

Исследование стабильности структурных мотивов типа 3 β -уголок

Руднев В.Р.^{1,2}, Никольский К.С.¹, Петровский Д.В.¹, Куликова Л.И.^{2,3},
Кайшева А.Л.¹, Ефимов А.В.⁴

¹Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича,
Москва, Россия

²Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пуццино, Россия

³Институт математических проблем биологии РАН – филиал ИПМ РАН им. М.В.
Келдыша, Пуццино, Россия

⁴Институт Белка РАН, Пуццино, Россия

v.r.rudnev@gmail.com

Данная работа посвящена исследованию с помощью эксперимента молекулярной динамики стабильности структурных мотивов типа 3 β -уголок автономно вне белковой глобулы в водной среде. В исследовании анализировались параметры: среднеквадратичное отклонение, изменение радиуса гирации, площади, доступной для растворителя, времени жизни мажорного конформера и торсионные углы, число водородных связей. В работе также решалась задача возможности снижения продолжительности молекулярно-динамического эксперимента для автономных 3 β -уголков в водной среде. Был проведен сравнительный анализ поведения структур 3 β -уголков в «длинной» (300 нс) и «короткой» (20 нс) траекториях. Полученные результаты «длинного» и «короткого» экспериментов молекулярной динамики доказывают стабильность исследуемых структур в водном окружении, 3 β -уголки сохраняют свою топологию. Оптимальным по времени молекулярно-динамическим экспериментом для исследуемого набора 3 β -уголков является «короткий», что позволяет существенно повысить производительность расчетов. Основным выводом нашей работы является: структура 3 β -уголок является стабильной в воде, вне белковой глобулы, и может выступать в качестве самостоятельного объекта исследований в области структурной биологии.

Ключевые слова: структурный мотив белковой молекулы, 3 β -уголок, молекулярно-динамический эксперимент, стабильность структуры.

A Study of the Stability of 3 β -Corner Structural Motifs

Rudnev V.R.^{1,2}, Nikolsky K.S.¹, Petrovsky D.V.¹, Kulikova L.I.^{2,3}, Kaysheva A.L.¹, Efimov A.V.⁴

¹V.N. Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia

²Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

³Institute of Mathematical Problems of Biology RAS – the Branch of Keldysh Institute of Applied Mathematics of
Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

⁴Institute of Protein Research, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

This work is devoted to the study of the stability of 3 β -corner structural motifs autonomously outside the protein globule in an aque using the molecular dynamics experiment. The following parameters were analyzed in the study: standard deviation, change in gyration radius, area accessible to the solvent, lifetime of the major conformer, torsion angles and number of hydrogen bonds. The problem of the possibility of reducing the duration of the MD experiment for autonomous 3 β -corners in an aque was also solved. A comparative analysis of the behavior of the structures of 3 β -corners in the "long" and "short" trajectories was carried out. Based on the results of the "long" and "short" molecular dynamics experiments, it was shown that the studied 3 β -corners retain their topology. The time-optimal molecular dynamics experiment for the studied set of 3 β -corners is "short", which makes it possible to significantly increase the productivity of calculations. The main conclusion of our work is that the structure of the 3 β -corner is stable in water, outside the protein globule, and can act as an independent object of research in the structural biology.

Key words: structural motif of a protein molecule, 3 β -corner, molecular dynamics experiment, structure stability.

1. Введение

Структурные мотивы белковых молекул имеют уникальные и компактные укладки полипептидной цепи в пространстве; и, возможно, они являются зародышами в процессе сворачивания белков, а остальные участки цепи могут пристраиваться к ним в соответствии с простыми правилами, полученными из известных принципов строения белка. Структурные мотивы изучаются многими научными коллективами [1–15]. Они используются в качестве стартовых структур для поиска возможных упаковок полипептидной цепи при моделировании структуры белков [16–19], а также для создания системы структурной классификации белков [20–21].

Приведем определение структурного мотива:

✓ структурным мотивом может считаться только повторяющаяся во многих белках или в пределах одной полипептидной цепи пространственная структурная единица;

✓ данные структуры образованы только последовательно идущими по полипептидной цепи элементами вторичной структуры;

✓ для каждого типа структурного мотива определены и неизменны: число, типы и порядок следования вдоль цепи элементов вторичной структуры, из которых он состоит, а также взаимное расположение этих элементов в пространстве;

✓ структурные мотивы одного типа, найденные в различных (как в гомологичных, так и в негомологичных) белках, могут различаться длинами образующих элементов вторичных структур (α -спиралей и/или β -участков), а также длинами и конформациями соединяющих их нерегулярных участков, но общая укладка полипептидной цепи (или общий ход полипептидной цепи в пространстве) неизменна.

Итак, структурный мотив является комбинацией нескольких элементов вторичной структуры (α - и β -структур). Простейшими являются структурные мотивы, состоящие из двух элементов вторичной структуры, имеющих уникальные укладки полипептидной цепи в пространстве. Примерами простейших супервторичных структур являются α - α -, β - β -уголки, α - α -, β - β -шпильки, L-образные и V-образные структуры и др. Данная работа посвящена исследованию часто встречаемой и имеющей уникальную укладку в пространстве структуре: 3β -уголок [22].

2. Объект исследования и его определение

Этот структурный мотив открыл и описал в 1992 году А.В. Ефимов [22]. 3β -Уголок – это структурный мотив, представляющий собой Z-образный β -лист, сложенный сам на себя таким образом, что две составляющие его β -шпильки

упакованы ортогонально в двух разных слоях, а центральный β -тяж изгибается приблизительно на 90° при переходе из одного слоя в другой, образуя при этом полвитка правой суперспирали.

Данный структурный мотив имеет уникальную укладку составляющих его вторичных структур, образуя компактную пространственную конструкцию, и удовлетворяет всем пунктам определения супервторичной структуры. При этом 3β -уголки, обнаруженные в различных белках, при неизменности общей пространственной укладки полипептидной цепи могут различаться:

– длинами β -тяжей;

– длинами и конформациями соединяющих их нерегулярных участков (витков, петель, изгибов);

– а также конформациями аминокислотных остатков, обеспечивающих изгиб полипептидной цепи приблизительно на $\sim 90^\circ$ и ее переход из одного β -слоя в другой с образованием правой суперспирали. Показано, что в местах перехода из одного β -слоя в другой полипептидная цепь может приобретать конформацию β -сгиба (β -bend) [23] или образовывать стандартную структуру с $\beta\alpha\beta\beta$ -, $\beta\beta\alpha_L\beta$ -, $\beta\alpha\gamma\beta$ -, $\beta\alpha\alpha\gamma\beta$ - или $\beta\epsilon\beta$ -конформацией [22]. В указанных структурах γ -конформация соответствует области с углами $\phi = (-90 \pm 30)^\circ$, $\psi = (0 \pm 30)^\circ$; а ϵ -конформация – $\phi = (110 \pm 30)^\circ$, $\psi = (-170 \pm 20)^\circ$. Чаще всего эти переходные участки заняты Gly, иногда остатками с небольшими или гибкими боковыми цепями [24].

Установлено, что структурный мотив 3β -уголок часто встречается как в гомологичных, так и негомологичных белках и доменах. Хорошо известны малые белки, состоящие только из 3β -уголков и коротких нерегулярных участков, примыкающих к 3β -уголкам [25]. Все это говорит о том, что данный мотив может принимать свою уникальную структуру как таковую и может быть ядром, вокруг которого находится оставшаяся часть молекулы или домена в сложенном виде. Таким образом, 3β -уголок может быть взят в качестве стартовой конструкции для поиска возможных упаковок полипептидной цепи при моделировании структуры белков, а также использован при создании системы структурной классификации белков.

3. Исследование стабильности структур

Работа посвящена изучению стабильности структурного мотива типа 3β -уголок автономно вне белковой глобулы в водной среде. Для этого был проведен эксперимент молекулярной динамики (МД) [26], в ходе которого анализировались параметры: среднеквадратичное отклонение, изменение радиуса гирации, площади, доступной для растворителя, времени жизни мажорного конформера и изменения торсионных углов, числа водородных связей. В ходе анализа результатов молекулярно-динамического

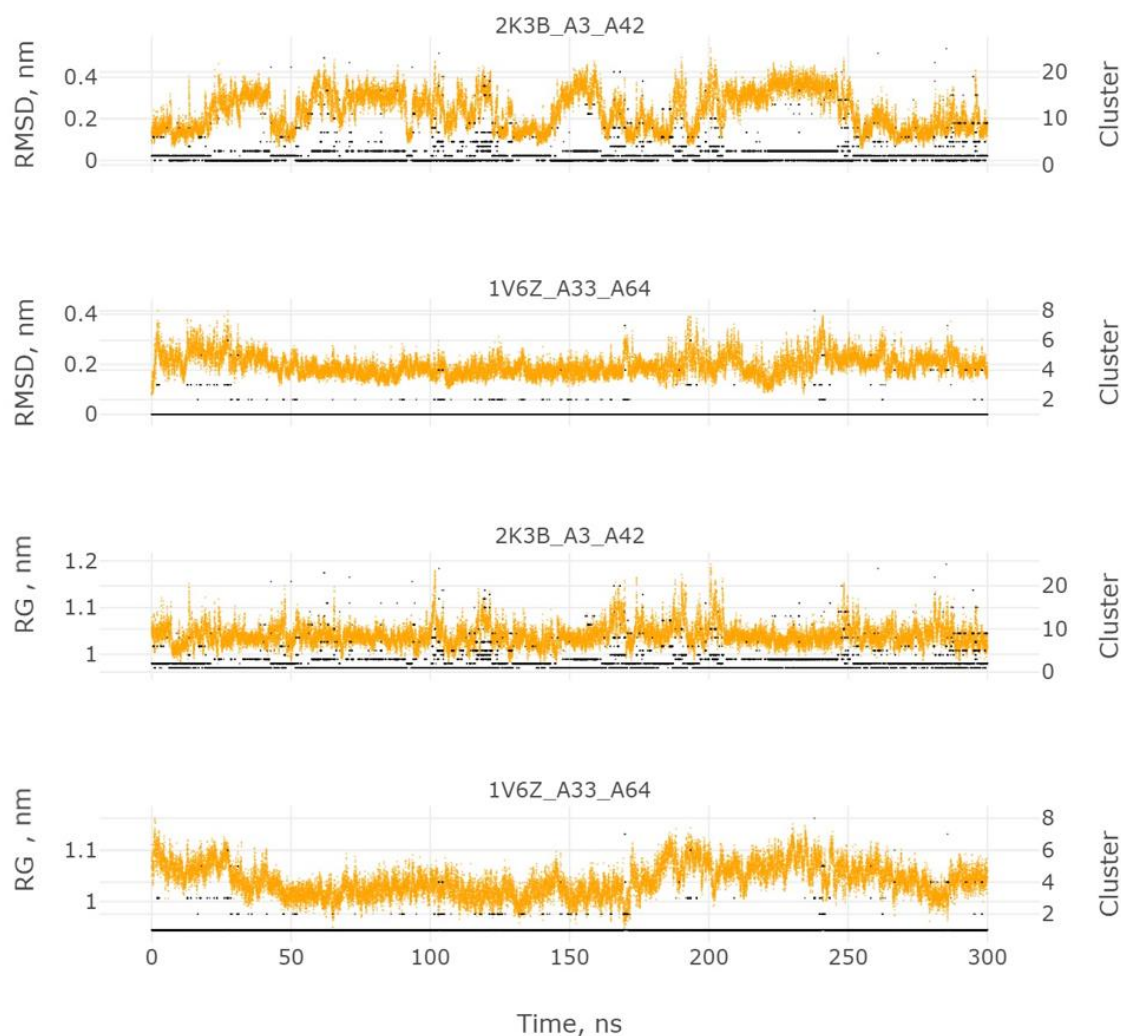


Рис. 1. Значения радиуса гирации (Rg), RMSD (желтые точки) и населенности мажорного кластера (черные точки) в ходе «длинного» эксперимента молекулярной динамики для β -углов PDBID 2K3B цепь A (C α : 3–42) и PDBID 1V6Z цепь A (C α : 33–64). Над рисунками даны названия структур, ось OX – продолжительность эксперимента, 300нс. Ось OY – значения RMSD и Rg, нм.

эксперимента мы наблюдаем сохранение геометрии β -углов. В эксперименте молекулярной динамики участвовали исследуемые структуры, распознанные и отобранные из структур белковых молекул, зарегистрированных в банке белковых структур PDB (<https://www.rcsb.org/>) [27]. Геометрические характеристики были получены путем кластеризации молекулярно-динамической траектории и соответствуют значениям для конформера в мажорном кластере. Под мажорным кластером мы понимаем конформер исследуемой структуры, который населяет траекторию не менее 80% от полной продолжительности эксперимента.

В работе также решалась задача возможности снижения продолжительности молекулярно-динамического эксперимента для автономных β -углов в водной среде. Был проведен

сравнительный анализ поведения структурных мотивов β -углов в «длинной» (300 нс) и «короткой» (20 нс) траекториях. Вопрос о сокращении времени эксперимента встал перед нами в связи с тем, что:

- кластеризация траектории позволяет нам выявить конформер, населяющий траекторию значительный процент времени (не менее 80% времени). В МД эксперименте мы не наблюдаем сколь-нибудь значимых изменений значений геометрических характеристик для β -углов между «длинной» и «короткой» траекториями;
- обоснованное снижение времени МД позволяет существенно повысить производительность расчетов.

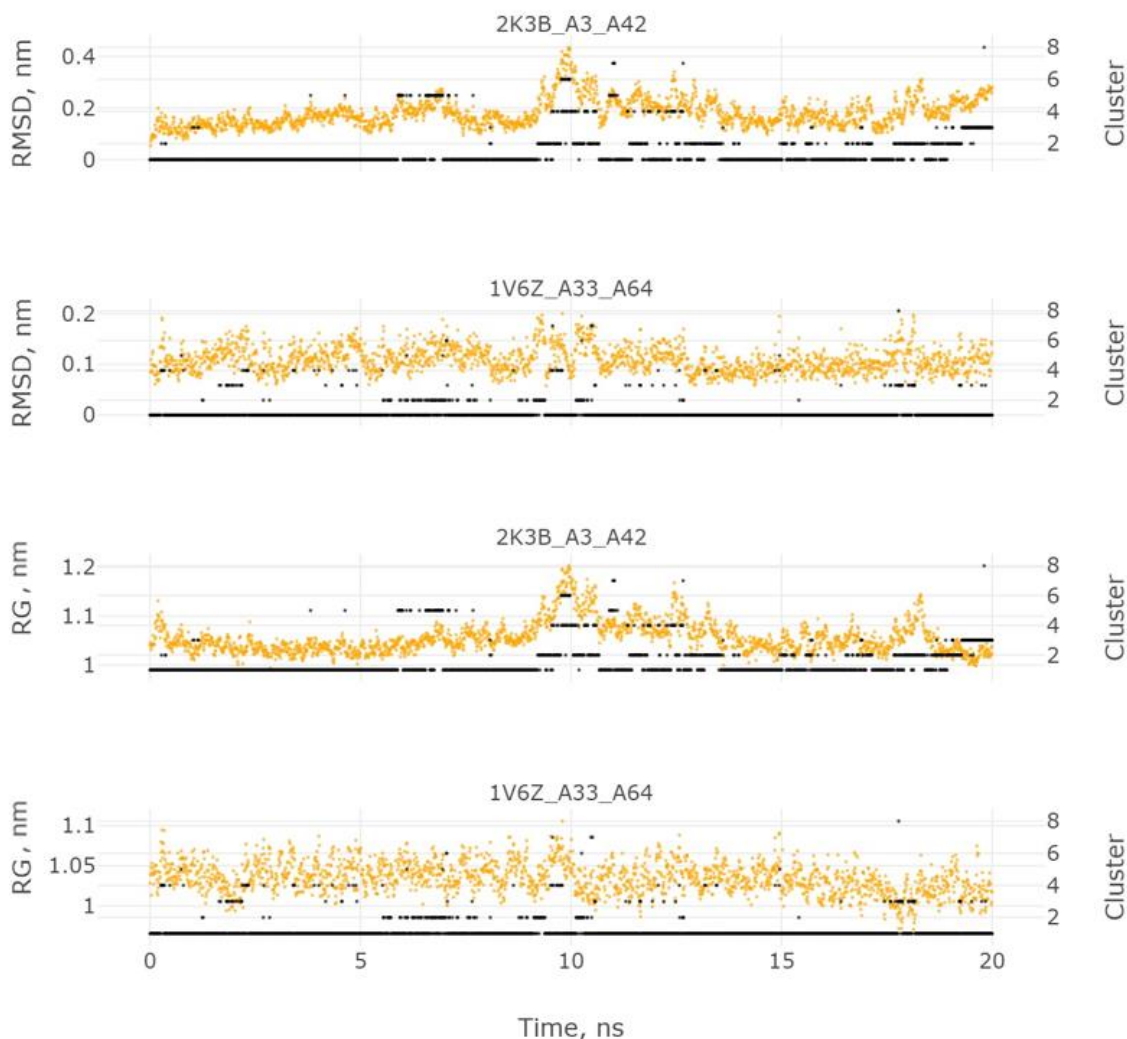


Рис. 2. Значения радиуса гирации (Rg), RMSD (желтые точки) и населенности мажорного кластера (черные точки) в ходе «короткого» эксперимента молекулярной динамики для β -углов PDBID2K3B цепь A (C α : 3–42) и PDBID 1V6Z цепь A (C α : 33–64). Над рисунками даны названия структур, ось OX – продолжительность эксперимента, 20 нс. Ось OY – значения RMSD и Rg, нм.

На рис. 1 и рис. 2 представлены в качестве примера результаты «длинного» и «короткого» экспериментов молекулярной динамики для двух структурных мотивов β -углов: PDBID2K3B цепь A (C α : 3–42) и PDBID 1V6Z цепь A (C α : 33–64). Рисунки иллюстрируют значения радиуса гирации (Rg), RMSD (желтые точки) и населенности мажорного кластера (черные точки) в ходе «длинного» (рис. 1) и «короткого» (рис. 2) экспериментов молекулярной динамики.

Как видно из рисунков, значения радиусов гирации вдоль траектории МД в «длинной» и «короткой» динамике остаются неизменными и составляют около 1 Å. Аналогичный результат крайне схожих значений мы наблюдаем для значений RMSD вдоль «длинной» и «короткой» МД, которые соответствуют ~ 2 Å (рис. 1 и рис. 2).

Полученные результаты «длинного» и «короткого» экспериментов молекулярной динамики

обосновывают стабильность исследуемых структур в водном окружении. Оптимальным по времени молекулярно-динамическим экспериментом для исследуемых структур β -углов является «короткий» эксперимент (20 нс), что позволяет существенно повысить производительность расчетов.

Основным выводом нашей работы является: структура β -углов является стабильной в воде, вне белковой глобулы, и может выступать в качестве самостоятельного объекта исследований в области структурной биологии.

4. Благодарности

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 годы). Авторы выражают благодарность профессору А.В. Веселовскому за полезные

обсуждения и Амиру Талдаеву за запуск расчетов на вычислительной базе Тюменского государственного университета. Моделирование выполнено на оборудовании Федерального государственного учреждения «Федеральный научный центр Научно-исследовательский институт системных исследований Российской академии наук» (ФГУ ФНЦ НИИСИ РАН).

5. Список литературы

- Hollingsworth S.A., Karplus P.A. A fresh look at the Ramachandran plot and the occurrence of standard structures in proteins. *Biomol. Concepts*. 2010. V. 1. № 3-4. P. 271–283. doi: [10.1515/BMC.2010.022](https://doi.org/10.1515/BMC.2010.022)
- Chino M., Maglio O., Natri F., Pavone V., DeGrado W.F., Lombardi A. Artificial diiron enzymes with a de novo designed four-helix bundle structure. *European Journal of Inorganic Chemistry*. 2015. P. 3371–3390. doi: [10.1002/ejic.201500470](https://doi.org/10.1002/ejic.201500470)
- Chino M., Leone L., Maglio O., Lombardi A. Designing Covalently Linked Heterodimeric Four-Helix Bundles. *Methods in enzymology*. 2016. V. 580. P. 471–499. doi: [10.1016/bs.mie.2016.05.03](https://doi.org/10.1016/bs.mie.2016.05.03)
- Adamian L.I., Liang J. Helix-helix packing and interfacial pairwise interactions of residues in membrane proteins. *J. Mol. Biol.* 2001. V. 311. P. 891–907.
- Trovato A., Seno F. A new perspective on analysis of helix-helix packing preferences in globular proteins. *Proteins: Structure, Function, Bioinformatics*. 2004. V. 55. P. 1014–1022. doi: [10.1002/prot.20083](https://doi.org/10.1002/prot.20083)
- Efimov A.V. Standard structures in proteins. *Prog. Biophys. Molec. Biol.* 1993. V. 60. P. 201–239. doi: [10.1016/0079-6107\(93\)90015-C](https://doi.org/10.1016/0079-6107(93)90015-C)
- Efimov A.V. Favoured structural motifs in globular proteins. *Structure*. 1994. V. 2. P. 999–1002.
- Efimov A.V. Structure of α -hairpins with short connections. *Protein Engineering*. 1991. V. 4. P. 245–250.
- Levitt M., Chothia C. Structural patterns in globular proteins. *Nature*. 1976. V. 261. P. 552–558.
- Edwards M.S., Sternberg J.E., Thornton J.M. Structural and sequence patterns in the loops of $\beta\alpha\beta$ units. *Protein Engineering*. 1987. V. 1. P. 173–181. doi: [10.1093/protein/1.3.173](https://doi.org/10.1093/protein/1.3.173)
- Chothia C., Levitt M., Richardson D. Structure of proteins: packing of α -helices and pleated sheets. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1977. V. 74. P. 4130–4134. doi: [10.1073/pnas.74.10.4130](https://doi.org/10.1073/pnas.74.10.4130)
- Schulz G.E. The structure of bacterial outer membrane proteins. *Biochim. Biophys. Acta*. 2002. V. 1565. № 2. P. 308–317. doi: [10.1016/s0005-2736\(02\)00577-1](https://doi.org/10.1016/s0005-2736(02)00577-1)
- Tamm L.K., Hong H., Liang B., Tamm L.K., et al. Folding and assembly of beta-barrel membrane proteins. *Biochim. Biophys. Acta*. 2004. V. 1666. P. 250–263. doi: [10.1016/j.bbamem](https://doi.org/10.1016/j.bbamem)
- Hagan C.L., Silhavy T.J., Kahne D. et al. β -Barrel membrane protein assembly by the Bam complex. *Annu. Rev. Biochem.* 2011. V. 80. P. 189–210. doi: [10.1146/annurev-biochem-061408-144611](https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061408-144611)
- Taldaev A., Rudnev V., Kulikova L., Nikolsky K., Efimov A., Malsagova K., Kaysheva A. Molecular Dynamics Study of Citrullinated Proteins Associated with the Development of Rheumatoid Arthritis. *Proteomes*. 2022. V. 10. № 8. doi: [10.3390/proteomes10010008](https://doi.org/10.3390/proteomes10010008)
- Wetlaufer D.B. Nucleation, rapid folding, and globular intrachain regions in proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1973. V. 70. P. 697–701. doi: [10.1073/pnas.70.3.697](https://doi.org/10.1073/pnas.70.3.697)
- Lin S.I., Tsai J., Nussinov R. A study of 4-helix bundles—investigating protein folding via similar architectural motifs in protein cores and in subunit interfaces. *J. Mol. Biol.* 1995. V. 248. P. 151–161.
- Walther D., Eisenhaber F., Argos P. Principles of helix-helix packing in proteins: the helical lattice superposition model. *Molecular Biology*. 1996. V. 255. P. 536–553. doi: [10.1006/jmbi.1996.0044](https://doi.org/10.1006/jmbi.1996.0044)
- Efimov A.V. Super-secondary structures and modeling of protein folds. In: *Methods in Molecular Biology*. Ed. Kister A.E. Clifton: Humana Press, 2013. V. 932. P. 177–189.
- Fairman J.W., Noinaj N., Buchanan S.K., Fairman J.W., et al. The structural biology of β -barrel membrane proteins: a summary of recent reports. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2011. V. 21. № 4. P. 523–531. doi: [10.1016/j.sbi.2011.05.005](https://doi.org/10.1016/j.sbi.2011.05.005)
- Calhoun J.R., Natri F., Maglio O., Pavone V., Lombardi A., DeGrado W.F. Artificial diiron proteins: From structure to function. *Peptide Science*. 2005. V. 80. No. 2–3. P. 264–278. doi: [10.1002/bip.20230](https://doi.org/10.1002/bip.20230)
- Efimov A.V. A novel super-secondary structure of β -proteins. A triple-strand corner. *FEBS Lett.* 1992. V. 298. P. 261–265.
- Chothia C., Janin J. *Biochemistry*. 1982. V. 21. P. 3955–3965.
- Boshkova E.A. Structures closed into cycles in proteins containing 3β -corners. *Biochemistry*. 2010. V. 75. P. 1258–1263.
- Efimov A.V. A structural tree for proteins containing 3β -corners. *FEBS Lett.* 1997. V. 407. P. 37–41.
- Molecular dynamics parameters (mdp options) – GROMACS 2022.3 documentation*. URL: <https://manual.gromacs.org/documentation/current/user-guide/mdp-options.html> (accessed 28.09.2022).
- Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*. 2000. V. 28. P. 235–242.