



УДК 547.96

МЕХАНИЗМ САМООРГАНИЗАЦИИ ТРЕТИЧНОЙ СТРУКТУРЫ
ГЛОБУЛЯРНЫХ БЕЛКОВ*Итицын О. В., Финкельштейн А. В.**Институт белка Академии наук СССР, Пущино, Московская область*

Предложен механизм формирования третичной структуры белков, основанный на слипании и последующем изломе больших (охватывающих несколько участков нативной вторичной структуры) α - и β -структурных блоков, сформировавшихся в развернутой белковой цепи. Предложенный механизм самоорганизации проиллюстрирован на ряде глобулярных белков.

В работах [1, 2] показано, что как флуктуирующие α -спирали [1], так и флуктуирующая β -структура [2] с большой вероятностью организуются уже на первых стадиях самоорганизации белковой цепи и поэтому могут служить блоками для формирования ее третичной структуры. Это оправдывает попытки теоретически моделировать сворачивание белковой цепи с помощью ручного [3—7] или машинного [8] перебора всевозможных комплексов из предсуществующих структурированных участков, взятых либо непосредственно из опыта, либо из предсказаний, относящихся к уже сформировавшейся глобуле. Вместе с тем нативные спиральные или β -структурные участки, как правило, слишком коротки и слишком многочисленны, чтобы обеспечить легкость и однозначность такого перебора.

Теория формирования вторичной структуры в развернутых белковых цепях [1, 2] показывает, что вероятность α -спирального и β -структурного состояний обычно имеет широкие максимумы, охватывающие два или более участка нативной вторичной структуры, причем расположение нативных участков намечается локальными, более узкими максимумами на фоне указанных широких.

Это наводит на мысль, что спиральные и β -структурные комплексы, инициирующие третичную структуру белка, формируются не из нативных, а из значительно более длинных спиральных и β -структурных участков, не обязательно имеющих непрерывную гидрофобную поверхность. Определенные части каждого такого участка (соответствующие, как правило, локальным максимумам вероятности структурированного состояния) закрепляют свою вторичную структуру дальними взаимодействиями на последующих стадиях самоорганизации, а вторичная структура остальных частей этих участков при этом разрушается. Разрушение происходит путем излома или изгиба инициирующего комплекса по его «слабым» (обычно гидрофильным) местам, где вероятность структурированного состояния имеет, как правило, локальный минимум, а гидрофобные взаимодействия, стабилизирующие комплекс, отсутствуют.

На рис. 1 этот механизм изображен на примере белка, который состоит из двух фрагментов, S и S', гомологичных по своей первичной структуре

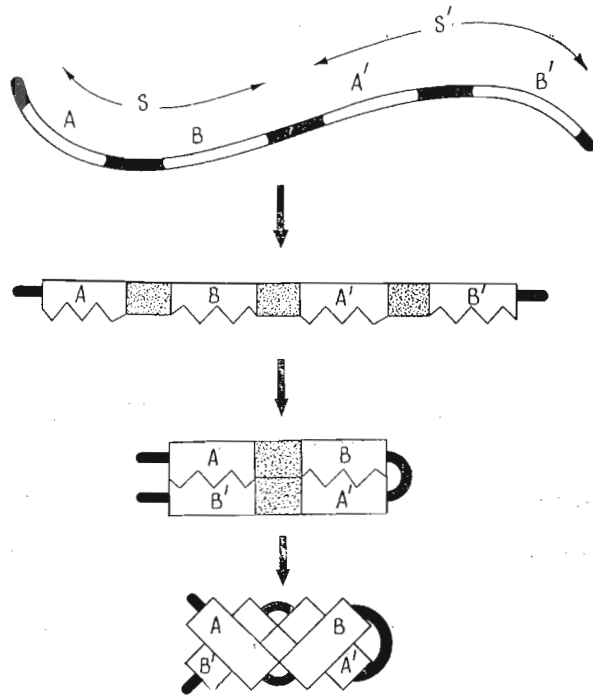
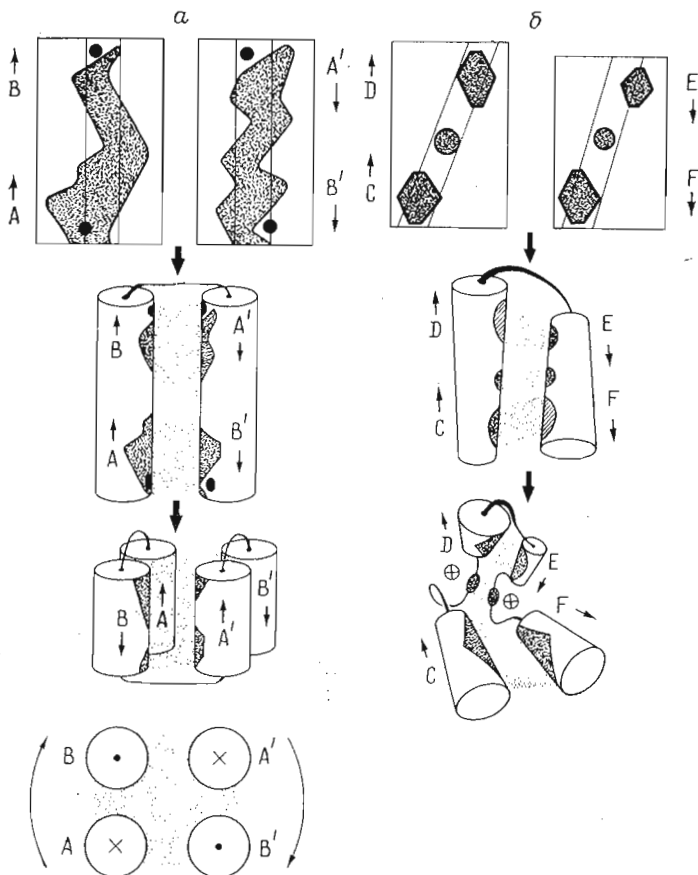


Рис. 1. Схема самоорганизации белка, состоящего из гомологичных фрагментов



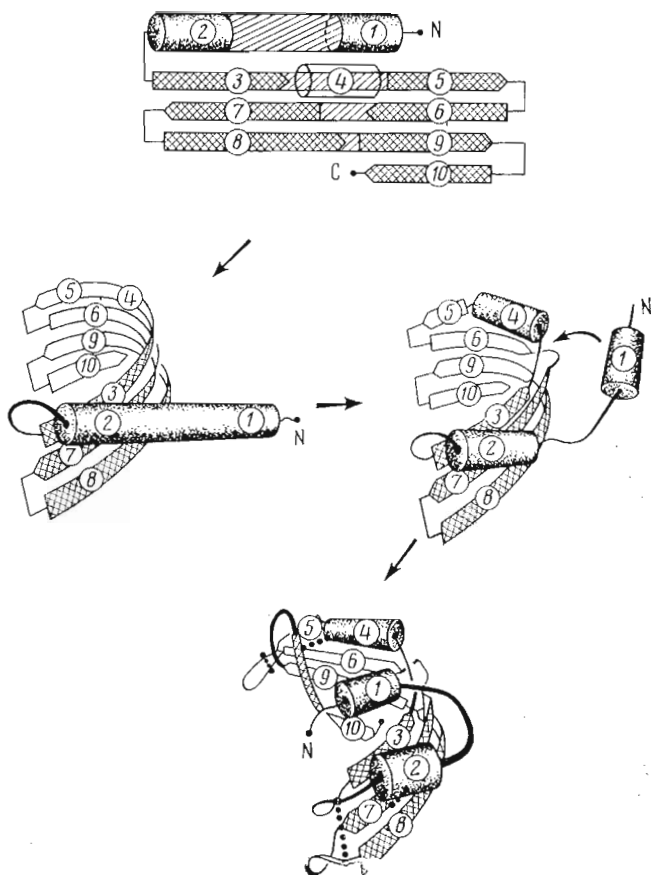


Рис. 3. Схема самоорганизации рибонуклеазы. Точками на рис. 3 и 4 изображены S-S-связи

и состоящих, в свою очередь, из двух узнающих друг друга структурированных участков, А, В и А', В', и петли между ними. Необходимость одновременного узнавания двух пар участков (АВ' и ВА') обычно приводит к более или менее однозначному выбору взаимной ориентации длинных структурированных участков АВ и А'В'. Полученная длинная шпилька затем ломается или изгибается по «слабым местам», соединяющим участки А и В, а также А' и В'. Формируется компактная структура, состоящая из четырех, уже не длинных, а коротких структурированных участков.

На рис. 2 приведена схема самоорганизации двух тетраспиральных комплексов — миогемэритрина [9] и кальцийсвязывающего домена, входящего в состав парвальбумина и других белков [10, 11]. В обоих случаях первичные структуры состоят из двух гомологичных фрагментов [9, 11], каждый из которых включает в себя две нативные α -спирали и петлю меж-

Рис. 2. Схема самоорганизации миогемэритрина (а) и кальцийсвязывающего домена (б). В верхней части рисунков показаны развертки спиральных поверхностей с «контактными полосами» [3, 4], соответствующими максимальной экранировке гидрофобных групп. Гидрофобные поверхности, обращенные к читателю, зачернены, а обращенные от читателя — заштрихованы. Черные кружки на рис. а — остатки гистидинов, попарно связывающие атомы железа. На рис. б показано расположение гидрофобных областей, типичное для всех кальцийсвязывающих доменов [11]; номенклатура спиралей дана по парвальбумину [10]. Кружки с крестиками на рис. б — связанные ионы кальция

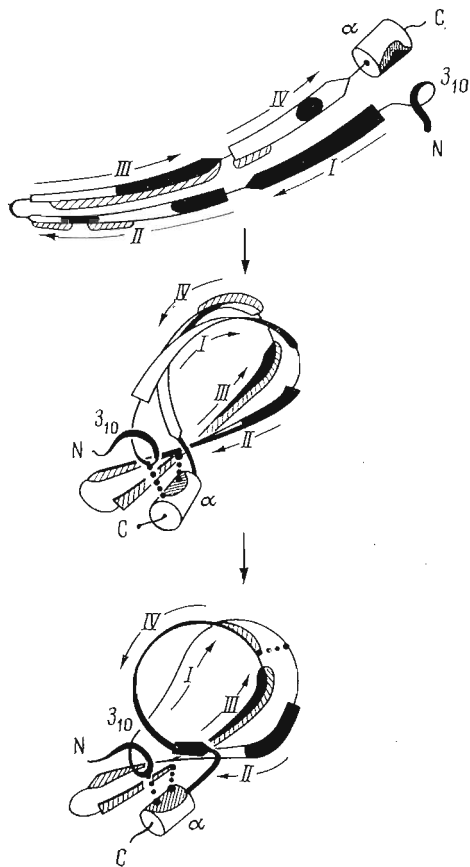


Рис. 4. Схема самоорганизации трипсинового ингибитора. Гидрофобные поверхности, обращенные к читателю на верхней части рисунка, всюду зачернены, а обращенные на верхней части рисунка от читателя — всюду заштрихованы

На рис. 3 и 4 приведены схемы самоорганизации рибонуклеазы А [12] и трипсинового ингибитора [13]. В верхней части обоих рисунков показаны наиболее вероятные вторичные структуры, охватывающие *максимальную часть* молекулы, предсказываемые теорией формирования вторичных структур в развернутых белковых цепях [2]. В рибонуклеазе только участки 3, 9, 10 β -слоя имеют выраженные гидрофобные поверхности. Поэтому β -слой не может сломаться пополам, а должен изогнуться, образуя V-образную структуру [12], где из-за обычного правого закручивания β -слоя гидрофобные группы участков 9 и 10 контактируют с гидрофобными группами участка 3; β -участок 3-4-5, более длинный, чем остальные участки, укорачивается за счет перехода участка 4 в α -спираль (вероятность которой в этом месте практически равна вероятности β -структуры), прикрывающую гидрофобную область сверху. N-Концевая спираль, слипаясь с β -слоем, распадается на три участка, причем спиральные участки 1 и 2 прикрывают остальные гидрофобные группы β -слоя, а соединяющий их гидрофильный участок деспирализуется.

В трипсиновом ингибиторе β -участки имеют значительно более четко выраженные гидрофобные поверхности, что обеспечивает возможность излома промежуточной β -шпильки пополам (тоже с правым закручиванием). В результате гидрофобная поверхность участка I прикрывает гидро-

дуними. В обоих случаях можно построить промежуточные биспиральные комплексы из длинных спиралей, стянутых гидрофобными взаимодействиями; при этом отсутствует сколько-нибудь значительная дегидратация полярных групп в «слабых местах», соединяющих нативные спиральные участки. Отличие состоит в том, что в миогемэритрине комплекс имеет единую (обращенную к читателю) гидрофобную поверхность и поэтому переламывается пополам, образуя тетраспиральный комплекс из антипараллельных спиралей [9]; в кальцийсвязывающем домене такая единая поверхность отсутствует, и поэтому после излома по «слабому месту» каждая пара спиралей, DE и CF, независимо скользит друг относительно друга, добываясь своей оптимальной упаковки, соответствующей приблизительно перпендикулярному расположению соседних спиралей [10]. Отметим, что структура кальцийсвязывающего домена парвальбумина несет на себе явные следы предложенного механизма самоорганизации, так как контакты пар спиралей DE и CF значительно более мощны, чем контакты пар спиралей CD и EF. Аналогичным образом может быть рассмотрена и самоорганизация глобинов, включающая в себя формирование и излом комплекса из спиралей AB со спиралью E (или DE), и его схлопывания с биспиральным комплексом GH.

фобные поверхности правых (на рис. 4) участков II и III, а левые части гидрофобных поверхностей этих участков прикрываются пространственно сближенными концевыми спиралями. На этой стадии оказывается возможным формирование нативных S—S-связей между концами молекулы и центром β -шильки [14]. Для прикрытия гидрофобной поверхности участка IV необходимо «выдернуть» петлю III—IV из петли I—II; при этом β -структура частично разрушается, и становится возможным формирование последней нативной S—S-связи.

Отметим, что V-образная форма β -слоя в рибонуклеазе [12] и порядок формирования S—S-связей в трипсиновом ингибиторе [14] хорошо согласуются с предлагаемым механизмом их самоорганизации.

Авторы благодарят П. Фальк за обсуждение результатов работы, а также А. А. Рашина и А. Г. Мурзина за помощь в работе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Finkelstein A. V., Ptitsyn O. B. (1976) *J. Mol. Biol.*, **103**, 15—24.
2. Финкельштейн А. В. (1978) *Биоорг. химия*, **4**, 345—348.
3. Птицын О. Б., Рашин А. А. (1973) *Докл. АН СССР*, **213**, 473—475.
4. Ptitsyn O. B., Rashin A. A. (1975) *Biophys. Chem.*, **3**, 1—20.
5. Finkelstein A. V., Kozitsyn S. A., Ptitsyn O. B. (1975) *FEBS Lett.*, **60**, 137—140.
6. Lim V. I., Efimov A. V. (1976) *FEBS Lett.*, **69**, 41—44.
7. Zav'yalov V. P. (1977) *Biochim. et biophys. acta*, **490**, 506—514.
8. Levitt M., Warshell A. (1975) *Nature*, **253**, 694—698.
9. Hendrickson W. A., Ward K. B. (1975) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **66**, 1349—1356.
10. Weeds A. G., McLachlan A. D. (1974) *Nature*, **252**, 646—649.
11. Kretsinger R. H., Nockholds C. E. (1973) *J. Biol. Chem.*, **248**, 3313—3326.
12. Carlisle C. H., Palmer R. A., Mazumdar S. U., Gorinsky B. A., Yeates D. G. R. (1975) *J. Mol. Biol.*, **85**, 1—18.
13. Huber R., Kukla D., Rühlmann A., Steigemann W. (1970) in *Proc. Int. Res. Conf. on Proteinase Inhibitor*, Walter de Gruyter & Co., Berlin.
14. Creighton T. E. (1975) *J. Mol. Biol.*, **95**, 167—199.

Поступила в редакцию
2.VIII.1977

THE MECHANISM FOR SELF-ORGANIZATION OF THE THREE-DIMENSIONAL STRUCTURE IN GLOBULAR PROTEINS

PTITSYN O. B., FINKELSTEIN A. V.

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

A mechanism has been proposed which postulates that the acquisition of the protein tertiary structure proceeds via the aggregation and subsequent partial breaking of large α -helical and β -structural blocks. These are formed in the unfolded protein chain and each of them may contain several regions with the native secondary structure. The suggested mechanism of self-organization has been applied to a number of globular proteins.