

ОБЗОР



УДК 577:541.124

Как биополимер (белок) сворачивается в уникальную 3D-структуру?

К.В. Шайтан 

*Кафедра биоинженерии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, г. Москва, 119234, Ленинские горы, д. 1, стр. 12
e-mail: shaytan49@yandex.ru*

Обсуждается современное состояние проблемы фолдинга белков и других биополимеров. Детализируется понятие многомерной поверхности потенциальной энергии и поверхности свободной энергии для линейных полимеров с учетом топологии конфигурационного пространства и наличия элементов симметрии относительно перестановки одинаковых мономерных звеньев. Наличие кинематических связей для конформационных движений в вязкой среде приводит к тенденции формирования спиральных структур линейных полимеров. Динамические эффекты вязкости приводят также к практически равномерному распределению скоростей диссипации энергии по узлам цепи. Сочетание топографии поверхности свободной энергии и эффектов вязкости дает физическую основу для развития теории фолдинга в направлении интерпретации разнообразных экспериментальных наблюдений и выяснения принципов формирования аминокислотного кода для 3D-структур белков. Анализируется связь между температурой денатурации свернутого состояния биополимера и энергией невалентных взаимодействий между мономерами в цепи.

Ключевые слова: теория фолдинга, 3D-структуры, скрытые симметрии в биополимерах, динамические эффекты вязкости, температура денатурации, поверхность потенциальной энергии

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-78-3S-2

Проблеме фолдинга уже более 60 лет [1]. Но до сих пор нет четких физических представлений о закономерностях аминокислотного кода, который лежит в основе наблюдаемых пространственных структур белков. Со времен работ Анфинсена [2] считается установленным, что при сворачивании полипептидная цепь переходит в состояние термодинамического равновесия в глобальный минимум свободной энергии. Это утверждение отчасти оспаривалось Левинталем [3], который заметил, что при случайном тепловом движении времени жизни Вселенной не хватит для поиска глобального минимума энергии. Наличие такого парадокса привело к выводам о необходимости специфической топографии для поверхности потенциальной энергии (ППЭ) полипептидной цепи. Основные идеи здесь заключались в специальном устройстве этой ультрамногомерной потенциальной поверхности, которая должна быть устроена относительно гладким образом в виде энергетической воронки (это называется принцип минимальной фрустрации энергетической воронки) [4] и должна существовать (по энтропийным соображениям) энергетическая щель, которая отделяет нативную конфигурацию

цепи от ближайших конформаций [5]. В последствии было выполнено множество экспериментальных и теоретических работ с целью понять физические механизмы фолдинга и разгадать загадку аминокислотного кода [1, 6]. Имеющиеся на данный момент концепции и представления носят в значительной мере общий описательный характер. На наш взгляд это связано с отсутствием определенных математических инструментов, которые были бы адекватны данной задаче. Ниже мы посмотрим, что можно сделать (и уже сделано) в этом направлении.

Первое, на что мы хотим обратить внимание — это динамическая роль среды, в которой происходит процесс сворачивания полимерной цепи. Как это ни странно, но вязкость среды играет существенную организующую роль в этом процессе. Прицельное исследование методами молекулярной динамики сворачивания полипептидной цепи из 150 остатков в вязкой среде [7, 8] показало, что в среде с вязкостью порядка вязкости воды двугранные углы «фи» и углы «пси» вращаются преимущественно в направлении напротив друг к другу. В результате формируется спиральная структура и далее характерный бел-

ковый фолд. Если вязкость уменьшить ниже определенного предела, то наблюдается разрушение корреляции поворотов по двугранным углам и формирование стохастической глобулы [7, 8].

Наблюдаемая закономерность не случайна. При правильном подходе возможен анализ уравнений механики для движения линейной полимерной цепи в вязкой среде, который приводит к четким выводам [9, 10]. Сама задача очень сложная и ранее сводилась только к компьютерным симуляциям. Но если задаться вопросом, а какие ограничения накладываются на динамическое поведение цепи в вязкой среде, то оказывается возможным получить конструктивный ответ. Ключом к решению проблемы является рассмотрение эффектов вязкого трения и диссипации энергии при движении узлов цепи. При вращении вокруг связей в однородной вязкой среде сохраняется суммарный нулевой момент сил вязкого трения, что приводит к тенденции формирования спиральных структур [9, 10].

Этим не исчерпываются эффекты вязкости для механики конформационных движений полимерной цепи. Отталкиваясь от уравнений движения и вводя функции суммарной скорости диссипации энергии за счет сил вязкого трения и скорости изменения потенциальной энергии цепи (которые в сумме равны 0), мы можем получить весьма интересные результаты [9, 10]. При этом удастся воспользоваться методами многомерной геометрии. Решение системы уравнений движения в вязкой среде можно представить в виде вращения многомерной сферы, которая описывает закон сохранения энергии внутри гиперсферы диссипации энергии.

Оказывается, на механической траектории выполняются два экстремальных принципа [9]. Первый состоит в том, что скорость убыли потенциальной энергии на каждом шаге будет максимальной по сравнению с иными виртуальными движениями репрезентативной точки по многомерной ППЭ. При этом строение этой поверхности не имеет значения. Во-вторых, скорость диссипации энергии на механической траектории будет минимальной по сравнению с иными виртуальными движениями узлов цепи.

Более того, в случае, если число узлов цепи велико (соответственно, размерность пространства конфигураций цепи также очень большая), то можно воспользоваться асимптотическими свойствами многомерных сфер [11] и показать, что скорость диссипации энергии при движении цепи практически равномерно «размазана» по узлам цепи [9]. Плотность вероятности для скорости движения узлов цепи имеет гауссовский вид. И что очень важно, распределение скорости диссипации энергии не зависит от номера узла цепи. Равномерность распределения скоростей диссипации, а значит и скоростей изменения потенци-

альной энергии по степеням свободы имеет очень важное значение. Это означает, что репрезентативная точка выбирает на ППЭ гладкие траектории, на которых изменение потенциальной энергии максимально равномерно «размазано» по степеням свободы. Численное моделирование динамики сворачивания полимерной цепи из 50 звеньев подтверждает эти выводы [12]. В этом отношении, принцип минимальной фрустрации ППЭ как бы теряет свой смысл. Не нужно специальных ухищрений, чтобы сделать полимер с относительно гладкой ППЭ. Если сворачивание происходит в вязкой среде, то гладкость траекторий практически обеспечивается автоматически.

Таким образом, динамические эффекты вязкости при сворачивании линейного полимера приводят к тенденции формирования спиральных структур, а также к выбору гладких динамических траекторий на многомерной потенциальной поверхности. Заметим, что динамически доступные области конфигурационного пространства полимерной цепи составляют при этом ничтожно малую часть от энергетически доступного объема пространства конфигураций при обычно используемых температурах. Это должно принципиально сказываться на калибровке параметров силовых полей [13]. То есть калибровка потенциалов должна проводиться по-разному для систем, динамика которых моделируется в вакууме и в вязкой среде. Неправильный выбор протоколов молекулярной динамики с этой точки зрения будет обесценивать результат.

Обсудим далее вопрос, что делать с самой потенциальной поверхностью. Больших размерностей обычно стараются избегать. В данной ситуации избежать этого невозможно. В сложных случаях общий подход состоит в том, чтобы четко следовать первым принципам, отталкиваться от топологии пространства, на котором задана многомерная ППЭ, искать симметрии и инварианты на этой поверхности.

Что дает топология? Во-первых, нужно принять во внимание топологию конфигурационного пространства линейного полимера. Она определяется поворотами вокруг связей и представляет собой многомерный тор [14]. Функции, заданные на торе можно и нужно раскладывать в многомерный ряд Фурье [15]. При этом для ППЭ сразу возникает различие между хиральными и зеркально симметричными структурами. Оказывается, единственный глобальный минимум может систематически возникать только у хиральных структур [16].

Далее вопрос о симметрии. Это не та привычная пространственная симметрия как у кристаллов, а симметрия ППЭ. Если полимер или биополимер построен из одинаковых или почти одинаковых мономерных звеньев, то возникает симметрия относительно перестановки одинаковых

звеньев в цепи. Рассмотрим, например, участок полипептидной цепи. Воспользуемся С-альфа представлением этой цепи — псевдосвязи длиной $3.8 \text{ \AA}$ с псевдовалентным углом 131° . Потенциальная энергия зависит от парных расстояний между атомами. Эти расстояния изменяются при поворотах вокруг связей. Можно усмотреть, что, во всяком случае, в пределах радиуса обрезания взаимодействий изменения расстояний симметрично относительно перестановки одинаковых типов торсионных углов. Это приводит к симметрии ППЭ относительно перестановки углов.

Столь удачное стечение обстоятельств может привести к очень хорошей топографии многомерной поверхности потенциальной энергии с точки зрения фолдинга. Воспользуемся теорией Морса [17], которая позволяет анализировать топографии поверхностей любой размерности по их поведению в окрестности критических точек (или точек, где все первые производные равны 0). Не вдаваясь в детали, отметим, что для симметричных относительно перестановки координат поверхностей вне зависимости от их размерности в окрестности критической точки можно ввести две обобщенные координаты [10], суть которых состоит в том, что одна есть радиус гиперболы описанной вокруг критической точки, а вторая есть расстояние от критической точки до некоторой гиперплоскости. Это сильно упрощает изучение топографии таких поверхностей и позволяет развить привычные нам наглядные образы поверхностей в трехмерном пространстве.

Обсуждаемые эффекты симметрии немедленно сказываются также на общем виде коэффициентов разложения ППЭ в многомерный ряд Фурье. В силу симметрии относительно перестановки углов коэффициенты разложения должны зависеть от инвариантов векторов номеров гармоник [10, 18]. Ниже мы используем гауссовское приближение для этой зависимости. В этом случае можно точно вычислить сумму ряда Фурье и получить типичные топографии ППЭ [10, 16, 18], которые связаны с симметрией цепи относительно перестановки одинаковых или почти одинаковых мономерных звеньев. В простейшем варианте возникает относительно гладкая энергетическая воронка, а в более реалистическом варианте система вложенных воронок, отделенных друг от друга потенциальными барьерами. Самая глубокая воронка — центральная, дно которой и отвечает нативному состоянию свернутой цепи. Топография ППЭ в виде системы вложенных воронок приводит к эф-

фекту зависимости результата фолдинга от множества начальных конформаций цепи, которые находятся в области притяжения одной из потенциальных воронок [10, 16, 18]. С этим эффектом может быть связан механизм котрансляционного фолдинга и невозможность рефолдинга после быстрого силового разворачивания цепи.

В обсуждаемом варианте ППЭ вычисляется энтропия и поверхность свободной энергии (ПСЭ) [19]. Топография ПСЭ также представлена в виде системы вложенных воронок. И вот, что принципиально важно. Вводя понятие характеристической температуры T_0 , которая пропорциональна выигрышу потенциальной энергии при сворачивании, которое приходится на одну конформационную степень свободы в мономере, можно показать, что свернутое (нативное) состояние стабильно при T меньше $0,26T_0$. Если T денатурации 60°C , то это означает, что энергия стабилизации на одну степень свободы в мономере составляет порядка $2,5 \text{ ккал/моль}$. Если в мономере две степени свободы, то для стабилизации нужно 5 ккал/моль (порядка H -связи) [19]. Белки построены из альфа-аминокислот, где в мономере две степени свободы и энергии порядка H -связи достаточно для стабилизации при T меньше 60°C . Однако, если бы Природа использовала бета-аминокислоты, где три степени свободы в мономере, то формирование уникальных пространственных структур потребовало бы большую энергию стабилизации при тех же температурных условиях. В этом случае существование стабильных структур при тех же энергиях стабилизации на мономер порядка 5 ккал/моль было бы возможно только при температурах порядка -100°C . Картину тепловой денатурации можно представить на профилях ПСЭ. При нагревании происходит расширение распределения конфигураций цепи [19]. Эта картина весьма похожа, на то, что обычно приводят в статьях на данную тему, основываясь на общих рассуждениях.

В рамках рассматриваемых представлений также хорошо прослеживается вулканообразный профиль энергетической воронки, который был установлен в результате тщательных кинетических экспериментов [1, 6].

Работа поддержана Российским научным фондом (грант 19-74-30003). Исследования проведены без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dill K.A., MacCallum J.L. The protein-folding problem, 50 years on. *Science*. 2012;338 (6110):1042–1046.
2. Anfinsen C.B. Principles that govern the folding of protein chains. *Science*. 1973;181(4096):223–230.
3. Levinthal C. Are there pathways for protein folding? *J. Chim. Phys.* 1968;65(1):44–45.
4. Onuchic J.N., Wolynes P.G. Theory of protein folding. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2004;14(1):70–75.

5. Sali A., Shakhnovitch E., Karplus M. How does a protein fold? *Nature*. 1994;369(6477):248–251.
6. Finkelstein A.V., Bogatyreva N.S., Ivankov D.N., Garbuzynskiy S.O. Protein folding problem: enigma, paradox, solution. *Biophys. Rev.* 2022;14(6):1255–1272.
7. Шайтан К.В., Попеленский Ф.Ю., Армеев Г.А. Корреляция конформационных движений при формировании вторичной структуры полипептидов в вязкой среде. *Биофизика*. 2017;62(3):443–451.
8. Эрндженнова А.А., Армеев Г.А., Шайтан К.В. Влияние вязкости среды на молекулярную динамику формирования вторичной структуры полипептидов (AlaGly)₂₅ и (AlaGly)₇₅. *Биофизика*. 2020;65(5):860–864.
9. Шайтан К.В. Вариационные принципы в механике конформационных движений макромолекул в вязкой среде. *Биофизика*. 2018;63(1):5–15.
10. Шайтан К.В. Почему белок сворачивается в уникальную 3D-структуру. И не только это... *Хим. физ.* 2023;42(6):40–62.
11. Зорич В.А. Геометрия и вероятность. *Теория вер. примен.* 2017;62(2):292–310.
12. Шайтан К.В., Ложников М.А., Кобельков Г.М. Динамика формирования коллективных конформационных степеней свободы при фолдинге макромолекулярной цепи в вязкой среде. *Биофизика*. 2017;62(2):249–257.
13. Wales D.J. *Energy Landscapes*. Cambridge: Univ. Press; 2003. 681 pp.
14. Фоменко А.Т. *Дифференциальная геометрия и топология. Дополнительные главы*. Ижевск: Изд. Удмурдского университета; 1999. 252 pp.
15. Зигмунд А. *Тригонометрические ряды. Т. 2*. М.: Мир; 1965. 537с.
16. Шайтан К.В. Строение энергетических ландшафтов макромолекул, формирующих уникальную пространственную структуру. *Биофизика*. 2018;63(4):629–642.
17. Milnor J. *Morse Theory*. Princeton University Press; 1963. 153 pp.
18. Шайтан К.В. Эффекты скрытой симметрии в динамике линейных полимеров и биополимеров. *Биофизика*. 2022;66(3):492–515.
19. Шайтан К.В. О ландшафтах свободной энергии для макромолекул, формирующих уникальную пространственную структуру. *Биофизика*. 2018;63(5):850–858.

Поступила в редакцию 06.07.2023

Принята в печать 20.07.2023

REVIEW

How does a biopolymer (protein) fold into a unique 3D structure?

K.V. Shaitan 

*Department of Bioengineering, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University,
1–12 Leninskie Gory, 119234, Moscow, Russia
e-mail: shaitan49@yandex.ru*

The current state of the problem of folding proteins and other biopolymers is discussed. The concept of a multidimensional potential energy surface and a free energy surface for linear polymers is detailed, taking into account the topology of the configuration space and the presence of symmetry elements with respect to the permutation of identical monomer units. The presence of kinematic bonds for conformational movements in a viscous medium leads to a tendency to form helical structures of linear polymers. The dynamic effects of viscosity also lead to an almost uniform distribution of energy dissipation rates over the chain nodes. The combination of potential energy surface topography and viscosity effects provides a physical basis for the development of the theory of folding in the direction of interpreting various experimental observations and elucidating the principles for the formation of an amino acid code for 3D protein structures. The relationship between the denaturation temperature of the folded state of the biopolymer and the energy of non-valent interactions between monomers in the chain is analyzed.

Keywords: *folding theory, 3D structures, hidden symmetries in biopolymers, dynamic effects of viscosity, denaturation temperature, potential energy surface*

Funding: The research was supported by the Russian Science Foundation, project number 19-74-30003.

Сведения об авторе

Шайтан Константин Вольдемарович — докт. физ.-мат. наук, проф., проф. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел. 8-495-939-27-76; e-mail: shaitan49@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5137-303X>