

# SKRĘTY ZWROTNE W PEPTYDACH I BIAŁKACH. MIMETYKI SKRĘTÓW ZWROTNYCH. CZĘŚĆ 1

## REVERSE TURNS IN PEPTIDES AND PROTEINS. REVERSE TURNS MIMETICS. PART 1

**Maria Owińska**

*Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica w Krakowie  
Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki  
al. Adama Mickiewicza 30, 30-059 Kraków  
e-mail: owinska@agh.edu.pl*

---

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Rodzaje skrętów zwrotnych

2. Skręty zwrotne typu  $\gamma$

3. Skręty zwrotne typu  $\beta$

4. Skręty zwrotne typu  $\alpha$

5. Skręty zwrotne typu  $\pi$

Podsumowanie

Podziękowania

Piśmiennictwo cytowane

---



**Dr Maria Owińska** – absolwentka Wydział Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Stopień doktora w zakresie nauk chemicznych uzyskała na Uniwersytecie Jagiellońskim w 2013 roku, przedstawiając rozprawę doktorską pt. „Analiza konformacyjna amidowych pochodnych wybranych laktamów i aminokwasów naturalnych – potencjalnych bloków budulcowych peptydomimetyków”. Obecnie pracuje jako asystent na Wydziale Inżynierii Materiałowej i Ceramiki na Akademii Górniczo-Hutniczej im. Stanisława Staszica w Krakowie. Zajmuje się tematyką łączącą zagadnienia z dziedziny chemii

krzemu oraz typowej syntezy organicznej. Badania, które obecnie prowadzi dotyczą otrzymywania i zastosowania funkcjonalizowanych usieciowanych polisiloksanów.

**ABSTRACT**

The secondary structure of the proteins can be divided into  $\alpha$ -helix,  $\beta$ sheet and reverse turns. A reverse turn is defined as a site where a polypeptide chain reverses its overall direction. It leads the chain to fold back on itself by almost  $180^\circ$ . Another condition for defining this motif is the amount of amino acid residues involved in forming the turn that can not be greater than six and polypeptide chain in this region can not be in helical conformation [1]. Turns are classified as:  $\gamma$ -turn,  $\beta$ -turn,  $\alpha$ -turn and  $\pi$ -turn, which are formed by 3-, 4-, 5- and 6- amino acid residues, respectively. Turns defined as "closed" are stabilized by intramolecular hydrogen bonds between the main chain carbonyl group from the first residue and the main chain amide group from the last residue in the turn. This results in formation of 7-, 10-, 13- and 16-membered pseudo-rings, respectively (Fig. 1, Fig. 2). The other group of turns also stabilized by hydrogen bond, but conversely between the main chain amide group of the first residue and the carbonyl group of the last residue, are  $\delta$ -turn (2-residues, 8-membered pseudo-ring) and  $\varepsilon$ -turn (3-residues, 11-membered pseudo-ring) (Fig. 2) [10–13]. These are seldom found in proteins. Turns are considered irregular structures due to the lack of clearly defined torsion angle preferences. because of that, each of the turn types can be further divided into several different subtypes (Table 1, 2 and 3) [1, 15, 31]. The "open" type structures are not stabilized by hydrogen bonds, but  $C_\alpha$ - $C_\alpha$  distance between the first and the last residue in main chain is up to  $10 \text{ \AA}$  [10]. As turns can be found mostly on the surface of the proteins they play the important role in folding processes, thus enabling the formation of the tertiary structure [2]. The turns are also responsible for the interactions between proteins, recognition processes and ligand-receptor interactions [3–8]. In the following article, the classification and characterization of the turn types is described. The particular attention was given to the  $\gamma$  and  $\beta$  turns, as these are most commonly found in proteins structure.

**Keywords:** reverse turn, hydrogen bond, conformation, dihedral angle

**Słowa kluczowe:** skręt zwrotny, wiązanie wodorowe, konformacja, kąt dwuścienny

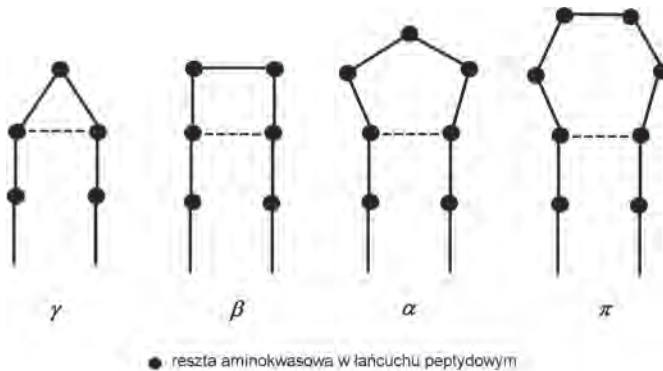
---

## WPROWADZENIE

Skręty zwrotne, obok  $\alpha$ -helisy i  $\beta$ -harmonijki, należą do trzech głównych elementów struktury drugorzędowej białek. Skręt zwrotny jest definiowany jako fragment łańcucha polipeptydowego, w którym łańcuch ten zakręca o  $180^\circ$  tym samym zmieniając swój kierunek. Liczba aminokwasów zaangażowanych w tworzenie skrętu nie może przekraczać sześciu, a łańcuch peptydowy nie może mieć, w tym fragmencie, budowy helikalnej [1]. Ze względu na fakt, iż skręty zwykle występują na powierzchni struktur białkowych pełnią one dużą rolę w procesach fałdowania umożliwiając, między innymi powstawanie struktury trzeciorzędowej białka [2]. Skręty są także odpowiedzialne za oddziaływania pomiędzy cząsteczkami peptydów, procesy rozpoznawania cząsteczkowego i oddziaływania typu ligand-receptor [3–8]. W poniższym artykule przedstawiona zostanie klasyfikacja i charakterystyka poszczególnych typów skrętów zwrotnych ze szczególnym uwzględnieniem skrętów  $\gamma$  i  $\beta$ , które najczęściej występują w strukturach peptydów.

### 1. RODZAJE SKRĘTÓW ZWROTNYCH

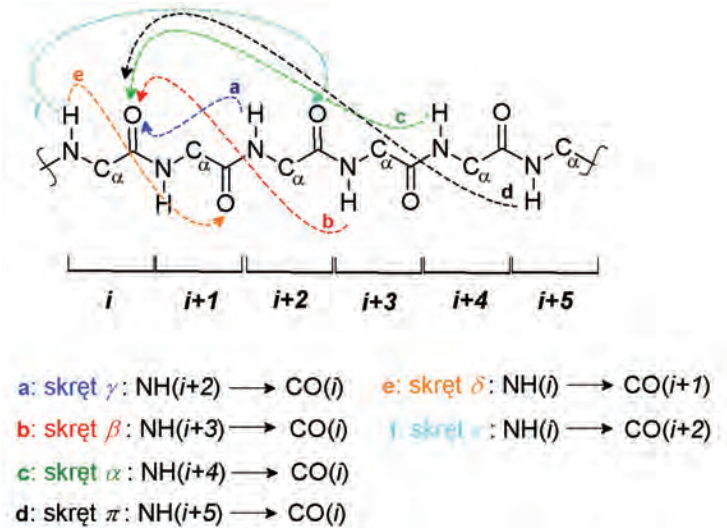
W zależności od liczby reszt aminokwasowych wchodzących w skład struktury zwrotnej wyróżnia się cztery podstawowe typy skrętów. Najmniejszym elementem są  $\gamma$ -skręty zbudowane z trzech reszt aminokwasowych, następnie w kolejności wymienić należy skręty  $\beta$  zbudowane z czterech,  $\alpha$  z pięciu i  $\pi$  z sześciu reszt aminokwasowych (Rys. 1) [9].



Rysunek 1. Schematy struktur zwrotnych występujących w łańcuchach polipeptydowych  
Figure 1. Schematic structure of reverse turns in polypeptide chains

Skręty zwrotne w peptydach bardzo często stabilizowane są poprzez wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe tworzące się pomiędzy atomem tlenu grupy karbonylowej pierwszej reszty aminokwasowej (fragment  $i$ ) oraz atomami wodoru z grup amidowych kolejnych reszt aminokwasowych (fragment  $i+n$ , gdzie  $n = 1-5$ ) (Rys. 2). W wyniku stabilizacji skrętów poprzez wiązania wewnątrzcząsteczkowe

tworzą się pseudopierścienie kolejno: siedmioczłonowe dla skrętów  $\gamma$ , dziesięcioczłonowe dla  $\beta$ , trzynastoczłonowe dla  $\alpha$  i szesnastoczłonowe dla  $\pi$ . Skręty zwrotne stabilizowane wiązaniami wodorowymi nazywane „zamkniętymi”. W strukturach zwrotnych „otwartych” nie występuje stabilizacja poprzez wewnętrzzasteczkowe oddziaływania a podstawą ich wyróżnienia jest odległość pomiędzy atomem węgla ( $C\alpha(i)$ ) w pierwszej reszcie aminokwasowej ( $i$ ) a atomem węgla ( $C\alpha(i+n)$ ) ostatniej tworzącej skręt reszty ( $i+n$ ) w łańcuchu peptydowym. Odległość ta powinna być mniejsza niż 10 Å [10].



Rysunek 2. Typy skrętów zwrotnych z zaznaczonymi kierunkami tworzenia wewnętrzzasteczkowych wiązań wodorowych

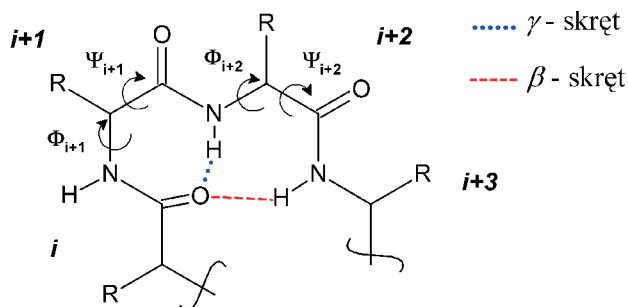
Figure 2. Types of reverse turns with selected orientations of forming intramolecular hydrogen bonds

Odrębną rodzinę skrętów zwrotnych, bardzo rzadko obserwowaną w peptydach, stanowią skręty, w których stabilizujące wiązanie wodorowe tworzy się pomiędzy atomem wodoru grupy amidowej we fragmencie  $i$ , a atomem tlenu grupy karbonylowej w kolejnym fragmencie łańcucha:  $i+1$  dla  $\delta$ -skrętu (dwie reszty aminokwasowe, ośmioczłonowy pseudopierścień) oraz  $i+2$  dla  $\epsilon$ -skrętu (trzy reszty aminokwasowe, jedenastoczłonowy pseudopierścień) (Rys. 2) [10, 11]. Obecność  $\delta$ -skrętów w strukturze peptydów została zaobserwowana, między innymi w 1988 roku w strukturze krystalicznej cyklicznego pentapeptydu cyclo(Gly-L-Pro-D-Phe-L-Ala-L-Pro) [12], a także potwierdzona w badaniach konformacyjnych tripeptydu zawierającego *cis*-prolinę przeprowadzonych przez Nagarajama [13]. Skręty zwrotne to struktury nieregularne, dlatego też każdy z ich typów podzielony jest dodatkowo na szereg podtypów, za główne kryterium podziału biorąc wartości odpowiednich kątów torsyjnych w resztach aminokwasowych tworzących dany skręt oraz odległości pomiędzy atomami. Do najczęściej występujących skrętów w strukturach

peptydów zalicza się skręty typu  $\gamma$  i  $\beta$ . Są to także najlepiej poznane, obok  $\alpha$ -helisy i  $\beta$ -harmonijki, elementy struktury drugorzędowej peptydów.

## 2. SKRĘTY ZWROTNE TYPU $\gamma$

Skręty  $\gamma$  zbudowane są z trzech reszt aminokwasowych (Rys. 3). Zbliżenie się w przestrzeni atomu tlenu grupy karbonylowej fragmentu  $i$  oraz atomu wodoru z grupy amidowej fragmentu  $i+2$ , pozwala na utworzenie wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego, które stabilizuje powstały skręt zwrotny. Skutkiem utworzenia wiązania jest powstanie pseudopierścienia siedmioczłonowego. Charakterystyki  $\gamma$ -skrętów w oparciu o wartości kątów torsyjnych ( $\Phi$ ,  $\Psi$ ) jako pierwsi dokonali w swojej pracy z 1972 roku Némethy i Printz [14].



Rysunek 3. Struktury  $\gamma$  i  $\beta$ -skrętu stabilizowane poprzez wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe  
Figure 3. Structures of  $\gamma$  and  $\beta$ -turns stabilized by intramolecular hydrogen bonds

Istnieją dwa typy  $\gamma$ -skrętów: klasyczny i odwrócony [15]. Różnice między nimi wynikają z konformacji łańcucha peptydowego. W klasycznym  $\gamma$ -skręcie wartość kąta dwuściennego  $\Phi_{i+1}$  zawiera się w zakresie od  $70^\circ$  do  $85^\circ$  a wartość kąta  $\Psi_{i+1}$  w zakresie  $-60^\circ$  do  $-70^\circ$ , co powoduje, że podstawnik R we fragmencie  $i+1$  znajduje się na pozycji aksjalnej w utworzonym pseudopierścieniu (Tab. 1). Odwrócony  $\gamma$ -skręt charakteryzuje się wartością kąta  $\Phi_{i+1}$  od  $-70^\circ$  do  $-85^\circ$  oraz kątem  $\Psi_{i+1}$  w zakresie  $60^\circ$  do  $70^\circ$ , co prowadzi do ekwatorialnej orientacji podstawnika R we fragmencie  $i+1$ .

Tabela 1. Wartości kątów torsyjnych charakterystyczne dla skrętów zwrotnych typu  $\gamma$  [15]  
Table 1. The geometric parameters of  $\gamma$ -turn types [15]

	Klasyczny skręt $\gamma$	Odwrócony skręt $\gamma$
$\Phi_{i+1}$	$70^\circ$ do $85^\circ$	$-70^\circ$ do $-85^\circ$
$\Psi_{i+1}$	$-60^\circ$ do $-70^\circ$	$60^\circ$ do $70^\circ$

	Klasyyczny skręt $\gamma$	Odwrócony skręt $\gamma$
podstawnik R na pozycji $\alpha_{i+1}$		

### 3. SKRĘTY ZWROTNE TYPU $\beta$

Najczęściej występującymi i najlepiej poznanymi elementami umożliwiającymi zwrot w łańcuchach polipeptydowych są skręty  $\beta$ . Tworzą je cztery kolejne reszty aminokwasowe zdefiniowane na pozycjach  $i$ ,  $i+1$ ,  $i+2$ ,  $i+3$  (Rys. 3). Odległość pomiędzy atomami węgla  $Ca(i)$  i  $Ca(i+3)$  nie przekracza wartości 7,0 Å, a łańcuch polipeptydowy na tym odcinku nie jest w ułożeniu heliakalnym [16]. Jako pierwszy opisał i sklasyfikował skręty typu  $\beta$  Venkatachalam w 1968 roku [17]. Rozpoznane przez niego struktury drugorzędowe były stabilizowane wiązaniami wodorowymi utworzonymi pomiędzy atomem tlenu grupy karbonylowej we fragmencie i oraz protonem amidowym we fragmencie  $i+3$ , co pozwoliło na utworzenie pseudopierścienia dziesięciocłonowego. Jak zostało później zauważone i opisane, mogą istnieć także skręty zwrotne typu „otwartego”. Około 25% wszystkich skrętów zwrotnych typu  $\beta$ , w badanych przez Lewisa i współpracowników peptydach, należy do tego rodzaju struktur [18].

Skręty zwrotne typu  $\beta$  dzielimy na kilka grup ze względu na różne wartości kątów torsyjnych  $\Phi_{i+1}$ ,  $\Psi_{i+1}$ ,  $\Phi_{i+2}$ ,  $\Psi_{i+2}$ , uwzględniając także odległości pomiędzy atomem  $Ca(i)$  i  $Ca(i+3)$ . Ilość grup i kryteria klasyfikacji zmieniały się, począwszy od klasyfikacji dokonanej przez Venkatachalama [17] dzielącej skręty na sześć grup: I, II, III oraz ich lustrzane odbicia I', II', III', poprzez prace Lewisa [18], w których rozszerza on ilość grup do dziesięciu (I, I', II, II', III, III', IV, V, VI, VII), kończąc na pracy Richardsona z 1981 roku, w której zredukował on ilość grup do siedmiu (I, I', II, II', VIa, VIb, IV) zauważając, że struktury definiowane jako skręty III oraz VII mają budowę tożsamą z 310-helisą [19]. W 1988 roku Wilmot i Thornton wprowadzili nową klasę  $\beta$  skrętów, klasę VIII. Obecnie uznaje się podział, sprecyzowany w 1994 roku przez Hutchinsona i Thorntona, na dziewięć grup: I, I', II, II', IV, VIa1, VIa2, VIb oraz VIII [1, 20–22]. W poniższej tabeli (Tab. 2) znajdują się wartości kątów dwuściennych oraz odległości pomiędzy atomami  $Ca(i)$  i  $Ca(i+3)$  charakteryzujące każdą z wymienionych grup skrętów typu  $\beta$ .

Tabela 2. Kryteria podziału skrętów zwrotnych typu  $\beta$  [1]  
 Table 2. The geometric parameters of  $\beta$ -turn types [1]

Typ	Wartości kątów dwuściennych [°]				Odległość pomiędzy $\text{Ca}(i)$ i $\text{Ca}(i+3)$ [Å]
	$\Phi_{i+1}$	$\Psi_{i+1}$	$\Phi_{i+2}$	$\Psi_{i+2}$	
I	-60	-30	-90	0	4,6
I'	60	30	90	9	4,6
II	-60	120	80	0	4,6
II'	60	120	-80	0	4,6
IV	-61	10	-53	17	7,2
VIa1	-60	120	-90	0	3,4 (8,8)
VIa2	-120	120	-60	0	3,7 (8,5)
VIb	-135	135	-75	160	6,0 (9,8)
VIII	-60	-30	-120	120	6,3

Warunki strukturalne określone dla skrętów typu I, I', II, II' i VIII są zgodne z ogólną definicją skrętu  $\beta$ . Odstępstwa są widoczne dla pozostałych typów skrętów (wartości odległości pomiędzy atomami węgla w pozycjach  $\alpha$  wzięte w nawiasy w Tabeli 2). Zauważono, że jedynie, gdy na pozycji  $i+2$  w łańcuchu peptydowym znajduje się prolina odległość  $\text{Ca}(i)$  i  $\text{Ca}(i+3)$  jest mniejsza niż 7 Å, w innych przypadkach odległość znacznie odbiega od tej zdefiniowanej. Dla skrętów należących do typu IV odległość ta jest nieznacznie przekroczona.

Ze względu na fakt, iż skręty zwrotne występują na powierzchni struktur białkowych i mają bezpośredni kontakt z rozpuszczalnikiem, w którym białko się znajduje, istnieje preferencja co do rodzaju aminokwasów wchodzących w skład skrętów. W przypadku  $\beta$  skrętów budują je częściej aminokwasy posiadające hydrofilowe łańcuchy boczne. Przeanalizowanie 205 łańcuchów białkowych przez Hutchinsona i Thorntona, pod kątem występowania w ich strukturze skrętów zwrotnych, pozwoliło na stwierdzenie, że do najczęściej występujących w tym elemencie strukturalnym aminokwasów należą: asparagina, kwas asparaginowy, prolina oraz glicyna [20–22]. Częstość występowania konkretnych aminokwasów na odpowiednich pozycjach w łańcuchu znacznie różni się w obrębie poszczególnych grup skrętów  $\beta$ .

W grupie I, na pozycji  $i$  istnieje bardzo silna preferencja. Faworyzowane są aminokwasy posiadające łańcuchy boczne mogące tworzyć wiązania wodorowe dodatkowo stabilizujące strukturę skrętu, należą do nich: asparagina, kwas asparaginowy, cysteina i seryna. Do często występujących na tej pozycji aminokwasów zalicza się także histydynę oraz prolinę. Prolina występuje natomiast najczęściej na drugiej pozycji,  $i+1$ , ze względu na ograniczenie wartości kąta  $\Phi$  do  $-60^\circ$ . Również kwas glutaminowy oraz seryna często pojawiają się na tej pozycji. Tworzące się wiązanie wodorowe z udziałem ich łańcuchów bocznych stabilizuje kąt  $\Phi$ . Na pozycji  $i+2$  preferowane są: asparagina, kwas asparaginowy, seryna i treonina, a na  $i+3$  najczęściej występującym aminokwasem jest glicyna.



W typie II skrętów nie obserwuje się silnej preferencji do zajmowania przez aminokwasy pozycji  $i$ . Często występują tu prolina oraz tyrozyna, ale jak dotąd nie wyjaśniono przyczyn tego faktu. Silna preferencja występuje natomiast przy zajmowaniu kolejnej pozycji,  $i+1$ , i tu najczęściej pojawia się prolina (z tych samych względów co w skręcie typu I) oraz lizyna. Pozycja  $i+2$  jest zdominowana przez glicynę i asparaginę, a we fragmencie  $i+3$  najczęściej występującymi aminokwasami są: cysteina, seryna, lizyna.

W skrętach typu VIII na pierwszej pozycji najczęściej obserwuje się prolinę oraz glicynę. Tak jak w typie I, prolina najczęściej zajmuje również pozycję  $i+1$ . Kwas asparaginowy i asparagina najchętniej występują na pozycji  $i+2$ , ze względu na fakt tworzenia się wiązania wodorowego pomiędzy atomem tlenu w łańcuchu bocznym aminokwasu a atomem wodoru z łańcucha głównego znajdującego się zaraz za strukturą skrętu, na pozycji  $i+4$  [23]. Wiązanie wodorowe może także powstawać z udziałem protonu grupy amidowej reszty  $i+3$ . Co ciekawe wykazano, że na tej pozycji faworyzowane są bardziej hydrofobowe aminokwasy takie jak: fenyloalana, walina oraz izoleucyna [24, 25]. Na  $i+3$  najczęściej występującym aminokwasem jest prolina.

Tyrozyna, rzadziej walina i izoleucyna są preferowane na pierwszej pozycji w skręcie typu I'. Kolejna pozycja zdominowana jest przez cztery aminokwasy: asparaginę, kwas asparaginowy, glicynę oraz histydynę. Glicyna jest także najczęściej występującym aminokwasem na pozycji  $i+2$ . Pozycja  $i+3$  najczęściej zajmowana jest przez lizynę. Skręty  $\beta$  typu I' wraz z II' często wchodzi w skład większego elementu strukturalnego jakim są tzw. struktury spinki do włosów [26]. Dla tych drugich podobnie jak dla I' preferencja zajmowania pozycji w łańcuchu jest następująca: na pozycji  $i$  – tyrozyna oraz walina,  $i+1$  – glicyna,  $i+2$  – asparagina, seryna, kwas asparaginowy, fragment  $i+3$  pozostaje bez wyraźnych preferencji.

Pozostałe grupy skrętów  $\beta$  występują bardzo rzadko w strukturach białek, dlatego nie ustalono dla nich preferencji co do ich budowy [20–22].

Jedynie 42% skrętów  $\beta$  występuje niezależnie, częściej związane są w tzw. skręty wielokrotne, w których skręt ma co najmniej jeden aminokwas wspólny z następnym skrętem. Skręty podwójne, zbudowane z pięciu reszt aminokwasowych, są najczęściej występującymi strukturami w białkach. Skręty zostają utworzone pomiędzy pierwszym i czwartym aminokwasem oraz pomiędzy drugim i piątym. Najczęściej występującymi kombinacjami są połączenia skrętów I' z IV (występuje przykładowo w strukturze proteazy asparaginianowej [27]), I z I (tworzy strukturę „zaburzonej 310 helisy” w białku Bence'a-Jonesa [28]) oraz bardzo rzadko występujący typ VIa z IV (w strukturze erytrokrury [29]). Skręty wielokrotne zbudowane z większej liczby  $\beta$ -skrętów występują o wiele rzadziej [21, 22].

#### 4. SKRĘTY ZWROTNE TYPU $\alpha$

Wśród skrętów  $\alpha$  należy wyróżnić ich dwa główne rodzaje. Jeden rodzaj występuje w strukturze  $\alpha$ -helisy. Idealna  $\alpha$ -helisa zbudowana jest z powtarzających się skrętów, nazwanych klasycznymi lub „ $\alpha$ -helikalnymi  $\alpha$  skrętami”. Na każdy skręt przypada 3,6 reszt aminokwasowych, kąty torsyjne w łańcuchu peptydowym wynoszą około  $\Phi -58^\circ$ ,  $\Psi -47^\circ$ . Struktura helisy, stabilizowana jest dzięki wiązaniom wodorowym tworzącym się pomiędzy amidowym atomem wodoru we fragmencie  $i+4$  oraz atomem tlenu grupy karbonylowej we fragmencie  $i$  [30]. Ze względu na fakt, że około 30% białek globularnych posiada strukturę heliakalną, tego typu skręty występują często w strukturze drugorzędowej peptydów.

Znacznie mniej spotykana w peptydach jest rodzina skrętów zwrotnych  $\alpha$  izolowanych, nie przyjmujących konformacji charakterystycznej dla  $\alpha$  helisy. Skręty te zbudowane są z pięciu aminokwasów a do ich opisu i charakterystyki służą wartości sześciu kątów torsyjnych:  $\Phi_{i+1}$ ,  $\Psi_{i+1}$ ,  $\Phi_{i+2}$ ,  $\Psi_{i+2}$ ,  $\Phi_{i+3}$ ,  $\Psi_{i+3}$ . Tak jak w przypadkach wcześniej opisanych typów skrętów zwrotnych, odległość pomiędzy atomami węgla  $C\alpha(i)$  i  $C\alpha(i+4)$  nie powinna przekraczać 7,0 Å. W dziewięciu, wyróżnionych przez Pavona i współpracowników, typach skrętów  $\alpha$  odległość ta jest mniejsza niż 7,0 Å, a ponadto odległość pomiędzy atomem  $O(i)$  i  $N(i+4)$  jest mniejsza niż 3,5 Å, co umożliwia tworzenie wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego i powstanie pseudopierścienia trzynastoczłonowego (Tab. 3). Tak jak w przypadku  $\beta$ -skrętów, istnieją  $\alpha$ -skręty, które nie są stabilizowane wiązaniami wodorowymi. Przedstawione i scharakteryzowane w tabeli 3, rodzaje izolowanych skrętów  $\alpha$  zostały znalezione na podstawie analizy 190 struktur białkowych (łącznie 221 łańcuchów polipeptydowych) wziętych z bazy PDB (baza danych zawierająca informacje o strukturze przestrzennej białek i kwasów nukleinowych, ang. *Protein Data Bank*) [31].

Stwierdzono, że ogromna większość  $\alpha$ -skrętów izolowanych, tworzy się w łańcuchach peptydowych, w którym wszystkie wiązania peptydowe, wchodzące w skład skrętu zwrotnego, posiadają konfigurację trans. Skręty te ze względu na swoją budowę (konformację łańcucha peptydowego) zostały podzielone na cztery grupy, przy czym kolejne cztery grupy stanowią ich odbicia lustrzane. Typ I- $\alpha_{YZ}$  i typ II- $\alpha_{YZ}$  ( $Y = R, L; Z = S, U$ ) odpowiadają w przybliżeniu powtarzającemu się motywowi strukturalnemu w helisie prawo- (R) lub lewoskrętnej (L). Symbole S i U w opisie skrętu oznaczają kolejny skręt w kształcie śruby (ang. *screw-like*) i skręt w kształcie litry U (ang. *U like*). Dziewiąty wyróżniony typ skrętów to I- $\alpha_c$ , który odpowiada grupie struktur posiadających jedno wiązanie peptydowe, konkretnie wiązanie pomiędzy  $i+1$  oraz  $i+2$  aminokwasem, o konfiguracji *cis*. Łańcuch peptydowy we fragmencie tego skrętu biegnie zgodnie z ruchem wskazówek zegara i przyjmuje kształt śrubowy. Charakterystyczną cechą tego typu skrętu jest występowanie proliny na pozycji  $i+2$ .

Tabela 3. Kryteria podziału skrętów zwrotnych typu  $\alpha$  [31]  
 Table 3. The geometric parameters of  $\alpha$ -turn types [31]

Typ	Wartości kątów dwuściennych [°]						Odległość pomiędzy $\text{Ca}(i)$ i $\text{Ca}(i+4)$ [Å]	Odległość pomiędzy $\text{O}(i)$ i $\text{N}(i+4)$ [Å]
	$\Phi_{i+1}$	$\Psi_{i+1}$	$\Phi_{i+2}$	$\Psi_{i+2}$	$\Phi_{i+3}$	$\Psi_{i+3}$		
I- $\alpha_{\text{RS}}$	-60	-29	-72	-29	-96	-20	5,81	2,64
I- $\alpha_{\text{LS}}$	48	42	67	33	70	32	6,31	2,91
II- $\alpha_{\text{RS}}$	-59	129	88	-16	-91	-32	6,26	3,24
II- $\alpha_{\text{LS}}$	53	-137	-95	81	57	38	5,13	2,78
I- $\alpha_{\text{RU}}$	59	-157	-67	-29	-68	-39	3,99	2,66
I- $\alpha_{\text{LU}}$	-61	158	64	37	62	39	4,00	2,73
II- $\alpha_{\text{RU}}$	54	39	67	-5	-125	-34	3,02	1,91
II- $\alpha_{\text{LU}}$	-65	-20	-90	16	86	37	3,92	3,08
I- $\alpha_{\text{C}}$	-103	143	-85	2	-54	-39	3,96	1,50

Analiza częstości występowania konkretnych aminokwasów naturalnych w strukturach skrętów zwrotnych wykazała dużą preferencję do występowania proliny na pozycji  $i+1$ , kwasu glutaminowego na pozycji  $i+2$  oraz cysteiny, treoniny i kwasu glutaminowego na pozycji  $i+3$ . Prolina natomiast nigdy nie występowała jako czwarty aminokwas w skręcie  $\alpha$  [31]. Jak podkreślają autorzy pracy z 1996 roku przeprowadzenie wiarygodnej analizy statystycznej mającej wskazać dystrybucję aminokwasów na poszczególnych pozycjach w skręcie typu  $\alpha$ , nie była możliwa ze względu na niewielką liczbę tego typu struktur w białkach. Późniejsze badania statystyczne, przeprowadzone w 2004 roku, na znacznie większej liczbie białek (531 białek, 555 łańcuchów polipeptydowych), potwierdziły preferencje występowania proliny na drugiej pozycji skrętu co dodatkowo przyczynia się do tworzenia wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego [32].

Wewnątrz dużego skrętu typu  $\alpha$  bardzo często obserwuje się tworzenie mniejszych struktur stabilizowanych wewnątrzcząsteczkowymi wiązaniami. Należą do nich przede wszystkim skręty  $\beta$  (typu I, II i III oraz ich odbicia lustrzane) i rzadziej skręty  $\gamma$ . Przykładowo typ II- $\alpha_{\text{LS}}$  zawiera w sobie strukturę odpowiadającą skrętowi  $\gamma$  odwróconemu z wartościami odpowiednich kątów  $\Phi$   $-95^\circ$  i  $\Psi$   $81^\circ$  pomiędzy fragmentem  $i+1$  oraz  $i+3$  [31]. Badania prowadzone na większej bazie peptydów wykazały, że 38% skrętów  $\alpha$  przyjmuje konformacje, które umożliwiają dodatkowe oddziaływania wewnątrzcząsteczkowe skutkujące powstaniem mniejszych (bardziej ciasnych) skrętów zwrotnych w obrębie ich struktury [32].

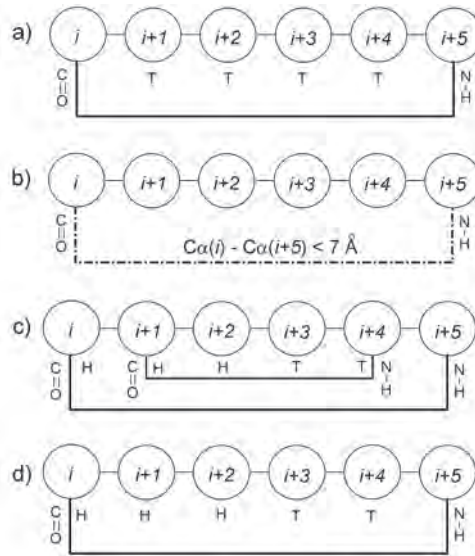
Odrębne zagadnienie stanowi konkurencyjne tworzenie się skrętów  $\alpha$  i skrętów  $\beta$  w białkach. Tej tematyce zostało poświęconych wiele prac, przede wszystkim te dotyczące analizy konformacyjnej peptydów bazujące na obliczeniach kwantowo-mechanicznych i analizie statystycznej [33–35]. Schreiber wraz ze współpracownikami przeprowadzili bardzo dokładną analizę konformacyjną modelowych pepty-

dów (łańcuch jednego peptydu zbudowany z glicyny, drugiego z alaniny) opierając się na obliczeniach teoretycznych z wykorzystaniem metody ab initio MO (teoria orbitali molekularnych, ang. *Molecular Orbitals*) i DFT (teoria funkcjonału gęstości, ang. *Density Functional Theory*) [35]. Wyniki wskazały na większą tendencję do tworzenia się podwójnych skrętów zwrotnych typu  $\beta$  niż do tworzenia skrętów  $\alpha$ . Ponadto w niewielkiej liczbie znalezionych konformerów zauważono tworzenie się, stabilizującego skręt  $\alpha$ , wiązania wodorowego pomiędzy aminokwasem  $i$  oraz  $i+4$ .

## 5. SKRĘTY ZWROTNE TYPU $\pi$

Na skręt zwrotny typu  $\pi$  składa się sześć kolejnych aminokwasów, a stabilizujące je wiązanie wodorowe tworzy się pomiędzy atomem tlenu grupy karbonylowej we fragmencie  $i$  oraz atomem wodoru grupy amidowej we fragmencie  $i+5$ . Jako pierwszy skręt tego typu został zaobserwowany przez Watsona w strukturze krystalicznej mioglobiny [36]. W 1980 roku, Schellman zauważył, że  $\alpha$ -helisy na C-końcach są często zakończone charakterystycznym motywem, na który składają się dwa wiązania wodorowe utworzone pomiędzy fragmentami  $i - i+5$  oraz  $i+1 - i+4$ , przy czym aminokwas na pozycji piątej ( $i+4$ ) występuje w konformacji charakterystycznej dla lewoskrętnej  $\alpha$  helisy ( $\alpha_L$ ) [37]. Strukturę tą nazwano motywem Schellmana lub „spinaczem do papieru” [38]. Jak wykazały późniejsze badania, prawoskrętne  $\alpha$  helisy generalnie zakończone są skrętami zwrotnymi typu  $\pi$ , w których aminokwas na pozycji piątej przyjmuje konformację  $\alpha_L$ . Tym aminokwasem najczęściej jest glicyna lub rzadko asparagina [39, 40].

W pierwszych pracach poświęconych  $\pi$ -skrętom rozpoznawano je dzięki występowaniu charakterystycznego wiązania wodorowego stabilizującego całą strukturę oraz opisywano je na podstawie konformacji aminokwasu na pozycji  $i+4$  w skręcie [41]. Desgupta, w kompleksowej pracy z 2008 roku, podjął się klasyfikacji i usystematyzowania wiedzy na temat budowy skrętów  $\pi$  [42]. Podzielił on skręty na dwa główne rodzaje:  $\pi$ -skręty stabilizowane wiązaniami wodorowymi ( $\pi$ -HB) oraz te, w których nie ma takich oddziaływań ( $\pi$ -NHB) (Rys. 4). Dodatkowo zauważył, że skręty mogą występować jako układy izolowane lub wchodzić w skład większych struktur drugorzędowych. Skręty, które znajdują się na zakończeniach  $\alpha$  helisy tworzą motyw Schellmana (SCH) (Rys. 4c i 4d). Typowy motyw Schellmana, widoczny na Rysunku 4c, posiada dwa wewnętrzzasteczkowe wiązania wodorowe: jedno charakterystyczne dla skrętu  $\pi$ , drugie dla skrętu  $\beta$  (SCH $_{+\beta}$ ). Do rzadko występujących systemów należy motyw Schellmana bez wewnętrznego, dodatkowego wiązania wodorowego, a tym samym bez skrętu  $\beta$  (SCH $_{-\beta}$ ) (Rys. 4d).



Rysunek 4. Schematy różnych typów skrętów zwrotnych  $\pi$ : a) izolowany  $\pi$ -skręt ( $\pi$ -HB), wszystkie aminokwasy od  $i$  do  $i+5$  uczestniczą w tworzeniu skrętu zwrotnego (T); b)  $\pi$ -skręt niestabilizowany wiązaniem wodorowym ( $\pi$ -NHB); c) typowy motyw Schellmana ( $SCH_{\beta}$ ) z dodatkowym wiązaniem wodorowym pomiędzy drugim i piątym aminokwasem w strukturze; aminokwasy na pozycjach od  $i$  do  $i+2$  posiadają konformację charakterystyczną dla  $\alpha$ -helisy (H); d) motyw Schellmana bez wiązania wodorowego stabilizującego skręt zwrotny typu  $\beta$  ( $SCH_{\beta}$ ) [42]

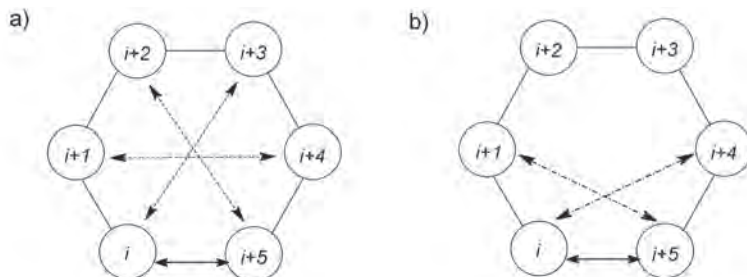
Figure 4. Schematic representations of different types of  $\pi$ -turns: a) isolated  $\pi$ -turn ( $\pi$ -HB), with  $i$  to  $i+5$  residues in turn (T); b) non-hydrogen bonded  $\pi$ -turn ( $\pi$ -NHB); c) typical Schellman motif ( $SCH_{\beta}$ ) with additional hydrogen bond linking  $i+1$  and  $i+4$  positions,  $i$  to  $i+2$  position are in helical conformation (H); d) Schellman motif without additional hydrogen bond stabilized  $\beta$ -turn ( $SCH_{\beta}$ ) [42]

Autorzy pracy z 2008 roku, korzystając z programu DSSP (algorytm służący do przewidywania obecności wiązań wodorowych w strukturach peptydowych [43], ang. *Dictionary of Secondary Structure of Proteins*) przeanalizowali, pod kątem występowania skrętów  $\pi$ , struktury kilku tysięcy białek, korzystając z ich koordynat atomowych zebranych w bazie PDB. Na podstawie analizy konformacyjnej poszczególnych aminokwasów, w zależności od wartościach kątów torsyjnych  $\Phi$  i  $\Psi$  oraz odległości pomiędzy atomami  $Ca(i)$  i  $Ca(i+5)$ , dokonali oni podziału typów skrętów  $\pi$  na liczne podtypy [42].

Przeprowadzona analiza częstości występowania aminokwasów w strukturach skrętów zwrotnych wykazała dużą preferencję do występowania prolina na pozycji  $i+1$  zarówno w  $\pi$ -HB jak i  $\pi$ -NHB. W skręcie  $\pi$ -NHB na danej pozycji często występują także: asparagina, kwas asparaginowy, seryna i treonina, a na pozycji  $i+3$  preferowane są prolina oraz glicyna. Glicyna jest najczęściej występującym aminokwasem na pozycji  $i+4$  w obu typach opisywanych skrętów ze względu na przyjmowaną konformację charakterystyczną dla lewoskrętnej helisy [42].

Skręt  $\pi$  jest najdłuższym z wyróżnionych skrętów zwrotnych. Składa się na niego sześć reszt aminokwasowych, cztery z nich stanowią środkowy fragment

skrętu. To powoduje, że wewnątrz skrętu może dochodzić do wielu oddziaływań, które skutkują powstaniem mniejszych układów drugorzędowych, najczęściej skrętów typu  $\beta$  oraz  $\alpha$ . Na Rysunku 5 przedstawiono schematycznie wszystkie możliwe wiązania wodorowe, które mogą dodatkowo utworzyć się wewnątrz skrętu typu  $\pi$ .



Rysunek 5. Schemat wiązań wodorowych, które mogą utworzyć się wewnątrz skrętu  $\pi$ -HB; a) wiązania stabilizujące  $\beta$ -skręty b)  $\alpha$ -skręty [42]

Figure 5. Schematic representation of hydrogen bonds inside  $\pi$ -HB turns encompassing multiple a)  $\beta$ - and b)  $\alpha$ -turns [42]

## PODSUMOWANIE

Skręty zwrotne są najmniejszymi elementami struktury drugorzędowej białek. Obok  $\alpha$ -helisy i  $\beta$ -harmonijki to skręty typu  $\beta$  i  $\gamma$  najczęściej występują w białkach. Ich rola w wielu procesach biologicznych i fizjologicznych, jest bardzo duża co związane jest z faktem, iż występują one na powierzchniach struktur białkowych. Ze względu na rolę jaką pełnią skręty zwrotne, naukowcy z wielu dziedzin (chemicy, biolodzy, biochemicy i lekarze) zaczęli je badać i opisywać. Ważne stało się nie tylko zbadanie samych skrętów zwrotnych i ich dokładnej roli, ale także poznanie możliwości naśladowania ich budowy i funkcji. W artykule – jego pierwszej części, przedstawiona została charakterystyka poszczególnych rodzajów skrętów zwrotnych ze szczególnym uwzględnieniem ich budowy. Druga część artykułu poświęcona zostanie omówieniu zagadnień związanych z naśladowaniem budowy, konformacji struktur zwrotnych przez ich mimetyki.

## PODZIĘKOWANIE

Serdeczne podziękowania dla Pani dr hab. Barbary Rys za pomoc, cenne uwagi merytoryczne oraz wsparcie udzielone podczas powstawania tej publikacji.

## PIŚMIENNICYWO CYTOWANE

- [1] K.C. Chou, Anal. Biochem., 2000, **286**, 1.
- [2] A.M.C Marcelino, L.M. Gierasch, Biopolymers, 2008, **89**, 380.



- [3] G.D. Rose, L.M. Gierasch, J.A. Smith, *Adv. Protein Chem.*, 1985, **37**, 1.
- [4] G. Müller, G. Hessler, H.Y. Decornez, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2000, **39**, 894.
- [5] R.P. Cheng, S.H. Gellman, W.F. DeGrado, *Chem. Rev.*, 2001, **101**, 3219.
- [6] E. Vass, M. Hollósi, F. Besson, R. Buchet, *Chem. Rev.*, 2003, **103**, 1917.
- [7] P. Prabakaran, J. Gan, Y.O. Wu, M.Y. Zhang, D.S. Dimitrov, X. Ji, *J. Mol. Biol.*, 2006, **357**, 82.
- [8] C. Toniolo, *CRC Crit. Rev. Biochem.*, 1980, **9**, 1.
- [9] S. Chatterjee, R.S. Roy, P. Balaram, *J.R. Soc. Interface*, 2007, **4**, 587.
- [10] O. Koch, G. Klebe, *Proteins: Struct., Funct., Bioinf.*, 2009, **74**, 353.
- [11] C. Toniolo, *Crit. Rev. Biochem.*, 1980, **9**, 1.
- [12] A.N. Stroup, A.L. Rockwell, A.L. Rheingold, L.M. Gierasch, *J. Am. Chem. Soc.*, 1988, **110**, 5157.
- [13] H.A. Nagarajaram, P.K.C. Paul, K. Ramanarayanan, K.V. Soman, C. Ramakrishnan, *Int. J. Peptide Protein Res.*, 1992, **40**, 383.
- [14] G. Némethy, M.P. Printz, *Macromolecules*, 1972, **5**, 755.
- [15] S.J. Stachel, H. Hu, Q.N. Van, A.J. Shaka, D.L. Van Vranken, *Bioorg. Med. Chem.*, 1998, **6**, 1439.
- [16] K. Guruprasad, S. Shukla, *J. Peptide. Res.*, 2003, **61**, 159.
- [17] C.M. Venkatachalam, *Biopolymers*, 1968, **6**, 1425.
- [18] P.N. Lewis, F.A. Momany, H.A. Scherag, *Biochem. Biophys. Acta*, 1973, **303**, 211.
- [19] J.S. Richardson, *Adv. Protein Chem.*, 1981, **34**, 167.
- [20] E.G. Hutchinson, J.M. Thornton, *Protein Science*, 1994, **3**, 2207.
- [21] K. Guruprasad, M.S. Prasad, G.R. Kumar, *J. Peptide. Res.*, 2000, **56**, 250.
- [22] K. Guruprasad, M.S. Prasad, G.R. Kumar, *J. Peptide. Res.*, 2001, **57**, 292.
- [23] D.C. Rees, M. Lewis, W.N. Lipscomb, *J. Mol. Biol.*, 1983, **168**, 367.
- [24] P.Y. Chou, G.D. Fasman, *Biochemistry*, 1974, **13**, 211.
- [25] P.Y. Chou, G.D. Fasman, *J. Mol. Biol.*, 1977, **115**, 135.
- [26] B.L. Sibanda, J.M. Thornton, *Nature*, 1985, **316**, 170.
- [27] B. Veerapandian, J.B. Cooper, M.A. Sali, T.L. Blundell, *J. Mol. Biol.*, 1991, **216**, 1017.
- [28] W. Furey Junior, B.C. Wang, C.S. Yoo, M. Sax, *J. Mol. Biol.*, 1983, **167**, 661.
- [29] W. Steigemann, E. Weber, *J. Mol. Biol.*, 1979, **127**, 309.
- [30] D.J. Barlow, J.M. Thornton, *J. Mol. Biol.*, 1988, **201**, 601.
- [31] V. Pavone, G. Geata, A. Lombardi, F. Nastro, O. Maglio, *Biopolymers*, 1996, **38**, 705.
- [32] B. Desgupta, L. Pal, G. Basu, P. Chakrabarti, *Proteins: Struct., Funct., Bioinf.*, 2004, **55**, 305.
- [33] H. Kaur, G.P.S. Raghava, *Proteins: Struct., Funct., Bioinf.*, 2004, **55**, 83.
- [34] Y. Wang, Z. Xue, J. Xu, *Proteins: Struct., Funct., Bioinf.*, 2006, **65**, 49.
- [35] A. Schreiber, P. Schramm, H.J. Hofmann, *J. Mol. Model.* 2011, **11**, 1393.
- [36] H.C. Watson, *Progr. Stereochem.*, 1969, **4**, 299.
- [37] C. Schellman, *Protein Folding*, R. Jaenicke (Red.), Elsevier/North Holland Biochemical Press, Amsterdam 1980, str. 53.
- [38] E.J. Milner-White, *J. Mol. Biol.*, 1988, **199**, 503.
- [39] K. Gunasekaran, H.A. Nagarajaram, C. Ramakrishnan, P. Balaram, *J. Mol. Biol.* 1998, **275**, 917.
- [40] S. Datta, N. Shamala, A. Banerjee, A. Pramanik, S. Bhattacharjya, P. Balaram, *J. Am. Chem. Soc.*, 1997, **119**, 9246.
- [41] K.R. Rajashankar, S. Ramakumar, *Protein Sci.*, 1996, **5**, 932.
- [42] B. Desgupta, P. Chakrabarti, *BMC Structural Biology*, 2008, **8**, 39.
- [43] W. Kabsch, C. Sander, *Biopolymers*, 1983, **22**, 2577.