



УДК 547.962:541.68

© 1992 г. К. Д. Мзареулов

КОНФОРМАЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ
ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ФРАГМЕНТОВ ОНКОБЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА

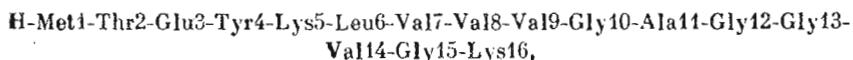
p21ras

2. ФРАГМЕНТ 1–16, РАЗЛИЧНЫЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

Бакинский государственный университет

Излагаются данные конформационного анализа трехмерной структуры фрагмента 1–16 активных ([Val12-Gly13], [Asp12-Gly13] и [Gly12-Asp13]) и пассивных ([Gly12-Gly13] и [Pro12-Gly13]) модификаций онкобелков семейства p21ras. Показано, что активизирующие аминокислотные замены сопровождаются существенной перестройкой вторичной структуры молекулы, в результате чего спирализуется участок цепи с 9-й по 16-ю аминокислоту. Строение фрагмента 1–9 не меняется для всех наиболее предпочтительных структур как активных, так и пассивных аналогов онкобелка. Результаты конформационного анализа использованы для изучения связи структура – функция.

В первой статье данного цикла [1] представлены сведения о пространственном строении и конформационных возможностях undекапептида 1–11 и октапептидов 9–16 активных и пассивных модификаций p21. На основе анализа минимизированных величин двугранных углов наиболее предпочтительных структур указанных фрагментов были составлены исходные конформации для расчета гептадекапептидов 1–16. Всего исследовано 60 вариантов конформаций аналога [Gly12-Gly13], имеющего аминокислотную последовательность:



25 вариантов аналога [Pro12-Gly13], 76 вариантов [Val12-Gly13], 84 – [Asp12-Gly13] и 78 структурных вариантов модификации [Gly12-Asp13].

Аналог [Val12-Gly13]. Основные энергетические и геометрические параметры оптимальных структур данного пептида суммированы в табл. 1, 2. Строение основной цепи в наиболее предпочтительных конформациях изображено схематически на рис. 1.

Результаты вычислений указывают на существование определенной, хотя и не резко выраженной, дифференциации структурных типов: представители 21 шейпа имеют относительную энергию, не превышающую 9 ккал/моль, причем 7 шейпов относятся к более узкому интервалу относительных энергий: от 0 до 5 ккал/моль. Участок 1–9 имеет жесткую структуру: для подавляющего большинства низкоэнергетических конформаций данного ионапептида реализуются лишь три сходные формы пептидного скелета, принадлежащие к шейпам e₄f₄, e₅f₃ и fe₂f₄. Стабилизация данной нуклеации обусловлена сильным взаимодействием массивных боковых цепей, а также ионизированных радикалов аминокислотных остатков N-концевого домена молекулы.

Глобальная конформация B₃₂B₃R₃₂L₃R₃₂R₂R₂R₂RR₂RR₃₂, состоящая из полностью развернутого N-концевого тетрапептида и α -спирально-

Таблица 1

Относительная энергия, величины нивалентных, электростатических и торсионных вкладов (ккал/моль) и линейные размеры (Å) наиболее предпочтительных конформаций фрагмента 1–16 аналога [Val12-Gly13]

Шейпы	Формы основной цепи	$E_{\text{отн}}$	$E_{\text{ней}}$	$E_{\text{эл}}$	$E_{\text{торс}}$	$R (C_1 - C_{14})$
e ₄ f ₁₁	BBRLRRRRRRRRRRRRR	0,0	-75,9	15,5	7,2	11,7
e ₄ f ₄ f ₆	BBRLRRRRRPRBPRRR	1,3	-74,5	13,7	8,8	14,3
e ₄ f ₄ f ₆ f ₂ e ₂	BBRLRRRRRPRBPBRR	1,9	-72,3	13,3	7,7	14,9
e ₄ f ₄ e ₂ f ₅	BBRLRRRRRBRBPRRR	3,3	-70,9	13,7	7,1	15,6
e ₅ f ₁ f ₆	BBRLBRRRRPRPBPR	3,5	-74,4	14,0	10,5	19,5
f ₂ e ₃ f ₄ f ₆ f ₂ e ₂	LLRLRRRRRPRBPBRR	3,8	-70,8	13,7	7,6	15,1
e ₅ f ₃ e ₂ f ₅	BBRLBRRRRBPRBPBRR	3,9	-69,9	11,9	8,6	15,8
f ₂ e ₃ f ₂ f ₅	LLRLBRRRRBPRBPBPR	5,1	-68,9	11,9	8,8	15,9
e ₄ f ₄ f ₆ f ₃ e	BBRLRRRRRPBPBLR	5,8	-68,6	13,7	7,4	13,8
e ₅ f ₃ f ₆ f ₂ e ₂	BBRLBRRRRPBPBPR	5,9	-70,8	13,4	10,0	16,3
e ₄ f ₄ e ₃ f ₃ e	BBRLRRRRBBBBPRBR	6,1	-67,7	12,4	8,1	13,7
e ₅ f ₃ e ₃ f ₂ e ₂	BBRLBRRRB BBBP BBR	6,1	-68,2	12,7	8,3	12,4
e ₄ f ₄ e ₃ f ₄	BBRLRRRRBBB BPRRR	6,2	-68,8	13,6	8,4	16,7
e ₄ f ₄ f ₆ f ₄	BBRLRRRRRPBPBPRR	6,5	-70,1	15,5	7,8	11,9
e ₄ f ₄ e ₃ f ₂ e ₂	BBRLRRRRRB BBBP BR	6,6	-67,8	13,4	7,7	10,1
e ₄ f ₄ e ₂ f ₆ e	BBRLRRRRRB RRPBLR	7,1	-67,6	14,4	7,1	21,5
e ₅ f ₃ f ₆ f ₃ e	BBRLBRRRRPBPBPR	7,6	-67,9	12,5	9,9	17,2
e ₅ f ₃ e ₃ f ₃ e	BBRLBRRRRBBBBPRBR	7,7	-66,8	11,7	9,6	20,1
f ₂ e ₃ f ₄ f ₆ f ₃ e	LLRLRRRRR PRBPBLR	7,7	-66,7	13,9	7,3	13,6
e ₅ f ₃ f ₆ f ₄	BBRLBRRRRPBPBPRR	8,4	-67,6	13,0	9,7	16,6
f ₂ e ₃ f ₃ e	LLRLBRRRB BBBP RBR	8,9	-66,0	11,7	9,8	19,5

Таблица 2

Длины водородных связей в наиболее предпочтительных структурах фрагмента 1–16 активного аналога [Val12-Gly13], Å

Водородные связи	1	2	3
Met1 NH ₃ ...OC Met1	2,64	2,52	2,50
Met1 CO...HN Glu3	2,51	2,09	2,06
Thr2 NH...O ¹ Thr2	2,82	2,56	2,57
Glu3 O ¹ ...H ² Lys5	2,03	1,96	2,19
Tyr4 NH...OC Val8	—	2,06	2,07
Tyr4 NH...OC Val9	2,84	—	—
Lys5 NH...OC Val9	1,74	—	—
Lys5 H ² ...OC Val9	2,82	—	—
Val8 NH...OC Val12	3,30	—	—
Val9 NH...OC Gly13	2,68	—	—
Val9 CO...HN Ala11	—	1,79	1,87
Gly10 NH...OC Val14	2,28	—	—
Gly10 CO...HN Gly15	—	2,45	—
Ala11 NH...OC Gly15	2,19	—	—
Ala11 CO...HN Gly15	—	2,79	—
Ala11 CO...HN Lys16	—	1,88	—
Val12 NH...OC Lys16	2,55	—	—
Val12 CO...HN Lys16	—	2,36	1,92
Gly13 NH...OC Lys16	2,43	—	—
Val14 NH...OC Val14	—	—	2,55
Val14 CO...HN Lys16	—	—	2,00

Примечание. Цифрами обозначены шейпы: 1 — e₄f₁₁, 2 — e₄f₄f₆, 3 — e₄f₄f₆f₂e₂.

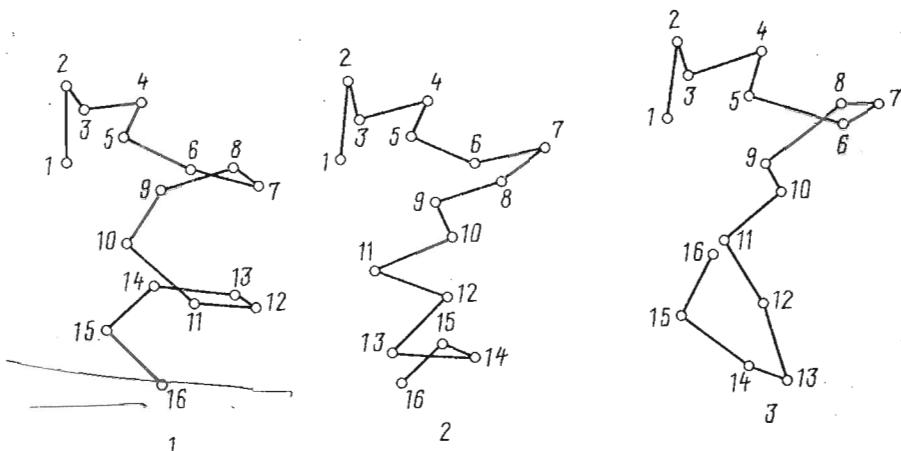


Рис. 1. Наиболее предпочтительные структуры фрагмента 1–16 аналога [Val12-Gly13]:
1 – $e_1 f_{11}$, 2 – $e_4 f_4 e_6$, 3 – $e_1 f_4 e_6 f_6 e_6$

го участка 5–16, оптимальна по величине невалентного и торсионного вкладов, а также характеризуется весьма малыми линейными размерами, что указывает на плотную упаковку данного фрагмента основной цепи белковой молекулы. На участке 1–5 в глобальной конформации сближены боковые цепи метионина, глутаминовой кислоты и лизина, в то время как боковые цепи треонина и тирозина ориентированы в противоположном направлении. На участке 6–14 боковые цепи всех остатков спирального сегмента (за исключением глицинов, не имеющих боковых цепей) обращены в сторону последующих витков α -спирали.

Наиболее значительный вклад в общую энергию глобальной конформации вносят контакты глутаминовой кислоты с метионином (−9,2 ккал/моль), Lys5 (−13,4 ккал/моль) и Lys16 (−3,3 ккал/моль). Столь большая абсолютная величина энергии этих контактов обусловлена электростатическим взаимодействием пространственно сближенных разноименных зарядов. При этом образуется солевой мостик между ионизированными радикалами боковых цепей глутаминовой кислоты и Lys16. Важную роль в формировании глобальной структуры $e_4 f_{11}$ играют контакты остатка Lys5 с тирозином, лейцином, Val9 и Gly10, контакты между тирозином и треонином, а также контакты остатка Val19 с глутаминовой кислотой, тирозином, Gly13 и Val14 – энергия перечисленных взаимодействий имеет величину от −1,5 до −3,5 ккал/моль. Дестабилизирующие вклады порядка 2–3 ккал/моль вносят контакты положительно заряженных групп основной цепи метионина и боковых цепей обоих лизинов. Спиральная форма основной цепи на участке 5–16 стабилизируется сильными взаимодействиями типа $K-K+4$, имеющих величину от −1 до −3 ккал/моль. Вследствие стерического сближения спиральных витков формируются также характерные водородные связи: $X_k NH \cdots OC X_{k+4}$.

Отметим, однако, что полностью свернутая форма основной цепи (шэйп f_{11}) участка 5–16 данного аналога не вполне соответствует α -спирали по своим параметрам. Вычисленная структура глобальной конформации не обеспечивает образования водородных связей между остатками Leu6, Val7 и соответственно Gly10, Ala11. Не совсем понятно, является ли данное обстоятельство следствием неизбежных расчетных погрешностей или свойством данной аминокислотной последовательности.

Конформация $B_{32}B_3R_{32}L_3R_{32}R_{32}R_2R_2R_3PRB_2PR_2RR_3$, имеющая относительную энергию, равную 1,3 ккал/моль, содержит идентичные с глобальной структурой фрагменты 1–8 и 14–16. Подобное строение основной

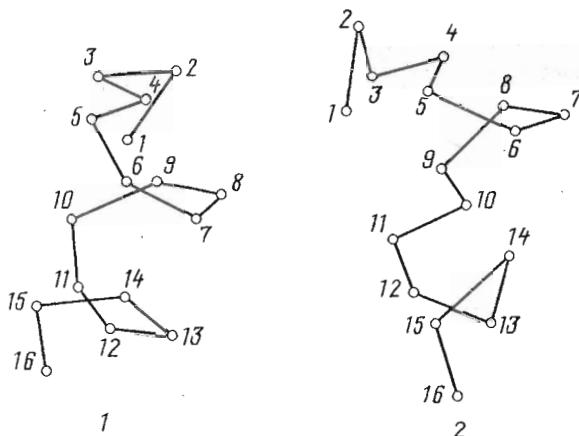


Рис. 2. Наиболее предпочтительные структуры фрагмента 1–16 аналога [Asp12-Gly13]: 1 – e_4f_{11} , 2 – e_4f_1, e_5, e_6

цепи включает в себя помимо общего для большинства низкоэнергетических структур e_4f_4 развернутого тетрапептида 1–4 также два спирализованных фрагмента с перегибом на дипептиде Val9–Val10. Взаимодействия между остатками на участке нуклеации 1–8 практически совпадают с аналогичными вкладами для глобальной конформации, однако отличия в форме основной цепи на участке Val9–Lys16 приводят к появлению контактов, не характерных для шейпа e_4f_{11} . Так, энергия взаимодействия остатка Val8 с треонином, тирозином, Val9 и Gly13 достигает значений от −1,5 до −3 ккал/моль, контакты с энергией около −2 ккал/моль отмечены также на участке 14–16 данной информации. В то же время практически отсутствуют взаимодействия Lys5 и Val9 с рядом остатков, имевшие значительную абсолютную величину в случае глобальной структуры.

Аналог [Asp12-Gly13]. Результаты расчетов, представленные в табл. 3, 4 и на рис. 2, показывают, что глобальные конформации N-концевых гептадекапептидов обеих активных модификаций p21 совершенно идентичны. В значительной степени совпадают для шейпов e_4f_{11} и величины энергий большинства контактов между остатками. Наиболее важные отличия связаны с ионизацией боковой цепи 12-го остатка в случае аналога Asp12-Gly13. Энергии взаимодействия Asp12 с положительно заряженными радикалами метионина, Lys5 и Lys16 равны соответственно −2,5, −2,8 и −7,4 ккал/моль. Кулоновское отталкивание одноименных зарядов на боковых цепях глутаминовой и аспарагиновой кислот дает вклад в 2,8 ккал/моль, тогда как в случае [Val12-Gly13] остатки Val12 и Glu13 практически не взаимодействуют. В результате глобальные конформации обоих активных аналогов имеют близкие величины вкладов невалентных и торсионных взаимодействий, однако шейп e_4f_{11} аналога [Asp12-Gly13] характеризуется значительно более низкой энергией электростатических взаимодействий. Как это уже отмечалось для валин-глициновой модификации онкобелка, спиральная структура сегмента 5–16 данной модификации p21 несколько дефорсирована. Из табл. 4 видно, что водородные связи между трипептидами 6–8 и 10–12 имеют слишком большую длину.

В N-концевой области глобальной конформации стерически сближены боковые цепи метионина, глутаминовой кислоты, лейцина и Lys5. Боковые цепи аспарагиновой кислоты и Lys16 также сближены, однако обращены к растворителю и ориентированы в противоположном по отношению к боковым цепям Glu3 и Lys5 направлении.

Таблица 3

Относительная энергия, величины невалентных, электростатических и торсионных вкладов (ккал/моль) и линейные размеры (Å) наиболее предпочтительных конформаций фрагмента 1–16 аналога [Asp12-Gly13]

Шейпсы	Формы основной цепи	E _{отн}	E _{нев}	E _{эл}	E _Т	R
e ₄ f ₁₁	BBRLRRRRRRRRRRRRR	0,0	-75,8	10,1	8,3	11,5
e ₄ f ₄ e ₅ e	BBRLRRRURRPBPRBR	0,2	-74,3	8,5	8,7	17,7
e ₄ f ₄ e ₂ f ₄ e	BBRLRRRRRBBRBPBR	2,3	-71,0	8,4	7,5	15,6
e ₄ f ₄ e ₂ f ₅	BBRLRRRRRBBRBPBP	2,8	-74,3	12,2	7,6	12,2
e ₄ f ₄ eefeffe	BBRLRRRRRBPBPBLR	2,8	-67,5	5,7	7,3	16,6
e ₄ f ₄ eefef ₃ e	BBRLRRRRRBPBPBLR	3,8	-69,1	8,6	7,0	13,6
e ₄ f ₄ e ₃ f ₃ e	BBRLRRRRRBPPBBLR	4,0	-67,6	7,8	6,5	13,1
fe ₃ f ₄ eefef ₃ e	LLRLRLLLLRPBPBPBLR	4,9	-68,6	8,9	7,3	10,4
e ₄ f ₄ e ₂ f ₂ e	BBRLRRRRRBBRBPBLR	5,2	-64,6	5,6	7,0	18,0
e ₄ f ₄ e ₂ f ₆	BBRLRRRRRPRBPBRRR	5,3	-71,2	10,3	8,9	15,3
e ₄ f ₄ e ₂ f ₇ e	BBRLRRRRRPRBPBPR	5,5	-69,8	10,5	7,5	17,6
fe ₃ f ₄ eefeffe	LLRLRLLLLPBPBPBLR	5,5	-65,6	6,3	7,5	17,8
e ₄ f ₄ e ₂ f ₃ eef	BBRLRRRRRBBRBPBPR	6,5	-67,4	10,3	6,3	12,9
e ₅ f ₃ e ₂ f ₄ e	BBRLBRRRRBPRBPBLR	7,3	-67,4	9,4	8,1	17,4
fe ₃ f ₄ e ₂ f ₂ e	LLRLBRRRRPBPBPBLR	7,5	-65,0	6,2	9,1	22,9
e ₅ f ₃ e ₂ f ₂ e	BBRLBRRRRBPRBPBLR	7,6	-64,4	5,8	8,9	18,4
e ₅ f ₃ e ₂ f ₆ e	BBRLBRRRRPBPBPBLR	7,7	-67,5	9,0	8,9	15,1
fe ₃ f ₄ e ₂ f ₄ e	LLRLBRRRRBPRBPBLR	7,7	-67,3	8,2	9,5	19,0
e ₅ f ₃ e ₂ f ₅	BBRLBRRRRBPRBPBLR	8,1	-68,8	10,5	9,2	16,1
e ₁₁ f ₃ eefee	BBRLBBBBBBBBBRRBBR	17,8	-58,5	10,7	8,4	29,4
e ₁₁ f ₃ e ₃	BBRLBBBBBBBBBRRBBR	18,9	-56,4	10,3	7,7	24,9
e ₈ eefef ₃	BBRLBBBBBRRBRRBBR	19,2	-58,0	10,3	9,7	30,2

Таблица 4

Длины водородных связей в наиболее предпочтительных конформациях фрагмента 1–16 аналога [Asp12-Gly13], Å

Водородные связи	1	2	3
Met1 NH ₃ ...OC Met1	2,66	2,50	2,50
Met1 CO...HN Glu3	2,47	2,06	2,06
Thr2 NH...O Thr2	2,80	2,57	2,57
Glu3 O ⁶ ...H ⁵ Lys5	1,99	2,19	2,20
Tyr4 NH...OC Val8	—	2,07	2,10
Tyr4 NH...OC Val9	2,81	—	—
Lys5 NH...OC Val9	4,76	—	—
Lys5 H ⁵ ...OC Val9	2,82	—	—
Leu6 NH...OC Gly10	2,90	—	—
Val7 NH...OC Ala11	3,51	—	—
Val8 NH...OC Asp12	3,43	—	—
Val9 NH...OC Val9	—	—	2,45
Val9 NH...OC Gly13	2,58	—	—
Val9 CO...HN Ala11	—	1,90	2,06
Gly10 NH...OC Val14	2,54	—	—
Gly10 CO...HN Gly15	—	1,76	2,04
Ala11 NH...OC Gly15	2,92	—	—
Asp12 NH...O ⁶ Asp12	—	2,92	—
Asp12 NH...OC Asp12	—	2,82	2,74
Asp12 NH...OC Lys16	2,04	—	—
Asp12 CO...HN Val14	—	1,95	2,04
Gly13 NH...OC Lys16	1,89	—	—
Val14 CO...HN Lys16	—	1,97	1,97

Примечание. Цифрами обозначены шейпсы: 1 — e₄f₁₁, 2 — e₄f₄e₅e, 3 — e₅f₃e₂f₄e.

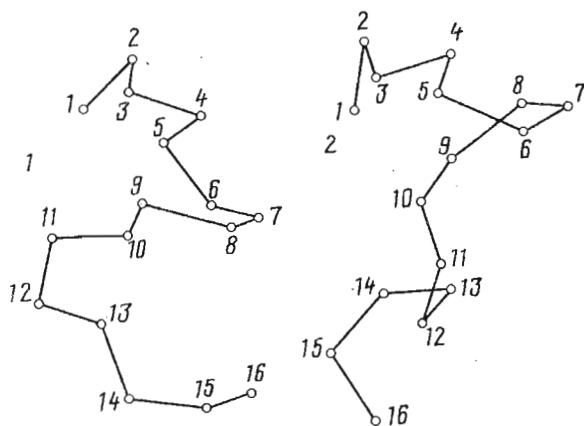


Рис. 3. Наиболее предпочтительные структуры фрагмента 1–16 аналога [Gly12-Asp13]: 1 – e₄f₄effeef, 2 – e₄f₄eefeffe

Как и в случае аналога [Val12-Gly13], глобальная конформация характеризуется оптимальной величиной невалентных взаимодействий, но также и значительной величиной дестабилизирующего кулоновского вклада. По сравнению с другими низкоэнергетическими структурами шейп e_4f_4 , соответствует наиболее компактной укладке полипептидной цепи, что выражается в весьма небольшом расстоянии между α -атомами углерода 1-го и 16-го остатков.

Конформация $B_{32}B_3R_{32}L_3R_{32}R_{32}R_2R_2R_3PRB_3PB_2BR_3$, вторая по энергии для данной модификации онкобелкового фрагмента 1–16, содержит на последовательности Ala11-Gly15 участок α -спиральной структуры. Взаимодействия между остатками в пределах N-концевого ионалептида мало отличаются от энергии, характерной для шейпа e_4f_4 этого участка во всех аналогах. Пространственное строение фрагмента 9–16, соответствующего структурному типу e_5e , практически исключает сильные взаимодействия между удаленными вдоль цепи остатками. Взаимодействия Val9 с аланином, Val8 и аспарагиновой кислотой, а также аспарагиновой кислоты с Gly10 и Val14 вносят в энергию данной конформации вклады около –2 ккал/моль, т. е. влияние этих контактов существеннее, чем в глобальной структуре. Взаимодействия аспарагиновой кислоты с метионином и Lys5 дают вклады, равные соответственно –3,7 и –5,6 ккал/моль, а энергия отталкивания между глутаминовой и аспарагиновой кислотами составляет 5,2 ккал/моль.

Аналог [Gly12-Asp13]. Фрагмент 1–16 модификации p21, обладающей пониженной активностью, заметно отличается по конформационным возможностям от подобных гептадекапептидов активных аналогов онкобелка. Основные параметры низкоэнергетических структур суммированы в табл. 5 и 6, строение пептидного скелета наиболее характерных шейпов изображено схематически на рис. 3.

Глобальная и следующая за ней по энергии структуры принадлежат к близким шейпам, различаясь лишь конформационным состоянием N-концевого дипептида. Участок 10–16 этих структур имеет нерегулярное строение основной цепи, практически исключающее дальние невалентные взаимодействия. В глобальной конформации аналога $B_{32}B_3R_{32}L_3R_{32}R_3R_2R_2R_3PBLB_2R_2BR_3$ фрагмент 1–9 слабо отличается по распределению энергетических вкладов от величин, общих для шейпа e_4f_4 всех модификаций. Дальние контакты обусловлены главным образом взаимодействием ионизированных радикалов. Важную структуроформирующую роль играет аспарагиновая кислота в 13-м положении, взаимодействуя с

Таблица 5

Относительная энергия, величины невалентных, электростатических и торсионных вкладов (ккал/моль) и линейные размеры (Å) наиболее предпочтительных конформаций фрагмента 1–16 аналога [Gly12-Asp13]

Шейпы	Формы основной цепи	$E_{\text{отн}}$	$E_{\text{нев}}$	$E_{\text{эл}}$	$E_{\text{торс}}$	$R (C_1 - C_{10})$
e ₄ f ₄ effeefe	BBRLRRRRRPBBLBRBR	0,0	-73,9	6,4	7,6	17,1
fe ₃ f ₄ effeefe	LLRLRRRRRPBBLBRBR	2,0	-72,6	6,8	7,9	18,9
e ₄ f ₄ effeefe	BBRLRRRRRBBLRBLR	2,4	-69,8	4,6	7,7	20,6
e ₄ f ₄ effefec	BBRLRRRRRPBRRBRR	4,6	-72,2	10,2	6,6	14,7
e ₄ f ₄ effeefe	BBRLRRRRRPBBLRBLR	4,8	-69,7	6,9	7,7	16,6
e ₄ f ₄ effeefe	BBRLRRRRRPBRRBRR	5,4	-70,5	7,8	8,2	10,9
e ₅ f ₃ effeefe	BBRLBRRRRBBBLBRBR	6,7	-67,9	5,4	9,3	14,2
e ₅ f ₃ effeefe	BBRLBRRRRBBBLRBLR	6,7	-68,8	6,3	9,4	23,5
e ₄ f ₄ effefel	BBRLRRRRRBBLBBPR	7,0	-67,8	8,1	6,8	14,1
fe ₃ f ₄ effeefe	LLRLRRRRRPBRRBRR	7,7	-70,0	10,8	7,0	14,6
fe ₄ f ₃ effeefe	LLRLBRRRRBBBLBRBR	7,7	-67,0	5,3	9,5	15,0
fe ₄ f ₃ effeefe	LLRLBRRRRBBBLRBLR	7,8	-67,7	6,1	9,5	23,8
e ₄ f ₄ efffee	BBRLRRRRRBBLBRRBRR	8,9	-68,1	10,0	7,1	10,1
e ₄ f ₄ efef	BBRLRRRRRPBRRRRRR	8,9	-69,7	11,5	7,3	12,7
e ₄ f ₁₁	BBRLRRRRRRRRRRRRR	9,0	-69,9	12,4	6,6	12,0

Таблица 6

Длины водородных связей в наиболее предпочтительных конформациях фрагмента 1–16 аналога [Gly12-Asp13], Å

Водородные связи	1	2	3
Met1 NH...OC Met1	2,50	—	2,65
Met1 CO...HN Glu3	2,06	—	2,50
Thr2 NH...O Thr2	2,57	—	2,81
Glu3 O...H Lys58	2,19	2,70	1,99
Tyr4 NH...OC Val8	2,07	2,32	—
Tyr4 NH...OC Val9	—	—	2,82
Lys5 NH...OC Val9	—	—	1,76
Lys5 H...OC Val9	—	—	2,82
Val9 NH...OC Asp13	—	—	2,40
Val9 CO...HN Ala11	1,93	2,03	—
Gly10 CO...HN Gly12	2,18	2,22	—
Gly10 CO...HN Asp13	2,76	—	—
Ala11 NH...OC Gly15	—	—	2,05
Gly12 NH...OC Gly15	—	—	2,66
Gly12 NH...OC Lys16	—	—	2,85
Asp13 NH...OC Asp13	2,69	2,72	—
Asp13 O...HN Val14	2,76	2,76	—
Asp13 O...H Lys16	2,64	2,65	—
Val14 CO...HN Lys16	2,19	2,19	—

Примечание. Цифрами обозначены шейпы: 1 — e₄f₄effeefe, 2 — fe₃f₄effeefe, 3 — e₄f₁₁.

вующая с несколькими остатками вдоль всей последовательности фрагмента: с метионином (величина этого вклада составляет -3,1 ккал/моль), глутаминовой кислотой (3,7), Lys5 (-3,0), Val7 (-1,5), Val8 (-1,9), Val9 (-2,0), Val14 (-2,4) и Lys16 (-11,1). Столь сильный контакт между Asp13 и Lys16 для данной конформации определяется тем обстоятельством, что разноименно заряженные боковые цепи обоих остатков ориентированы навстречу друг другу, в результате чего их ионизованные группы сближены на расстояние, при котором происходит образование солевого мостика. Заметный вклад в полную энергию данной структуры вносят так-

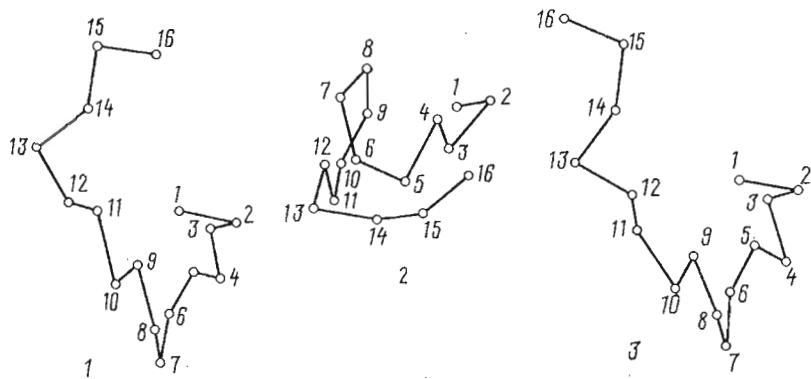


Рис. 4. Наиболее предпочтительные структуры фрагмента 1–16 аналога [Gly12-Gly13]: 1 – e₄f₄eefeffe, 2 – fe₃f₁eiefe₃, 3 – e₄f₄eefeffe

же взаимодействия Lys16 с метионином (2,2 ккал/моль), глутаминовой кислотой (-3,1), Lys5 (2,9), лейцином (-1,6), Val14 (-2,3), Val7 (-2,3) и Gly15 (-1,7). Подобный характер контактов между остатками обусловлен пространственным сближением боковой цепи Lys16 с участком Leu6–Val7.

Различия в строении фрагмента Met1-Thr2 приводят к незначительному ослаблению взаимодействий между остатками на этом участке шейпа fe₃f₁eefeffe. В частности, для данной структуры, как видно из табл. 6, не завязываются некоторые водородные связи.

Структурный тип e₄f₄eefeffe незначительно отличается от глобальной структуры по распределению близких контактов остаток – остаток. К числу важных расхождений следует отнести близкую к нулю энергию контактов Val9 с Lys6 и лейцина с Gly10. В то же время энергии взаимодействия Gly10 с Lys5 и аспарагиновой кислотой равны для этой конформации соответственно -2,0 и -2,7 ккал/моль. Пространственное строение данного шейпа приводит к увеличению энергии контактов между аспарагиновой кислотой и Lys5 до -8,1 ккал/моль и к ослаблению взаимодействия аспарагиновой кислоты с Lys16 до -8,4 ккал/моль. Боковые цепи Asp13 и Lys16 обращены в растворитель, причем ориентированы коллинеарно, вследствие чего заряженные радикалы стерически не сближены. В целом же баланс энергий внутримолекулярных связей для этого структурного типа менее благоприятен, чем в глобальной конформации.

Шейп e₄f₄ несколько превосходит остальные структуры по энергии взаимодействий в пентапептидах, обусловленных α -спиральной формой участка 5–16. В то же время по контактам аспарагиновой кислоты с положительно заряженными остатками: метионином (-2,6 ккал/моль), Lys5 (-2,8 ккал/моль) и Lys16 (-2,5 ккал/моль) e₄f₄ значительно уступает глобальной структуре этого аналого.

Аналог [Gly12-Gly13]. Основные сведения о геометрических и энергетических характеристиках предпочтительных структур N-концевого undekapeptida природного protoonkогенного p21 содержатся в табл. 7 и 8. На рис. 4 схематически изображены оптимальные формы основной цепи изученного фрагмента молекулы. Полученные в результате расчетов данные указывают на то, что фрагмент 1–16 пассивного p21 конформационно лабилен: интервалу относительных энергий от 0 до 6 ккал/моль принадлежат 20 шейпов с принципиально различным строением основной цепи.

Глобальной для данной модификации гептадекапептида оказалась конформация B₃₂B₃R₃₂L₃R₃₂R₂R₂R₃PRPB₃BR₃, имеющая оптимальные величины невалентного и торсионного вкладов, а также способствующая образованию максимального количества водородных связей. Две наиболее пред-

Таблица 7

Относительная энергия, величины нивалентных, электростатических и торсионных вкладов (ккал/моль) и линейные размеры (\AA) наиболее предпочтительных конформаций фрагмента 1–16 аналога [Gly12-Gly13]

Шейны	Формы основной цепи	$E_{\text{отн}}$	$E_{\text{нев}}$	$E_{\text{эл}}$	$E_{\text{торс}}$	$R (C_1 - C_{16})$
e ₄ f ₄ eefef ₃	BBRLRRRRRPRPBBBR	0,0	-71,0	14,6	6,4	9,4
f ₃ f ₄ eefef ₃	LLRLRRRRRPRPBBBR	1,5	-70,0	14,7	6,7	5,3
e ₄ f ₄ eefef ₃	BBRLRRRRRPRPBBLR	2,8	-67,8	13,6	7,0	14,9
e ₄ f ₄ eefef ₂ f	BBRLRRRRRPRPBRPH	3,4	-66,6	13,4	6,6	12,3
e ₄ f ₄ eefef ₂	BBRLRRRRRPRPBBPR	3,5	-66,9	13,7	6,7	12,1
e ₄ f ₄ eefef ₂ f ₃	BBRLRRRRRPRPBPBPR	3,9	-67,2	14,5	6,6	10,6
e ₅ f ₃ e ₃ f ₂ e ₂	BBRLBRRRBPRPBPR	4,0	-67,4	12,1	9,3	14,4
e ₄ f ₄ eefef ₂ e ₂	BBRLRRRRRPRPPRBR	4,1	-67,8	13,5	8,4	14,0
e ₄ f ₄ eefef ₃ e	BBRLRRRRRPRBPBPBLR	4,1	-67,5	14,1	7,5	14,7
e ₅ f ₃ e ₃ f ₃ e	BBRLRRRRBBBPRPBLR	4,5	-65,6	12,8	7,3	8,5
e ₄ f ₄ eefef ₂ f	BBRLRRRRRPRPBRPR	4,7	-66,7	14,2	7,2	20,5
e ₄ f ₄ eef ₃ f ₃	BBRLRRRRRPRPPBPBPR	4,8	-65,3	12,9	7,2	18,1
f ₃ f ₄ eefef ₂ e ₂	LLRLRRRRRPRBPBPBR	4,8	-66,3	13,8	7,3	14,5
e ₄ f ₄ eefef ₂ e ₂	BBRLRRRRRBBBPPBPR	5,0	-64,6	12,3	7,4	19,7
f ₃ f ₄ eefef ₂ f ₂	LLRLRRRRRPRPBRPR	5,2	-65,1	13,7	6,6	11,1
f ₄ f ₃ e ₃ f ₂ e ₂	LLRLBRRRBPRPBPR	5,2	-66,5	12,1	9,5	14,0
e ₄ f ₄ eefef ₂ e ₂	BBRLRRRRRPRBPBPBR	5,5	-66,0	13,6	8,0	14,9
e ₄ f ₄ eef ₃	BBRLRRRRRPRBPBPBR	5,6	-66,6	15,0	7,1	17,7
e ₅ f ₃ eefef ₂ e ₂	BBRLBRRRRRPRBPBPBR	5,6	-66,7	12,8	9,5	17,4
e ₄ f ₄ eefef ₂	BBRLRRRRRPRBPBPBR	5,8	-66,8	14,2	7,4	20,5

Таблица 8

Длины водородных связей в наиболее предпочтительных структурах фрагмента 1–16 пассивного аналога [Gly12-Gly13], \AA

Водородные связи	1	2	3
Met1 NH ₃ ...OC Met1	2,54	—	2,50
Met1 CO...HN Glu3	2,09	—	2,06
Thr2 NH...O ⁷ Thr2	2,58	—	2,57
Glu3 O ⁶ ...H ⁵ Lys5	1,99	2,68	2,19
Glu3 O ⁶ ...HN Gly12	2,52	2,46	—
Tyr4 NH...OC Val8	2,09	2,32	2,07
Val9 CO...HN Ala11	1,87	1,89	1,89
Ala11 CO...HN Gly13	1,94	2,02	1,92
Gly12 CO...HN Val14	1,94	1,89	1,94
Gly13 CO...H ⁵ Lys16	—	—	1,97
Val14 NH...OC Val14	2,52	2,52	2,54
Val14 CO...HN Lys16	1,98	1,98	—

Примечание. Цифрами обозначены шейлы: 1 — e₄f₄eefef₃, 2 — f₃f₄eefef₃, 3 — e₄f₄eefef₃.

предпочтительные конформации заметно отличаются от прочих низкоэнергетических структур малым расстоянием между С-атомами концевых остатков, что указывает на оптимальную компактность укладки этих типов молекулярного остова.

В оптимальных конформациях данного пассивного аналога вследствие специального строения N-концевого nonапептида массивные боковые цепи метионина, глутаминовой кислоты и Lys5 пространственно сближены, при этом образуется солевой мостик между Glu3 и Lys5. Боковые цепи треонина, тирозина, лейцина и Lys5 развернуты и погружены в растворитель.

Важнейшие стабилизирующие вклады в полную энергию глобальной конформации вносят контакты глутаминовой кислоты с Lys5 (-15 ккал/

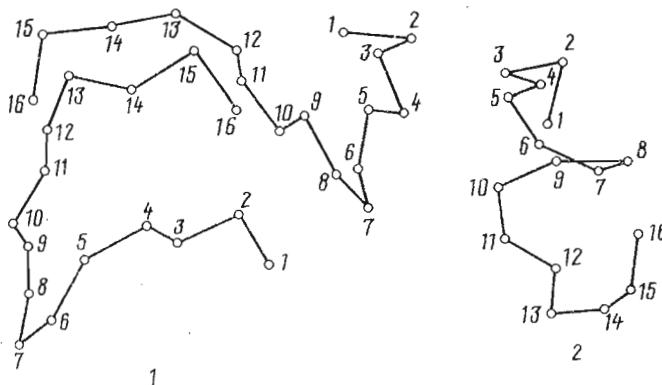


Рис. 5. Наиболее предпочтительные структуры фрагмента 1–16 аналога [Pro12-Gly13]: 1 – $e_5f_3efef_3$, 2 – $e_5f_4efef_5$, 3 – $e_4f_8e_5$

/моль), метионином (-10 ккал/моль) и Lys16 (-4 ккал/моль), определяемые главным образом электростатическим взаимодействием разноименно заряженных радикалов. Сильное взаимодействие ($-4,3$ ккал/моль) отмечается также между Val14 и Lys16. Несколько меньшую по абсолютной величине энергию (от -2 до -3 ккал/моль) имеют контакты тирозина с треонином, Lys5 и Val8, лейцина с Gly10, а также контакты Val9 с аланином, Lys5 и Gly12. Кулоновским отталкиванием положительных зарядов на боковых цепях лизинов и на ионизированном участке основной цепи метионина обусловлены дестабилизирующие вклады, энергия которых имеет величину от 3 до 5 ккал/моль. Как в глобальной, так и во многих других низкоэнергетических структурах суммируются, кроме того, энергии дальних контактов между глутаминовой кислотой и фрагментом 11–14, а также между Lys5 и остатками Ala11 и Val14. Вклады этих взаимодействий составляют от -1 до $-1,5$ ккал/моль.

Аналог [Pro12-Gly13]. Конформационные возможности этой пассивной модификации существенно ограничены ввиду структурных особенностей пролина: во всех низкоэнергетических формах данного аналога участок 11–12 имеет одинаковое строение BR. Несмотря на это, фрагмент оказался лабильным — относительную энергию, не превышающую 5 ккал/моль, имеют представители 10 шейпов. Наиболее важные сведения об этом аналоге приведены в табл. 9 и 10, а также на рис. 5.

Глобальная конформация $B_3B_3R_{32}L_3B_{11}R_2R_2R_2B_2PBRBB_3BR_3$ образует петлеобразную структуру, обеспечивающую сближение боковых цепей треонина, тирозина, Val14 и Lys16. Прочие боковые цепи расположены на внешней поверхности полости, образованной изгибом полипептидного остова, вследствие чего соответствующие остатки практически не участвуют в средних и дальних взаимодействиях и обращены к растворителю. Отметим здесь, что N-концевой ионапептид оптимальной структуры пролин-глицинового аналога принадлежит к шейпу e_5f_3 , который был не характерен для наиболее предпочтительных форм ранее рассматривавшихся модификаций p21.

К числу важнейших взаимодействий между остатками относятся контакты глутаминовой кислоты с метионином ($-10,5$ ккал/моль) и Lys5 ($-9,5$ ккал/моль). Энергии взаимодействий Lys16 с треонином, глутаминовой кислотой и тирозином равны соответственно $-1,1$, $-3,3$ и $-3,8$ ккал/моль, а контакты Lys5 с лейцином и Val17 соответственно составляют $-4,4$ и $-5,0$ ккал/моль. Изгиб основной цепи в глобальной конформации способствует сближению боковых цепей аланина и Val14, энергия взаимодействия которых равна $-2,7$ ккал/моль. Для всех оптимальных структур, включая глобальную, заметную роль играют также контакты треонина с

Таблица 9

Относительная энергия, величины ковалентных, электростатических и торсионных вкладов (ккал/моль) и линейные размеры (Å) наиболее предпочтительных конформаций фрагмента 1–16 аналога [Pro12-Gly13]

Шейпы	Формы основной цепи	$E_{\text{отн}}$	$E_{\text{нев}}$	$E_{\text{эл}}$	$E_{\text{торс}}$	$R (C_i - C_j)$
e ₅ f ₃ e ₅ e ₃	BBRLBRRRBPBRBBR	0,0	-69,4	10,2	8,2	10,9
e ₅ f ₄ e ₅	BBRLRRRRRPBRLBRR	0,6	-67,1	10,6	6,2	16,0
e ₅ f ₅ e ₃	BBRLRRRRRRRBRLBRR	1,0	-68,7	11,9	6,8	18,5
e ₄ f ₃ e ₅ e ₃	BBRLRRRRRPBRLBRR	1,5	-68,0	12,3	6,2	9,9
e ₄ f ₄ e ₅ f	BBRLRRRRRPBRLRPR	2,0	-64,9	9,7	6,2	17,6
e ₅ f ₅ e ₅ f	BBRLRRRRRRBRLRPR	3,1	-66,3	11,5	7,0	22,0
e ₄ f ₄ e ₅ f	BBRLRRRRRBBRBBBR	3,1	-64,8	10,4	6,6	17,7
fe ₃ f ₄ e ₅ e ₃	LLRLRRRRRPBRLBRR	4,3	-66,3	13,3	6,3	7,7
e ₅ f ₄ e ₇	BBRLRRRRRBBBRLBRR	4,5	-63,2	10,3	6,4	21,7
e ₄ f ₅ e ₅ e ₃	BBRLRRRRRRRBRLBRR	4,5	-65,5	11,7	7,2	17,2
e ₅ f ₃ e ₅ e ₃	BBRLBRRRRBBBRLBRR	5,6	-62,9	9,7	7,8	23,7
e ₄ f ₄ e ₅ f	BBRLRRRRBBBRLRPR	5,8	-61,4	10,2	6,0	24,7
fe ₃ f ₄ e ₅ e ₃	LLRLRRRRRPBRLBRR	6,0	-62,9	11,6	6,3	18,2
e ₅ f ₅ e ₅ e ₃	BBRLBRRRRRPBRLBRR	6,5	-63,2	10,8	7,8	24,3
fe ₄ f ₅ e ₇	LLRLBRRRRBBBRLBRR	6,7	-62,2	9,7	8,1	23,1
fe ₃ f ₄ e ₅ e ₃	LLRLRRRRRPBRLRPR	6,9	-60,7	10,4	6,3	18,0
e ₅ f ₄ e ₇	BBRLBRRRRBBBRLBRR	7,1	-61,4	9,8	7,7	24,6
fe ₄ f ₅ e ₇	LLRLBRRRRBBBRLBRR	8,3	-60,4	9,8	7,9	24,6

Таблица 10

Длины водородных связей в наиболее предпочтительных структурах фрагмента 1–16 пассивного аналога [Pro12-Gly13], Å

Водородные связи	1	2	3
Met1 NH...OC Met1	2,48	2,50	2,65
Met1 CO...HN Glu3	2,13	2,06	2,50
Thr2 NH...O Thr2	2,58	2,57	2,87
Glu3 CO...H Lys5	--	2,19	1,99
Tyr4 NH...OC Val18	--	2,07	--
Tyr4 NH...OC Val9	--	--	2,82
Tyr4 O...H Lys16	2,45	--	--
Tyr4 CO...HN Ala11	2,80	--	--
Lys5 NH...OC Lys5	2,37	--	--
Lys5 NH...OC Val9	--	--	1,75
Lys5 H...OC Leu6	2,38	--	--
Lys5 H...OC Val7	1,99	--	--
Lys5 H...OC Val9	--	--	2,84
Val9 CO...HN Ala11	1,91	1,95	--
Lys5 H...OC Ala11	--	2,00	--
Pro12 CO...HN Val14	2,36	--	--
Val14 NH...OC Val14	2,44	2,41	2,40
Val14 CO...HN Lys16	2,05	2,03	2,03

Примечание. Цифрами обозначены шейпы: 1 — e₅f₃e₅e₃, 2 — e₄f₄e₅, 3 — e₄f₅e₃.

тироzinом, тирозином с Lys5, Val8 с Val9 и контакты Gly15 с Lys16, энергия которых имеет величину около -2 ккал/моль. Развернутое строение С-концевого участка изучаемого фрагмента приводит к сильному (около -4 ккал/моль) взаимодействию между Val14 и Lys16.

Конформации с относительной энергией 0,6 и 1,0 ккал/моль содержат на участке 12–16 длинные сегменты β -структур, исключающей дальние взаимодействия. В то же время на участке 1–9 обе эти конформации имеют форму основной цепи, соответствующую шейпу e₄f₄, который обес-

печивает оптимальное взаимодействие глутаминовой кислоты и Lys⁵ ($-13,5$ ккал/моль). Протяженные участки спиральной структуры, содержащиеся в этих шейнах, создают благоприятные условия для сильных тетра- и пентапептидных контактов на участке 7–12 аминокислотной последовательности белковой молекулы.

Обсуждение результатов

Уже предварительный анализ экспериментальных данных о структурно-функциональных свойствах семейства p21 наводил на мысль о том, что активизирующие замены в 12-м и 13-м положениях связаны со спирализацией полипептидного скелета молекулы онкобелка в окрестностях точки замены. Поскольку участки 7–15 активных белков заселены преимущественно остатками, не обладающими массивными боковыми цепями, можно думать, что стабилизация подобных последовательностей достигается за счет сильных взаимодействий между атомами основной цепи, поэтому одной из наиболее предпочтительных форм строения указанного участка оказывается α -спираль. С другой стороны, пассивные модификации p21 содержат дипептиды Gly12-Gly13 и Pro12-Gly13, конформационные свойства которых способствуют разрушению именно спиральной структуры [2]. Таким образом, можно было предположить, что в пассивных аналогах дипептид 11–12 имеет развернутое строение основной цепи, что препятствует реализации трансформирующей активности онкобелка.

При рассмотрении расчетных данных представляется корректным полагать, что структурный тип, благоприятствующий реализации трансформирующих свойств онкобелка, должен быть одним из оптимальных для обоих активных аналогов ([Val12-Gly13] и [Asp12-Gly13]), сравнительно высокоэнергетичным, однако не запрещенным для модификации [Gly12-Asp13], обладающей пониженной активностью, и, наконец, искомая конформация должна быть запрещена для пассивных мутантов. Сопоставляя результаты вычислений, приведенные в табл. 1, 3, 5, 7 и 9, нетрудно убедиться, что перечисленным требованиям удовлетворяет лишь единственная структура — e_4f_{11} .

В значительно меньшей степени соответствуют указанным критериям конформации, принадлежащие к шейнам $e_4f_4e_6$, $e_4f_4e_2f_5$ и $e_5f_5e_6f_4$, которые запрещены не только для пассивных модификаций, но и для аналога Gly12-Asp13. Оптимальные представители родственных структурных типов $f_6f_5e_2f_5$ и $e_5f_5e_2f_5$, хотя формально и удовлетворяют сформулированным условиям, характеризуются слишком высокими энергиями активных аналогов, что делает весьма проблематичной реализацию подобных конформаций в нативных белках.

Вывод о том, что N-концевой гептадекапептид глобальной конформации активных онкогеновых форм p21 имеет строение типа e_4f_{11} , хорошо согласуется с результатами статистического анализа вторичных структур, приведенными в работах [3, 4]. Данный вывод косвенно подтверждается также результатами Миуры и др. [5], которые методами генной инженерии создали новый мутантный белок p21*, поменяв местами фрагменты 5–17 и 109–121 обычного онкобелка p21, причем у сконструированного таким образом p21° трансформирующей активности обнаружено не было. Поскольку N-концевой домен p21* содержит сразу два пролиновых остатка (в 6-й и 17-й позициях), а также трипептид Lys13-Cys14-Asp15, который под воздействием кулоновских контактов неизбежно примет развернутую конформацию, представляется очевидным, что на участке 5–16 такого белка спиральная структура сложиться не может в принципе. Поэтому логично предположить, что пассивность p21° связана именно

с разрушением α -спирального сегмента на участке 5–16 аминокислотной последовательности.

Уместно подчеркнуть, что фрагмент 1–9, общий для всех модификаций p21, является конформационно жестким: данная нуклеация может принимать, согласно вычислениям, лишь четыре близкие по строению пептидного остова и ориентации боковых цепей конформации, принадлежащие шейпам e_4f_4 , fe_3f_5 , e_5f_3 и fe_2f_5 . При этом почти во всех модификациях (за исключением не обнаруженного в природе аналога [Pro12-Gly13]) наиболее предпочтительные структуры имеют на N-концевом нонапептиде именно шейп e_4f_4 , который к тому же реализуется в наибольшем количестве оптимальных конформаций как активных, так и пассивных аналогов. Таким образом, данный структурный тип на участке 1–9 обладает не только энергетической, но и энтропийной предпочтительностью.

Материалы конформационного анализа позволяют выдвинуть некоторые предположения о характере структурных перестроек изученного домена p21, обусловленных активизирующими аминокислотными заменами в 12-й и 13-й позициях. Для модификаций, не приводящих к трансформирующему действию, характерно такое строение основной цепи участка 1–16, при котором конформационно жесткий фрагмент 1–9, соответствующий шейпу e_4f_4 , стерически сближен с продолжением полипептидной цепи онкобелка. При этом участок 9–13 имеет нерегулярное строение вида $eefefe$, приводящее к изгибу молекулярного остова. Активизирующие замены 12-го и, в меньшей степени, 13-го остатка сопровождаются существенной перестройкой вторичной структуры данного фрагмента онкобелка, приводящей к спирализации всего участка 9–16, в результате чего N-концевой нонапептид приобретает строго определенную ориентацию относительно остальных звеньев белковой молекулы. Данный вывод также хорошо согласуется с результатами анализа вторичных структур, опубликованными в работе [3]. Можно также предположить, что конечным назначением точечных замен является именно переориентация в пространстве конформационно жесткого фрагмента 1–9, в результате чего ионизированные радикалы метионина, глутаминовой кислоты и лизина занимают в пространстве расположение, необходимое для осуществления катализитического акта либо для реализации иных физиологических функций онкобелков семейства p21.

В то же время нельзя не отметить некоторых расхождений между результатами конформационного анализа и данными рентгеноструктурного эксперимента по изучению пространственного строения комплекса молекулы гуанозинтрифосфата с фрагментом 1–171 онкобелка p21 (аналоги [Gly12-Gly13] и [Val12-Gly13]), выполненного учеными университетов Калифорнии и Хоккайдо [6]. К сожалению, в публикации не указаны точные границы участков упорядоченной структуры, утверждается лишь, что на N-концевом фрагменте p21 реализуется β -структура (что хорошо коррелирует с расчетным строением пентапептида 1–5), а на участке 9–18 имеется петлеобразный изгиб основной цепи молекулы. Графическое изображение изгибного участка 9–18, приведенное в работе [6], практически совпадает с вычисленной конформацией соответствующего фрагмента пассивного глицин-глицинового мутанта, однако аналогичное изображение для модификации [Val12-Gly13] заметно отличается от расчетного. Наиболее близкими к экспериментально определенной структуре оказались полученные в результате вычислений конформации, на участке 1–9 которых реализован шейп e_8 , а форма полипептидной цепи участка 9–16 относится к шейпам $feeffe$, e_3ffe_3 и $feeffe_3$. Согласно результатам теоретического конформационного анализа, в случае активных модификаций p21 эти шейпы обладают относительной энергией, превышающей

12–17 ккал/моль, т. е. заведомо не могут быть причислены к предпочтительным структурам.

Среди вероятных причин, приводящих к указанному расхождению, можно назвать то обстоятельство, что в процессе конформационных расчетов рассматривался изолированный фрагмент 1–16, т. е. не учитывались контакты гептадекапептида с остальными атомами онкобелка, а также с молекулой гуанозинтрифосфата. Представляется несомненным, что окончательное формирование нативной конформации p21 происходит под сильным влиянием именно дальних взаимодействий. Нельзя также исключить и возможность того, что структуры, определенные каждым из методов, отражают строение фрагмента 1–16 на разных стадиях физиологического акта, причем «экспериментальная» конформация актуальна лишь на этапе гуанозинтрифосфат-связывания.

Окончательное решение вопроса о строении эффективного фрагмента p21 может быть получено лишь после изучения более протяженных участков онкобелка с обязательным анализом динамических конформационных возможностей N-концевого домена. Результаты этого исследования будут представлены в одной из последующих статей настоящего цикла. Очевидно, что установление истинной трехмерной структуры p21 и определение причин расхождения между экспериментальными и теоретическими результатами позволят более четко ограничить область применимости метода конформационного анализа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мзареулов К. Д. // Биоорган. химия. 1992. Т. 18. № 4. С. 474–483.
2. Шульц Г., Ширмер Р. Принципы структурной организации белков. М.: Мир, 1982. 356 с.
3. Santos E., Reddy E. P., Pulciani S., Feldmann R. J. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1983. V. 80. № 15. P. 4679–4683.
4. Wigler M., Fasano O., Taparowsky E., Powis S., Kataoka T., Birnbaum D., Shimizu K., Goldfarb M. // Cancer Cells. 1984. № 2. P. 419–423.
5. Miura K., Kamiya H., Kubota S., Ikebara M., Nishimura S., Ohtsuka E. // Protein Eng. 1988. V. 2. № 3. P. 227–231.
6. Tong L., de Vos A. M., Milburn M. V., Jancarik J., Noguchi S., Nishimura S., Miura K., Ohtsuka E., Kim S. H. // Nature. 1989. V. 337. № 6202. P. 90–93.

Поступила в редакцию
17.VII.1990
После доработки
19.II.1991

K. D. MZAREULOV

CONFORMATIONAL ASPECTS OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF FUNCTIONAL FRAGMENTS OF THE p21ras ONCOPROTEIN FAMILY. 2. FRAGMENTS 1–16 OF THE POLYPEPTIDE CHAIN

Baku State University, Baku

The conformational analysis data on active ([Val12-Gly13], [Asp12-Gly13] and [Gly12-Asp13]) and passive ([Gly12-Gly13] and [Pro12-Gly13]) modifications of the p21ras family oncoproteins are presented. The activating amino-acid substitutions are shown to be accompanied by essential changes in the secondary structure, resulted in the 9–16 fragment spiraling. The spatial structure of the 1–9 fragment does not vary for all the predominant forms of the active and passive analogues. The results of the conformational analysis have been used for studying the structural-functional relationships.