



УДК 577.21 : 275.113

© 1992 г. Г. И. Чипенс, Н. Г. Иевиня, Э. Э. Цилинскис

СКРЫТАЯ СИММЕТРИЯ ПЕРВИЧНЫХ СТРУКТУР  
ПЕПТИДОВ И БЕЛКОВ*Институт органического синтеза Латвийской академии наук, Рига*

Рассмотрено явление внутренней симметрии пептидных цепей. Для идентификации симметрично расположенных эквивалентных аминокислот использован принцип сигнатур и код корней кодонов аминокислот. Выявлена скрытая симметрия аминокислотных последовательностей пептидов и белков и их активных центров. Аминокислоты, имеющие общие корни кодонов в первичных (и предположительно в пространственных, «биологически активных») структурах молекул, расположены симметрично. Определение локальных симметрий пептидных цепей предложено использовать как один из элементов многофакторного анализа для установления расположения активных центров молекул.

В работах [1–3] нами развита гипотеза и модели, согласно которым в регуляции биохимических и физиологических процессов организма наряду с гормонами желез внутренней секреции («первая» система биорегуляции) и тканевыми гормонами или кининами («вторая» система биорегуляции) не менее важное значение имеет также «третья» система биорегуляции, действующая посредством олигопептидов — продуктов ограниченного протеолиза белков, которые образуются вблизи рецепторов (расстояние между точками их образования и действия сопоставимо с размерами клеток). Предполагается, что олигопептиды «третьей» системы биорегуляции функционируют как локальные и внутриклеточные гормоны и имеют особое значение в процессах взаимодействия иммунокомпетентных клеток tête-à-tête, поэтому они получили условное название «тетиньы» [1–3].

Существенное значение для дальнейшего развития и экспериментальной проверки концепции тетинь имеет разработка методов, позволяющих определить их расположение в молекулах белков-предшественников. По существу это вопрос об определении априори локализации активных центров молекул. Для этих целей нами разрабатывается комплексный подход — так называемый многофакторный анализ. Один из компонентов этого анализа — исследование внутренней симметрии первичных структур пептидных цепей. Проведенные нами исследования свидетельствуют о том, что большинство активных центров белков и пептидов расположены в участках молекул, имеющих преимущественно симметричную структуру.

В определении скрытой симметрии пептидных цепей нами использована концепция сигнатур [2–5]. Эквивалентность аминокислот и их функций (что обуславливает скрытую симметрию пептидных цепей) определяется или общими физико-химическими свойствами аминокислот, несмотря на их разную химическую структуру (см. структуру кода корней кодонов аминокислот, табл. 1), или прямым сходством и общностью элементов их химических структур [6–8]. Так, например, хотя код корней кодонов аминокислот в определении симметрии пептидных цепей доминирует, в отдельных случаях симметрию определяют другие факторы, такие, как сход-

Группы природных аминокислот и структура кода корней кодонов \*

Группы эквивалентных аминокислот	Общий корень кодонов *	Состав групп	Условия кодового взаимодействия
Группа аденина урацила гуанина цитидина	A U G C	H, E, K, N, D, Q, Y V, I, L, M, F G, R, S, W, C T, A, P, S	В водной среде взаимодействуют аминокислоты, имеющие комплементарные корни кодонов A-U(T) и G-C

\* Корень кодона — условное обозначение для основания второго нуклеотида. Оно использовано также для обозначения групп аминокислот.

ство зарядов, функциональных групп или других структурных элементов, несмотря на разные корни кодонов соответствующих аминокислот. Важное значение имеет также конформация пептидной цепи, в образование которой существенный вклад вносит глицин, пролин и аминокислоты с разветвлением бокового радикала у C<sup>β</sup>-атома. Эти аминокислоты в определенных положениях пептидной цепи также могут быть эквивалентными.

Общее представление о потенциальной эквивалентности природных аминокислот, лишенных общих корней кодонов, дает таблица 2, в которой приведены статистические данные об акцентированных точечных мутациях [9] и потенциальных изоморфных заменах аминокислот [10], рассчитанных на базе анализа большого массива первичных структур белков. Данные табл. 2, свидетельствующие о структуре кода корней аминокислот (т. е. замены аминокислот внутри групп A, U, G и C, табл. 1), выделены в квадратах. Видно, что некоторые пары аминокислот, не имеющие общих корней кодонов, но имеющие высокие значения коэффициентов изоморфного сходства, также часто обмениваются в структурах белков в результате точечных мутаций (например, R/K, S/N, A/G, F/Y и др.) и, следовательно, могут быть рассмотрены как потенциально эквивалентные и «симметричные».

Особо следует отметить возможную эквивалентность лейцина и треонина, которая зафиксирована генетическим кодом митохондрий. Например, в митохондриях дрожжей треонин кодируется восьмью триплетами, в том числе и CUN (в *E. coli* код CUN определяет лейцин) [11]. В рис. 2–6 данной работы аминокислоты внутри групп G, A, C и U, а также лейцин и треонин рассматриваются как потенциально эквивалентные и их симметричное расположение в пептидных цепях отмечено однотипно.

Существование симметрии в структурах и аминокислотных последовательностях пептидов и белков отмечалось в ряде научных работ [12–14]. Показано, что в пределах одной полипептидной цепи часто встречаются повторяющиеся структурные единицы, которые расположены симметрично. Такими структурными единицами могут быть как небольшие фрагменты пептидной цепи, так и более крупные элементы, вплоть до доменов белковых глобул. Отмечено, что предпочтительность симметрии является следствием энергетически выгодной упаковки структурных элементов молекул [12].

К особому типу, который исследован в меньшей степени, относится зеркальный тип симметрии элементов первичных структур пептидных цепей [14]. Впервые на этот тип симметрии было обращено внимание при исследовании реакции квазициклизации, а также структуры активных центров интерферонов и иммуноглобулинов в связи с проблемой межсистемной передачи информации (рис. 1) [2, 15, 16].

Число ( $\times 10$ ) акцентированных точечных мутаций в структурах семейств гомологичных белков (левая нижняя половина таблицы) [9] и коэффициенты изоморфного сходства аминокислот в первичных структурах [10] (правая верхняя половина таблицы)

	D	N	Y	H	E	K	Q	V	I	M	L	F	G	R	S	C	W	S	P	A	T	
D		32	-22	10	34	10	8	-32	-39	-16	-40	-31	8	2	7	-20	-20	7	1	3	11	D
N	532		-13	8	13	17	12	-30	-32	-12	-35	-23	10	11	1	-7	-6	1	8	-8	12	N
Y	0	36		12	-28	-21	-23	17	29	8	16	24	-18	0	-16	5	6	-16	-9	-18	-2	Y
H	43	226	40		-8	-4	-4	-10	3	-8	-9	-10	-8	0	-3	3	-6	-3	-2	-10	-7	H
E	831	94	10	23		24	37	-20	-36	-17	-40	-40	-5	11	-10	-18	-10	-10	-7	12	-12	E
K	85	322	10	23	104		26	-14	-17	-19	-33	-26	-11	24	-10	-14	-10	-10	-2	2	-8	K
Q	76	50	0	243	422	147		-12	-20	-12	-26	-22	-10	26	-7	-8	-3	-7	0	0	-10	Q
V	17	13	17	30	37	17	27		46	10	26	46	-14	-18	-16	8	14	-16	-18	-12	-4	V
I	13	36	13	3	35	43	8	661		18	46	32	-21	-25	-17	12	12	-17	-18	-17	-5	I
M	0	0	0	0	7	90	20	77	57		24	20	-10	0	-10	2	12	-10	-10	-2	-8	M
L	0	37	23	40	15	39	75	203	253	207		36	-16	-24	-11	15	8	-11	-16	-6	-11	L
F	0	7	260	20	0	0	0	10	90	17	167		-12	-11	0	11	8	0	-2	-8	4	F
C	162	156	0	10	112	60	30	97	0	7	17	17		-6	9	-1	-13	9	4	-3	-13	C
R	0	17	3	103	0	477	120	20	30	17	17	7	10		-10	-12	-7	-10	-4	-2	-5	R
S	98	432	22	26	86	168	47	43	20	20	32	40	450	137		-6	-18	-	15	10	24	S
C	0	0	30	10	0	0	0	33	17	0	0	0	10	10	117		8	-6	-3	4	-4	C
W	0	3	6	3	0	0	0	0	0	0	13	10	0	27	17	0		-18	-9	-12	-8	W
S	98	432	22	26	86	168	47	43	20	20	32	40	450	137	-	117	17		15	10	24	S
P	10	27	0	50	40	43	93	50	7	4	43	7	49	67	269	10	0	269		-2	2	P
A	154	109	20	21	266	57	93	365	66	29	95	20	579	30	772	33	0	772	345		-3	A
T	57	169	23	14	31	200	37	186	129	28	52	10	50	20	696	10	0	696	73	590		T

Примечание. В квадратах расположены данные для групп аминокислот с общим корнем кодонов A, U, G и C (см. табл. 1).

Результаты исследования симметрии структур пептидных цепей с применением новой концепции об эквивалентности аминокислот, имеющих общие корни кодонов (см. табл. 1), показали, что зеркальная симметрия фрагментов цепей весьма распространена в структурах как пептидов, так и белков. Плоскость симметрии можно провести через одну аминокислоту (тип *baaab*) или через две аминокислоты, так называемое ядро. Ядро может быть симметричным (тип *cbaacbc*) или асимметричным (тип *cbabbc*). Значение этих центральных элементов следует выяснить. Не исключено, что в отдельных случаях они определяют разные изгибы пептидных цепей (например,  $\gamma$ - или  $\beta$ -изгибы).

На рис. 2 в качестве примера высокосимметричных структур приведены N-концевые аминокислотные последовательности нейроиммунорегуляторных пептидов паратимозина и протимозина, которые имеют сходные первичные структуры и несколько центров симметрии ( $A^8$  и  $S^8$ ,  $K^{19}K^{20}$  и  $A^{27}S^{28}$ ). Аминокислоты, имеющие общие корни, соединены волнообразными линиями. Таким образом, четко выделяются три симметричных фрагмента, предполагаемые активные центры молекул, структуры которых частично перекрываются — 1—14, 15—24 и 25—31. Согласно концепции третьей системы биорегуляции [2], фрагменты, содержащие эти симмет-

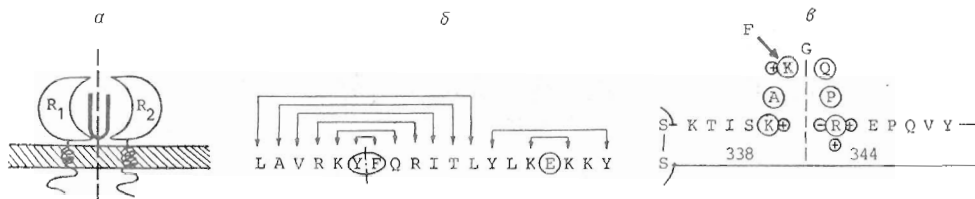


Рис. 1. Элементы симметрии в структурах и активных центрах молекул лигандов и рецепторов: а — модель взаимодействия симметричного пептидного лиганда с субъединицами клеточного рецептора  $R_1$  и  $R_2$ ; б — фрагмент 118–136 интерферона- $\alpha$  [15]; стрелками показано симметричное расположение аминокислот относительно центров YF и E; в — фрагмент 338–344 иммуноглобулина IgG, содержащий иммуномодулятор ригин GQPR [2, 3]; аминокислоты, отмеченные кружками, симметричны по отношению к оси и имеют общие физико-химические свойства

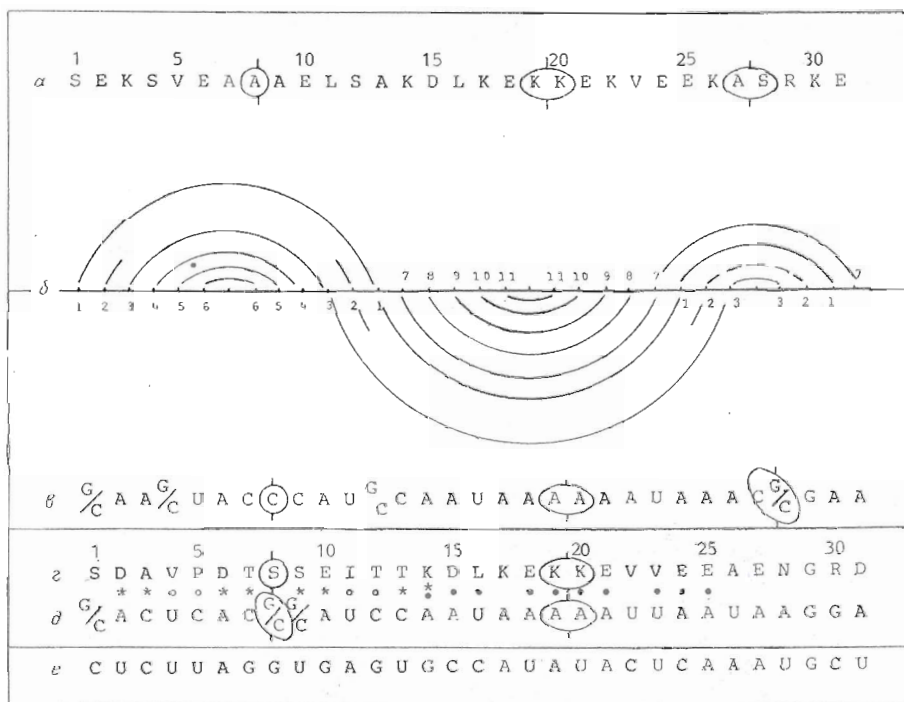


Рис. 2. Внутренняя симметрия пептидных цепей: а — N-концевой фрагмент паратимозина; б — графическое отображение симметричного расположения аминокислот, имеющих общие корни кодонов; в — корни кодонов аминокислот ряда а (серия кодируется двумя группами кодонов с корнями G и C); г — N-концевой фрагмент протимозина; д — корни кодонов аминокислот ряда г. Симметрично расположенные аминокислоты (и корни) отмечены звездочкой (центр — серия 8) или черной точкой (центр — дублет лизина 19–20). Белым кружком отмечено сходство структур (V и T) или конформационных особенностей (I и P) аминокислот; е — контроль — случайное расположение корней кодонов аминокислот

ричные структуры (или их асимметричные половины), могут получаться в реакциях ограниченного протеолиза и выполнять самостоятельные функции в процессах биорегуляции. Имеющиеся в литературе данные по биологической активности фрагментов тимозинов хорошо согласуются с результатами проведенного анализа. Так, фрагмент 1–14 протимозина (но не 15–28) индуцирует образование интерлейкина-2 и стимулирует экспрессию его рецептора в клетках селезенки [17]. Из синтезированных

(33) K D V Y V (E) L Y L Q H (43)  
 \* \* \* \* \*  
 A A U A U (A) U A U A A

a

(87) A S V I T H T G (A) S G N N F V E C T (104)  
 \* \* \* \* \*  
 C G U U C A C C G (G) G A A U U A G C

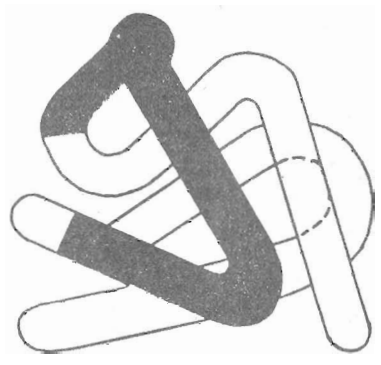
b

(48) S Q R P R K K E D N V (L) V E S H Q K S L G E A (70)  
 \* \* \* \* \*  
 G A G C C G A A A A U U (U) U A A G A A A G U G A C

b

(48) H L K T E A E M K A S E D L K K H G V T V L (T) A L G A I L K K K G H H E A E L K P L A Q S H (93)  
 \* \* \* \* \*  
 A U A C A S A U A C (G) A A U A A A G A U C S A U A C U C A (A)

2



d

Рис. 3. Симметрия петлиидных цепей в структурах молекул тимопогина (a), паратормона (b), рибонуклеазы T1 (e) и миоглобина каша-лога (z). Порядковые номера концевых аминокислот фрагментов указаны в скобках. Расположение фрагмента (z) в структуре миоглобина (d) показано черным

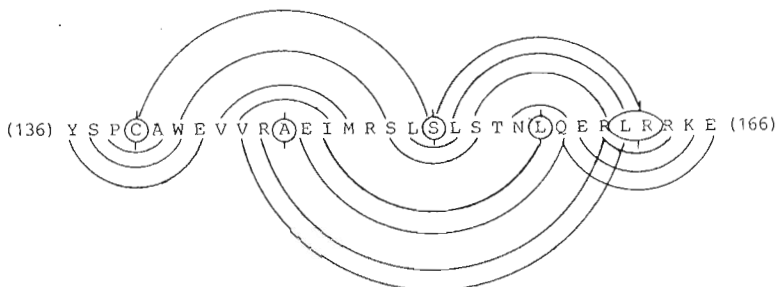


Рис. 4. Альтернативные варианты симметричных участков пептидной цепи в С-концевом фрагменте интерферона- $\alpha$ ; аминокислоты, имеющие общие корни кодонов, соединены дугами

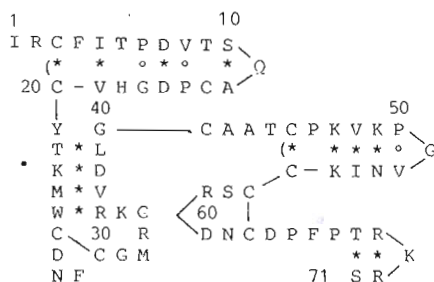


Рис. 5. Симметрия первичной и пространственной структуры длинного змеяного нейротоксина- $\alpha$  (*Naja nivea*). Аминокислоты, имеющие общие корни, отмечены звездочкой, аминокислоты, имеющие общие свойства, но разные корни, — кружочком

11 фрагментов протимозина района 17–28 (17–24, 18–24, 19–24, 20–24, 21–24, 20–25, 20–26, 20–27, 20–28, 25–27, 25–28) наиболее высокую активность в специфическом тесте розеткообразования (ингибированные азатиоприном) показал фрагмент 17–24, содержащий наиболее полную последовательность второго центра симметрии протимозина [18]. Проверка гипотезы о симметрии активных центров про- и паратимозинов безусловно требует целенаправленного синтеза модельных пептидов и изучения их биологической активности, однако бесспорным кажется утверждение, что симметричное расположение аминокислот в структурах этих регуляторных пептидов не случайность и имеет важное функциональное значение. При случайном выборе символов корней кодонов наблюдаются лишь рудиментарные признаки симметрии.

Наличие симметрии в структурах пептидных цепей характерно не только для гормонов и иммунорегуляторов, но и для белков, выполняющих другие функции — например, ферментативные или функции хранения и переноса кислорода (см., например, структуры фрагментов тимопоэтина, паратимозина, рибонуклеазы Т1, миоглобина, рис. 3). Симметрия имеет место как в  $\alpha$ -спиральных (миоглобин), так и в  $\beta$ -структурных (нейротоксины змей) участках белков. Но выраженность симметрии и длина симметричных участков весьма различна. Если, например, на N-конце паратимозина (см. рис. 2) симметричная структура выражена ярко и однозначно, то на С-конце интерферона- $\alpha$  возможны альтернативные варианты (рис. 4).

Наряду с рибонуклеазой молекула миоглобина была выбрана для анализа в качестве «контрольного» белка, не обладающего гормоноподобными функциями. Выявление в миоглобине длинного симметричного фрагмента, занимающего треть молекулы, поднимает ряд существенных вопро-

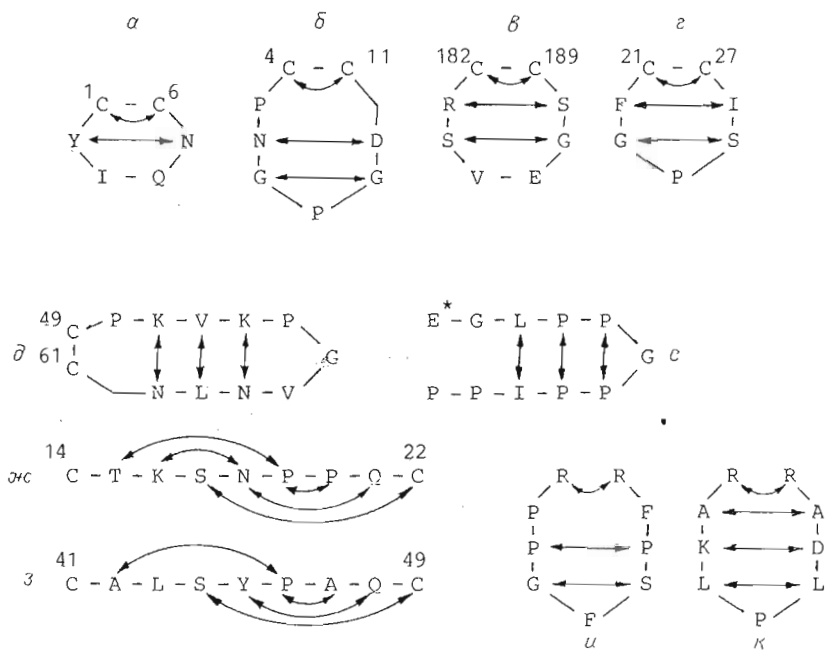


Рис. 6. Симметричное расположение аминокислот, имеющих общие корни, в структурах дисульфидных циклов и линейных пептидов: окситоцин (а), пролактин (б), гормон роста (с), нейрофизин (z), короткий нейротоксин среднеазиатской кобры (d), брадикининпотенцирующий пептид С (е), ингибитор Баумана – Бирка (ж, з), брадикинин (u), С-концевой фрагмент фибринопептида В овцы (κ)

сов. Прежде всего это касается механизмов образования симметричных первичных структур. Симметричная структура цепи может быть не только продуктом, но и исходной точкой для эволюции. Вряд ли симметричный фрагмент цепи миоглобина, содержащий около 50 аминокислотных остатков, мог образоваться в результате случайных мутаций. Трудно объяснить функциональное значение такой симметрии для молекулы миоглобина, как депо кислорода. Более вероятным кажется допущение, что существуют (или существовали) механизмы, обеспечивающие образование симметричных структур в процессе биосинтеза нуклеиновых кислот или белков. Симметричная структура, если она важна для выполнения функций белка, в ходе эволюции сохраняется. В противном случае она теряется в результате точечных мутаций. Следует учесть, что симметричная первичная структура определяет специфическую пространственную структуру белка и эта симметрия может быть «законсервирована» необходимостью сохранения его третичной структуры.

В молекулах длинных нейротоксинов змей обращает на себя внимание не только симметрия β-структурных образований, но и то, что эти структуры закреплены дисульфидными мостиками (рис. 5). Это побудило нас рассмотреть структуры как малых дисульфидных циклов, так и линейных пептидов, образующих в аполярной среде с помощью солевых мостиков квазициклические структуры (см. гипотезу об эквивалентности дисульфидных и солевых мостиков [19, 20]). В большинстве случаев все эти структуры высокосимметричны (рис. 6).

Симметрия активных центров регуляторных пептидов (гормонов, кининов, нейро- и иммунопептидов и др.) несомненно отражает симметрию активных центров рецепторных белков [14]. Симметричное строение, по-

видимому, имеют рецепторы не только поверхностных мембран, но и внутриклеточных мишеней в ядре клетки. Симметричная структура лиганда может быть необходима как для взаимодействия с субъединицами рецептора (см. рис. 1), так и для образования микрокластеров рецепторов (см. механизмы интернализации и внутриклеточного действия пептидных лигандов [24, 22]).

Концепция о «третьей» системе биорегуляции [1–3] и анализ первичных структур пептидных цепей с использованием кода корней кодонов аминокислот [6] привел к неожиданным результатам — к выявлению скрытой симметрии аминокислотных последовательностей не только регуляторных пептидов, но и белков. В связи с этим перспективными кажутся три направления исследований:

- 1) анализ большого массива первичных структур белков с целью получения исчерпывающих данных о симметрии,
- 2) целенаправленный синтез и изучение биологической активности модельных пептидов разной длины и разной локализации в пределах симметричных фрагментов регуляторных пептидов.
- 3) использование явления симметрии пептидных цепей для установления локализации активных центров в молекулах регуляторных пептидов и белков (синтез соответствующих пептидов и исследование их биологической активности).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Chipens G., Vegners R., Ievina N., Rosenthal G. // Imm. Res. 1987. V. 5. № 4. P. 314–327.
2. Chipens G. // Adv. Drug Deliv. Rev. 1988. V. 2. № 2. P. 167–206.
3. Чипенс Г. И. // Структурные основы действия пептидных и белковых иммунорегуляторов. Рига: Зинатне, 1990. С. 7–48.
4. Chipens G. I., Krikis A., Polevaja L. K. // Biophysical and Biochemical Information Transfer in Recognition/Eds Vassileva-Popova J. G., Jensen E. V. New York; London: Plenum Press, 1979. P. 23–48.
5. Чипенс Г. И. // Структура и функции низкомолекулярных пептидов. Рига: Зинатне, 1980. С. 11–124.
6. Чипенс Г. И., Иевина Н. Г., Рудзис П. В. // Биоорг. химия. 1991. Т. 17. № 11. С. 1582–1584.
7. Чипенс Г. И. // Биоорг. химия. 1991. Т. 17. № 10. С. 1335–1346.
8. Чипенс Г. И., Гиложедова Л. Е., Иевина Н. Г., Кудрявцев О. Э., Рудзис П. В., Склярова С. Н. // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1989. Т. 25. № 5. С. 654–663.
9. Dayhoff M. O. Atlas of Protein Sequence and Structure. 1978. V. 5, suppl. 3. Nat. Biom. Res. Foundation, Washington.
10. Tádós E., Cserző M., Simon J. // Int. J. Peptide and Protein Res. 1990. V. 36. № 3. P. 236–239.
11. Jukes T. H., Osawa S. // Experientia. 1990. V. 46. № 11/12. P. 1117–1126.
12. Шульц Г., Шармер Р. Принципы структурной организации белков. М.: Мир, 1982. С. 111–116.
13. Erhan S., Lurry D., Rasco G., Rasco B. // Int. J. Peptide and Protein Res. 1977. V. 9. № 1. P. 5–10.
14. Beddell C. R., Skeppcy G. C., Blundell T. L., Sasaki K. S., Dockerill S., Goodford P. J. // Int. J. Peptide and Protein Res. 1977. V. 9. № 2. P. 161–165.
15. Чипенс Г. И., Иевина Н. Г. Научно-методические аспекты биологических исследований новых лекарственных препаратов. Рига: Зинатне, 1987. С. 247–271.
16. Чипенс Г. И., Корнева Е. А., Склярова С. Н., Клименко В. М., Вегнер Р. Э. // Бюл. экстерим. биологии и медицины. 1988. № 4. С. 466–469.
17. Franca D., Adorini L., Mancini C., Doria G. // 6th Int. Congr. Immunol. Toronto, June 6–11, 1986. Abstr. Ottawa, 1986. P. 73.
18. Ciardeli T.-L., Incefy G. S., Birr Ch. // Biochemistry. 1982. V. 21. № 18. P. 4233–4237.
19. Chipens G. I., Polevaja L. K., Nikiforovich G. V. // Intern. J. Sulfur Chemistry Incorpor. Phosphorus. 1979. V. 6. № 1. P. 61–62.
20. Волосая Л. К. Структура и функции низкомолекулярных пептидов. Рига: Зинатне, 1980. С. 142–177.
21. Carpentier J.-L. // Mol. Immunology. 1984. V. 21. № 12. P. 1157–1159.
22. Чипенс Г. И., Фрейдлин И. С., Склярова С. Н. // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1987. Т. 23. № 3. С. 361–372.



G. CHIPENS, N. IEVINA, E. CILINSKIS

**HIDDEN SYMMETRY OF THE PRIMARY STRUCTURES  
OF PEPTIDES AND PROTEINS**

*Institute of Organic Synthesis, Latvian Academy of Sciences, Riga*

The internal symmetry of peptide chains was considered. To identify symmetrically located equivalent amino acids, the signatures method and the code of amino acid-codon roots were applied. There was revealed the hidden symmetry of amino acid sequences of peptides and proteins as well as of their active centres. Amino acids having common codon roots in primary (and supposedly in the spatial «biologically active») molecular structures, are located symmetrically. Definition of local symmetry of peptide chains was proposed to use as one of the elements of complex analysis to determine location of molecule active centres.