



УДК 577.21 : 575.113

© 1991 г.

Г. И. Чипенс, Л. Е. Гниломедова, Р. В. Рудзис

## КОД КОРНЕЙ КОДОНОВ АМИНОКИСЛОТ И ИДИОТИПИЧЕСКИЕ СЕТИ

*Институт органического синтеза Латвийской АН, Рига*

Для исследования действия кода корней кодонов аминокислот, определяющего процессы узнавания и взаимодействия белков, разработаны новые модели идиотипических сетей антител. Показано, что взаимодействие активных центров белков можно объяснить и прогнозировать на базе структуры кода корней кодонов аминокислот и принципа полярности. «Внутренние образы» антигенных детерминант белков в молекулах иммуноглобулинов построены в основном из групп аминокислот, имеющих общие корни кодонов, что согласуется с представлениями о структуре кода корней.

Для целенаправленного дизайна и синтеза пептидов и белков, обладающих заданными физико-химическими и биологическими свойствами, необходимо знать закономерности узнавания и взаимодействия аминокислот в пептидных цепях. Код взаимодействия «аминокислота-антиаминокислота» (код а- $\bar{a}$ ) является линейным кодом, согласно которому специфические взаимодействия чувствительны к антисенс-пептидные цепи, кодируемые комплементарными цепями ДНК [1, 2]. В активных центрах белков и пептидов рядом часто расположены остатки из разных участков первичной структуры (регнологический тип организации [3]), что исключает действие линейных кодов.

В работе [4] постулировано существование кода корней кодонов аминокислот (код к-к), определяющего взаимодействие аминокислот, имеющих лишь комплементарные, согласно Уотсону — Крику, корни (основания вторых нуклеотидов) кодонов А/У и G/С. Другими словами, код к-к позволяет исследовать взаимодействие белков, закодированных некомплементарными цепями ДНК. Для дальнейшего изучения кодов взаимодействия аминокислот а- $\bar{a}$  и к-к необходимо оценить их возможности в исследовании взаимодействия белков, имеющих третичную структуру. В качестве подходящего объекта исследования для этих целей в настоящей работе выбрана система «антиген—антитело».

Сеть иммунологических реакций с участием лиганда, его специфического рецептора и антител можно изобразить при помощи схемы (рис. 1а), заимствованной из работы [5]. Допуская, что взаимодействие аминокислот в активных центрах белков определяется кодом к-к, преобразуем данную схему с учетом принципа полярности [6, 7], условно изображая структуру активных центров посредством черно-белой мозаик (рис. 1б). Как видно из рисунка, активные центры шести разных компонентов этой системы отражаются лишь двумя типами мозаик, которые соотносятся между собой как негатив и позитив в черно-белой фотографии. Рассмотрим это положение более подробно.

Согласно структуре генетического кода, пуриновые основания в корнях кодонов определяют полярность аминокислот, а пиримидиновые — аполярность [7]. Полярная аминокислота в водном окружении всегда взаимодействует с аполярной и наоборот. Между полярностью и гидропатичностью аминокислот [2, 8] не всегда, однако, имеется прямая корреляция, т. е. не всегда полярная аминокислота является гидрофильной, а аполярная — гидрофобной (за исключением Y, W, T, S и C).

Условно принимая, что взаимодействующая с клеточным рецептором или антителом область лиганда образована из девяти расположенных на

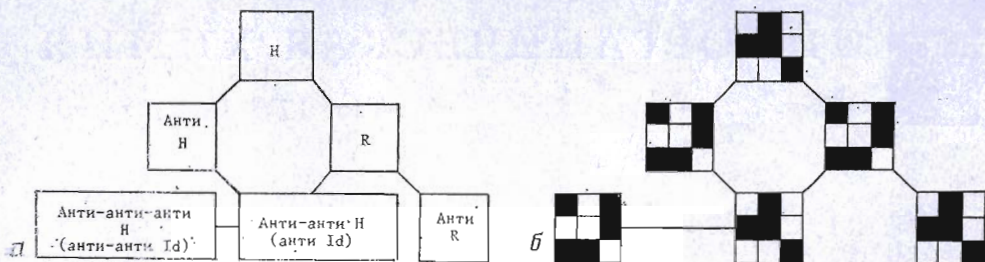


Рис. 1. Сеть иммунологических взаимодействий, где Н — гормон; R — его специфический рецептор; анти-Н, анти-анти-Н и т. п. — антитела; анти-Id — антиидиотипические антитела. а — общая схема взаимодействий согласно [5], б — интерпретация этой схемы на основе модели мозаик активных центров белков, характеризующей распределение полярных (черные клетки) и аполярных (белые клетки) аминокислот [6]

поверхности белковой глобулы аминокислот, и изображая структуру этой области в виде мозаики черно-белых клеток (рисунок мозаики произвольный), можно получить, используя принцип полярности, структуры всех остальных комплементарных активных центров белков данной системы (рис. 1), т. е. если известна конкретная структура какого-то активного центра белка данной системы, можно предсказать аминокислотный состав и других центров. Такое предсказание, однако, является весьма неопределенным, так как код корней аминокислот сильно вырожден (табл. 1). Например, если в активном центре одной из молекул данной системы находится тирозин (черная клетка, рис. 1б), кодируемый кодонами UAU или UAC, то в изостерических положениях других мозаик в черных клетках могут находиться только аминокислоты с корнями А (E, D, K, N, Q, H, Y), а в белых клетках — только аминокислоты с корнями U (V, M, I, L, F).

Рассмотренный способ изображения структур активных центров белков можно применить и для более сложных систем, например для белков идиотипических сетей. Теория идиотипических сетей была разработана Эрне, ее характеризуют следующие постулаты [9, 10]:

1) молекулы иммуноглобулинов (или антител, Ab) в своих структурах несут «внутренние образы» всех возможных антигенов;

2) для каждой молекулы антител, например  $Ab_1$  с идиотопом  $i_1$  и паратопом  $p_1$ , существует комплементарная молекула  $Ab_2$ , несущая свой специфический идиотоп  $i_2$  и паратоп  $p_2$ , способный к связыванию  $i_1$ . Возмущение, однажды возникнув, бесконечно распространяется по идиотипической сети  $Ab_1 - Ab_2 - Ab_3 - \dots - Ab_N$ ;

3)  $Ab_{N+1}$  тормозит действие соответствующего клона лимфоцитов, продуцирующих  $Ab_N$ , и наоборот,  $Ab_N$  стимулирует образование  $Ab_{N+1}$ . Вся иммунная система действует как развитая сеть взаимосвязей идиотип-антиидиотип, устойчивое (равновесное) состояние которой обеспечивается непрерывным изменением соотношений и активности клонов иммунокомпетентных клеток.

Таблица 1

Структура кода корней кодонов аминокислот

Название группы (корень кодона)	Состав группы	Условия взаимодействия
Группа аденина (A)	D, E, K, N, Q, H, Y	Парные контакты в водном окружении образуют любые две аминокислоты, имеющие корни кодонов, из противоположных групп комплементарности (A и U или G и C)
» урацила (U)	V, M, I, L, F	
» гуанина (G)	G, R, S, W, C	
» цитидина (C)	T, A, P, S	

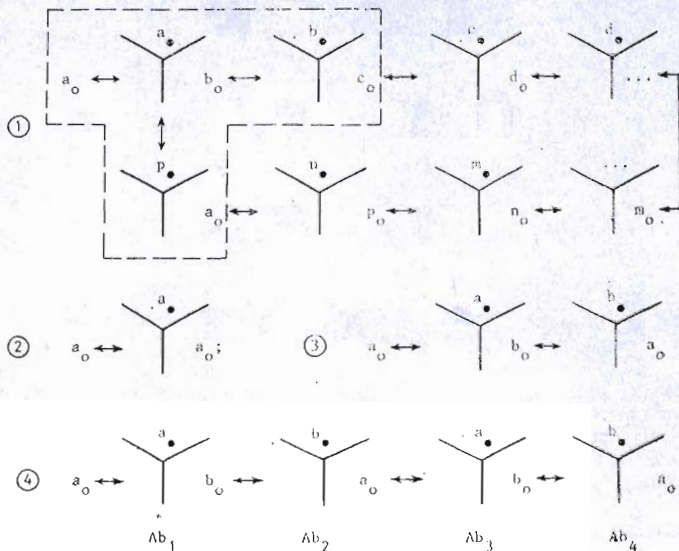


Рис. 2. Модели идиотипических сетей. Пояснения в тексте

Теория идиотипических сетей, получившая экспериментальное подтверждение, со временем претерпела некоторые изменения. Было показано, что взаимодействие  $p - i$  может быть либо угнетающим, либо стимулирующим в зависимости от конкретных условий и что цепь возмущения не является неограниченной [10].

Для изображения структур мозаик активных центров белков идиотипических сетей (паратопов и идиотопов) используем другую, более простую символику. Комплементарные (по принципу «негатив-позитив», см. выше) мозаики обозначим буквами с индексом — белым или черным кружочком, например  $m_o$  (позитив) или  $m_\bullet$  (негатив). Разные буквы будут использованы для обозначения мозаик, имеющих разную структуру, т. е. разное расположение полярных и аполярных аминокислот. Используя эти обозначения, идиотипическую сеть — цепь молекул иммуноглобулинов с разными структурами активных центров  $p$  и  $i$ , согласно постулатам теории Эрне [9], можно представить в следующем виде (рис. 2, модель 1). Антиген  $a_o$  индуцирует образование антител со структурой паратопа  $a_\bullet$  и идиотопа  $b_o$ , что в свою очередь индуцирует биосинтез антител со структурой паратопа  $b_\bullet$  и идиотопа  $c_o$  и т. д. Продолжая цепь образования антител в этом направлении, через определенное число членов ряда можно дойти до молекулы, имеющей в качестве идиотопа структуру  $a_o$ , комплементарную паратопу  $a_\bullet$  первого члена иммуноглобулинового ряда. Предполагается, что основное регулирующее значение имеют молекулы антител, выделенные из общего ряда прерывистой линией, и что именно эти члены ряда образуются в концентрациях, необходимых для осуществления регулирующего влияния, а остальные служат лишь для переноса информации по цепи.

Кроме рассмотренного ряда антиидиотипических антител существуют другие возможные варианты структур идиотипических сетей. Наиболее простой вариант (рис. 2, модель 2), согласно которому паратоп и идиотоп антитела кодируются комплементарными участками цепей ДНК, по-видимому, не может, в соответствии с гипотезой [2, 11], обладать регуляторным свойством. Однако этим свойством может обладать другой вариант — тандем (рис. 2, модель 3), образованный на основе структур первого ряда антиидиотипических антител (см. участок, выделенный прерывистой линией, рис. 2, модель 1). В тандеме паратопы и идиотопы двух молекул антител взаимно перекрестно комплементарны. Представляется, что такая пара антител может наиболее эффективно выполнять регуляторные функции. На основе тандема антител можно образовать структуру нового ряда антиидиотипических антител  $Ab_1 - Ab_4$  (рис. 2, модель 4), характеризующуюся наличием лишь двух комплементарных пар мозаик



Рис. 3. Модели-мозаики первичных структур вазопрессина и комплементарных ему активных центров белков, где *s* — сенс-вазопрессин, *as* — антисенс-вазопрессин, *R* и *Ab<sub>1</sub>* — клеточный рецептор и антитела к сенс-вазопрессину, *Ab<sub>2</sub>β* — антиидиотипические антитела, полученные иммунизацией животных антисенс-вазопрессинном. Двусторонние стрелки обозначают экспериментально установленные взаимодействия молекул [2—14]

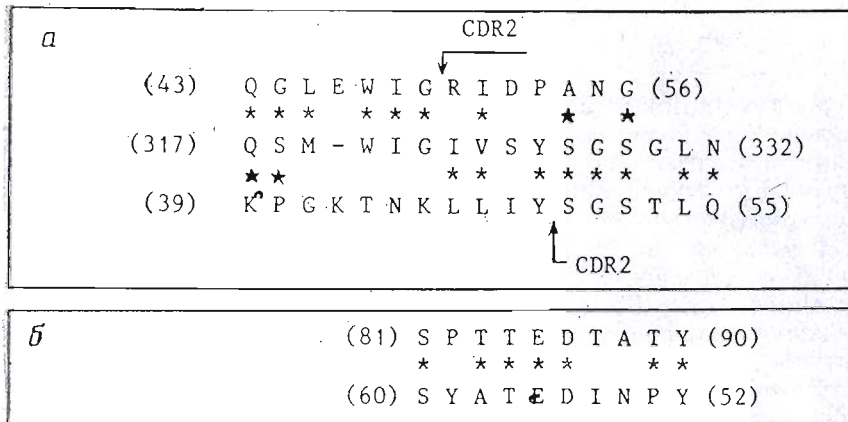


Рис. 4. Сопоставление первичных структур эпитопов и идиотопов. *а* — фрагменты  $V_H$ - и  $V_L$ -цепей моноклональных антител (43—56 и 39—55) и гемагглютинина реовируса (317—332) [17, 18]; *б* — фрагменты цепей антигена — Ig кролика (аллотип  $a_1$ , 81—90) и моноклональных антител  $V_H$  CDR2 мыши (52—60) [19]. Аминокислотные пары, имеющие общие корни, отмечены звездочкой

активных центров  $a_1$  —  $b_1$  и  $b_2$  —  $a_2$  (см. аналогию со структурами мозаик, рис. 1 б). Следует еще раз подчеркнуть, что, например, символы  $a_1$  в структуре  $Ab_1$  и  $Ab_3$  (рис. 2, модель 4) отражают одинаковое распределение полярных и неполярных аминокислот в активном центре, которое может быть обеспечено разными аминокислотами, имеющими одинаковые корни кодонов.

Предложенные нами модели идиотипических сетей, так же как и другие [10], чисто умозрительны. Однако в основе новых моделей (рис. 2) положены конкретные исходные данные о структуре генетического кода, его скрытой симметрии, коде взаимодействия аминокислот и принципе полярности [4, 7, 8]. Может быть, именно поэтому новые модели хорошо согласуются с известными экспериментальными данными по взаимодействию антигенов и антител, а также лигандов и рецепторов.

Рассмотрим применимость этих моделей на примере нейрогипофизарного гормона вазопрессина и белков идиотипических сетей. В литературе [12, 13] описан синтез антисенс-вазопрессина (рис. 3) и фрагментов его предшественника. Показано их взаимодействие с соответствующими сенс-вазопрессинном и сенс-фрагментами. Получены антитела  $Ab_1$ , взаимодействующие с сенс-вазопрессинном. С использованием  $Ab_1$  для иммунизации животных были получены антитела  $Ab_2$  класса  $\beta$ , функционально имитирующие оригинальный антиген и образующие комплекс с  $Ab_1$  [14].  $Ab_2\beta$

## Ингибирование взаимодействия антител (Ab) и анти-a1Ab синтетическими пептидами [19]

Ингибитор	Первичная структура	$I_{50}$ *, мкМ	I, % **
Антитела кролика a1	—	0,002	99
Фрагмент антител a1 района FR3	ITSPTEEDTATYFCA	60	92
Фрагмент моноклональных антител мыши Ab <sub>2</sub> β CDR2	IGYIYPNIDETAYSQ	100	90
Контроль (негомологичный пептид)	MOIFVKTLTGKDPGG	>5000	0

\* Концентрация пептида, обеспечивающая 50% ингибирование.

\*\* Ингибирование, проявляемое пептидом при концентрации 1 мкМ.

имеют идентичные с сенс-вазопрессинном структуры мозаик (рис. 3) и взаимодействуют с рецепторами вазопрессина R. Важно отметить, что получены антисенс-вазопрессины двух различных последовательностей: APWAVLEVA [12] и AVELVAWPA [14]. Последовательность последнего пептида отвечает считыванию информации с мРНК в противоположном 3' → 5'-направлении. Поскольку корни кодонов аминокислот при этом не меняются, структуры мозаик для обоих антисенс-пептидов идентичны. Показано, что пептид AVELVAWPA, так же как и рецептор к вазопрессину, образует комплекс с Ab<sub>2</sub>β [14]. Таким образом, в эксперименте между собой взаимодействуют любые белки и пептиды одной системы (рис. 1б и 3), мозаики которых комплементарны друг другу согласно принципу полярности («негатив-позитив»).

Имеющиеся в литературе данные экспериментов удивительно хорошо согласуются также с предложенной моделью, разбитой на основе мозаик-тандема (рис. 2, модель 4). Так, показано, что, иммунизируя нормальных, подобранных по аллотипу, кроликов или сингенных мышей антигенными белками, можно получить не только антитела Ab<sub>1</sub>, Ab<sub>2</sub>, но и Ab<sub>3</sub> и Ab<sub>4</sub>. Например, у мышей линии Balb/c [15], иммунизированных антигенами Ab<sub>1</sub>, спонтанно появляются антитела Ab<sub>3</sub>, подтверждая, что Ab<sub>3</sub> — нормальный компонент идиотипической сети. Иммунологические свойства членов ряда Ab<sub>1</sub>, Ab<sub>2</sub>, Ab<sub>3</sub> и Ab<sub>4</sub> подробно исследованы на кроликах и мышах, иммунизированных соответственно полисахаридом и белковым антигеном [15, 16]. Причем было обнаружено, что Ab<sub>4</sub> обладает антиген-связывающей способностью Ab<sub>2</sub>, т. е. оба антитела образуют комплекс с Ab<sub>1</sub>, что полностью отвечает содержанию предложенной нами модели (рис. 2, модель 4).

Наиболее интересны, однако, данные, подтверждающие как теорию идиотипических сетей, так и действие кода корней, которые были получены при установлении первичной структуры антигенов и их «внутренних образов» в молекулах иммуноглобулинов. Так, например, первичные структуры эпитопа гемагглютинина реовируса и идиотопов, расположенных в гипервариабельных районах легких цепей соответствующих моноклональных антител Ab<sub>2</sub>, имеют общий фрагмент (39—55), включающий 10 аминокислот (среди которых 5 идентичных) с одинаковыми корнями кодонов (рис. 4а).

Определение первичной структуры двух антиидиотипов, имитирующих a1-аллотип иммуноглобулинов кролика, показало [19], что в вариабельных районах тяжелых цепей молекул антител имеется гомологичный a1-аллотипу участок, характеризующийся перевернутой аминокислотной последовательностью (рис. 4б). Из 10 аминокислотных остатков, входящих в состав эпитопа и идиотопа, 7 имеют общие корни. Было показано, что синтетические пептиды как идиотипа, так и аллотипа полностью блокируют связывание иммуноглобулинов кролика анти-a1-антителами (табл. 2) [19].

В работе [20] приведены данные рентгеноструктурного анализа комплекса «идиотоп-антиидиотоп», позволяющие проанализировать молекулярные основы конкурентного взаимодействия антигена и антиидиотипических антител с молекулой иммуноглобулина (и в равной степени с иммуноглобулиновым рецептором). Из 13 аминокислот, образующих активный центр паратопа молекулы Ig Fab D1 3 против лизоцима, 6 входят в структуру идиотопа Ig Fab E225. Мимикрия антигенной структуры лизоцима [21] в данном случае не имеет места. Причиной этого, как отмечено в работе [20], является частичное перекрывание структур паратопа и идиотопа, а также сложная структура антигенной детерминанты, которую образуют два удаленных по аминокислотной последовательности участка лизоцима (18—27 и 116—129 [21]). Часть эпитопа лизоцима образуют аминокислоты, входящие в структуру  $\alpha$ -спирали, которую трудно имитировать петлевыми участками антител [20]. Молекулярная мимикрия белковых антигенов до сих пор обнаружена лишь для секвенционных эпитопов, но пока не выявлена для топографических антигенных детерминант, структуры которых зависят от общей пространственной организации белка.

В заключение необходимо отметить, что полученные в настоящей работе модели идиотипических сетей согласуются с развитыми нами представлениями о коде корней кодонов аминокислот, определяющем начальные этапы взаимодействия белков и пептидов [4].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Меклер Л. Б. // Биофизика. 1969. Т. 14. Вып. 4. С. 581—584.
2. Blalock J. E., Smith E. M. // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1984. V. 121. № 1. P. 203—207.
3. Schwyzer R. // Peptides 1972 / Eds H. Hanson, H. D. Jakubke. Amsterdam, London, North-Holland Publ. Company, 1973. P. 424—436.
4. Чупенс Г. И., Иевиня Н. Г., Рудзиси Р. В. // Биоорган. химия. 1991. Т. 17. № 11. С. 1582—1584.
5. Strosberg A. D. // Trends Biochem. Sci. 1984. V. 9. № 4. P. 166—169.
6. Чупенс Г. И., Рудзиси Р. В., Иевиня Н. Г. // Биоорган. химия. 1991. Т. 17. № 10. С. 1437—1440.
7. Чупенс Г. И. // Биоорган. химия. 1991. Т. 17. № 10. С. 1335—1346.
8. Чупенс Г. И., Балодис Ю. Ю., Гниломедова Л. Е. // Укр. биохим. журн. 1991. Т. 63. № 4. С. 20—29.
9. Jerne N. K. // Ann. Immunol. 1974. V. 125C. P. 373—389.
10. Бона К. А., Пернис Б. // Иммунология. Т. 2 / Ред. У. Пол. М.: Мир, 1988. С. 425—447.
11. Bost K., Smith E. M., Blalock J. E. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1985. V. 82. № 5. P. 1372—1375.
12. Fassina G., Zamai M., Brighan-Burke M., Chaiken I. M. // Biochemistry. 1989. V. 28. № 22. P. 8811—8819.
13. Johnson H. M., Torries B. A. // J. Immunol. 1988. V. 141. № 7. P. 2420—2423.
14. Knigge K. M., Pickut T. D., Berlove D. // Neurosci. Lett. 1988. V. 86. № 3. P. 269—271.
15. Bona C., Heber-Katz H., Pane W. E. // J. Exp. Med. 1981. V. 153. N 3. P. 951—967.
16. Wikler M., Franssen J.-D., Collingnon C., Leo O., Mariame P., De Walle V., De Goete V., Urbain J. // J. Exp. Med. 1979. V. 150. № 1. P. 184—195.
17. Bruck C., Sung Co M., Slaoui M., Caulton G. N., Smith T., Fields B. N., Mullons J. S., Greene M. I. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1986. V. 83. № 17. P. 6578—6582.
18. Williams W. V., Guy H. R., Rubbin D. H. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1988. V. 85. № 17. P. 6488—6492.
19. Van Cleave V. H., Naeve C. W., Metzger D. W. // J. Exp. Med. 1988. V. 167. № 6. P. 1841—1848.
20. Bentley G. A., Boulot G., Riottot M. M., Poljak R. J. // Nature. 1990. V. 338. № 6298. P. 254—257.
21. Amit A. G., Mariuzza R. A., Philips S. E. V., Poljak R. J. // Science. 1986. V. 233. № 4765. P. 747—753.

Поступила в редакцию  
24.IV.1991

CODE OF CODON ROOTS OF AMINO ACIDS AND IDIOTYPE NETS

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

Novel models of idiootype nets of antibodies have been developed to study the code responsible for the amino acid interaction and complex formation of proteins. It is shown that the interaction of protein active centres in idiootype nets can be interpreted and predicted basing on the structure of code of codon roots of amino acids and polarity principle. «Internal images» of the sequence antigene determinants of proteins in immunoglobulin molecules are built mainly from the amino acid groups having common codon roots, which is in agreement with the conception of the structure of the root code.