

## ЗАМКНУТЫЕ В ЦИКЛЫ СТРУКТУРЫ В ГЛОБУЛЯРНЫХ БЕЛКАХ

©2011 г.

А. В. ЕФИМОВ

*Институт белка РАН, г. Пущино, Московская область*

I. Введение. II. Простые циклические структуры в белках. III. Супервторичные структуры, замкнутые в циклы с помощью суперспиралей. IV. Супервторичные структуры, замкнутые в циклы с помощью расщепленных  $\beta$ -шпилек. V. Структура  $\beta$ -шпилек, замкнутых в циклы S–S-мостиками. VI. Заключение.

### I. ВВЕДЕНИЕ

К настоящему времени основные принципы структурной организации белковых молекул установлены и широко используются при исследовании структуры и функции белков. Тем не менее, вопрос о том, каким образом полипептидная цепь белка сворачивается в уникальную структуру, продолжает оставаться одним из центральных нерешенных вопросов в биохимии и молекулярной биологии. Это предопределяет необходимость как более глубокого изучения известных принципов и факторов, определяющих формирование пространственной структуры белков, так и поиска и исследований новых, неизученных ранее факторов. В этой связи несомненный интерес представляет изучение структур полипептидной цепи, замкнутых в циклы, и их роли в сворачивании белков.

Замкнутые в циклы структуры полипептидной цепи различного типа широко распространены на всех уровнях структурной организации белков. Витки  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -повороты представляют собой простейшие структуры из 4–6 остатков, которые замкнуты в циклы водородными связями.  $\beta$ -Шпильки – это циклические структуры большего размера (в среднем, 10–20 остатков), которые замыкаются в циклы целой системой водородных связей. На уровне супервторичных структур происходит вторичное замыкание  $\beta$ -шпилек, трехтяжевых  $\beta$ -листов и  $\beta\alpha\beta$ -единиц, в результате чего образуются более

---

*Адрес для корреспонденции:* efimov@protres.ru

Работа выполнена при поддержке грантов Российского фонда фундаментальных исследований (10-04-00727) и Федерального агентства по науке и инновациям (02.740.11.0295).

сложные структурные мотивы с уникальными укладками цепи и определенной хиральностью, такие, например, как  $abcd$ -единицы и  $abCd$ -единицы (в отличие от  $abcd$ -единицы, здесь вместо  $c$ -тяжа находится  $S$ -спираль), пяти- и семисегментные  $\alpha/\beta$ -мотивы,  $\phi$ - и  $\psi$ -мотивы и др. На уровне третичной структуры многие белки и домены образуют структуры, замкнутые в цилиндры. В настоящей работе подробно рассматриваются эти и другие циклические структуры, и обсуждается их роль в образовании уникальных укладок полипептидной цепи.

## II. ПРОСТЫЕ ЦИКЛИЧЕСКИЕ СТРУКТУРЫ В БЕЛКАХ

В глобулярных белках полипептидная цепь многократно сложена сама на себя, и в местах поворотов и изгибов она образует нерегулярную, но вполне определенную структуру. Минимальные структуры, которые обеспечивают поворот цепи на  $180^\circ$ , называются  $\beta$ -поворотами и состоят из 4–6 остатков, замкнутых в циклы водородными связями (рис. 1) [1, 2]. В  $\alpha$ -спиралях образуется насыщенная система водородных связей, где каждая  $CO$ -группа  $i$ -го остатка образует водородную связь с  $NH$ -группой  $(i+4)$ -го остатка, замыкая в цикл 13 атомов. В спиралах  $3_{10}$  водородные связи образуются между каждой  $CO$ -группой  $i$ -го и  $NH$ -группой  $(i+3)$ -го остатков, замыкая в цикл 10 атомов. Между  $\beta$ -тяжами в  $\beta$ -шпильках также имеется насыщенная система водородных связей, где каждая водородная связь образует соответствующий цикл (рис. 2). Трехтяжевые  $S$ - и  $Z$ -образные  $\beta$ -листы могут быть представлены в виде комбинаций из двух  $\beta$ -шпилек и, следовательно, также содержат набор циклов, образованных водородными связями.

$\beta$ -Шпильки могут быть правыми (рис. 2а) и левыми (рис. 2б) в зависимости от того, второй по цепи  $\beta$ -тяж располагается справа или слева относительно первого, если смотреть с одной стороны (например, со стороны гидрофобного ядра белка). Аналогично, простые трехтяжевые  $\beta$ -листы встречаются в виде  $S$ - или  $Z$ -образных  $\beta$ -листов. Отбор одной из двух форм  $\beta$ -шпилек или трехтяжевых  $\beta$ -листов происходит на уровне супервторичных структур более высокого порядка, в которые  $\beta$ -шпильки или  $S$ - и  $Z$ -образные  $\beta$ -листы включаются как составные части. Чаще всего это происходит в результате вторичного замыкания  $\beta$ -шпилек и трехтяжевых  $\beta$ -листов в большие циклы с помощью суперспиралей различного типа.

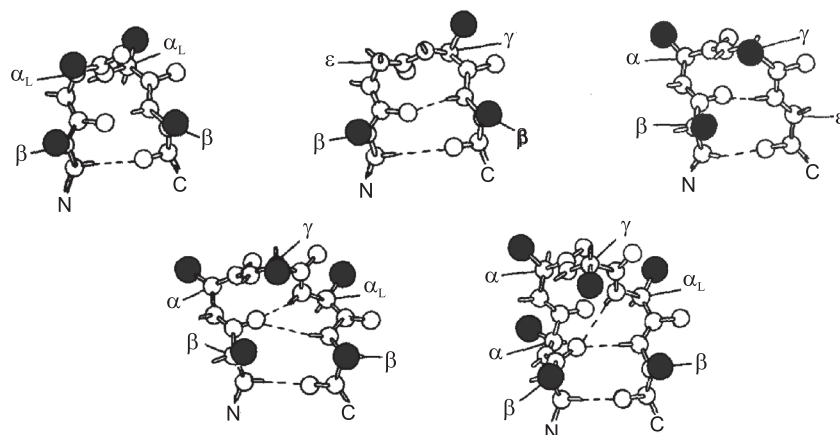


Рис. 1. Структура  $\beta$ -поворотов, замкнутых в циклы водородными связями (показаны пунктирными линиями). Структуры представлены в виде шаро-стержневых моделей. Боковые цепи представлены черными шарами. Конформации остатков показаны греческими буквами.

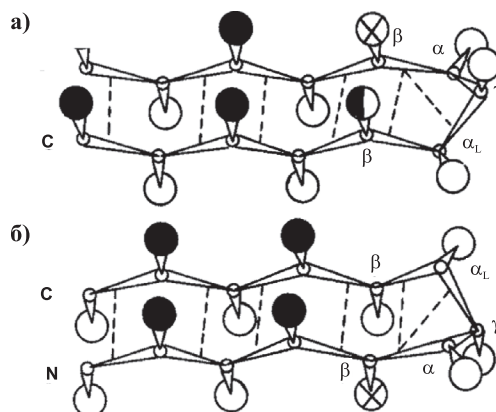


Рис. 2. Схематическое изображение правой (а) и левой (б)  $\beta$ -шпилек, если смотреть на них сверху, с насыщенными системами водородных связей (пунктирные линии).

### III. СУПЕРВТОРИЧНЫЕ СТРУКТУРЫ, ЗАМКНУТЫЕ В ЦИКЛЫ С ПОМОЩЬЮ СУПЕРСПИРАЛЕЙ

По-видимому, самой распространенной суперспиралью в белках является  $\beta\alpha\beta$ -единица (рис. 3а). Впервые эту, а также ряд родственных структур, впоследствии названных укладками по Россману, обнаружили и охарактеризовали Рао и Россманн в 1973 году [3]. Затем Стерн-

берг и Торнтон [4] на примере большого числа белков показали, что  $\beta\alpha\beta$ -единица всегда образует правую суперспираль во всех  $\alpha/\beta$ -белках, как гомологичных, так и негомологичных. В  $\beta\alpha\beta$ -единице  $\beta$ -тяжи образуют слой параллельной  $\beta$ -структуры, а  $\alpha$ -спираль располагается в другом слое так, что в целом полипептидная цепь образует большой цикл (виток правой суперспирали), прошитый водородными связями между  $\beta$ -тяжами. В  $\beta\alpha\beta\alpha\beta$ -единице (рис. 3г), которая также часто встречается в  $\alpha/\beta$ -белках, имеется два витка правой суперспирали. В белках семейства  $\alpha/\beta$ -бочонков можно выделить семь  $\beta\alpha\beta$ -единиц (и, соответственно, семь витков правой суперспирали), которые замыкаются в цикл более высокого порядка, так называемый  $(\alpha/\beta)_8$ -цилиндр или  $(\alpha/\beta)_8$ -бочонок (рис. 3е).

Вторичное замыкание  $\beta\alpha\beta$ - и  $\beta\alpha\beta\alpha\beta$ -единиц в циклы более высокого порядка может происходить и другим способом – с помощью расщепленных  $\beta\alpha\beta$ -единиц и расщепленных  $\beta$ -шпилек. В расщепленной  $\beta\alpha\beta$ -единице в  $\beta$ -слое между ее  $\beta$ -тяжами располагаются один, два (или более) дополнительных  $\beta$ -тяжа так, что  $\beta$ -тяжи самой  $\beta\alpha\beta$ -единицы между собой не контактируют. Вторичное замыкание  $\beta\alpha\beta$ - и  $\beta\alpha\beta\alpha\beta$ -единиц с помощью расщепленных  $\beta\alpha\beta$ -единиц приводит к образованию пятисегментного  $\alpha/\beta$ -мотива (рис. 3б) и семисегментного  $\alpha/\beta$ -мотива (рис. 3д), соответственно (см. также рис. 4). Эти структурные мотивы имеют уникальные укладки  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -тяжей и широко распространены в соответствующих семействах трехслойных  $\alpha/\beta$ -белков [5, 6]. На рис. 3в показан пример супервторичной структуры, в которой вторичное замыкание  $\beta\alpha\beta$ -единицы происходит с помощью расщепленной  $\beta$ -шпильки [7].

Вторичное замыкание  $\beta$ -шпильки расщепленной  $\beta\alpha\beta$ -единицей приводит к образованию  $abCd$ -единицы (рис. 4в, з), которая часто встречается в  $(\alpha+\beta)$ -белках [5, 8, 9].  $abCd$ -Единица может иметь прямой (рис. 4в) и обратный (рис. 4з) ход полипептидной цепи. Топология этих разновидностей может быть описана как  $\beta\beta\alpha\beta$  и  $\beta\alpha\beta\beta$ , соответственно. В первом случае в состав  $abCd$ -единицы входит правая  $\beta$ -шпилька, если смотреть со стороны гидрофобного ядра, во втором – левая.

На рис. 4г и представлены  $S\alpha\beta$ - и  $\beta\alpha S$ -единицы, которые получаются при вторичном замыкании  $S$ -образных  $\beta$ -листов расщепленной  $\beta\alpha\beta$ -единицей. Они могут рассматриваться как аналоги  $abCd$ -единиц и отличаются от них тем, что имеют по одному дополнительному  $\beta$ -тяжу в  $\beta$ -слоях. В  $S\alpha\beta$ -единице  $S$ -образный лист располагается в  $N$ -концевой части, а в  $\beta\alpha S$ -единице – в  $C$ -концевой части. Важно отметить, что  $Z$ -образный  $\beta$ -лист не может быть включен в подобную структуру.

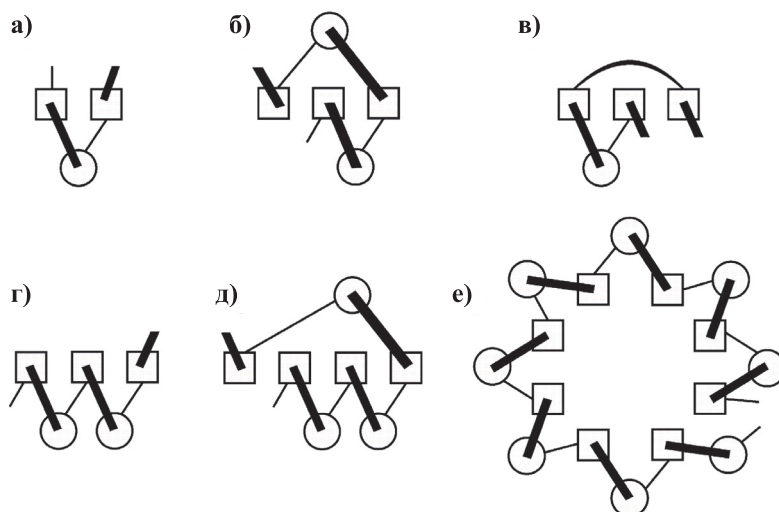


Рис. 3. Структурные мотивы в  $\alpha/\beta$ -белках.

Вид каждой структуры представлен с торца.  $\alpha$ -Спирали показаны кружочками,  $\beta$ -тяжи – квадратиками, ближние к наблюдателю перетяжки – жирными линиями, и дальние перетяжки – тонкими линиями. а)  $\beta\alpha\beta$ -единица; б) пятисегментный  $\alpha/\beta$ -мотив; в) комбинация  $\beta\alpha\beta$ -единицы и  $\psi$ -мотива; г)  $\beta\alpha\beta\alpha\beta$ -единица; д) семисегментный  $\alpha/\beta$ -мотив; е)  $\alpha/\beta$ -бочонок. См. также текст.

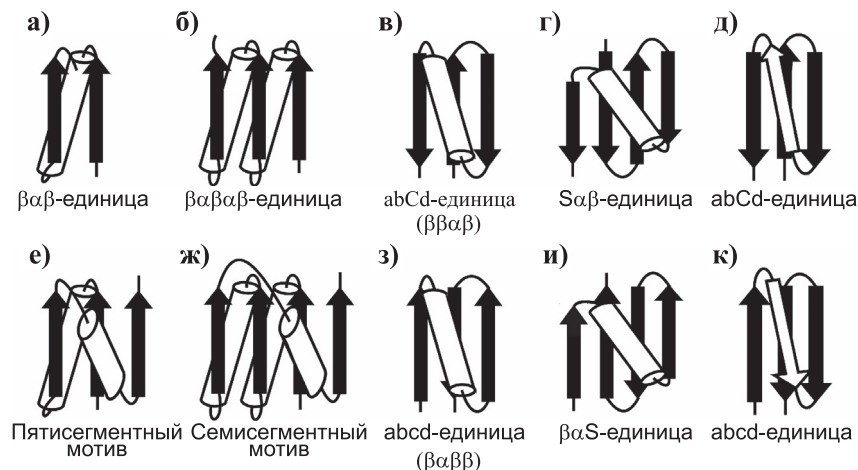


Рис. 4. Структурные мотивы, в которых замыкание в циклы происходит с помощью правых  $\beta\alpha\beta$ - или bcd-суперспиралей.  $\alpha$ -Спирали изображены в виде цилиндров, а  $\beta$ -тяжи – в виде стрелок, направленных от N- к C-концам.

Вторичное замыкание Z-листа могло бы быть осуществлено левой  $\beta\alpha\beta$ -суперспиралью, но такие структуры в белках не встречаются [10].

В двуслойных  $\beta$ -белках с продольной упаковкой  $\beta$ -слоев широко распространена abcd-единица [8, 11]. В этих структурных мотивах  $\beta$ -шпильки, образуемые тяжами a и b, замыкаются суперспиралью bcd (рис. 4д, к). Суперспираль bcd в белках всегда встречается в правой форме и является аналогом  $\beta\alpha\beta$ -суперспирали в abCd-единицах. abcd- и abCd-Единицы имеют одинаковую общую укладку цепи и различаются только конформацией c- и C-участков. abcd-Единица с прямым ходом цепи (рис. 4д) включает в себя правую  $\beta$ -шпильку, а abcd-единица с обратным ходом цепи (рис. 4к) – левую.

S-образный  $\beta$ -лист может сам входить в состав суперспиралей  $\beta S\beta$ - или  $\beta S\alpha$ -типа [10], как это показано на рис. 5. Общий ход цепи в этих структурах может быть представлен в виде правой суперспирали, если S-лист мысленно заменить одним тяжем. В  $\beta$ -белках, которые относятся к так называемым  $\beta$ -бочонкам, замыкание структуры в цилиндр происходит с помощью  $\beta S\beta$ -суперспиралей (например, в SH3- и GroES-подобных белках [12, 13] и в H-субъединице [14]). В белках, имеющих так называемые OB-укладки [15], и в нейрофизине [16] замыкание в циклы происходит с помощью  $\beta S\alpha$ -суперспиралей. Отметим, что образование подобных суперспиралей, включающих в себя Z-образные  $\beta$ -листы, невыгодно, и в белках они не встречаются [10].

Z-образный  $\beta$ -лист может быть включен в циклические структуры двумя путями. Один путь – это образование сложного варианта abcd-единицы, в котором участок с является Z-образным  $\beta$ -листом, если смотреть со стороны гидрофобного ядра [8, 10]. Другой путь показан на рис. 6. На первом этапе образуется  $3\beta$ -уголок.  $3\beta$ -Уголок – это структурный мотив, образованный Z-образным  $\beta$ -листом, который сложен сам на себя так, что две составляющие его  $\beta$ -шпильки упакованы ортогонально в разных слоях, а центральный  $\beta$ -тяж изгибается приблизительно на  $90^\circ$  при переходе из одного слоя в другой, образуя при этом полвитка правой суперспирали [17]. Добавление  $\beta$ -тяжа к  $3\beta$ -уголку на N- или C-конце приводит к образованию правой суперспирали, которая замыкает структуру в цикл так же, как суперспираль bcd в abcd-единице. Правую суперспираль в верхней структуре можно наблюдать, если мысленно соединить переходной петлей C-конец тяжа 1 и N-конец тяжа 3', а в нижней структуре, – если мысленно соединить C-конец тяжа 2 и N-конец тяжа 4 (подробнее описано в [18]).

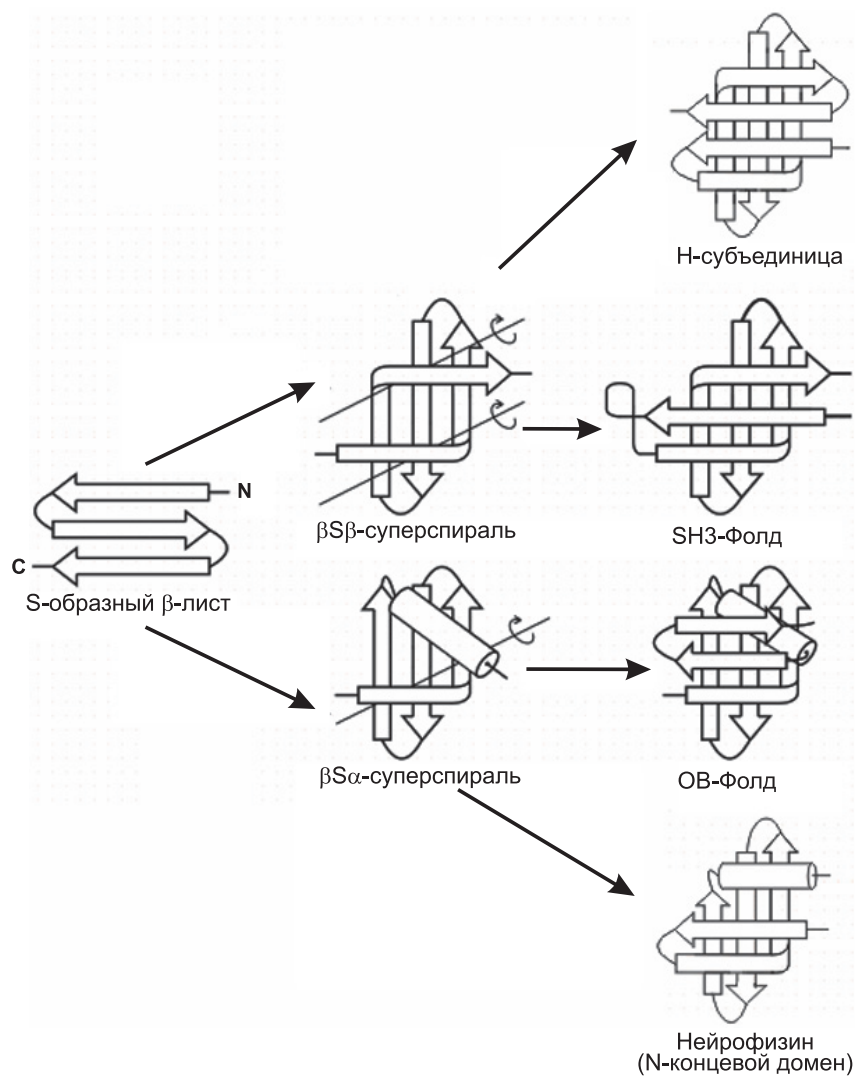


Рис. 5. Структуры, замкнутые в циклы с помощью  $\beta\beta$ - или  $\beta\alpha$ -суперспиралей.

Воображаемые оси вращения полипептидной цепи при переходе из одного слоя в другой показаны прямыми линиями с круговыми стрелками. Справа представлены примеры реальных укладок в белках, содержащих такие суперспирали.

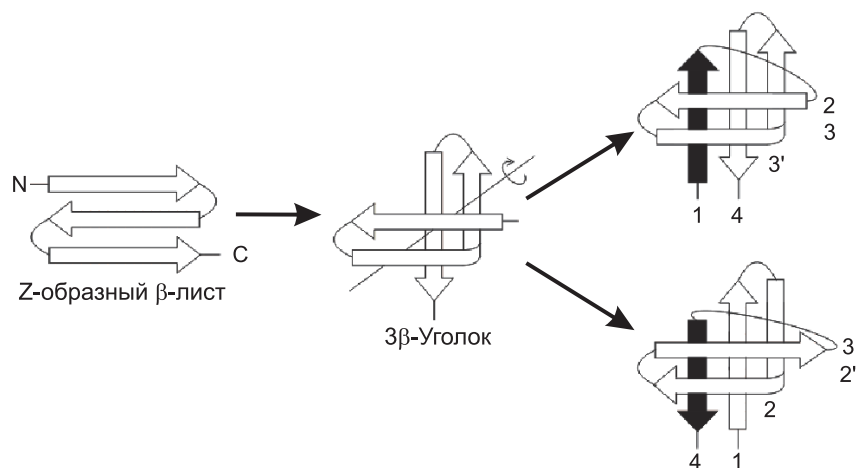


Рис. 6. Схема включения в замкнутые структуры Z-образного β-листа.

Сначала образуется 3β-уголок (ось вращения показана как на рис. 5), затем к нему присоединяются дополнительные β-тяги (черные стрелки), которые замыкают 3β-уголки в циклы. Цифрами обозначены порядковые номера β-тяжей, начиная с N-конца.

#### IV. СУПЕРВТОРИЧНЫЕ СТРУКТУРЫ, ЗАМКНУТЫЕ В ЦИКЛЫ С ПОМОЩЬЮ РАСЩЕПЛЕННЫХ В-ШПИЛЕК

Вторичное замыкание β-шпильки с помощью расщепленной β-шпильки приводит к образованию структурного мотива, который был назван φ-мотивом [19]. Простейший вариант φ-мотива состоит из трех соседних по цепи β-тяжей, связанных перетяжками и уложенных в одном β-слое в структуру, которая напоминает греческую букву φ (рис. 7). φ-Мотивы могут быть двух типов – шпилька-тяж (рис. 7а, в) и тяж-шпилька (рис. 7б, г), в зависимости от расположения элементов вдоль цепи. Петля, которая соединяет два крайних β-тяжа и проходит над центральным β-тяжем или его продолжением, называется переходной петлей. φ-Мотивы могут быть правыми и левыми. Если смотреть на φ-мотивы со стороны переходных петель, то в правых φ-мотивах ход цепи от N- к С-концу осуществляется по часовой стрелке (рис. 7а, б, д), а в левых – против часовой стрелки (рис. 7в, г). В правых φ-мотивах β-шпильки, образуемые тяжами 1 и 2 (рис. 7а, д) или тяжами 2 и 3 (рис. 7б), а также расщепленные β-шпильки – правые, а в левых φ-мотивах соответствующие β-шпильки – левые (рис. 7в, г). Как показал анализ, в белках φ-мотивы встречаются преимущественно в правой форме [19].



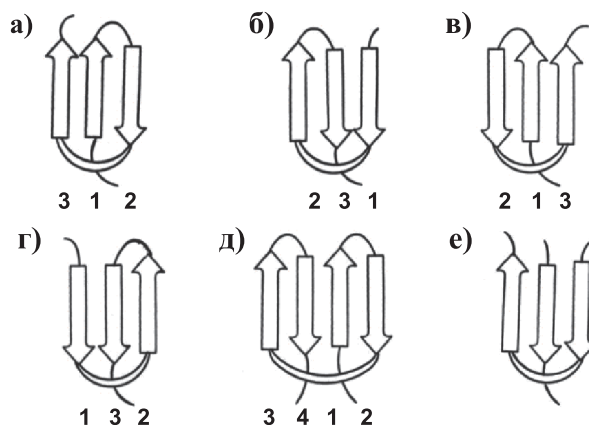


Рис. 7. Схематическое изображение вариантов  $\phi$ -мотива (а-д) и  $\psi$ -мотива (е). Цифрами обозначены порядковые номера  $\beta$ -тяжей, начиная с N-конца.

На рис. 7е представлен  $\psi$ -мотив [20, 21], который имеет как сходство с  $\phi$ -мотивом, так и существенные отличия от него. Главное отличие  $\psi$ -мотива от  $\phi$ -мотива состоит в том, что центральный  $\beta$ -тяж  $\psi$ -мотива не связан перетяжками с крайними  $\beta$ -тяжами. В  $\beta$ -белках  $\psi$ -мотив встречается преимущественно в правой форме [20, 21], в которой расщепленная  $\beta$ -шпилька – правая, если смотреть со стороны переходной петли (рис. 7е). Однако в  $\alpha/\beta$ -белках заметное количество  $\psi$ -мотивов находятся в левой форме [7].

Как уже отмечалось выше (см. рис. 3в), вторичное замыкание  $\beta\alpha\beta$ -единицы может осуществляться расщепленной  $\beta$ -шпилькой. Получаемая в результате такого замыкания супервторичная структура может быть представлена в виде комбинации  $\beta\alpha\beta$ -единицы и  $\psi$ -мотива. На рис. 8 представлены четыре теоретически возможные комбинации  $\beta\alpha\beta$ -единицы и  $\psi$ -мотива. Комбинация левой  $\beta\alpha\beta$ -единицы и левого  $\psi$ -мотива в белках не обнаружена. Комбинация правого  $\psi$ -мотива и левой  $\beta\alpha\beta$ -единицы встречается в 11% случаев, комбинация левого  $\psi$ -мотива и правой  $\beta\alpha\beta$ -единицы – в 34% случаев, и комбинация правого  $\psi$ -мотива и правой  $\beta\alpha\beta$ -единицы – в 55% случаев [7]. Такое распределение частот встречаемости комбинаций объясняется тем, что с точки зрения стереохимии левые  $\beta\alpha\beta$ -единицы являются невыгодными структурами и в белках встречаются очень редко (менее 1%) [3, 4]. Однако отметим их относительно высокое содержание именно в комбинациях с  $\psi$ -мотивами (11%). Частота встречаемости левых  $\psi$ -мотивов в комбинациях (34%) также существенно выше, чем в других классах белков. Причины этого пока до конца не понятны, и для их выяснения требуются дальнейшие исследования.

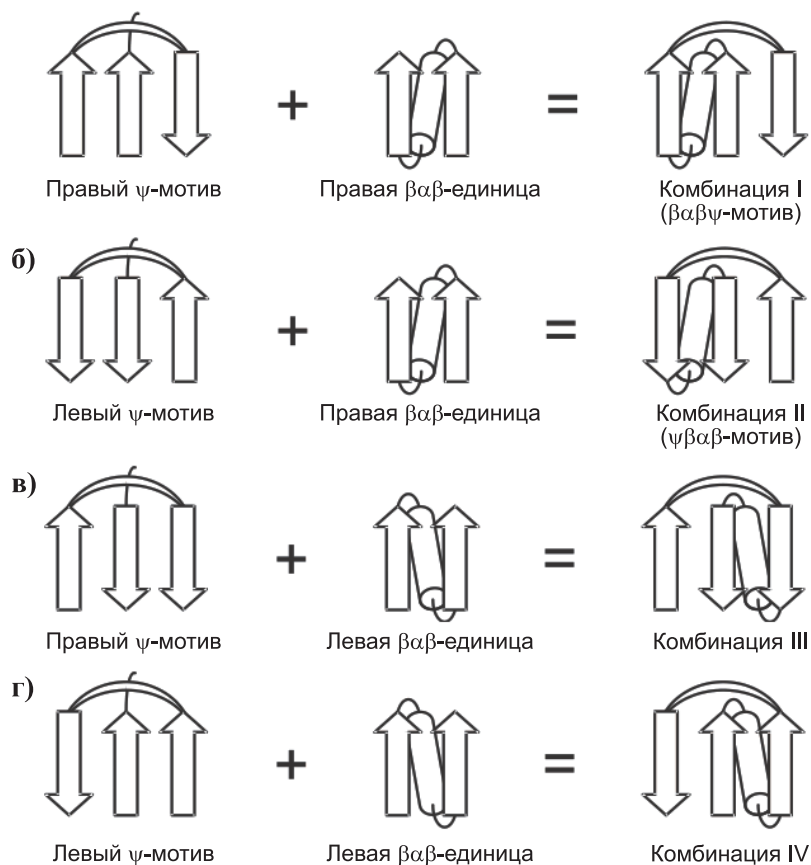


Рис. 8. Схематическое представление возможных комбинаций  $\beta\alpha$ -единицы и  $\psi$ -мотива.

## V. СТРУКТУРА В-ШПИЛЕК, ЗАМКНУТЫХ В ЦИКЛЫ SS-МОСТИКАМИ

В предыдущих разделах мы рассмотрели структуры, замкнутые в различные циклы водородными связями. Этот раздел посвящен структурам, которые замыкаются в циклы ковалентными связями в результате образования SS-мостиков. Особый интерес представляет тот факт, что замыкание участков полипептидной цепи в циклы с помощью SS-мостиков в большинстве случаев приводит к образованию структур с определенной хиральностью. Так, например, в негомологических белках было найдено 118  $\beta$ -шпилек, в которых SS-мостики образованы

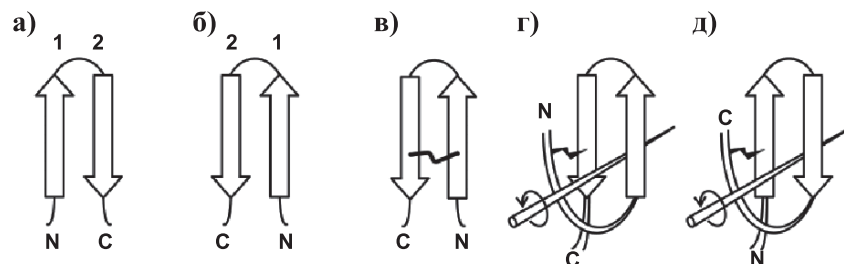


Рис. 9. Схематическое изображение правой (а) и левой (б)  $\beta$ -шпилек, левой  $\beta$ -шпильки, замкнутой в цикл SS-мостиком между  $\beta$ -тяжами (в), а также левых суперспиралей, образованных  $\beta$ -шпильками и петлями, примыкающими к ним с N-конца (г) или C-конца (д). Воображаемые оси вращения в суперспиральных показаны стержнями.

между цистеинами, расположенными напротив друг друга в соседних  $\beta$ -тяжах. Из них 110 являются левыми  $\beta$ -шпильками, если смотреть со стороны SS-мостиков (рис. 9в), и только 8 – правыми [22].

В другом типе структур SS-мостики образованы между двумя цистеинами, один из которых находится в  $\beta$ -тяже шпильки, а другой – в петле, примыкающей к  $\beta$ -шпильке с N- или C-конца (рис. 9г, д). В негомологичных белках было найдено 228 структур типа петля-шпилька, из них в 211 случаях полипептидная цепь образует в пространстве левую суперспираль и левую  $\beta$ -шпильку (рис. 9г). В большинстве структур типа шпилька-петля (рис. 9д) также образуется левая суперспираль в пространстве [22]. Высокая частота встречаемости левых суперспиралей определяется, в основном, взаимным расположением элементов в структурах более высокого порядка, в которые эти суперспирали входят как составные части. Наиболее часто они входят в состав abcd- и abCd-единиц и  $3\beta$ -уголков.

## VI. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, замкнутые в циклы структуры различного типа широко распространены на всех уровнях структурной организации белков. По-видимому, высокая частота встречаемости замкнутых структур является следствием их более высокой стабильности и большей кооперативности по сравнению с открытыми аналогами. Особый интерес представляет вторичное замыкание  $\beta$ -шпилек, трехтяжевых  $\beta$ -листов и  $\beta\alpha\beta$ -единиц с помощью различных суперспиралей, расщепленных  $\beta$ -шпилек и SS-мостиков, поскольку приводит к образованию структурных мотивов с уникальными укладками цепей и определен-

ной хиральностью (см. также [23]). При этом в каждую структуру более высокого порядка отбирается только одна из двух форм  $\beta$ -шпилек (левая или правая) или трехтяжевых  $\beta$ -листов (S- или Z-образный  $\beta$ -лист). Структурные мотивы с уникальными укладками цепей могут быть зародышами при сворачивании или стартовыми структурами при моделировании белков [5, 6]. Недавно проведенное теоретическое моделирование сворачивания белков с помощью структурных деревьев показало, что рост структур идет преимущественно по тем путям, которые ведут к образованию замкнутых структур [18]. Все это вместе, с одной стороны, подчеркивает особую роль замкнутых структур в сворачивании белков, а с другой стороны, указывает на необходимость их дальнейшего изучения.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ефимов А.В. (1986) Молекуляр. биология, **20**, 250–260.
2. Venkatachalam, C.M. (1968) Biopolymers, **6**, 1425–1436.
3. Rao, S.T., and Rossmann, M.G. (1973) J. Mol. Biol., **76**, 241–256.
4. Sternberg, M.J.E., Thornton, J.M. (1976) J. Mol. Biol., **105**, 367–382.
5. Efimov, A.V. (1994) Structure, **2**, 999–1002.
6. Efimov, A.V. (1997) Proteins, **28**, 241–260.
7. Каргатов А.М., Ефимов А.В. (2010) Биохимия, **75**, 305–312.
8. Ефимов А.В. (1982) Молекуляр. биология, **16**, 799–806.
9. Гордеев А.Б., Ефимов А.В. (2009) Молекуляр. биология, **43**, 521–526.
10. Efimov, A.V. (1993) FEBS Lett., **334**, 253–256.
11. Гордеев А.Б., Кондратова М.С., Ефимов А.В. (2008) Молекуляр. биология, **42**, 323–326.
12. Masacchio, A., Noble, M., Paupit, R., Wierenga, R., Saraste, M. (1992) Nature, **359**, 851–855.
13. Hunt, J.F., Weaver, A.J., Landry, S.J., Gierash, L., Deisenhofer, J. (1996) Nature, **379**, 37–45.
14. Deisenhofer, J., Epp, O., Miki, K., Huber, R., Michel, H. (1985) Nature, **318**, 618–624.
15. Murzin, A.G. (1993) EMBO J., **12**, 861–867.
16. Chen, L., Rose, J.P., Breslow, E., Yang, D., Chang, W.-R., Furey, W.F., Jr., Sax, M., Wang, B.-C. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **88**, 4240–4244.
17. Efimov, A.V. (1992) FEBS Lett., **298**, 261–265.
18. Бошкова Е.А., Ефимов А.В. (2010) Биохимия, **75**, 1417–1423.
19. Ефимов А.В. (2008) Биохимия, **73**, 29–35.
20. Suguna, K., Bott, R.R., Padlan, E.A., Subramanian, E., Sheriff, S., Cohen, G.H., Davies, D.R. (1987) J. Mol. Biol., **196**, 877–900.
21. Castillo, R.M., Mizuguchi, K., Dhanraj, V., Albert, A., Blundell, T.L., Murzin, A.G. (1999) Structure, **7**, 227–236.
22. Бражников Е.В., Ефимов А.В. (2010) Молекуляр. биология, **44**, 529–534.
23. Efimov, A.V. (2010) Biochem. Biophys. Res. Commun., **399**, 412–415.