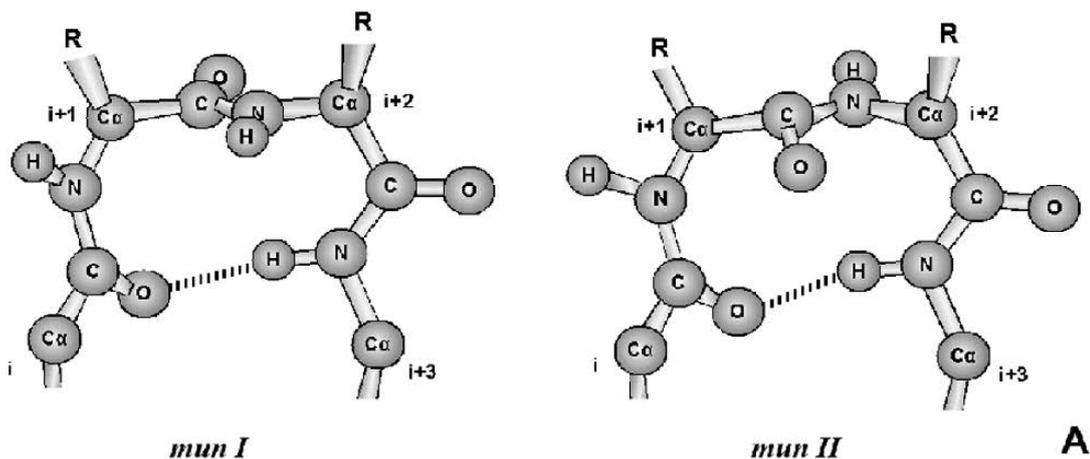
4.3. Обратные повороты.

"Обратными поворотами" (по английски reverse turns) называют структурные элементы в белках, где ход полипептидной цепи изменяет направление на 180° , то есть, делает "поворот". Петлевая структура обратного поворота стабилизирована водородной связью между карбонильным кислородом аминокислотного остатка в начале поворота и N-H группой третьего по ходу цепи остатка (в конце поворота). Это можно записать как $O(i)-N(i+3)$. Такие структуры ещё называют β -поворотами.

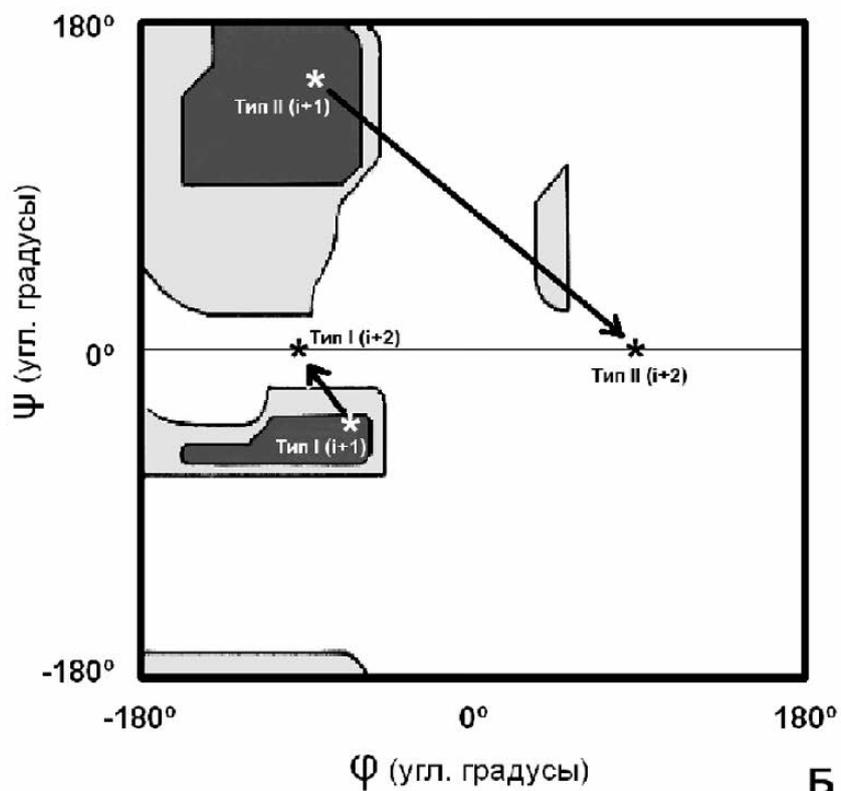
Из теоретических расчетов следует, что всего может существовать три типа β -поворотов. В двух из них (рис. 18А, тип I и II) аминокислотные остатки имеют неповторяющиеся значения ϕ и ψ углов, что позволяет относить данные структуры к неперiodическим. В результате максимально "крутого" изгиба пептидной

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ КОНФОРМАЦИОННОГО РАЗНООБРАЗИЯ БЕЛКОВ

цепи формируется поворот, где $C\alpha$ атомы первого и четвёртого аминокислотного остатка (на рис. 18 обозначены как i и $i+3$) сближены до $\sim 5 \text{ \AA}$. У обоих типов β -поворотов конформация основной цепи с C-конца благоприятна для продолжения в виде антипараллельного β -тяжа. Средние значения торсионных углов в случае поворот типа I равны $\varphi_2 = -60^\circ$, $\psi_2 = -30^\circ$, $\varphi_3 = -90^\circ$, $\psi_3 = 0^\circ$, а типа II - $\varphi_2 = -60^\circ$, $\psi_2 = 120^\circ$, $\varphi_3 = +90^\circ$, $\psi_3 = 0^\circ$; то есть два типа отличаются друг от друга поворотом на 180° центрального аминокислотного остатка.



A



B

Рисунок 18.

(А) Два основных типа β -поворотов.
 (Б) Конформация β -поворотов типа I и II на карте Рамачандрана.

У обоих типов β -поворотов существуют их зеркальные аналоги (по конформации основной цепи), обозначаемые тип I' и тип II' с инверсными значениями Φ и Ψ углов. В случае типов II, II', и I' значения торсионных углов таковы, что для позиций второго и третьего аминокислотных остатков в структуре β -поворота наиболее выгоден остаток глицина. Так например, у типа II карбонильный кислород второго остатка настолько сближен с β -углеродом боковой цепи третьего остатка, что в позиции 3 может быть только глицин (рис. 18Б). У типа II' аналогичные стерические ограничения наблюдаются между C β остатка 2 и NH остатка 3. Эти выводы подтверждаются и статистикой: >60% структур β -поворотов II типа имеют глицин в позиции 3.

Третий тип β -поворотов (тип III) совпадает по структуре с витком спирали 3-10 и имеет повторяющиеся значения торсионных углов Φ и Ψ (-60° и -30° , соответственно). Поэтому довольно часто β -повороты III типа отсутствуют в описании вторичных структур, так как они не соответствуют определению β -поворота как нерегулярной структуры.

Если к β -повороту с двух концов подходят антипараллельные β -тяги, то образуется вторичная структура, называемая бета-шпилькой (по английски β -hairpin). Название данного структурного элемента указывает на его сходство с формой женской шпильки для волос (рис. 19А). Аналогично β -поворотам, β -шпильки бывают типа I или II, а также зеркальные I' и II' (в зависимости от типа β -поворота в их структуре). Из-за стерических ограничений вторым аминокислотным остатком в типе I' и первым остатком в типе II' может быть только глицин (рис. 19Б).

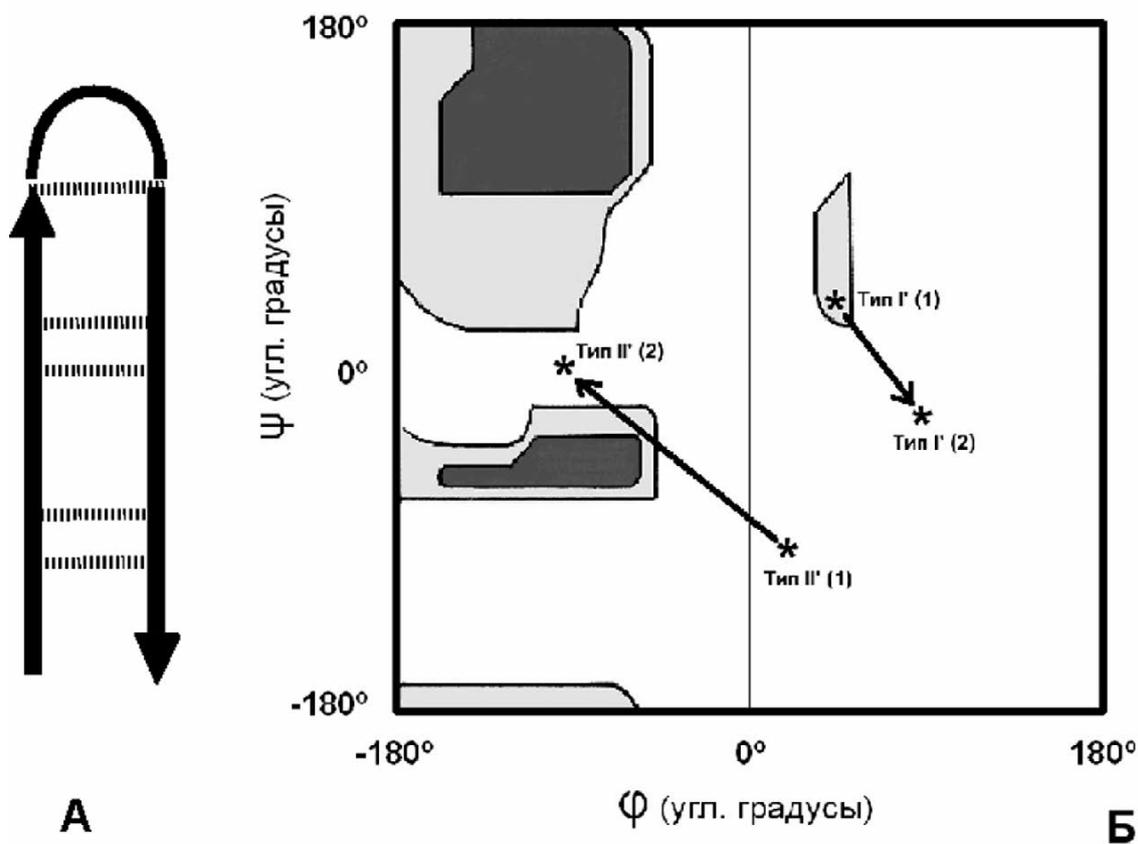


Рисунок 19.

- (А) Схематическое изображение β -шпильки.
 (Б) Конформация β -поворотов типа I' и II' в структуре β -шпилек на карте Рамачандрана.

4.4. Бета-выпуклости.

Бета-выпуклости (по английски β -bulges) представляют собой небольшие участки нерегулярной структуры, которая может встречаться сама по себе в петлевых областях белка (coil regions), но чаще всего обнаруживается в виде нарушения регулярности в антипараллельных β -структурах. Бета-выпуклость определяется как область между двумя последовательными водородными связями β -типа, включающая 2 аминокислотных остатка одного β -тяжа и 1 остаток противоположного β -тяжа. На рисунке 20 показан пример β -выпуклости в молекуле АНЛ-лактоназы (N-acyl-L-homoserine lactone hydrolase). Два остатка в тяже с выпуклостью обозначают как позиция 1 и 2, а один остаток в противоположном тяже - как позиция X. Иногда водородная связь от CO в позиции X является разветвлённой на две группы NH обеих позиций 1 и 2.

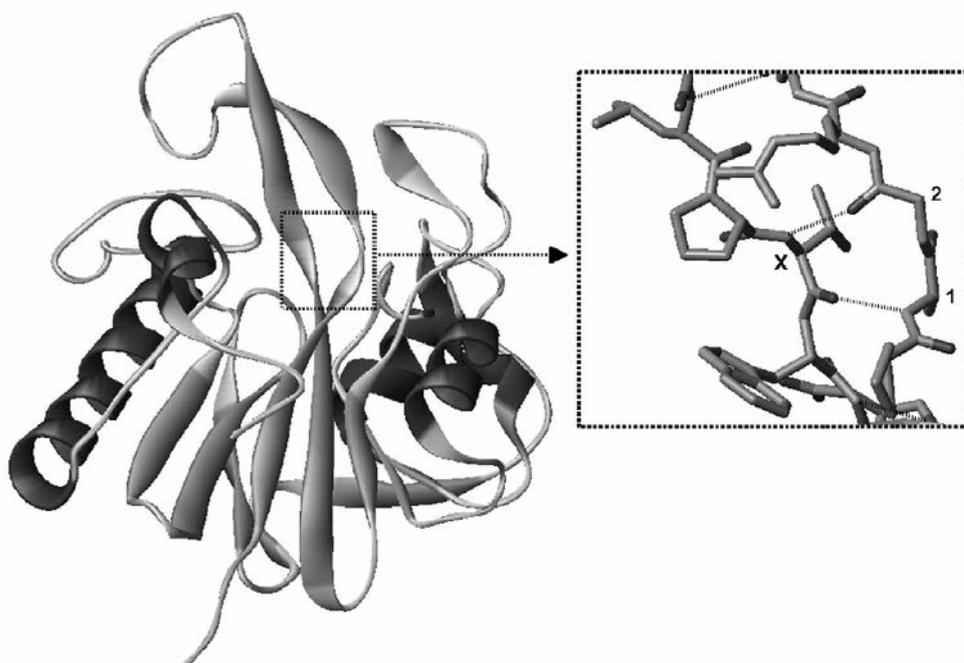


Рисунок 20.

Классическая β -выпуклость в структуре молекулы АНЛ-лактоназы.
 Два остатка в тяже с выпуклостью обозначены как 1 и 2,
 а один остаток в противоположном тяже - как X.

Бета-выпуклости могут быть классифицированы на несколько типов (см. рис. 21). Обычная "классическая" β -выпуклость встречается между сближенными парами водородных связей на антипараллельных тяжах и имеет боковые цепи в позициях 1, 2 и X на одной стороне β -листа (рис. 21А). Остаток 1 находится примерно в α -спиральной конформации (средние значения $\phi_1 = -100^\circ$, $\psi_1 = -45^\circ$) и остатки 2 и X - в нормальной β -конформации (средние $\phi_2 = -140^\circ$, $\psi_2 = 160^\circ$, и $\phi_X = -100^\circ$, $\psi_X = 130^\circ$).

Следующий наиболее общий тип β -выпуклости - это тип G1 (рис. 21Б). Он также лежит между сближенными парами водородных связей и позиция 1, как правило, занята глицином, что обусловлено конформациями $\phi_1 \approx 85^\circ$, $\psi_1 \approx 0^\circ$ и $\phi_2 \approx -90^\circ$, $\psi_2 \approx 150^\circ$. Более 50% выпуклостей G1 обнаруживаются во взаимосвязанных структурах, в которых глицин в позиции 1 выпуклости G1 является одновременно и позицией 3 в β -повороте II типа, где также может быть только глицин. Плоскость β -поворота и его водородная связь как правило перпендикулярна плоскости выпуклости G1.

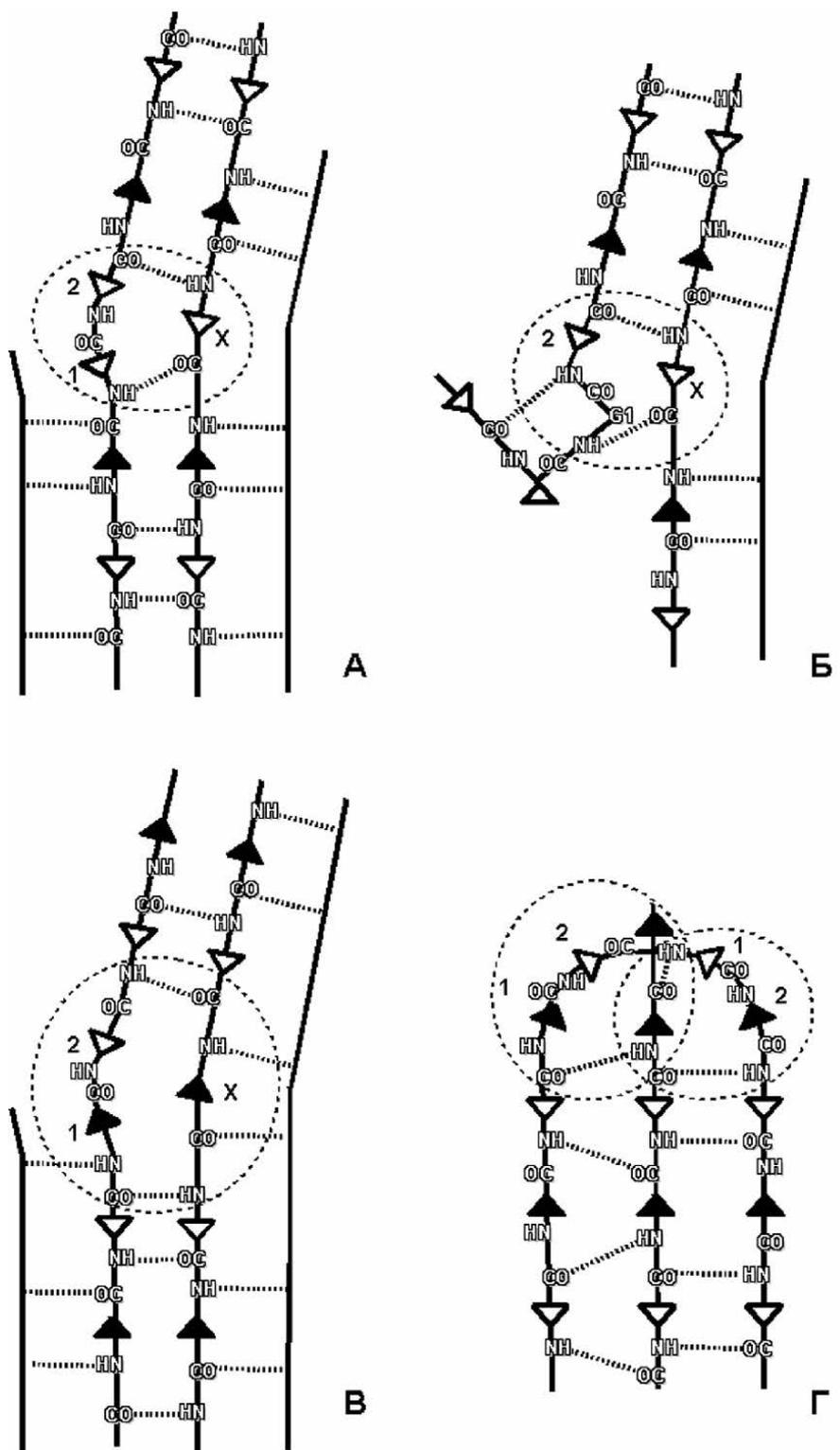


Рисунок 21.

Схематическое представление различных типов β -выпуклостей (обведены на рисунках пунктиром):

- (А) классическая β -выпуклость; (Б) G1 выпуклость с включенным β -поворотом типа II;
 (В) широкая β -выпуклость; (Г) параллельная β -выпуклость слева и Gx выпуклость справа.

Позиции аминокислотных остатков в β -выпуклостях обозначены как 1, 2 и X.

Расположение боковых цепей аминокислот выше и ниже плоскости изображения обозначено белыми и чёрными треугольниками, соответственно.

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ КОНФОРМАЦИОННОГО РАЗНООБРАЗИЯ БЕЛКОВ

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (государственный контракт № 02.740.11.0306).

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. *Buxbaum E.* (2007) *Fundamentals of Protein Structure and Function.* Springer, Portsmouth.
2. *Whitford D.* (2005) *Proteins: structure and function.* John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, England.
3. *Финкельштейн А.В., Птицын О.Б.* (2002) *Физика белка: Курс лекций с цветными и стереоскопическими иллюстрациями,* Книжный дом "Университет", М.
4. *Weaver T.M.* (2000) *The α -helix translates structure into function.* *Protein Science*, **9**, 201–206.
5. *Мусил Я., Новакова О., Кунц К.* (1984) *Современная биохимия в схемах.* "Мир", М.
6. *Шульц Г., Ширмер Р.* (1982) *Принципы структурной организации белков.* "Мир", М.
7. *Richardson J.S.* (1981) *The Anatomy and Taxonomy of Protein Structure.* In: "Advances in protein chemistry", **34**, 167-339.

Поступила: 05. 04. 2010.

BASIC PRINCIPLES OF PROTEIN CONFORMATIONAL DIVERSITY FOR MEDICAL BIOLOGISTS

A.S. Ivanov

V.N. Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry RAMS, ul. Pogodinskaya, 10, Moscow, 119121
Russia, fax +007(495)245 0857; e-mail: alexei.ivanov@ibmc.msk.ru

The major factors defining protein backbone flexibility and conformation diversity are described in the lecture. The main principles of protein conformation analysis are considered. The given lecture is included in theoretical course "The way from gene to drug" for students of Medico-biological faculty of Russian State Medical University and can be recommended also for other students and post-graduate students of medical and biologic specialization.

Key words: lecture, proteins, conformational flexibility, Ramachandran plot, secondary structures.