

В. И. ЛИМ

**СТРУКТУРНЫЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ БЕЛКОВОЙ ЦЕПИ
ПРИ ФОРМИРОВАНИИ НАТИВНОЙ ГЛОБУЛЫ.
ГИПОТЕЗА «ИЗБЫТОЧНЫХ» СПИРАЛЕЙ**

(Представлено академиком А. С. Спириным 20 III 1975)

Многочисленные успешные опыты по ренатурации глобулярных белков *in vitro* показали, что процесс формирования пространственной структуры белка есть процесс, детерминированный аминокислотной последовательностью полипептидной цепи. Это дает возможность попытаться понять молекулярный механизм сворачивания белковой цепи в нативную структуру путем анализа общих закономерностей, наблюдаемых в первичных и пространственных структурах глобулярных белков. Такой анализ привел нас к формулировке гипотезы о механизме формирования пространственной структуры белковой цепи. Основные положения этой гипотезы сводятся к следующему.

1. На раннем этапе формирования структуры белка, когда дальнейшие взаимодействия отсутствуют, локальные взаимодействия заготавливают из отдельных участков полипептидной цепи флуктуирующие α -спирали. Эти отдельные участки в сумме охватывают большую часть всей длины цепи и для них α -спиральная конформация является более вероятной, чем любая другая.

2. На следующем этапе дальнейшие взаимодействия формируют из этих α -спиралей высокоспиральную промежуточную глобулу, которая имеет избыточную степень спиральности по сравнению со степенью спиральности, обычно наблюдаемой в нативной глобуле. Эта высокоспиральная промежуточная глобула уже содержит все нативные спирали.

3. Наконец, высокоспиральная промежуточная глобула переходит в нативную пространственную структуру. Этот переход осуществляется раскручиванием избыточной доли спиралей и не сопровождается разрушением глобулярной структуры.

Нами было предпринято стереохимическое моделирование предложенного механизма на полипептидных цепях белков с известной пространственной структурой. В полипептидных цепях были найдены участки, которые в α -спиральной конформации отвечают стереохимическим требованиям встраивания α -спиралей в глобулярную структуру, состоящую из гидрофобного ядра и полярной оболочки. Эти стереохимические требования представляют собой смягченные стереохимические требования, которые были сформулированы (¹, ²) для α -спиралей в нативных глобулярных белках. Для самых различных глобулярных белков (в частности, имеющих в нативной конформации различную степень спиральности и β -формы) была выявлена одна четкая закономерность. Оказалось, что участки, удовлетворяющие смягченным стереохимическим требованиям, составляют в сумме примерно три четверти всей длины цепи белка. В состав этих участков входят и все те участки, которые в нативной структуре имеют спиральную конформацию. Для обозначения спиральных участков, удовлетворяющих стереохимическим требованиям встраивания в глобулярную структуру и включающих в себя как нативные, так и избыточные спирали, мы будем в дальнейшем употреблять термин «структурообразующие». Оказалось

возможным с помощью атомных моделей Кори — Полинга собрать из структурообразующих спиралей высокоспиральную глобулу, в которой большая часть (~80%) гидрофобных боковых групп образует гидрофобное ядро (ядра), а полярные боковые группы сосредоточены на ее поверхности. Такая сборка была проведена нами с С. А. Козициным на полипептидных цепях молекул ингибитора трипсина, проинсулина, РНКазы, парвальбумина карпа и химотрипсина. В каждом из этих случаев мы смогли собрать только одну уникальную высокоспиральную глобулу. Для получившихся высокоспиральных глобул составлены карты расстояний между C^α -атомами аминокислотных остатков, далеко разнесенных по цепи. Сравнение этих карт расстояний с картами расстояний для нативных структур показало очень большое сходство между ними. Это означает, что высокоспиральная глобула может быть трансформирована в нативную без сильного смещения одних участков цепи по отношению к другим, т. е. без разрушения глобулярной структуры. Таким образом, даже неполное стереохимическое моделирование предложенного механизма дает грубое разрешение третичной структуры глобулярных белков на базе знания только аминокислотной последовательности. Это, несомненно, является сильным аргументом в пользу предложенной гипотезы.

Нам неизвестны экспериментальные факты, которые противоречили бы предложенному механизму формирования пространственной структуры белка. В то же время можно найти немало закономерностей в первичной и пространственной структурах глобулярных белков, хорошо согласующихся с нашей гипотезой. Так, например, анализ аминокислотных последовательностей большого числа глобулярных белков, проведенный нами, показал, что в структурообразующих спиральях всегда преобладают «спиралеобразующие» аминокислотные остатки. Этот факт служит подтверждением нашего представления о том, что на раннем этапе формирования структуры белка α -спиральная конформация является наиболее вероятной для большей части всей длины полипептидной цепи. Теоретические расчеты ⁽³⁾ профилей спиральности развернутой цепи белка с использованием экспериментально найденных констант перехода спираль — клубок также согласуются с этим представлением.

Для белков с низким содержанием α - и β -структуры переход из высокоспиральной промежуточной глобулы в нативную будет сопровождаться потерей большого количества водородных связей. Поэтому, чтобы такой переход был осуществим, необходимо, чтобы в процессе перехода образовывались сильные связи, способные скомпенсировать потерю большого числа водородных связей. Это следствие гипотезы хорошо согласуется с данными рентгеноструктурного анализа. Белки, в которых степень спиральности и β -формы в сумме гораздо меньше 50%, обычно имеют различные типы сильных связей (дисульфидные мостики, координационные связи с кофактором), скрепляющие между собой участки, далеко отстоящие друг от друга вдоль цепи ⁽⁴⁾. Из эксперимента также известно ⁽⁴⁻⁸⁾, что дисульфидные мостики между ближайшими по цепи остатками цистеина встречаются сравнительно редко. В рамках предложенной гипотезы это легко объясняется тем, что структурообразующие спирали, как правило, не позволяют пространственно сблизиться ближайшим по цепи цистеинам, в результате чего эти цистеины не могут образовать между собой дисульфидные связи как в составе высокоспиральной глобулы, так и при расплетании избыточной доли спиралей.

Постулируемое гипотезой раскручивание избыточной доли спиралей в процессе перехода высокоспиральной глобулы в нативную приводит к ряду экспериментально наблюдаемых закономерностей в распределении углов ϕ и ψ основной цепи белка. Так, например, стереохимический анализ расплетания α -спирали обнаруживает, что на С-конце α -спирали вывод крайнего остатка из спирального состояния стерически невозможен без предварительного перевода двух предшествующих по цепи остатков в конформацию

спирали Z_{10} . Расплетание N-конца спирали не вызывает никаких стерических затруднений. Действительно, в расшифрованных к настоящему времени пространственных структурах белков (¹⁻⁸) мы, как правило, наблюдаем наличие витка спирали Z_{10} на C-концах большинства спиралей и слабо печатные α -спиральные N-концы.

Все вышеизложенное позволяет нам надеяться, что предлагаемая гипотеза открывает реальный путь к построению теории третичной структуры глобулярных белков. В заключение отметим, что эта гипотеза концентрирует внимание лишь на принципиальной стороне процесса формирования структуры белка, запрограммированного в его первичной структуре, и не рассматривает дополнительные механизмы, возможно действующие *in vivo* и обеспечивающие в этих условиях повышенную быстроту сборки пространственной структуры белка.

Автор сердечно благодарит академика А. С. Спирина и О. Б. Птицына за полезные дискуссии и ценные советы по написанию статьи.

Институт белка
Академии наук СССР
Пушкино-на-Оке

Поступило
10 III 1975

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. И. Лим, Биофизика, т. 19, 366 (1974). ² V. I. Lim, J. Mol. Biol., v. 88, 857 (1974). ³ А. И. Денесюк, О. Б. Птицын, А. В. Филькенштейн, Биофизика, т. 19, 549 (1974). ⁴ B. W. Matthews, The Proteins, 3 Ed., v. 3, N. Y.—London, 1973, p. 1. ⁵ H. C. Watson, In: Progress in Stereochemistry, v. 4, Butterworth—London, 1969, p. 299. ⁶ H. W. Wyckoff, D. Tsernoglou et al., J. Biol. Chem., v. 245, 305 (1970). ⁷ A. Arnone, C. J. Bier et al., J. Biol. Chem., v. 246, 2302 (1971). ⁸ C. E. Nockolds, R. H. Kretsinger et al., Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., v. 69, 581 (1972).