



УДК 547.96

## ВТОРИЧНАЯ СТРУКТУРА РАЗВЕРНУТОЙ БЕЛКОВОЙ ЦЕПИ

Финкельштейн А. В.

Институт белка Академии наук СССР, г. Пущино, Московская область

Рассмотрено образование флуктуирующих  $\alpha$ -спиралей и листов антипараллельной  $\beta$ -структуры в развернутой белковой цепи. Показано, что наиболее вероятная локализация  $\alpha$ - и  $\beta$ -структур в развернутой цепи соответствует локализации этих структур в нативном белке. Отмечено формирование в развернутой цепи больших  $\alpha$ - и  $\beta$ -структурных блоков, каждый из которых охватывает несколько участков нативной вторичной структуры.

Самоорганизация глобулярного белка *in vitro* начинается с формирования в развернутой еще белковой цепи флуктуирующих зародышей локальных вторичных структур ( $\alpha$ -спиралей,  $\beta$ -структурных листов, фрагментов нерегулярных структур). Самоорганизация зародышей  $\alpha$ -спиралей и достаточно стабильной  $\beta$ -структуры занимает не более  $10^{-4}$  с [1, 2], в то время как сворачивание белковой цепи в глобулу — не менее  $10^{-2}$  с [3].

Наиболее стабильные  $\alpha$ -спирали и  $\beta$ -структурные листы, образовавшиеся на этой первой стадии, могут служить блоками для последующей самоорганизации. Нерегулярные структуры малы, как правило, нестабильны, слабо выражены и поэтому слабо влияют на самоорганизацию белка [4].

Стабильность фрагментов  $\alpha$ - и  $\beta$ -структуры определяется в основном произведением параметров стабильности  $s_\alpha = \exp\left(-\frac{\Delta F_\alpha}{RT}\right)$  и  $s_\beta = \exp\left(-\frac{\Delta F_\beta}{RT}\right)$  остатков, вовлеченных в эти структуры (здесь  $\Delta F_\alpha$ ,  $\Delta F_\beta$  — изменение свободной энергии остатка при переносе его из клубка в  $\alpha$ - или  $\beta$ -структуру), а также свободной энергией инициации  $\alpha$ -спирали  $\Delta F_\alpha^{\text{init}}$ , свободной энергией изгиба в  $\beta$ -структуре  $\Delta F_\beta^{\text{bend}}$  и избыточной свободной энергией остатков краевых цепей  $\beta$ -структурного листа  $F_\beta^{\text{inarg}}$  (ср. [2]). Мы полагали  $\Delta F_\alpha^{\text{init}} \approx 4$  ккал/моль в соответствии с экспериментальными данными [5]; теоретическая оценка дает  $\Delta F_\beta^{\text{bend}} \approx 3,5$  ккал/моль и  $\Delta F_\beta^{\text{inarg}} \approx 0,3$  ккал/моль в соответствии с формулой (6) статьи [2].

Параметры  $s_\alpha$  и  $s_\beta$  экспериментально установлены только для некоторых из 20 природных аминокислотных остатков; параметры  $s_\alpha$  и  $s_\beta$  остальных остатков (рис. 1) оценены при помощи развитой нами стереохимической теории [6, 7]. Краевые эффекты в  $\alpha$ - и  $\beta$ -структуре и свободная энергия взаимодействий боковых групп остатков также оценивались теоретически; результаты будут подробно изложены в отдельной работе.

Алгоритм расчета вероятности образования  $\alpha$ - и  $\beta$ -структуры в белковой цепи основан на модификации модели одномерной кооперативной си-

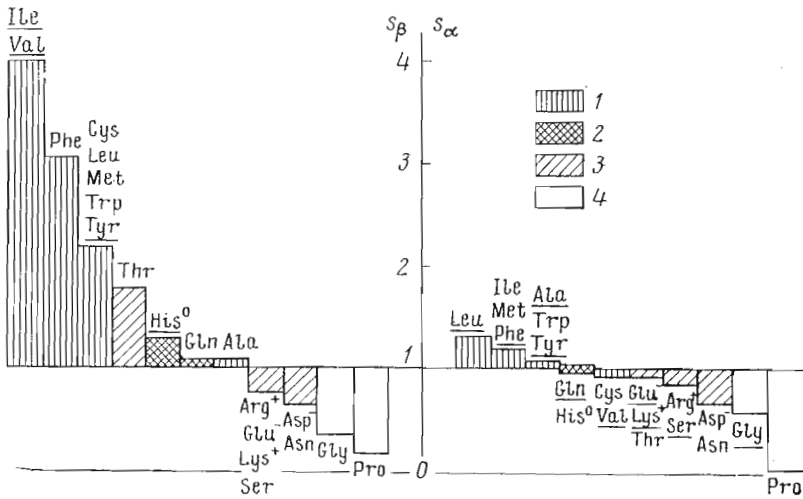


Рис. 1. Параметры стабильности  $\alpha$ - и  $\beta$ -структуры для природных аминокислотных остатков при  $T \approx 30^\circ$  и  $pH \approx 7$ . 1 — гидрофобные боковые группы; 2 — длинные полярные (незаряженные) боковые группы; 3 — короткие полярные и заряженные боковые группы; 4 — глицины и пролин. Подчеркнуты остатки, для которых параметры  $s_\alpha$  и  $s_\beta$  известны из опыта

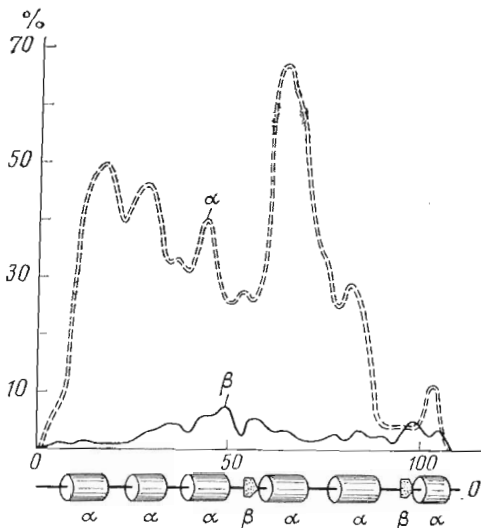


Рис. 2. Вероятность образования  $\alpha$ - и  $\beta$ -структуры в развернутой белковой цепи кальцийсвязывающего белка мышц карпа; по горизонтальной оси отмечен номер остатка в белковой цепи. Нативная локализация вторичной структуры белка [9] приведена под рисунком

стемы [8], позволяющей строго охватить взаимодействия как в  $\alpha$ -спирали, так и в листах антипараллельной  $\beta$ -структуры (взаимодействия между вторичными структурами на первой стадии самоорганизации не рассматриваются). Алгоритм реализован в виде программы «АЛГОЛ» для ЭВМ М220М.

Результаты расчетов для некоторых белков представлены на рис. 2—4. Теория предсказывает формирование довольно мощных зародышей  $\alpha$ - и  $\beta$ -структуры в развернутых цепях глобулярных белков. Наиболее вероятная локализация этих зародышей соответствует, как правило, локали-

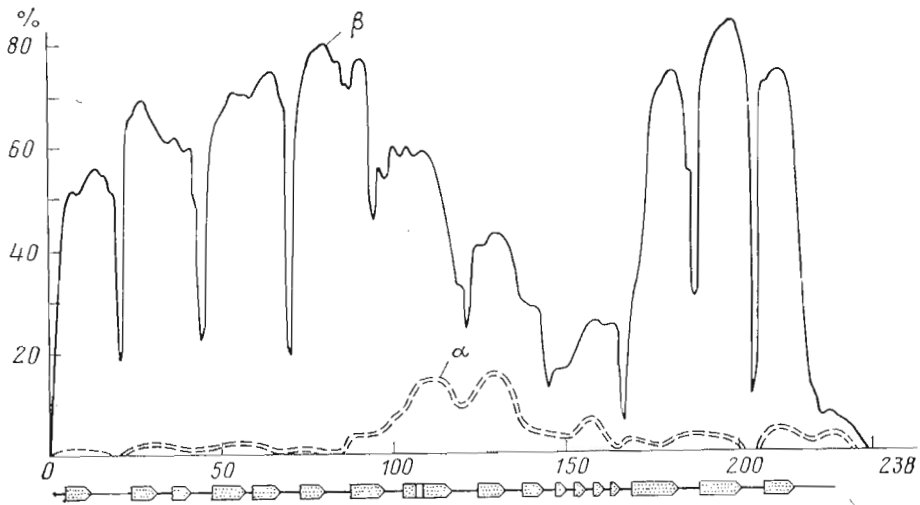


Рис. 3. Вероятность образования  $\alpha$ - и  $\beta$ -структуры в развернутой цепи конканавалина А [10]

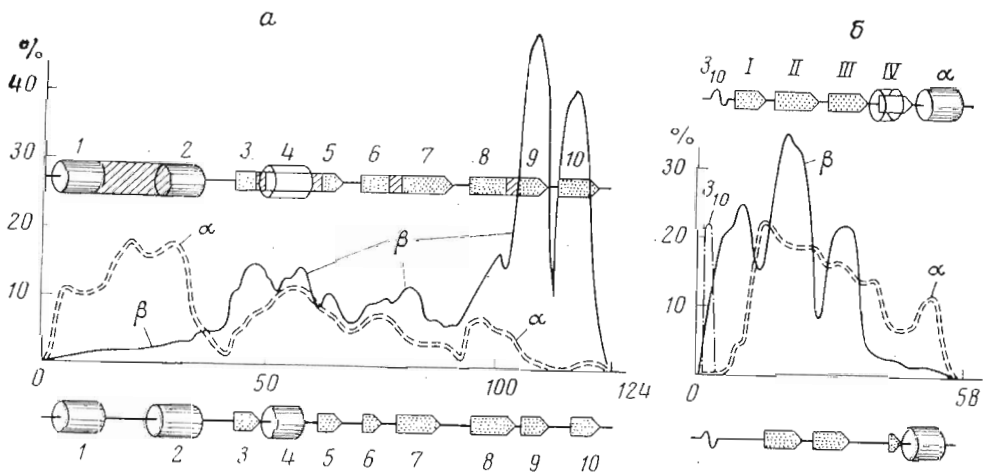


Рис. 4. Вероятность образования  $\alpha$ - и  $\beta$ -структуры в развернутой цепи. а — Рибонуклеаза [11]; б — панкреатический ингибитор трипсина [12] (отмечена также вероятность образования N-концевой спирали  $3_{10}$ , включающей остаток Pro [4]). Над рисунками отмечена наиболее вероятная локализация участков вторичной структуры в развернутых белковых цепях

зации участков  $\alpha$ - и  $\beta$ -структуры в глобулярных белках. Видно, что участки регулярной  $\alpha$ - и  $\beta$ -структуры в развернутой белковой цепи обычно длиннее, чем в глобуле, а локализация нативных  $\alpha$ -спиралей и участков  $\beta$ -структуры соответствует локальным максимумам вероятности  $\alpha$ -спирального или  $\beta$ -структурного состояния.

Необходимо отметить, что максимумы вероятности регулярного состояния в развернутой цепи соответствуют участкам цепи, насыщенным остатками с большими  $s_\alpha$  и  $s_\beta$ , т. е. гидрофобными остатками (рис. 1). Поэтому именно эти участки должны наиболее интенсивно взаимодействовать друг с другом при образовании глобулы.

Вторичная структура белковой цепи фиксируется под действием дальних взаимодействий только на следующих этапах самоорганизации при

образовании белковой глобулы; однако флуктуирующие вторичные структуры развернутой белковой цепи служат строительными блоками, направляющими дальнейший процесс самоорганизации.

Автор выражает благодарность А. И. Денесюку, О. А. Басченко и Т. А. Ерохиной за помощь в работе и О. Б. Птицыну за многочисленные интересные дискуссии.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Zana R. (1975) *Biopolymers*, **14**, 2425—2428.
2. Финкельштейн А. В. (1978) *Биоорг. химия*, **4**, 340—344.
3. Anfinsen C. V. (1972) *Biochem. J.*, **128**, 737—749.
4. Finkelstein A. V., Ptitsyn O. B. (1976) *J. Mol. Biol.*, **103**, 15—24. 340-344.
5. Platzer K. E. B., Ananthanarayanan V. S., Andreatta R. H., Scheraga H. A. (1972) *Macromolecules*, **4**, 417—424.
6. Finkelstein A. V., Ptitsyn O. B. (1977) *Biopolymers*, **16**, 469—495.
7. Finkelstein A. V., Ptitsyn O. B., Kozitsyn S. A. (1977) *Biopolymers*, **16**, 497—524.
8. Финкельштейн А. В. (1975) *Докл. АН СССР*, **223**, 744—747.
9. Kretsinger R. H., Nockolds C. E. (1973) *J. Biol. Chem.*, **248**, 3313—3326.
10. Reeke G. N., Jr., Becher J. W., Edelman G. M. (1975) *J. Biol. Chem.*, **250**, 1525—1547.
11. Carlisle C. H., Palmer R. A., Mazumdar S. U., Gorinsky B. A., Yeates D. G. R. (1975) *J. Mol. Biol.*, **85**, 1—18.
12. Huber R., Kukla D., Rühlmann A., Steigemann W. (1970) in *Proc. Int. Res. Conf. on Proteinase Inhibitor*, Walter de Gruyter & Co., Berlin.

Поступила в редакцию  
2.VIII.1977

## SECONDARY STRUCTURE OF THE UNFOLDED PROTEIN CHAIN

FINKELSTEIN A. V.

*Institute of Protein Research, Academy of Sciences  
of the USSR, Pushchino*

The formation of fluctuating  $\alpha$ -helices and antiparallel  $\beta$ -pleated sheets in the unfolded protein chain has been considered. It has been shown that the most probable localization of  $\alpha$ - and  $\beta$ -structures in the unfolded chain corresponds to their position in the native protein. Within the unfolded chain the formation of large  $\alpha$ - and  $\beta$ -structural blocks has been observed, each of them including several regions preserved in the secondary structure of the native protein.