



УДК 547.962:541.63

ЛОКАЛЬНЫЕ СТЕРИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ АМИНОКИСЛОТНЫХ
ОСТАТКОВ И ФОРМИРОВАНИЕ СТРУКТУРЫ ТИПА α -СПИРАЛИ*Поройков В. В., Туманян В. Г.**НИИ по биологическим испытаниям химических соединений,
Старая Купавна, Московская область;**Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва*

Изучено влияние аминокислотных остатков на формирование конформации типа α -спирали. Показано, что включение в спираль поли-*L*-аланина любой аминокислоты, кроме пролина, может происходить без существенных искажений структуры остова. Обсуждаются возможные причины искажений α -спиральных участков в глобулярных белках.

Определенные области структуры глобулярных белков принято рассматривать как α -спиральные. Вместе с тем значения спиральных параметров n и h и двугранных углов ϕ и ψ лишь в среднем соответствуют значениям, предсказываемым теорией [1] и определенным в эксперименте для α -спирали [2, 3]. К возможным причинам, объясняющим наблюдаемые отклонения, помимо тривиального фактора — погрешностей рентгеноструктурного анализа, относят: 1) различия локальных стерических возможностей аминокислотных остатков, 2) влияние дальних внутримолекулярных взаимодействий, 3) влияние упаковки в кристалле белка. Последним фактором, по-видимому, можно пренебречь, поскольку, например, имеются данные о полном сходстве структур одного и того же белка в различных кристаллических модификациях [4]; поэтому следует сосредоточиться на анализе первых двух факторов.

С. Г. Галактионовым было показано, что, располагая данными о влиянии отдельных аминокислотных остатков на конформацию остова, можно построить распределение напряжений в спиральной структуре, а возможно, и предсказать места обрывов спиралей [5].

В настоящей работе предпринята попытка оценить влияние каждой аминокислоты на структуру остова пептидной цепи в конформации α -спирали методом теоретического конформационного анализа в попарно-аддитивном приближении. В качестве модели α -спирали мы использовали спираль поли-*L*-аланина. Расчет выполнялся следующим образом: методом сопряженных градиентов минимизировалась конформационная энергия фрагментов типа $(Ala)_6-X-(Ala)_6$, где X — один из 20 аминокислотных остатков; в положениях локальных минимумов вычислялись отклонения углов остова $\Delta\phi_i$ и $\Delta\psi_i$ от двугранных углов регулярной спирали полиаланина. При минимизации энергии все углы ϕ_i , ψ_i , χ_i рассматривались как независимые переменные. Учитывались невалентная, электростатическая и торсионная составляющие. Потенциал невалентных взаимодействий включал в себя энергию водородной связи. Более подробно методика расчета и использованные параметры описаны в работах [6, 7].

Стартовые конформации боковых радикалов

Торсионный угол	Аминокислотные радикалы																
	Val	Cys	Asp	Glu	Phe	His	Ile	Lys	Leu	Met	Asn	Gln	Arg	Ser	Thr	Trp	Tyr
$\chi_1^\circ \sim$	± 60 180	± 60 180	± 60 180	± 60 180	± 60 180	± 60 180	± 60 180	± 60 180	± 60 180	± 60 180	± 60 180	± 60 180	± 60 180	± 60 180	± 60 180	± 60 180	± 60 180
$\chi_2^\circ \sim$		± 60 180	± 60 180	± 60 180	90	-90	180	180	90	180	90	180	180	± 60 180	± 60 180	± 60 180	90
$\chi_3^\circ \sim$				90				180		180		90	180				90
$\chi_4^\circ \sim$								180					90				

Расчет потенциальной карты для регулярной спирали поли-L-аланина показал, что минимуму в области α -спирали соответствуют $\varphi = -70^\circ$, $\psi = -37^\circ$. Этот результат согласуется с данными других авторов, также отмечавших некоторое увеличение угла ψ и уменьшение φ по сравнению с кристаллографическими значениями в работах [8, 9].

Для оценки конечных эффектов мы применили описанную выше процедуру к фрагментам (Ala)₆-Val-(Ala)₆ и (Ala)₁₀-Val-(Ala)₁₀ (валин сравнительно сильно искажает α -спираль из-за разветвления у C^β-атома). Оказалось, что удлинение цепи практически не влияет на «деформацию» четырех предшествующих валину и следующих за ним остатков, а величина отклонений $\Delta\varphi_i$ и $\Delta\psi_i$ резко уменьшается при $|i| > 4$, что оправдывает изучение отклонений углов остова от регулярных на модели (Ala)₆-X-(Ala)₆.

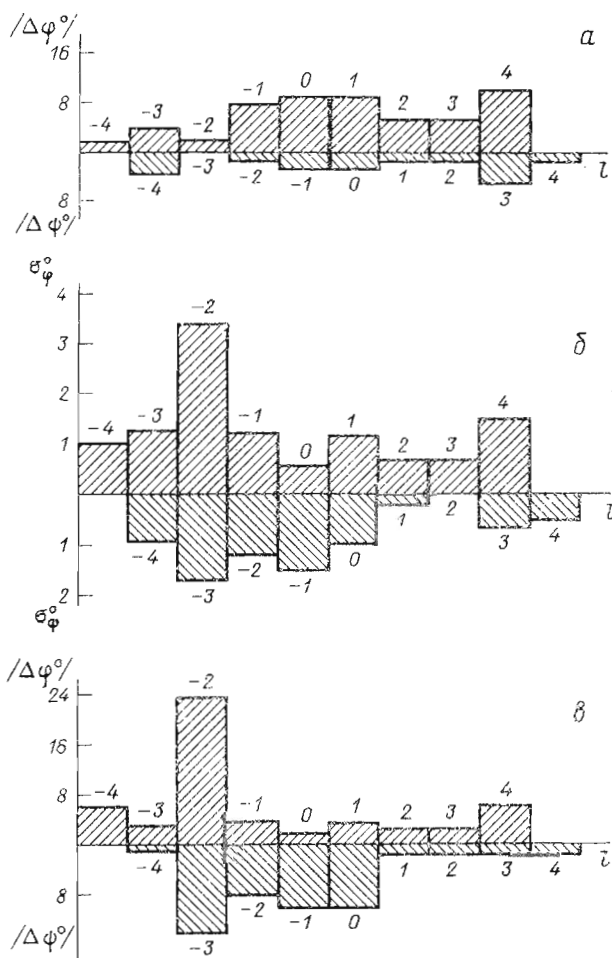
Так как боковые радикалы аминокислот, входящих в спиральные участки белков, по-видимому, могут находиться в любых конформациях, мы рассмотрели большое число конформеров. Значения углов боковых радикалов, использованные в качестве стартовых при минимизации энергии, приведены в таблице. Несмотря на то что для некоторых аминокислот наиболее стабильная конформация имеет заметные отклонения углов остова от регулярных, во всех рассмотренных случаях имелась по крайней мере одна конформация, проигрывающая по энергии не более 0,5 ккал/моль остаток, «деформации» углов которой не превосходили 5°, и лишь для Val, Ile, Tyr, Phe этот предел увеличен до 10°. При включении в спираль остатков Glu и Ala искажения остова не превосходили 3°. В качестве примера на рисунке а приведены данные для одной из конформаций валина, не вызывающей существенных деформаций структуры остова.

Было обнаружено, что пролин сравнительно сильно «деформирует» структуру α -спирали. В точке локального минимума $\psi = 68^\circ$ (φ фиксировано при -60°), при этом значение энергии превосходило энергию фрагментов, не содержащих пролина, на 15 ккал/моль и более. В то же время оценки искажений α -спирали пролином следует рассматривать как предварительные, поэтому в наших расчетах пирролидиновое кольцо принималось абсолютно жестким.

Предполагая, что зависимость отклонений $\Delta\varphi_l$ и $\Delta\psi_l$ от положения (l) по отношению к остатку X ($l = -4, 4$) связана не столько со специфичностью бокового радикала и его конформацией, сколько со свойствами самой спиральной структуры, мы рассчитали для всех остатков, кроме Glu, Pro, Ala, среднеквадратичные отклонения

$$\sigma_\varphi = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^k \Delta\varphi_{ij}^2}{nk}} \quad \text{и}$$

$$\sigma_\psi = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^k \Delta\psi_{ij}^2}{nk}},$$



«Деформация» α -спирали полиаманина, вызванная включением других аминокислотных остатков. По оси абсцисс — позиция по отношению к включаемому в спираль остатку, по оси ординат — среднеквадратичное отклонение или модуль отклонения двугранных углов остова от регулярных. *a* — конформация валина, не вызывающая существенных искажений спирали ($\chi_1 = 174^\circ$); *б* — усредненная по всем остаткам и конформациям картина искажений; *в* — конформация валина, вызывающая искажения, сходные со среднестатистическими ($\chi_1 = -68^\circ$)

где n — число остатков, k — число конформеров. Результаты приведены на рисунке б. Гистограммы для σ_φ и σ_ψ на рисунке сдвинуты друг относительно друга, поскольку известно, что значения углов φ_{l+1} и ψ_l определяют наклон l -й пептидной группы по отношению к оси спирали [10]. Нами не обнаружено уменьшения отклонений при $|l| > 2$ [5], напротив, искажения максимальны для φ_{-2} , ψ_{-3} . Этот результат представляется разумным, поскольку в α -спирали атомы l -й и $(l-3)$ -й пептидных групп и соответствующих боковых радикалов пространственно сближены и, следовательно, их взаимное влияние должно быть большим, чем, например, атомов l -го бокового радикала и $(l-2)$ -й пептидной группы. Некоторое различие в результатах, полученных нами и Галактионовым [5], возможно, объясняется различием использованных параметров (известно, что результаты расчетов компактных структур, к которым можно отнести α -спираль, в значительной мере зависят (см. [7]) от выбранной системы потенциалов). Нами были использованы параметры, приведенные в работе [6], тогда как

расчеты Галактионова базировались на параметризации, приведенной в работе [11].

Для выяснения, обусловлен ли наблюдаемый максимум «деформаций» взаимодействием бокового радикала с ($l-3$)-й пептидной группой или с метильными группами ($l-3$)-го, ($l-4$)-го остатков, был выполнен контрольный расчет фрагмента Ala-(Gly)₂-(Ala)₃-Val-(Ala)₆. Оказалось, что характер искажений спиральной структуры полиаланина не меняется при замене ($l-3$)-го и ($l-4$)-го аланинов на остатки глицина. Так как деформирующее влияние валина (конформер с $\chi_1 = -68^\circ$) на α -спираль качественно совпадает с усредненной картиной (см. рисунок 6), можно сделать вывод, что наблюдаемый максимум обусловлен взаимодействием типа «боковой радикал — остов».

Резюмируем основные результаты наших расчетов:

1) включение в α -спираль любой аминокислоты, кроме пролина, может происходить без существенных искажений структуры остова, что соответствует гипотезе, выдвинутой Полингом и Кори в 50-х годах [12];

2) наблюдаемые в глобулярных белках искажения α -спиральных участков, по-видимому, обусловлены взаимодействием боковых радикалов, вызывающим перераспределение иерархии стабильных конформаций.

Несомненно, большое значение имеют также дальние внутримолекулярные взаимодействия, влияние которых на формирование вторичной структуры было исследовано Лимом [13].

Полученные нами результаты указывают, что для развития теории α -спирали необходимо детальное исследование взаимодействия пространственно сближенных участков α -спирали типа «боковой радикал — остов» и «боковой радикал — боковой радикал».

Авторы выражают искреннюю признательность С. Г. Галактионову, С. А. Шерману, В. М. Цейтину, Г. В. Никифоровичу за постоянный интерес к работе и обсуждение ее результатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Pauling L., Corey R. B., Branson H. R. (1951) Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 37, 205—211.
2. Arnott S., Wonacott A. J. (1966) J. Mol. Biol., 21, 371—383.
3. Arnott S., Dover S. D. (1967) J. Mol. Biol., 30, 209—212.
4. Есяпова Н. Г. (1973) сб. Итоги науки и техники, сер. «Молекулярная биология», т. 2, с. 55—131, ВИНТИ, М.
5. Галактионов С. Г. (1974) Докт. дис. «Исследование пространственной молекулярной структуры пептидов и белков», Ин-т экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича АН БССР, Минск.
6. Галактионов С. Г., Никифорович Г. В., Перельман Т. Л. (1974) Диффузия в сложных молекулярных структурах, «Наука и техника», Минск.
7. Дашевский В. Г. (1974) Конформации органических молекул, «Химия», М.
8. Lipkind G. M., Pоров E. M. (1973) Int. J. Pept. Prot. Res., 5, 371—379.
9. Никифорович Г. В., Галактионов С. Г. (1971) Докл. АН БССР, 15, 430—432.
10. Галактионов С. Г., Никифорович Г. В., Шендерович М. Д., Цейтин В. М. (1976) Изв. АН БССР. Сер. биол. н., 5, 75—77.
11. Никифорович Г. В. (1970) сб. Конформационные расчеты сложных молекул, с. 20—32, Ин-т тепло- и массообмена АН БССР, Минск.
12. Полинг Л., Кори Р. (1957) сб. Современные проблемы биохимии, с. 38—104, «Мир», М.
13. Лим В. И. (1974) Биофизика, 19, 366—377.

Поступила в редакцию
4.I.1978

После доработки
2.II.1978

LOCAL STERIC POSSIBILITIES OF AMINO ACID RESIDUES
AND α -HELIX LIKE STRUCTURE FORMATION

POROIKOV V. V., TUMANYAN V. G.

*Institute for Biological Research of Chemical Compounds, Kupavna;
Institute of Molecular Biology,
Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

Theoretical conformational analysis was carried out of the α -helix formation in relation to the dependence of this process on the nature of amino acid residues. It was shown that incorporation of any amino acid residue, except proline, into helical poly-L-alanine can occur without significant deformation of backbone structure. Possible reasons for deformation of α -helical regions in globular proteins were discussed.
