

Методы расчёта хиральности вторичных и надвторичных структур белков

Сидорова А.Э., Луценко А.О., Шпигун Д.К.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Физический факультет, кафедра биофизики. Россия, 119991, Москва,
Ленинские горы, д. 1, стр. 2.

sky314bone@mail.ru, aleksluchrus@yandex.ru, denish.den@mail.ru

Рассмотрены авторские методы определения хиральности регулярных и нерегулярных вторичных структур белков, а также суперспиралей - надвторичных структур. Рассчитаны знак и величина хиральности регулярных вторичных структур – α -, 3_{10} - и π -спиралей, нерегулярных вторичных структур – β - и α - поворотов, Ω -петель, а также надвторичных структур белков – суперспиралей. В качестве входных данных используется информация о взаимном расположении α -углеродов аминокислотных остатков цепи. Для расчетов использовались координаты атомов из файлов PDB. Методы реализованы посредством компьютерной программы на языке Python и опробованы на большом количестве белковых структур. Эти методы можно рассматривать как части общего подхода к универсальному определению хиральности на различных иерархических уровнях белков. Такой подход мог бы поспособствовать выявлению важных физических закономерностей в белках.

Ключевые слова: белки, хиральность, энантиомеры, альфа-углерод, спирали, суперспираль, карта хиральности.

Methods for calculating the chirality of secondary and supersecondary protein structures

Sidorova A.E., Lutsenko A.O., Shpigun D.K.

Department of Biophysics, Faculty of Physics, M.V. Lomonosov Moscow State University.
Moscow 119991, Russia

The author's methods for determining the chirality of regular and irregular secondary protein structures, as well as coiled-coils - supersecondary structures, are considered. The sign and measure of the chirality of regular secondary structures - α -, 3_{10} - and π -helices, irregular secondary structures - β - and α -turns, Ω -loops, as well as supersecondary structures of proteins – coiled-coils are calculated. Information about the mutual arrangement of α -carbons of amino acid residues of the chain is used as input data. The atomic coordinates from PDB files were used for calculations. The methods were implemented using a computer program in the Python language and were tested on a large number of protein structures. These methods can be considered as part of a general approach to the universal determination of chirality at various hierarchical levels of proteins. Such an approach could contribute to the identification of important physical patterns in proteins.

Key words: proteins, chirality, enantiomers, alpha carbon, helices, coiled-coil, chirality map.

Введение

Сравнительно недавно предложена теория о закономерной смене знака хиральности в структурно-функциональной иерархии белков левые (L)-правые (D)-левые (L)-правые (D) [1, 2]. Поиск возможности описать единым физическим параметром иерархию белковых структур в представлениях «нарушений симметрии», связанных с энтропией стратифицированной структуры белковой макромолекулы, представляет важной задачей для современной биофизики. Гомохиральность первичной структуры белков, составленной левыми аминокислотными остатками, создает предпосылки автоволновой самоорганизации – формирования спиральных, суперспиральных и складчатых регулярных структур [1, 2].

Для подтверждения этой теории разработаны методы, позволяющие определять хиральность регулярных и нерегулярных белковых структур разных уровней иерархии [3-5], которые в процессе самоорганизации формируются из цепочек исходно левых аминокислотных остатков. При укладке полипептидной цепи в трехмерную конструкцию происходит формирование вторичных и надвторичных структур (рис. 1).

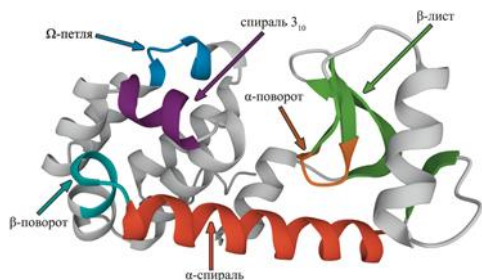


Рис. 1. Элементы вторичной структуры белка 2LZM [6].

Эти методы можно рассматривать как части общего подхода к универсальному определению хиральности на различных иерархических уровнях белков.

Метод исследования

1. Метод оценки хиральности вторичных структур белков

На протяжении многих десятилетий было создано много методов анализа хиральности спиральных структур. Однако, как правило, эти методы не позволяют однозначно оценивать знак хиральности, часто узкоспециализированы и требуют больших вычислительных затрат. Так, метод двугранных углов Рамачандрана [7] позволяет определять преобладающую конформацию элементов вторичной структуры биомолекул. Наиболее целостная концепция оценки хиральности была разработана М. Петитжаном [8], согласно которой мера

хиральности должна быть непрерывной характеристикой, а индекс хиральности не должен зависеть от способа выбора зеркального отображения.

Помимо регулярных вторичных структур, были предприняты попытки описать нерегулярные структуры. К основным подходам можно отнести использование параметров петель и поворотов, схожих по длине и геометрии конечных точек [9], двугранных углов [10], нейронных сетей [11], определение структурных мотивов поворотов в больших базах данных белков [12].

Регулярные структуры формируют каркас белка в ходе фолдинга, а нерегулярные структуры выполняют роль связующего звена между регулярными вторичными структурами и часто присутствуют в активных центрах белка, способствуя специфическому взаимодействию между молекулами. В качестве регулярных вторичных структур нами рассмотрены α -, 3_{10} - и π -спирали, в качестве нерегулярных – β - и α -повороты, Ω -петли.

Белковые структуры можно охарактеризовать по расположению альфа-атомов углерода ($C\alpha$) аминокислотных остатков. Эти данные используются нами в качестве исходных данных для метода, позволяющего оценивать хиральность регулярных и нерегулярных структур белков [4, 5, 13, 14].

В качестве оценки хиральности вторичных структур мы предлагаем взять сумму смешанных произведений для троек векторов (v_i), построенных между последовательными опорными точками $C\alpha$ (рис. 2):

$$\chi_{total} = \sum_{i=1}^{n-3} ([v_i, v_{i+1}, v_{i+2}]), \quad (1)$$

где исходные векторы рассчитываются с учетом координат $C\alpha$, представленных в базе данных PDB.

Для правой тройки векторов знак смешанного произведения положительный и структура определяется как правая (D), для левой тройки знак отрицательный и структура определяется как левая (L). Нормированное значение хиральности вторичных структур белков рассчитывается следующим образом:

$$\chi_{norm} = \sum_{i=1}^{n-3} \frac{([v_i, v_{i+1}, v_{i+2}])}{C_i}, \quad (2)$$

где $C_i = \left(\frac{1}{3} \sum_{j=0}^2 |v_{i+j}|\right)^5$ – нормировочный множитель.

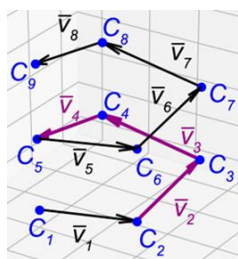


Рис. 2. Графическое построение векторов \mathbf{v}_i для расчета смешанного произведения для вторичных структур белков.

Исследование хиральности 26150 спиральных структур показало, что: из 21702 α -спиралей 21689 правые, из 4360 3_{10} -спиралей 4160 правые, из 88 π -спиралей 88 правых. В соответствии с формулой (2) представлена карта нормированной хиральности для рассмотренных спиральных структур белков (рис. 3). Расчетные параметры хиральности спиральных структур представлены в наших работах [4, 5, 13, 14].

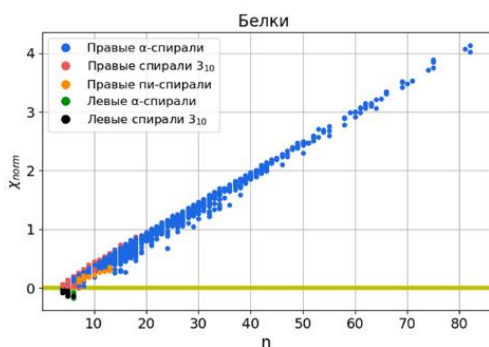


Рис. 3. Карта нормированной хиральности спиральных структур белков. По горизонтальной оси отложена длина вторичной структуры в аминокислотных остатках, по вертикальной оси – нормированное значение хиральности.

Списки нерегулярных структур составлялись нами на основании работ других авторов [15–17]. Хиральность нерегулярных вторичных белковых структур рассчитывается аналогично хиральности для регулярных структур (рис. 4).

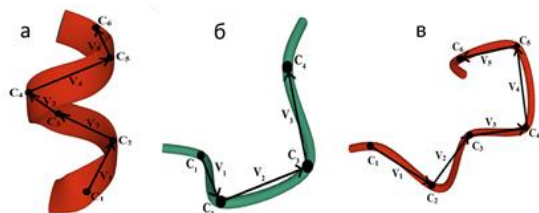


Рис. 4. Графическое построение векторов \mathbf{v}_i для расчета смешанного произведения для нерегулярных вторичных структур белков. а) α -спираль (1L63), б) β -поворот (1A4G), в) Ω -петля (1ACT).

Рассмотрено 78 α -поворотов, 850 β -поворотов и 190 Ω -петель. Поскольку все рассмотренные β -повороты состоят из 4 аминокислотных остатков, а α -повороты – из 5 остатков, на карте

хиральности они располагаются параллельно оси Y (рис. 5,а). Показано, что α - и β -повороты бывают как правыми, так и левыми.

Пространственная ориентация петель влияет на количественные значения хиральности этих структур на каждом этапе: в зависимости от количества последовательных остатков, взятых для расчета, хиральность может изменяться как по знаку, так и по величине (рис. 5,б). Поэтому для петель не выявлена линейная зависимость меры хиральности от числа атомов в этих структурах.

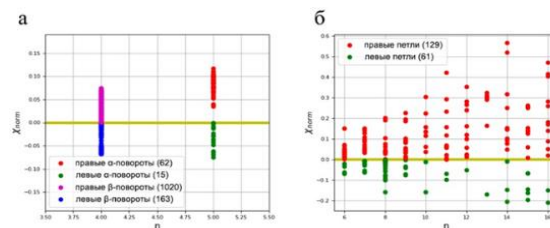


Рис. 5. Карта нормированной хиральности нерегулярных структур: а) α - и β -повороты; б) Ω -петли.

Метод оценки хиральности надвторичных структур белков

Разработанные ранее методы моделирования суперспиралей основаны на описании coiled-coil через шаг, радиус суперспирали, сдвиг вдоль оси суперспирали [18, 19], расчет знака хиральности с помощью «поверхностной кривой» составляющих α -спиралей [20]. Однако эти методы не позволяют однозначно оценивать хиральность суперспиралей.

Аналогично вышеизложенному методу, в разработанном нами методе определения знака хиральности суперспиральных белковых структур в качестве исходных данных используется информация о взаимном расположении α -углеродов в аминокислотных остатках цепи. В основе метода лежит определение направления закрутки α -спиралей относительно оси суперспирали (рис. 5). Более подробно этапы метода определения знака хиральности суперспиральных структур рассмотрены в работах [4, 5]. Знак хиральности суперспиралей рассчитывается с помощью усреднения значения косинуса соответствующего угла для всех спиралей, образующих суперспираль:

$$\chi_{\text{norm}} = \frac{1}{q} \sum_{i=1}^q \cos(\beta_i), \quad (3)$$

где β_i – угол между направлением оси i -й α -спирали и направлением оси суперспирали.

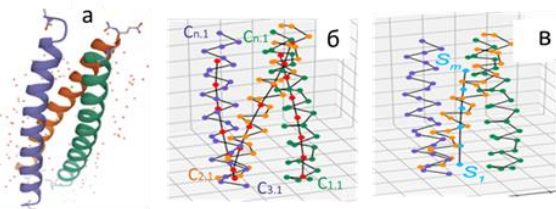


Рис. 5. Схема основных этапов метода определения знака хиральности суперспирали coiled-coil на примере белка 1BB1: **а)** белковая суперспираль; **б)** оси спиралей; **в)** ось суперспирали.

Метод опробован на coiled-coil, составленных из правых α -спиралей, и коллагеновых суперспиралях, образуемых из левых спиралей. 116 суперспиралей coiled-coil определены как левые, а коллагеновые суперспирали как правые (рис. 6).

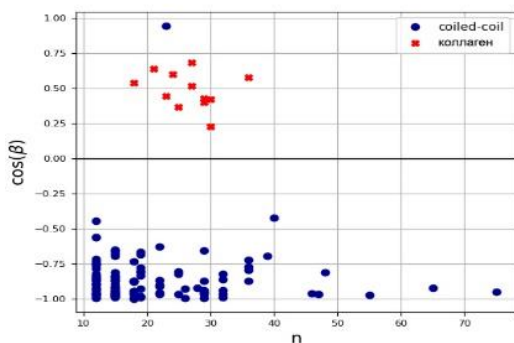


Рис. 6. Карта хиральности coiled-coil и коллагеновых суперспиралей. По горизонтальной оси отложена длина суперспирали, а по вертикальной оси отложен усредненный косинус характерного угла.

Кроме того, нами разработана методика определения меры хиральности суперспиралей. Поскольку под хиральностью суперспирали мы понимаем некоторую величину, отражающую, насколько сильно отдельные спирали закручены относительно оси всей конструкции, предлагается оценить эту меру закрученности по соответствующему углу. Согласно нашему подходу, следует взять центры первого и последнего витка каждой спирали и нормально спроецировать эти две точки на прямую, принятую в качестве оси суперспирали. Таким образом, для каждой спирали будет построено два вектора от оси суперспирали до центров двух витков спирали (рис. 7). Далее усреднить по всем спиральям угол между этими двумя векторами и полученную величину рассматривать как меру хиральности суперспирали.

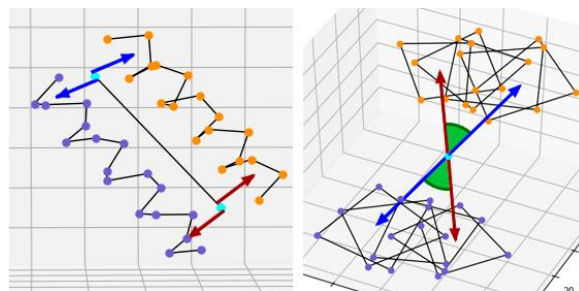


Рис. 7. Схема основных этапов метода расчета меры хиральности суперспирали coiled-coil.

Рассмотрено 120 суперспиралей coiled-coil, состоящих из двух, трех или четырех альфа-спиралей, из них 119 оказались левыми, а одна искусственная суперспираль – правой. Кроме того, проведены расчеты для 12 коллагеновых суперспиралей оказались правыми.

Заключение

Достоверность карт хиральности вторичных и надвторичных структур белков подтверждается анализом реальных структур. Полученные результаты соответствуют научным данным и концепции смены знака хиральности при переходе белковых структур на следующий уровень иерархии. Методы основаны на небольшом количестве исходных данных, что является значительным преимуществом при обработке больших массивов данных. Разработаны компьютерные программы для оценки хиральности спиральных и суперспиральных структур. Расчеты хиральности регулярных и нерегулярных структур белков проводились с использованием баз данных Protein Data Bank (PDB) и CC+. Эти методы можно рассматривать как части общего подхода к универсальному определению хиральности на различных иерархических уровнях белков. Такой подход мог бы поспособствовать выявлению важных физических закономерностей в белках.

Список литературы

1. Твердислов В.А. Хиральность как первичный переключатель иерархических уровней в молекулярно-биологических системах. *Биофизика*. 2013. Т. 58. С. 159–164.
2. Твердислов В.А., Малышко Е.В. О закономерностях спонтанного формирования структурных иерархий в хиральных системах неживой и живой природы. *Успехи физ. наук*. 2019. Т. 189. С. 375–385.
3. Sidorova A.E., Malyshko E.V., Kotov A.R., Tverdislov V.A., Ustinin M.N. Quantitative criteria of chirality in hierarchical protein structures. *Biophysics*. 2019. V. 64. P. 155–166.
4. Sidorova A.E., Lutsenko A.O., Shpigun D.K., Malyshko E.V., Tverdislov V.A. Methods to determine the chirality sign for helical and

- superhelical protein structures. *Biophysics*. 2021. V. 66. P. 357–363.
5. Sidorova A.E., Malyshko E.V., Lutsenko A.O., Shpigun D.K., Bagrova O.E. Protein helical structures: defining handedness and localization features. *Symmetry*. 2021. V. 13. P. 87.
 6. Weaver L.H., Matthews B.W. Structure of bacteriophage T4 lysozyme refined at 1.7 Å resolution. *J. Mol. Biol.* 1987. V. 193. P. 189–199.
 7. Ramachandran G.N., Ramakrishnan C., Sasisekharan V. Stereochemistry of polypeptide chain configurations. *J. Mol. Biol.* 1963. V. 7. P. 95.
 8. Petitjean M. On the root mean square quantitative chirality and quantitative symmetry measures. *Journal of Mathematical Physics*. 1999. V. 40. P. 4587–4595.
 9. Robinson S.W., Afzal A.M., Leader D.P. Bioinformatics: Concepts, Methods, and Data. In: *Handbook of Pharmacogenomics and Stratified Medicine*. Ed. Padmanabhan S. New York, NY, USA: Academic Press, 2014. P. 259–287.
 10. Richardson J.S. The anatomy and taxonomy of protein structure. *Adv. Protein Chem.* 1981. V. 34. P. 167.
 11. Fang C., Shang Y., Xu N. Improving Protein Gamma-Turn Prediction Using Inception Capsule Networks. *Sci. Rep.* 2018. V. 8. 15741.
 12. Johansson M.U., Zoete V., Michielin O., Guex N. Defining and searching for structural motifs using DeepView/Swiss-PdbViewer. *BMC Bioinform.* 2012. V. 13. P. 173.
 13. Sidorova A., Bystrov V., Lutsenko A., Shpigun D., Belova E., Likhachev I. Quantitative Assessment of Chirality of Protein Secondary Structures and Phenylalanine Peptide Nanotubes. *Nanomaterials*. 2021. V. 11. P. 3299.
 14. Bystrov V., Sidorova A., Lutsenko A., Shpigun D., Malyshko E., Nuraeva A., Zelenovskiy P., Kopyl S., Kholkin A. Modeling of Self-Assembled Peptide Nanotubes and Determination of Their Chirality Sign Based on Dipole Moment Calculations. *Nanomaterials*. 2021. V. 11. P. 241515.
 15. Nataraj D.V., Srinivasan N., Sowdhamini R., Ramakrishnan C. α -Turns in protein structure. *Curr. Sci.* 1995. V. 69. P. 434–447.
 16. Shapovalov M., Vucetic S., Dunbrack R.L. A new clustering and nomenclature for beta turns derived from high-resolution protein structures. *PLoS Comput. Biol.* 2019. V. 15. e1006844.
 17. Leszczynski J.F., Rose G.D. Loops in Globular Proteins: A Novel Category of Secondary Structure. *Science*. 1986. V. 234. P. 849–855.
 18. Fraser R.D.B., MacRae T.P. *Conformation in Fibrous Proteins and Related Synthetic Polypeptides*. 1st ed. New York, NY, USA: Academic Press, 1973. 628 p.
 19. Phillips G.N. What Is the Pitch of the α -Helical Coiled Coil? *PROTEINS: Structure, Function, and Genetics*. 1992. V. 14. P. 425–429.
 20. Neukirch S., Goriely A., Hausrath A.C. Chirality of Coiled Coils: Elasticity Matters. *Phys. Rev. Lett.* 2007. V. 100. P. 038105.