



УДК 547.962: 541.63

ПОДХОД К РАСЧЕТУ СТАБИЛЬНЫХ КОНФОРМАЦИЙ ОЛИГОПЕПТИДОВ

II. ТРИ- И ПЕНТАПЕПТИДЫ С ЧЕРЕДУЮЩИМИСЯ ОСТАТКАМИ
АЛАНИНА И ФЕНИЛАЛАНИНА

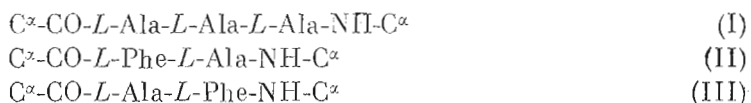
Липкин Г. М., Ахмедов Н. А., Попов Е. М.

*Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва*

Исследованы конформационные возможности фрагментов C^α -CO-L-Phe-L-Ala-L-Phe-NH- C^α ; C^α -CO-L-Ala-L-Phe-L-Ala-NH- C^α , C^α -CO-L-Phe-L-Ala-L-Phe-L-Ala-L-Phe-NH- C^α .

Показано, что взаимодействия между соседними аминокислотными остатками приводят к заметной энергетической дифференциации пространственных форм. Предпочтительные конформации трипептида описываются комбинациями низкоэнергетических ди- и трипептидных форм. Реализующиеся в белках конформационные состояния соответствующих ди- и трипептидных фрагментов близки низкоэнергетическим конформерам рассмотренных моделей. Сделан вывод о перспективности предварительного анализа ди- и трипептидных фрагментов в решении конформационной проблемы сложных олигопептидных молекул.

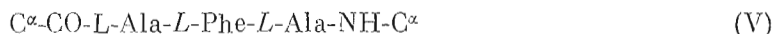
В предыдущем сообщении [1] было показано, что для решения конформационной проблемы олигопептидов (10—15 остатков) большой интерес представляет расчет низкоэнергетических форм ди- и трипептидных фрагментов, и был выполнен анализ пространственного строения следующих фрагментов:



Расчет фрагментов (II) и (III) [1] позволил оценить раздельное влияние предшествующего и последующего остатков фенилаланина (или аланина) на конформационное состояние остатков аланина, фенилаланина. В настоящем сообщении рассматриваются конформационные состояния трипептидных фрагментов



и



в которых воздействие на конформационное состояние центрального остатка осуществляется одновременно с обеих сторон. На основании полученных результатов предсказаны конформационные возможности пентапептида



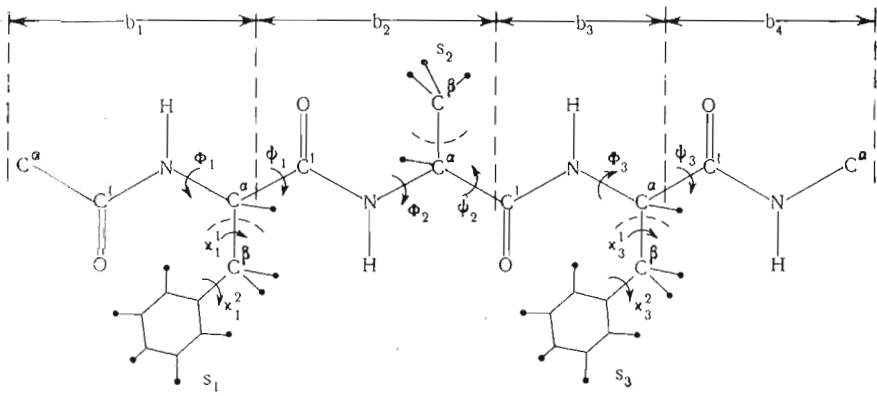


Рис. 1. Модель фрагмента $C^\alpha\text{-CO-L-Phe-L-Ala-L-Phe-NH-C}^\alpha$

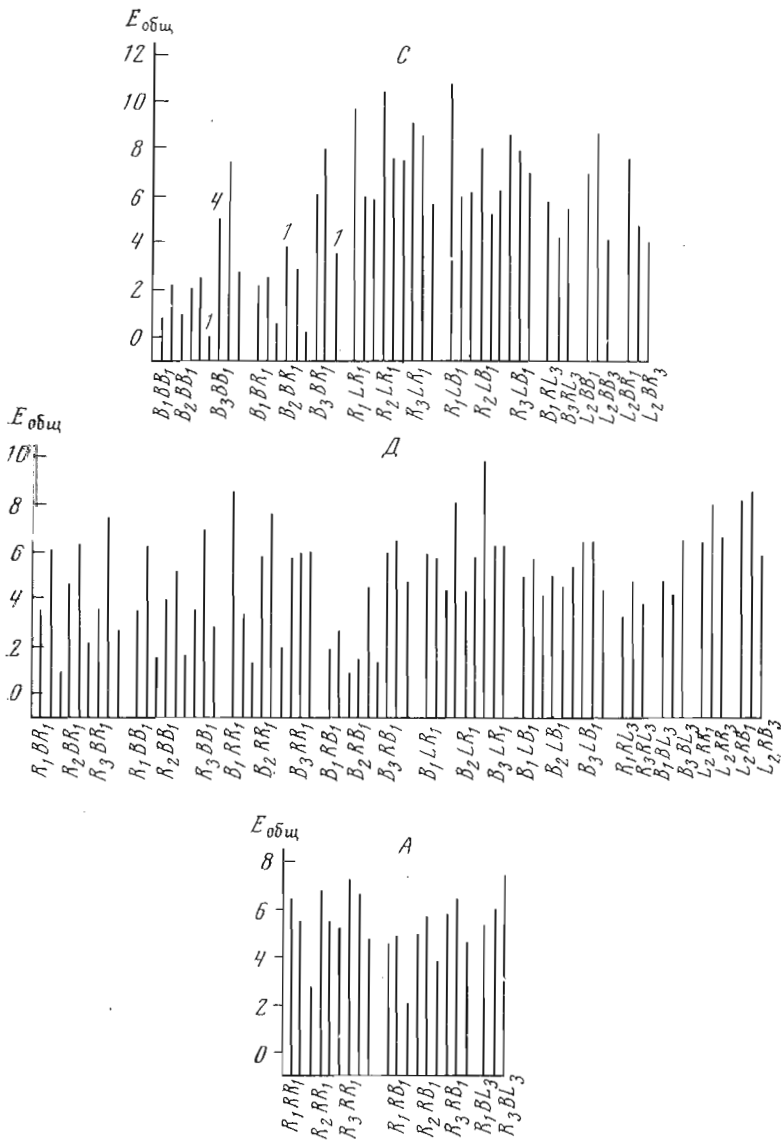


Рис. 2. Гистограмма энергетического распределения конформеров А, С, В для $C^\alpha\text{-CO-L-Phe-L-Ala-L-Phe-NH-C}^\alpha$

Геометрические и энергетические параметры оптимальных конформаций фрагмента C^α-CO-L-Phe-L-Ala-L-Phe-NH-C^α

Конформация	Углы вращения, град.						Энергия взаимодействия, ккал/моль				Форма основной цепи	Формы смежных дигеттипов				
	тип	φ_1	ψ_1	χ_1^1	χ_1^2	φ_2	ψ_2	φ_3	ψ_3	χ_3^1			χ_3^2	$E_{b_i-b_j}$	$E_{(b_i-s_j) + (b_{i+1}-s_{i+1})}$	$E_{s_i-s_j}$
Развернутые формы основной цепи																
C ₁	B ₂ -B-B ₃	-104	144	-177	96	-84	102	-95	159	-63	96	13,7	19,8	-3,6	C ₁ ⁰	c ₁ '-c ₁ "
C ₂	B ₂ -B-R ₃	-102	148	180	92	-83	95	-88	-52	-64	96	13,6	20,2	-3,4	C ₂ ⁰	c ₁ '-c ₂ "
C ₃	B ₁ -B-R ₃	-123	173	53	88	-78	109	-93	-66	-61	88	14,2	20,3	-4,1	C ₃ ⁰	c ₃ '-c ₂ "
C ₄	B ₁ -B-B ₁	-135	166	65	101	-83	99	-130	164	55	86	14,7	19,3	-3,2	C ₁ ⁰	c ₈ '-c ₃ "
C ₅	B ₂ -B-B ₁	-108	148	173	61	-92	115	-142	162	59	93	14,8	20,2	-3,2	C ₁ ⁰	c ₁ '-c ₃ "
C ₆	B ₁ -B-B ₂	-132	179	66	94	-78	95	-102	144	174	80	14,2	19,0	-2,8	C ₁ ⁰	c ₃ '-c ₆ "
C ₇	B ₁ -B-R ₁	-134	15	66	99	-83	91	-117	-35	52	87	15,0	20,9	-3,2	C ₂ ⁰	c ₃ '-c ₄ "
C ₄₅	R ₁ -L-R ₁	-121	-52	54	98	26	74	-111	-34	68	87	19,7	21,3	-2,1	C ₄ ⁰	c ₆ '-c ₁₀ "
Полусвернутые формы основной цепи																
D ₁	B ₁ -R-B ₃	-130	172	64	92	-97	53	-132	141	-59	92	15,2	17,9	-2,5	D ₄ ⁰	c ₄ '-a ₁ "
D ₂	R ₁ -B-R ₃	-114	-42	62	94	-134	62	-141	-59	-55	97	15,3	19,3	-3,9	D ₁ ⁰	a ₂ -c ₂ "
D ₃	B ₁ -R-R ₃	-129	169	59	81	-96	-44	-122	-52	-58	93	15,2	18,0	-1,9	D ₂ ⁰	c ₄ '-a ₄ "
D ₄	B ₂ -R-B ₁	-109	141	175	96	-123	58	-142	161	59	90	15,2	19,0	-2,0	D ₄ ⁰	c ₂ '-a ₂ "
D ₅	B ₂ -R-B ₃	-110	135	178	90	-118	-63	-134	150	-57	50	14,9	18,4	-1,8	D ₄ ⁰	c ₂ '-a ₁ "
D ₆	R ₁ -B-B ₃	-122	-42	62	95	-90	124	-140	118	-59	93	15,3	18,6	-1,7	D ₃ ⁰	a ₂ -c ₁ "
D ₇	R ₂ -B-B ₃	-106	-57	175	82	-95	143	-141	129	-60	91	14,8	18,3	-1,4	D ₃ ⁰	a ₄ -c ₁ "
D ₈	B ₁ -R-B ₁	-130	173	66	94	-93	-59	-140	153	59	90	15,5	18,5	-1,8	D ₄ ⁰	c ₄ '-a ₂ "
D ₉	B ₂ -R-R ₃	-106	163	-174	53	-40	-46	-100	-49	-52	97	15,7	18,8	-3,9	D ₂ ⁰	c ₂ '-a ₄ "
D ₁₀	B ₁ -R-B ₁	-130	173	66	94	-93	-59	-140	153	56	90	15,5	18,3	-1,7	D ₄ ⁰	c ₄ '-a ₂ "
D ₁₁	R ₂ -B-R ₃	-146	-56	176	86	-88	129	-136	-60	-58	94	14,9	18,7	-1,0	D ₁ ⁰	a ₃ -c ₃ "
D ₁₂	R ₃ -B-R ₃	-141	-56	-60	90	-91	120	-133	-60	-59	94	15,2	18,3	-0,6	D ₁ ⁰	a ₆ -c ₂ "
D ₁₃	R ₃ -B-B ₃	-140	-58	-60	97	-92	126	-140	-130	-61	93	15,2	18,2	-0,7	D ₃ ⁰	a ₆ '-c ₄ "
D ₆₆	B ₃ -L-R ₁	-81	118	-63	92	53	67	-96	-37	78	88	15,0	22,2	-0,3	D ₅ ⁰	a ₉ -c ₁₂ "
Свернутые формы основной цепи																
A ₁	R ₁ -R-B ₃	-55	-38	67	89	-83	-44	-138	113	-57	95	11,8	19,3	-2,7	A ₉ ⁰	a ₁ '-a ₁ "
A ₂	R ₁ -R-R ₃	-59	-35	67	86	-76	-44	-140	-62	-58	95	12,8	18,7	-2,5	A ₁ ⁰	a ₁ '-a ₄ "
A ₃	R ₂ -R-B ₃	-59	-55	177	88	-93	-51	-134	146	-59	93	13,0	18,9	-2,1	A ₂ ⁰	a ₃ '-a ₁ "
A ₄	R ₁ -R-B ₁	-57	-36	67	87	-95	-56	-141	160	-57	96	13,9	19,3	-2,3	A ₂ ⁰	a ₁ '-a ₂ "
A ₅	R ₃ -R-B ₃	-138	-60	-60	91	-95	-44	-129	153	-58	92	14,5	18,0	-1,8	A ₂ ⁰	c ₇ '-a ₁ "
A ₂₁	R ₃ -B-L ₃	-138	-60	-61	91	-105	112	-52	43	-57	98	14,1	20,0	-1,4	A ₃ ⁰	a ₆ '-a ₆ "

В данной работе использованы такие же потенциальные функции и геометрические параметры, как и в работе [1].

Расчет конформационных состояний фрагмента C^α -CO-L-Phe-L-Ala-L-Phe-NH-C $^\alpha$ (IV). Для этого фрагмента (рис. 1) рассмотрены все 72 конформации с R- и B-состояниями остатков фенилаланина и аланина. Кроме того, рассчитаны наиболее предпочтительные в отношении энергии пептидного остова 60 конформаций, включающих L-состояние одного из остатков фенилаланина или аланина. Результаты представлены в виде гистограммы на рис. 2. Как и в случае аланинового трипептида [1, табл. 2], конформации разбиты на группы с развернутыми (C), полусвернутыми (D) и свернутыми (A) формами основной цепи. В табл. 1 для наиболее предпочтительных конформаций C, D и A самых невыгодных (из числа рассчитанных) приведены геометрические параметры, величины потенциальной энергии $E_{\text{общ}}$ и ее составляющих.

Переход от ди- к трипептидному фрагменту сопровождается дальнейшей дифференциацией форм по энергии. Если величины $E_{\text{общ}}$ у дипептидных конформаций, составленных из практически эквивалентных R- и B-состояний, находятся в интервале 0—3 ккал/моль, то у трипептидных конформаций они распределяются от 0 до 8,5 ккал/моль.

Наименьшую потенциальную энергию имеют формы B-B-B и B-B-R, принадлежащие к группе C (табл. 1). Развернутый характер основной цепи исключает взаимодействия b_1 с b_4 . В глобальных конформациях группы B_2 -B-B $_3$ и B_2 -B-R $_3$ (χ_1^1 180°, χ_3^1 —60°) все взаимодействия осуществляются при практически оптимальных формах основной цепи, составляющая $E_{b_i-b_j}$ лишь на ~1 ккал/моль выше, чем у аланинового трипептида. По взаимному расположению основной и боковых цепей эти структуры являются весьма компактными. Ароматические кольца в них направлены друг к другу и взаимодействуют как между собой (у B_2 -B-B $_3$ $E_{s_1-s_3}$ —3,2 ккал/моль), так и со всеми пептидными группами ($E_{b_2-s_1}$ —2,3; $E_{b_2-s_3}$ —1,6; $E_{b_1-s_1}$ —2,3; $E_{b_1-s_3}$ —1,8; $E_{b_1-s_2}$ —0,7; $E_{b_4-s_1}$ —0,2 ккал/моль). Также велики вклады $E_{s_i-s_j}$ при $\chi_1^1 = \chi_3^1 = 60$, т. е. в конформациях B_1 -B-B $_1$ и B_1 -B-R $_1$, где плоскости бензольных колец располагаются друг над другом. Однако в этом случае эффективное взаимодействие s_1 - s_3 сопряжено с проигрышем энергии ближних взаимодействий. При направлении боковых цепей χ_1^1 —60°, χ_3^1 180° и B-B-B форме основной цепи (B_3 -B-B $_2$) конформационная энергия возрастает до 7,4 ккал/моль. Рост $E_{\text{общ}}$ здесь связан с уменьшением стабилизации $E_{b_i-s_j (j \neq i, i+1)}$ и $E_{s_i-s_j}$ до —0,2 ккал/моль (соответствующие величины у B_2 -B-B $_3$ равны —4 и —3,6 ккал/моль).

В целом можно отметить, что у наиболее предпочтительных конформаций C имеет место согласованность всех видов взаимодействий. Специфичная для трипептидного фрагмента дополнительная стабилизация за счет взаимодействия s_1 с s_3 происходит, во-первых, при низкоэнергетических конформационных состояниях каждого остатка, во-вторых, без существенного нарушения выгодных контактов на дипептидных фрагментах и, наконец, при формах основной цепи, близких к оптимальным конформациям аланинового трипептида. Следует, однако, подчеркнуть, что низкоэнергетические конформации свободного фрагмента (IV) могут не оказаться более предпочтительными перед некоторыми высокоэнергетическими конформациями при встройке фрагмента в сложную пептидную цепь. Так, в белковой последовательности становится иллюзорной предпочтительность B_2 -B-B $_3$ ($E_{\text{общ}} = 0$) и B_2 -B-R $_3$ (0,1 ккал/моль) перед, например, конформациями B_3 -B-R $_3$ (3,5 ккал/моль), B_2 -B-R $_1$ (3,8 ккал/моль) и B_3 -B-B $_1$ (5,0 ккал/моль). Последние формы не уступают глобальным по ближним взаимодействиям. Меньшая стабилизация этих форм за счет вкладов $E_{s_i-s_j}$ и $E_{b_i-s_j (j \neq i, i+1)}$ может быть полностью компенсирована дальними взаимодействиями (см. далее).

В полусвернутых конформациях D основная цепь дестабилизирована на 2,5—3,0 ккал/моль по сравнению с аланиновым трипептидом. Это происходит вследствие ухудшения контактов между пептидными группами. Для форм $B-R-R$, $B-R-B$, $R-B-R$ и $R-B-B$ характерно наличие выгодных контактов между боковой ароматической цепью и крайней по отношению к ней пептидной единицей, при этом плоскости обеих групп располагаются приблизительно параллельно друг другу и энергия дисперсионного взаимодействия достигает $-2 \div -3$ ккал/моль. В формах $B-R-R$ - и $B-R-B$ значительная стабилизация осуществляется за счет дисперсионных взаимодействий между b_i и s_j . Выигрыш энергии по сравнению с суммой соответствующих дипептидных вкладов $E_{b_i-s_j (i \neq i, i+1)}$ составляет у конформаций B_1-R-B_3 и B_1-R-R_3 $-2,2$ и $-2,4$ ккал/моль, что вызвано взаимодействием между b_4 и s_1 . Дополнительная стабилизация за счет $E_{s_1-s_3}$ и $E_{b_1-s_3}$ весьма незначительна.

В конформациях $R-B-B$ и $R-B-R$, в которых сближены первое и третье пептидные звенья, возможны взаимодействия ароматических колец. В лучшей конформации этого ряда R_3-B-R_3 величина $E_{s_1-s_3}$ составляет $-2,2$ ккал/моль, велик также вклад $E_{b_1-s_3}$ (-2 ккал/моль). Оптимальные контакты между боковыми и основными цепями как в трипептидном фрагменте, так и в двух его составляющих дипептидных фрагментах осуществляются при одинаковых положениях боковой цепи, поэтому неудивительно, что самые выгодные конформеры среди полусвернутых форм (R_1-B-R_3 , R_1-B-B_3 , B_1-R-B_3 , B_1-R-R_3) представляют собой комбинации самых выгодных конформаций фрагментов (II) и (III) (см. табл. 5,6 [1]).

Энергетическая дифференциация среди конформеров свернутых форм $R-R-R$ и $R-R-B$ меньше, чем у ранее рассмотренных. В этом случае пептидные группы b_1 и b_4 сближены и расположены антипараллельно, что приводит к дисперсионной и электростатической стабилизации на $1-2$ ккал/моль. У самой выгодной в группе A конформации R_1-R-B_3 энергия взаимодействия b_i-b_j меньше суммарной энергии дипептидных форм на $2,3$ ккал/моль, причем величина $E_{b_1-b_4}$ составляет $-1,8$ ккал/моль. По сравнению с аланиновым трипептидом основная цепь R_1-R-B_3 незначительно дестабилизирована ($0,7$ ккал/моль). Расстояние между бензольными кольцами в конформациях A при всех значениях углов χ^1 и χ^2 не допускает значительных взаимодействий между ними. Как у $R-R-R$, так и у $R-R-B$ энергия минимальна при $\chi_1^1 60^\circ$ и $\chi_3^1 -60^\circ$, отвечающих самым выгодным конформерам среди форм $R-R$ у фрагментов (II) и (III).

Остановимся на вариантах, в которых один из остатков фенилаланина находится в форме L (рис. 2). Были рассмотрены только те примеры, когда остатки фенилаланина предрасположены к дополнительным взаимодействиям, т. е. если в состоянии L находится первый остаток, то принимается значение $\chi_1^1 180^\circ$, а если последний, то $\chi_3^1 -60^\circ$. Взаимодействия между остатками здесь определяются только геометрией основной цепи и могут быть столь же эффективны, как и у ранее рассмотренных форм. Так, в развернутых структурах L_2-B-B_3 , L_2-B-R_3 , B_3-R-L_2 $E_{s_1-s_3} -3 \div 3,5$, а в полусвернутых B_1-L-B_3 , B_1-L-R_3 , R_3-R-L_1 и R_3-R-L_3 величина $E_{b_1-s_3} -2 \div -3$ ккал/моль. За счет дополнительных вкладов эти конформации ($E_{\text{общ}} \sim 3$ ккал/моль) изоэнергетичны предпочтительным вариантам $R-R-R$ и $R-R-B$.

В табл. 2 отражены характерные особенности как наиболее, так и наименее предпочтительных конформаций A , C и D фрагмента (IV) с R - и B -состояниями остатков. Приведенные данные основываются на трех первых и трех последних конформациях каждой группы. Из данных табл. 2 видно, что по сравнению с аланиновым трипептидом и соответствующими дипептидами низкоэнергетические конформации рассматриваемого трипептидного фрагмента характеризуются в отношении отдельных энергетических вкладов или аддитивностью, или незначительным повышением энергии и, кроме того, дополнительной стабилизацией за счет новых взаимодейст-

Энергия взаимодействия в конформациях C^α -CO-L-Phe-L-Ala-L-Phe-NH- C^α

Энергия взаимодействия	Сопоставляемые фрагменты	Группа конформаций		Д	
		С	А	тип I	тип II

Наиболее предпочтительные конформации

	(I)	Д (1,0—1,5)	Д (0—1,0)	Д (2,5—3,0)	
$E_{b_i-b_j}$	(II), (III)	А	С (2,0—2,5)	А	
$E_{(b_i-s_i)+(b_{i+1}-s_i)}$	(II), (III)	А	А	А	
$E_{b_i-s_j} (j \neq i, i+1)$	(II), (III)	А	А	С (2,0—2,5)	С (1,0—2,5)
$E_{s_i-s_j}$	(II), (III)	С (3,0—4,0)	А	С (0,3—0,5)	С (2,0—2,5)

Наименее предпочтительные конформации

	(I)	Д (2,0—2,5)	Д (1,5—3,0)	Д (2,5—3,0)	
$E_{b_i-b_j}$	(II), (III)	А	Д (0—1,0)	Д (0,5—2,0)	
$E_{(b_i-s_i), (b_{i+1}-s_i)}$	(II), (III)	Д (1,0—1,5)	Д (1,0—2,0)	Д (2,5—3,5)	
$E_{b_i-s_j} (j \neq i, i+1)$	(II), (III)	Д (0,5—1,0)	Д (0,5—1,0)	А	
$E_{s_i-s_j}$	(II), (III)	ВН	ВН	Д (2,0—3,0)	С (0—1,0)

Примечания: 1. Таблица составлена на основе трех самых низкоэнергетических и трех самых высокоэнергетических конформаций с R- и B-состояниями остатков, В скобках указаны величины энергии (ккал/моль). 2. Сокращения: Д — дестабилизация; С — стабилизация; А — аддитивность; ВН — взаимодействия нет.

Таблица 3

Предпочтительные конформации фрагмента C^α -CO-L-Ala-L-Phe-L-Ala-NH- C^α

Конформация		$E_{\text{общ}}$, ккал/моль	Формы основной цепи	Формы смежных дипептидов
обозначение	тип			
D_1	B-R ₁ -B	0	D_5^0	$c_4''-a_2'$
D_2	R-B ₁ -B	0,2	D_3^0	$a_2''-c_3'$
D_3	B-R ₁ -R	0,6	D_5^0	$c_4''-a_1'$
D_4	R-B ₁ -R	1,0	D_1^0	$a_2''-c_4'$
D_5	R-B ₂ -B	2,2	D_3^0	$a_5''-c_1'$
A_1	R-R ₁ -R	0,6	A_1^0	$a_3''-a_1'$
A_2	R-R ₁ -B	0,7	A_2^0	$a_3''-a_2'$
A_3	R-R ₂ -B	2,3	A_2^0	$a_7''-a_4'$
C_1	B-B ₁ -B	1,0	C_1^0	$c_3''-c_3'$
C_2	B-B ₁ -R	1,3	C_2^0	$c_3''-c_4'$
C_3	B-B ₃ -B	2,2	C_1^0	$c_1''-c_6'$

вий. Что же касается высокоэнергетических конформаций, то здесь, во-первых, не возникает дополнительной стабилизации и, во-вторых, заметно повышается относительно сопоставляемых объектов энергия общих для них взаимодействий.

В табл. 4 приведены формы основной цепи и конформационные состояния смежных дипептидных участков в трипептидном фрагменте (IV), отвечающих энергетическому порядку у аланинового трипептида (A^0 , C^0 , D^0) и свободных дипептидных фрагментов (II) (a' , c') и (III) (a'' , c'').

Наиболее предпочтительные формы основной цепи рассматриваемого трипептида соответствуют самым выгодным структурам пептидного остова. В группе развернутых форм — это C_1^0 и C_2^0 , разность величинами $E_{\text{общ}}$ которых составляет 0,3 ккал/моль [1, табл. 2], в группе свернутых форм — A_1^0 и A_2^0 ($\Delta E_{\text{общ}} 0$), в группе полусвернутых форм — D_1 – D_5 ($\Delta E_{\text{общ}} 0,6$ ккал/моль). Низкоэнергетические конформации трипептида представляют собой сочетания выгодных форм дипептидных фрагментов. Все конформации трипептида, энергия которых не превышает 2 ккал/моль, могут быть описаны комбинациями первых четырех форм a и c двух дипептидов.

Результаты расчета показали, что самыми выгодными конформациями свободного фрагмента (IV) являются развернутые формы C_1 – C_5 и полусвернутые D_1 – D_9 . Они представляют собой сочетания низкоэнергетических форм c_1' – c_4' и a_2' одного дипептида и c_1'' – c_3'' , a_1'' , a_2'' и a_4'' другого. Напомним, что в случае аламинового фрагмента (I) картина была обратной: форма B – B – B менее выгодна свернутой формы R – R – R примерно на 2 ккал/моль. Таким образом, средние взаимодействия боковых цепей остатков фенилаланина вносят существенный вклад в характер энергетического распределения конформаций. Более сложен вопрос, касающийся предсказания вероятных конформационных состояний трипептидного фрагмента, встроенного в пептидную цепь. Его обсуждение будет приведено ниже.

Расчет конформационных состояний фрагмента C^α -CO-L-Ala-L-Phe-L-Ala-NH- C^α (V). Результаты расчета рассмотренных выше ди- и трипептидных фрагментов показали, что одинаковые по составу и аналогичные по конформационному состоянию структурные элементы имеют весьма близкие величины энергии взаимодействия ($E_{b_i-b_j}$, $E_{b_i-s_j(j \neq i, i+1)}$ и т. д.). Следовательно, в определенном ряду молекул они обладают свойством переносимости. В связи с этим величины потенциальной энергии всех конформаций фрагмента (V) нами были оценены не на основе учета парных атом — атомных взаимодействий, как в предшествующих случаях, а путем суммирования энергетических вкладов от взаимодействий между целыми группами атомов, составляющих звенья b и s .

Общее число оптимальных конформаций фрагмента (V) (рис. 3) равно 81, из них 15 входят в группу A , 24 — в C и 42 — в D . Энергия всех конформаций представлена в виде гистограммы на рис. 4, для наиболее предпочтительных конформаций — в табл. 3. Величины $E_{\text{общ}}$ у конформаций с R - и B -состояниями остатков попадают в интервал 0–3,5 ккал/моль, а в общем случае — в интервал 0–6,5 ккал/моль. Меньший, чем у фрагмента (IV), разброс величин $E_{\text{общ}}$ объясняется наличием только одной ароматической боковой цепи. По этой же причине несколько возросла относительная энергия развернутых форм.

Наименьшую потенциальную энергию имеют конформации D_1 – D_4 , A_1 , A_2 и C_1 , C_2 , величины $E_{\text{общ}}$ которых отличаются весьма незначительно. Во всех самых выгодных структурах значение угла χ^1 в боковой цепи равно 60° . В этом случае бензольное кольцо максимально контактирует как с пептидным звеном b_1 , так и звеном b_4 . Таким образом, в условиях полярной среды, у молекулы Ac -L-Ala-L-Phe-L-Ala-NHMe с наибольшей вероятностью должны быть представлены конформации с развернутой и полусвернутой формами основной цепи, которые обладают энтропийной предпочтительностью перед свернутыми структурами. Низкоэнергетические конформации являются сочетаниями соответствующих выгодных дипептидных форм (табл. 3).

Определение предпочтительных конформаций Ac -L-Phe-L-Ala-L-Phe-L-Ala-L-Phe-NHMe (VI). Проведенное выше рассмотрение показало, что, во-первых, детерминирование конформационных состояний наблюдается уже при переходе от моно- к ди- и к трипептидным фрагментам и, во-вторых, предпочтительные конформации более сложных фрагментов представляют собой некоторые из комбинаций выгодных форм более простых.

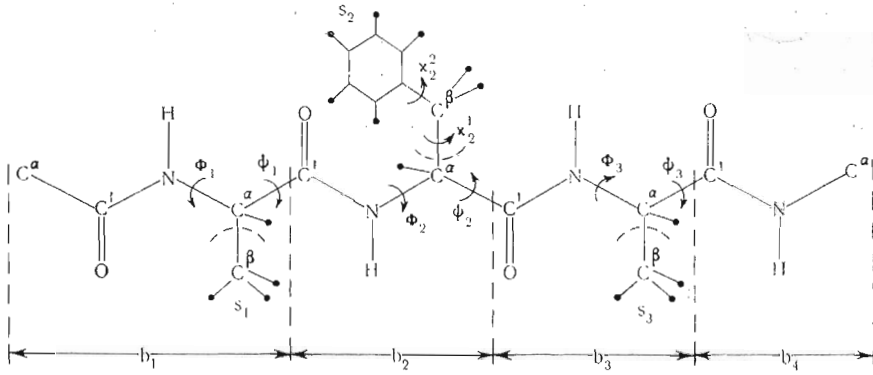


Рис. 3. Модель фрагмента $C^{\alpha}\text{-CO-L-Ala-L-Phe-L-Ala-NH-C}^{\alpha}$

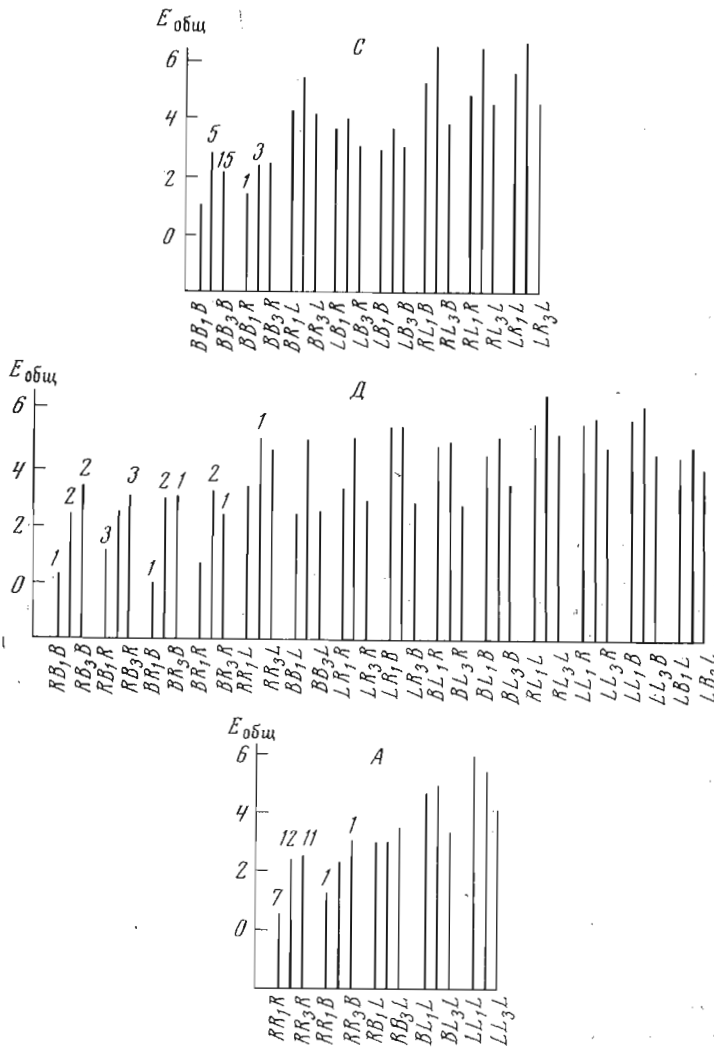
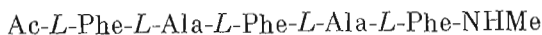


Рис. 4. Гистограмма энергетического распределения конформеров А, С, Д для $C^{\alpha}\text{-CO-L-Ala-L-Phe-L-Ala-NH-C}^{\alpha}$

Таким образом, при выяснении наиболее реальных конформаций свободного олигопептида предварительное рассмотрение конформационных состояний его фрагментов значительно упрощает решение задачи. Можно также ожидать, что дальнейшее увеличение пептидной цепи будет приводить к еще большей энергетической дифференциации конформаций.

Рассмотрим в качестве примера распределение энергии средних взаимодействий в пентапептиде (VI)



Конформационная энергия данной молекулы может быть представлена суммой энергий трех фрагментов (IV), (V), (IV) за вычетом энергий двух перекрывающихся дипептидных фрагментов (III) и (II).

Все данные, необходимые для оценки энергии пентапептида, содержатся в табл. 1 и 3 и в работе [1, табл. 4—6].

Таблица 4

Конформация молекулы $\text{Ac-L-Phe-L-Ala-L-Phe-L-Ala-L-Phe-NHMe}$

Конформация	$E_{\text{общ.}}$ ккал/моль	Конформация	$E_{\text{общ.}}$ ккал/моль	Конформация	$E_{\text{общ.}}$ ккал/моль
$B_2-R-B_1-B-R_3$	0	$B_1-R-B_1-R-R_3$	1,6	$R_2-R-B_1-B-R_3$	3,6
$B_2-R-B_1-B-B_1$	0,2	$B_2-R-B_1-R-R_3$	1,8	$R_1-R-B_1-R-B_3$	3,7
$B_1-R-B_1-B-R_3$	0,5	$B_1-B-B_1-R-B_1$	2,0	$R_2-R-B_1-B-B_1$	3,8
$B_1-R-B_1-B-B_1$	0,8	$B_1-R-B_1-R-B_1$	2,2	$R_1-R-B_1-R-R_3$	3,9
$B_1-B-B_1-B-R_3$	0,9	$B_2-B-B_1-B-R_3$	2,2	$R_1-R-R_2-B-R_3$	4,1
$B_1-B-B_1-R-B_3$	1,0	$B_2-B-B_1-R-B_3$	2,3	$R_2-R-B_1-R-B_3$	4,2
$B_1-B-B_1-B-B_1$	1,1	$B_2-R-B_1-R-B_1$	2,4	$R_2-R-B_1-R-R_3$	4,7
$B_1-R-B_1-R-B_3$	1,1	$B_2-B-B_1-R-R_3$	2,8	$R_1-R-B_2-B-B_3$	4,7
$B_2-R-B_1-R-B_3$	1,3	$R_1-R-B_1-B-R_3$	3,1	$R_1-R-B_1-R-B_1$	4,8
$B_2-B-B_1-B-B_1$	1,4	$R_1-R-B_1-B-B_1$	3,3	$R_2-R-B_1-R-B_1$	5,3
$B_1-B-B_1-R-R_3$	1,5	$B_2-B-B_1-R-B_1$	3,4	$R_1-R-B_2-B-R_3$	5,8
				$R_1-R-B_2-B-B_1$	6,9

В табл. 4 приведены конформации пентапептида, полученные сочетанием всех предпочтительных форм трипептидных фрагментов, приведенных в табл. 1 и 3. Табл. 4 дает наглядное представление о дифференциации конформаций по энергии, в интервал 0—1 ккал/моль попадают 6 конформаций, а в 0—2 ккал/моль — 14, т. е. приблизительно столько же, сколько у одного дипептидного фрагмента. Интересно, что во всех конформациях, энергия которых не превышает 4 ккал/моль (1—26, табл. 4), центральный остаток находится в одном и том же состоянии B_1 . Следовательно, в данной молекуле только за счет ближних и средних взаимодействий происходит практически полное детерминирование пространственной формы остатка, расположенного в середине цепи. Увеличение длины и переход к полипептиду с регулярно чередующимися остатками фенилаланина и аланина приводит к стабилизации конформации $-B_1-B-B_1-B-\dots$. Наиболее выгодной периодической структурой полимера, состоящего из так называемых спиралеобразующих остатков, оказывается таким образом не α -спираль, а β -структура.

Конформации белковых фрагментов с ароматическими остатками. Сравним результаты расчета конформационных состояний свободных трипептидных фрагментов, включающих остатки фенилаланина и аланина с геометрией фрагментов $-P'-X-P''-$ и $-X'-P-X''-$, где P — остаток с ароматической боковой цепью (фенилаланин, тирозин, триптофан или гистидин), X — любой остаток, кроме глицина и пролина, в трех белках: миоглобине [2], α -химотрипсине [3] и карбоксипептидазе [4]. (Число фрагментов $-P'-X-P''-$ равно 12, а $-X'-P-X''-$ — 75.) Учитывая значительную неадекват-

ность аминокислотных остатков, а также ряд других причин (см. далее), мы сделали вывод о роли средних и дальних взаимодействий самого общего характера.

Конформационное распределение белковых фрагментов $-P'-X-P''-$ и $-X'-P-X''-$ показано на рис. 2 и 4, где цифры над столбиком гистограммы соответствуют заселенности данного уровня. Все трипептидные участки белковой цепи имеют формы, включающие B - и R -состояния остатков (за исключением $R-R_2-L$). Далее, наблюдаемые в белках структуры трипептидных фрагментов с ароматическими остатками представляют собой комбинации сравнительно низкоэнергетических свернутых и развернутых форм свободных дипептидов $-Phe-Ala-$ и $-Ala-Phe-$. Все встречающиеся в белках конформации $-P'-X-P''-$ и $-X'-P-X''-$ описываются с помощью форм $a_1' - a_7', c_1' - c_7'$ фрагмента $-Phe-Ala-$ и $a_1'' - a_7'', c_1'' - c_9''$ фрагмента $-Ala-Phe-$, для которых энергетический диапазон составляет ~ 3 ккал/моль (см. работу [1, табл. 5 и 6]).

Конформационные карты структур $C^\alpha-CONH-C^\alpha HR-CONH-C^\alpha$, построенные на основе рассмотрения ван-дер-ваальсовых контактов, довольно четко выделяют для каждого остатка дозволенные и запрещенные области углов вращения ϕ, ψ, γ [1, 2]. При переходе к длинным пептидам основной вклад в дифференциацию форм дают не невалентные отталкивания, а значительно более слабые дисперсионные и электростатические взаимодействия, а также водородные связи, которые и составляют содержание средних и дальних взаимодействий. По этой причине они могут осуществляться только в границах, устанавливаемых ближними взаимодействиями.

Энергетический диапазон представленных конформеров у трипептидов более широк (0—7 ккал/моль), чем в случае $-P-X-$ и $-X-P-$. Таким образом, при анализе белковых фрагментов число подлежащих рассмотрению вариантов структур (86 у $-P'-X-P''-$ и 32 у $-X'-P-X''-$) оказывается значительно большим, чем в случае свободных фрагментов (32 у (IV) и 8 у (V)). (Различие еще более возрастает при учете конформационных состояний боковых цепей остатков X' и X'' .) Это обусловлено рядом причин. Во-первых, как уже отмечалось, сопоставляемые объекты не являются полностью адекватными. При сравнении не принимались во внимание конформационные различия между остатком фенилаланина и остатками других ароматических аминокислот, а также различие между остатками аланина и остатками всех других природных аминокислот.

Другая причина связана с необходимостью при анализе белковых фрагментов не только учитывать наиболее предпочтительные конформации свободного фрагмента, но и принимать во внимание ряд других форм, имеющих сравнительно высокие значения $E_{\text{общ}}$, но выгодных в отношении взаимодействий b_i-b_j и $(b_i-s_i) + (b_{i+1}-s_i)$. У свободных трипептидных фрагментов дифференциация форм по энергии обязана главным образом стабилизирующим взаимодействиям боковых цепей соседних остатков между собой (s_i-s_j) и с пептидными группами (b_i-b_j ($j \neq i, i+1$)). В белковых фрагментах выигрыш энергии $E_{s_i-s_j}$ и $E_{b_i-s_j}$ ($j \neq i, i+1$) может быть получен за счет контактов с более удаленными по цепи остатками. В качестве примера рассмотрим конформацию R_2-R-R_2 , которая является малореальной для фрагмента (II), поскольку ее энергия на 5,4 ккал/моль превышает энергию глобальной конформации B_2-B-B_3 . В то же время в условиях белковой глобулы реализация конформации R_2-R-R_2 весьма вероятна. К этому выводу можно прийти на основе результатов расчета свободного фрагмента. Конформация R_2-R-R_2 предпочтительнее B_2-B-B_3 по энергии взаимодействия между пептидными звеньями ($\Delta E_{b_i-b_j} = 1,2$ ккал/моль, табл. 1) и эквивалентна по взаимодействиям b_i и s_i . Проигрыш энергии ~ 6 ккал/моль вследствие слабой стабилизации $E_{b_i-s_j}$ ($j \neq i, i+1$), и $E_{s_i-s_j}$ может быть полностью компенсирован в белке дальними взаимодействиями. Это действительно имеет место. Фрагмент $-Phe-Ala-Phe-$ в карбоксипептидазе (116—118),

единственный в трех белках, который прямо отвечает рассчитанной последовательности, имеет структуру R_2-R-R_2 . Если в белках конформации $-P'-X-P''-$ и $-X'-P-X''-$ отличаются от $-B-B-B-$ и $-B-B-R-$, обеспечивающих наилучшие условия взаимодействия b_i-s_j ($j \neq i, i+1$) и s_i-s_j в пределах фрагмента, то это может означать, что ароматические кольца входят во внутренние гидрофобные ядра. Так, в лизоциме имеются три гидрофобных кластера, которые содержат значительное число остатков триптофана, фенилаланина и гистидина. Кластеры упакованы таким образом, что ароматические кольца расположены друг над другом и на расстояниях, обеспечивающих их эффективное взаимодействие. Во всех случаях основные цепи фрагментов $-P'-X-P''-$ и $-X'-P-X''-$ имеют свернутые или полусвернутые формы.

Рассмотрение конформационных состояний фрагментов (I)–(V) показало, что взаимодействия между соседними остатками приводят к значительной дифференциации конформаций по энергии, предпочтительные конформации трипептида описываются комбинациями низкоэнергетических дипептидных форм, т. е. взаимодействия непосредственно не связанных между собой остатков осуществляются без нарушения выгодных контактов между ближайшими остатками. Можно полагать, что рассмотренные примеры не являются исключениями и сделанные на основе их конформационного анализа выводы окажутся достаточно общими. В этом случае исследование пространственного строения олигопептидов целесообразно проводить на основе рассмотрения конформаций ди- и трипептидных фрагментов.

Конформационные возможности олигопептидной молекулы и олигопептидного белкового фрагмента идентичны, и поэтому предложенный подход может служить основой для анализа последних. Осложняющий и очень существенный момент возникает при расчете белковых фрагментов вследствие необходимости не только сделать заключение о конформациях, наиболее выгодных по ближним и средним взаимодействиям, как это имеет место в отношении олигопептидных молекул, но одновременно априори оценить их потенцию к дальним взаимодействиям, т. е. предрасположенность к реализации в весьма различных внешних условиях — от сильно полярной среды до чисто гидрофобной. Принципиальным, однако, является то обстоятельство, что широкая вариация условий как внутри белковых фрагментов, так и вне их приводит лишь к перераспределению энергии в пределах конформеров с относительно невысокой энергией.

Авторы глубоко признательны С. Ф. Архиповой (Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина АН СССР) за большую помощь в расчетной части работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Попов Е. М., Ахмедов Н. А., Липкинд Г. М. (1975) Биоорганич. химия, 1, 1268—1279.
2. Watson H. C. (1969) Progr. Stereochemistry, 4, 229—280.
3. Birktoft J. J., Blow D. M. (1972) J. Mol. Biol., 68, 187—240.
4. Quijcho F. A., Lipscomb W. N. (1971) Advances Protein Chem., 25, 1—78.

Поступила в редакцию
21.I.1975

APPROACH TO CALCULATIONS OF STABLE CONFORMATIONS OF OLIGOPEPTIDES. II. TRI- AND PENTAPEPTIDES WITH

ALTERNATING Ala- AND Phe-RESIDUES

LIPKIND G. M., AKHMEDOV N. A., POPOV E. M.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry,
Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

Conformational states of the fragments $C^\alpha-CO-L-Phe-L-Ala-L-Phe-NH-C^\alpha$, $C^\alpha-CO-L-Ala-L-Phe-L-Ala-NH-C^\alpha$, $C^\alpha-CO-L-Phe-L-Ala-L-Phe-NH-C^\alpha$ are investigated. The interaction between neighbouring amino acid residues are shown to result in a considerable energy differentiation of the space structures. The preferred tripeptide conformations can be described with combinations of low energy forms of dipeptides. The validity of the preliminary analysis of di- and tripeptide fragments for the conformational problem of complex oligopeptide molecules is discussed.