



УДК 547.458.02:541.63

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ
СПЕЦИФИЧЕСКИХ О-АНТИГЕННЫХ ПОЛИСАХАРИДОВII*. О-АНТИГЕННЫЙ ПОЛИСАХАРИД *SALMONELLA ANATUM*

Липкин Г. М., Кочетков Н. К.

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского
Академии наук СССР, Москва

Проведен теоретический конформационный анализ в приближении атом-атомных взаимодействий О-антигенного полисахарида бактерии *Salmonella anatum* с трисахаридной повторяющейся единицей $\rightarrow 6$ -D-Man($\beta 1 \rightarrow 4$)-L-Rha($\alpha 1 \rightarrow 3$)-D-Gal($\alpha 1 \rightarrow$). Рассмотрены развернутые, складчатые и спиральные структуры полимера. Показано, что полисахарид образует компактные структуры с эффективными дисперсионными взаимодействиями в пределах соседних повторяющихся звеньев и с внутримолекулярными водородными связями на дисахаридных фрагментах. В низкоэнергетических конформациях представлены только конформеры *gg* и *gt* по углу вращения ω вокруг связи C5—C6 остатка маннозы. Остатки рамнозы в большей степени, чем остатки маннозы и галактозы, экранированы от внешней среды.

Настоящее сообщение посвящено исследованию пространственного строения О-специфического полисахарида внешней мембраны грамотрицательной бактерии *Salmonella anatum*. Характерной особенностью О-антигенных полисахаридов, соответствующих серотипу E, является наличие связанной в положении 6 β -D-маннозы [2, 3]. Полисахарид *Salmonella anatum* серотипа E1 состоит из трисахаридных повторяющихся звеньев следующего строения [2, 3]:



Такое же строение имеет основная цепь полисахарида серотипа E4 (*Salmonella senftenberg*). Анализ конформаций О-антигенного полисахарида *Salmonella typhimurium*, содержащего звенья \rightarrow Gal($\alpha 1 \rightarrow 2$)Man \rightarrow , проведен нами в предыдущем исследовании [1].

Модель мономерной единицы *S. anatum* и ее конформационные параметры — углы вращения вокруг гликозидных связей Φ (C—O) и Ψ (O—C) и угол вращения ω вокруг связи C5—C6 для остатка маннозы приведены на рис. 1. Конформаций регулярных структур этого полисахарида определены 7 углами вращения Φ_1 , Ψ_1 , Φ_2 , Ψ_2 , Φ_3 , Ψ_3 , ω . Отсчет значений углов Φ и Ψ дан в работе [1]. Угол ω принят за 0 при *цис*-ориентации связей O—C6 и C5—H5. Пространственные структуры моносахаридных остатков взяты из рентгенографических и нейтронографических исследований соответствующих аномеров моносахаридов [4—6]. Валентные углы при гликозидных атомах кислорода между остатками, соединенными по

* Сообщение I см. [1]. Принятые сокращения: Rha — рамноза.

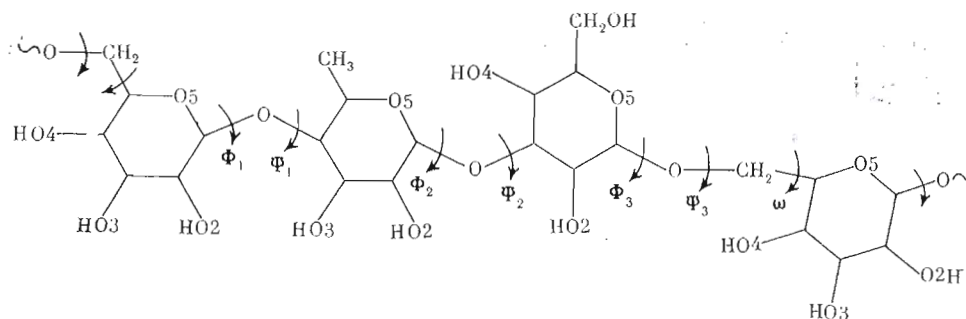


Рис. 1. Модель повторяющегося звена $\rightarrow 6$ -*D*-Man($\beta 1 \rightarrow 4$)-*L*-Rha($\alpha 1 \rightarrow 3$)-*D*-Gal($\alpha 1 \rightarrow$ полисахарида *S. anatum*

типам связывания $1 \rightarrow 4$ и $1 \rightarrow 3$, приняты равными 117° , по типу $1 \rightarrow 6 - 111,5^\circ$ [7]. При расчете потенциальной энергии конформеров учитывались невалентные и электростатические взаимодействия, водородные связи и торсионная энергия. Параметризация потенциальных функций описана в [1]. Отметим только, что для энергии оптимальной водородной связи $O \dots H-O$ в водной среде использовано значение 2 ккал/моль [1], для величины барьеров вращения вокруг связей $O6-C6$ и $C5-C6$ остатка маннозы — 2,7 ккал/моль [7].

Конформации дисахаридных звеньев D-Man($\beta 1 \rightarrow 4$)-L-Rha, L-Rha($\alpha 1 \rightarrow 3$)-D-Gal, D-Gal($\alpha 1 \rightarrow 6$)-D-Man. На первом этапе расчета рассматривались локальные (ближние) взаимодействия в пределах каждой пары моносахаридных остатков. Оптимальные углы вращения на дисахаридных звеньях в дальнейшем были использованы в качестве исходных приближений варьируемых параметров при минимизации потенциальной энергии конформаций полимера *S. anatum*. Значения таких углов вращения, найденные из конформационных карт, Φ , Ψ , приведены в табл. 1.

Характер потенциального сечения $\Phi-\Psi$ для *D-Man($\beta 1 \rightarrow 4$)-L-Rha* оказался аналогичным найденному ранее для дисахарида *D-Man($\alpha 1 \rightarrow 4$)-L-Rha*, приведенного на рис. 1 в сообщении [1]. На конформационных картах для Man-Rha выделяются две области допустимых значений углов Φ и Ψ , одна вблизи $\sim 0^\circ$, другая вблизи $\sim 180^\circ$. Для *D-Man($\beta 1 \rightarrow 4$)-L-Rha* наиболее предпочтительные конформеры этих областей близки по энергиям (табл. 1), в их стабилизации существенную роль играют внутримолекулярные водородные связи Man($O2 \dots O3$)Rha ($\Phi, \Psi -50, -10^\circ$) и Man($O5 \dots O3$)Rha ($\Phi, \Psi 30, 170^\circ$). Конформационная карта дисахарида Rha-Gal была приведена в предыдущей статье (рис. 1 [1]); на ней имеется только одна область допустимых значений углов Φ, Ψ , в пределах которой выделяются 4 локальных минимума (табл. 1). Предпочтительность конформера 1 обусловлена как невалентными взаимодействиями, так и образованием дополнительной водородной связи Rha($O5 \dots O4$)Gal.

Конформационные состояния дисахарида *D-Gal($\alpha 1 \rightarrow 6$)-D-Man*, характерного для полисахаридов рассматриваемого типа, определяются тремя углами вращения Φ, Ψ и ω . Однако вследствие того что барьер вращения вокруг алифатической связи $C5-C6$ маннозы достаточно высок (3 ккал/моль), для этого звена были построены три конформационные карты Φ, Ψ (при значениях угла $\omega 60, 180$ и -60°), каждая из которых соответствует одному из минимумов торсионного потенциала для связи $C5-C6$. Угол $\omega 60^\circ$ соответствует *транс*-ориентации связи $O-C6$ относительно связи $C5-O5$ кольца и *гош*-ориентации относительно связи $C5-C4$, т. е. конформеру *tg*. Углы $\omega 180$ и -60° отвечают *gg*- и *gt*-конформерам. На потенциальных сечениях имеется одна область допустимых значений углов Φ, Ψ , из которых следует, что угол Ψ является лабильным параметром: диапазон его возможных значений составляет 180° , что примерно в 2 раза больше.

**Энергетические и геометрические параметры дисахаридных звеньев
полисахарида *S. anatum***

<i>D-Man</i> ($\beta 1 \rightarrow 4$)- <i>L-Rha</i>				<i>D-Gal</i> ($\alpha 1 \rightarrow 6$)- <i>D-Man</i>						
Номера конформаций	Φ_1, Ψ_1 , град	U , ккал/моль	Водородные связи		Номера конформаций	Φ_2, Ψ_2 , град	U , ккал/моль	Водородные связи		
			Man	Rha				Gal	Man	
1	-50, -10	-4,4	O2...O3		1	$\omega = 60^\circ$				
2	30, 170	-4,0	O5...O3			2	20, -80	-3,0	O5...O4	
3	50, -10	-2,4				3	20, 140	-1,7	O2...O4	
						-60, -140	0			
<i>L-Rha</i> ($\alpha 1 \rightarrow 3$)- <i>D-Gal</i>				$\omega = 180^\circ$						
Номера конформаций	Φ_2, Ψ_2 , град	U , ккал/моль	Водородные связи		1	Φ_2, Ψ_2 , град	U , ккал/моль	Водородные связи		
			Rha	Gal				Rha	Gal	
1	40, -60	-5,1	O5...O4		1	40, 150	-3,5	O2...O5		
2	60, -20	-3,3			2	-60, -160	-2,7			
3	80, 50	-2,9	O5...O2		3	20, -100	0			
4	-40, -10	-2,4			1	0, 70	-3,1	O2...O5		
					2	-60, -160	-1,5			

Таблица 2

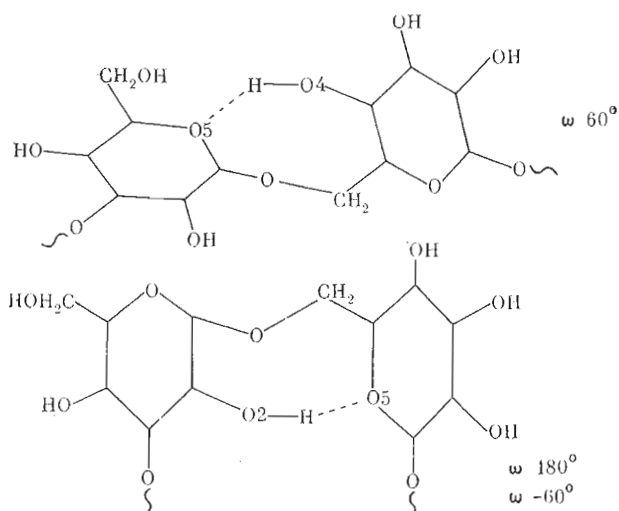
**Энергия взаимодействия (U_{1-3} , ккал/моль) между концевыми остатками
в трисахаридах *L-Rha*($\alpha 1 \rightarrow 3$)-*D-Gal*($\alpha 1 \rightarrow 6$)-*D-Man* и *D-Gal*($\alpha 1 \rightarrow 6$)-*D-Man*($\beta 1 \rightarrow 4$)-*L-Rha***

Идентификаторы углов вращения Gal-Man *	Rha-Gal-Man				Gal-Man-Rha		
	Конформеры Rha-Gal				Конформеры Man-Rha		
	1	2	3	4	1	2	3
$\omega = 60^\circ$							
1	-0,2	-0,2	-0,4	-0,2	-0,1	-0,2	-0,2
2	-0,5	-0,9	-2,0	-4,6	-0,1	-0,2	-0,2
3	-0,3	-0,4	-0,5	-0,6	-0,1	-0,5	-0,2
$\omega = 180^\circ$							
1	-1,8	-1,8	-2,0	-2,2	-0,4	-3,1	-1,0
2	-0,2	-0,6	-1,2	-0,6	-0,1	-0,3	-0,7
3	-0,2	-0,2	-0,2	-0,4	-0,2	-0,4	-2,5
$\omega = -60^\circ$							
1	-0,3	-0,5	-0,4	-1,3	-1,0	-3,1	-2,2
2	-0,3	-0,5	-0,4	-0,5	-0,5	-3,0	-2,8

* См. в табл. 1 номера конформеров.

чем на звеньях с типами связывания $1 \rightarrow 2$, $1 \rightarrow 3$ и $1 \rightarrow 4$. Вместе с тем число локальных минимумов на потенциальной поверхности Gal-Man невелико (табл. 1). Из данных табл. 1 следует, что глобальный минимум соответствует *gg*-конформеру, но вместе с тем в самых предпочтительных вариантах среди конформеров *tg*, *gg* и *gt* энергии приблизительно равны, т. е. по ближним взаимодействиям все три значения ω вероятны.

Таким образом, учет только локальных взаимодействий не может объяснить факт отсутствия *tg*-конформеров в наблюдаемых кристаллических структурах олигосахаридов с $1 \rightarrow 6$ -связью [7]. В трех низкоэнергетических конформациях имеются внутримолекулярные водородные связи: при $\omega 60^\circ$ это водородная связь Gal (O5...O4)Man, при $\omega 180^\circ$ или -60° —



Gal(O2...O5)Man (см. схему). Из схемы видно, что если звено Gal-Man находится в полисахаридной цепи и имеет конформацию, в которой угол ω равен 180 или -60° , то на этом звене цепь образует внутренний изгиб, так как фрагменты полисахарида с правой и левой сторон этого дисахарида оказываются сближенными. Напротив, значение угла, равное 60° , способствует растянутым структурам углеводов.

Конформации трисахаридных звеньев D-Man($\beta 1 \rightarrow 4$)-L-Rha($\alpha 1 \rightarrow 3$)-D-Gal, L-Rha($\alpha 1 \rightarrow 3$)-D-Gal($\alpha 1 \rightarrow 6$)-D-Man, D-Gal($\alpha 1 \rightarrow 6$)-D-Man($\beta 1 \rightarrow 4$)-L-Rha. Цель этого этапа расчета состояла в выяснении степени влияния дополнительных взаимодействий между концевыми остатками трисахаридных звеньев на детерминацию структур полисахарида *S. anatum*. На трисахариде Man-Rha-Gal такие взаимодействия не существенны, и энергии его конформеров являются аддитивными суммами данных табл. 1. Для трисахаридов Rha-Gal-Man эти взаимодействия уже играют важную роль в дополнительной стабилизации некоторых конформаций. Энергии U_{1-3} приведены в табл. 2, в которой для обозначения конформационных состояний дисахаридных звеньев использованы цифровые идентификаторы — номера конформеров табл. 1. Сближенность гликозидных атомов остатков маннозы и рамнозы в цепи Rha-Gal-Man, когда на звене Gal-Man представлено состояние 1 при угле $\omega 180^\circ$ (табл. 1), приводит к эффективным дисперсионным взаимодействиям этих остатков (-2 ккал/моль, независимо от величины углов на звене Rha-Gal). Таким образом, в полисахаридной цепи преимущественность самого оптимального по ближним взаимодействиям *gg*-конформера в звене Gal-Man становится еще больше по сравнению с вариантами 2 или 3 (табл. 1). Среди конформеров Rha-Gal-Man в одном случае ($42, \omega 60^\circ$) вклад U_{1-3} в общую энергию особенно велик ($-4,6$ ккал/моль), что сопряжено с образованием внутримолекулярной водородной связи Rha(O2...O3)Man. Вместе с тем самые выгодные конформеры *tg*($\omega 60^\circ$) проигрывают самым предпочтительным вариантам *gg*($\omega 180^\circ$) не менее $2,5$ ккал/моль. На трисахариде Gal-Man-Rha дисперсионные взаимодействия концевых остатков галактозы и рамнозы возможны только при значениях угла $\omega 180$ и -60° (табл. 2), вследствие чего вероятность конформаций с $\omega 60^\circ$ значительно уменьшается. Таким образом, дополнительные по сравнению с ближними взаимодействия в олигосахаридной цепи обуславливают детерминацию *gg*- и *gt*-состояний по углу ω , наблюдаемую в кристаллографических структурах олигосахаридов [7].

Анализ конформаций трисахаридов позволяет разделить их в зависимости от относительной ориентации виртуальных связей на две группы — шейпы *e* и *f* (см. [1]). В данном примере на всех звеньях возможны оба

Энергии мономерных трисахаридных звеньев $\rightarrow 6)$ -D-Man($\beta 1 \rightarrow 4$)-L-Rha($\alpha 1 \rightarrow 3$)-
D-Gal($\alpha 1 \rightarrow$ (ккал/моль) в конформациях полисахарида *S. anatum*

Идентификаторы углов вращения звена Man-Rha-Gal	Конформеры звена Gal-Man							
	1		2		3		4	
	1, $\omega 60^\circ$		2, $\omega 60^\circ$		3, $\omega 60^\circ$		1, $\omega 180^\circ$	
	Шейп	<i>U</i>	Шейп	<i>U</i>	Шейп	<i>U</i>	Шейп	<i>U</i>
11	<i>eee</i>	-12,6	<i>eee</i>	-10,6	<i>eee</i>	-10,0	<i>eff</i>	-22,0
12		-11,2		-9,5		-8,2		-18,1
13		-10,5		-9,1		-7,8		-17,1
14		-9,4		-10,8		-7,5		-16,5
31	<i>eee</i>	-10,5	<i>eee</i>	-9,1	<i>eee</i>	-8,1	<i>eff</i>	-18,6
32		-8,9		-8,1		-6,4		∞
33		-8,1		-7,2		-5,8		∞
34		-8,5		-9,8		-5,8		∞
21	<i>fef</i>	-13,5	<i>fef</i>	-12,0	<i>fef</i>	-12,0	<i>fff</i>	-20,6
22		∞		-10,5		-10,6		-19,6
23		-10,9		-11,5		∞		∞
24		∞		-12,0		∞		∞

Идентификаторы углов вращения звена Man-Rha-Gal	Конформеры звена Gal-Man							
	5		6		7		8	
	2, $\omega 180^\circ$		3, $\omega 180^\circ$		1, $\omega -60^\circ$		2, $\omega -60^\circ$	
	Шейп	<i>U</i>	Шейп	<i>U</i>	Шейп	<i>U</i>	Шейп	<i>U</i>
11	<i>eff</i>	-12,8	<i>eee</i>	-10,2	<i>eff</i>	-20,0	<i>eff</i>	-12,2
12		-10,9		-7,9		-11,2		-14,9
13		-11,4		-7,4		-21,7		∞
14		-9,7		-7,1		-14,1		-9,5
31	<i>eff</i>	-11,3	<i>cef</i>	-11,3	<i>eff</i>	-20,1	<i>eff</i>	∞
32		-9,9		-12,0		∞		∞
33		-18,5		∞		∞		∞
34		-9,1		-5,8		∞		∞
21	<i>fje</i>	-13,5	<i>fef</i>	-10,7	<i>fff</i>	∞	<i>fff</i>	∞
22		-12,0		-9,0		∞		-20,0
23		-11,9		-8,7		∞		∞
24		-10,0		-7,1		∞		∞

Таблица 4:

Углы вращения (град) и параметры спиралей в некоторых развернутых конформациях полисахарида *S. anatum*

Идентификаторы углов	<i>U</i> , ккал/моль	Φ_1	Ψ_1	Φ_2	Ψ_2	Φ_3	Ψ_3	ω	<i>n</i> *	<i>h</i> , Å **
111, $\omega 60^\circ$	-12,6	-48,2	-10,0	39,5	-60,4	18,7	-76,3	63,5	-2,6	14,1
121	-11,2	-48,0	-10,7	59,3	-10,7	19,0	-76,7	63,4	-2,0	13,4
131	-10,5	-48,1	-10,7	79,7	51,5	19,4	-76,7	63,4	-2,6	10,8
113	-10,2	-47,8	-7,9	39,1	-60,5	-59,4	-143,1	63,3	-11,9	12,3

* *n* — число остатков в витке (знак «минус» относится к левым спиральям).

** *h* — трансляция мономерного звена вдоль оси спирали.

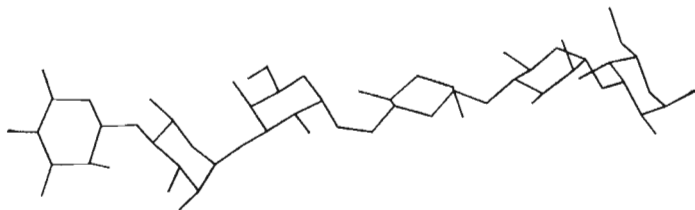


Рис. 2. Молекулярная модель развернутой конформации полисахарида *S. anatum* (111, ω 60°, табл. 4)

шейпа. Шейп *f* на звене Man-Rha-Gal имеет место только при равенстве угла $\Psi_1 \sim 180^\circ$.

Конформации полисахарида *Salmonella anatum*. Очевидно, что в регулярных структурах данного полимера с повторяющимся звеном $\rightarrow 6$ -D-Man ($\beta 1 \rightarrow 4$)-L-Rha ($\alpha 1 \rightarrow 3$)-D-Gal ($\alpha 1 \rightarrow$ может быть представлено 8 типов шейпов: *eee*, *ef*, *efe*, *fee*, *eff*, *fef*, *ffe*, *fff* (см. [1]). Шейпу *eee* соответствуют развернутые конформации, в которых остатки вдоль цепи максимально удалены друг от друга. Шейп *fff* образует спиральные структуры, где могут быть существенны взаимодействия между витками. Промежуточным шейпам *eff*, *fef* и *ffe* соответствуют складчатые структуры цепей. Рассмотрим низкоэнергетические конформации в пределах каждого шейпа (табл. 3).

Шейп *eee*. Углы вращения и параметры спиралей, рассчитанные по алгоритму [8], в некоторых развернутых конформациях приведены в табл. 4. В таких структурах число повторяющихся звеньев на виток составляет 2–3, а трансляции вдоль оси спирали достигают максимального значения по сравнению со структурами других шейпов (13–14 Å). В самой низкоэнергетической конформации (111, $\omega 60^\circ$; рис. 2) на каждом дисахаридном звене представлены внутримолекулярные водородные связи (Man(O2...O3)Rha, Rha(O5...O4)Gal, Gal(O5...O4)Man), т. е. она является оптимальной по ближним взаимодействиям. Взаимодействия между остатками, разделенными вдоль цепи одним или более остатками, близки к нулю. Конформации шейпа *eee* существенно проигрывают по внутримолекулярным энергиям, приходящимся на одно повторяющееся звено, конформациям других шейпов (табл. 3). Это обстоятельство, а также тот факт, что конформер *tg* по углу ω (60°), который способствует растянутым формам цепи, в кристаллических структурах олигосахаридов с типом связывания 1 \rightarrow 6 не обнаружен [7], позволяет предположить, что развернутые конформации для полисахарида *S. anatum* маловероятны.

Шейп *eff*. В структурах этого шейпа на звеньях Man-Rha угол ω близок к 0°, а угол ω на звеньях Gal-Man равен 180 или -60° . В данном случае в низкоэнергетических конформациях величины энергий, приходящиеся на одно повторяющееся звено в полимерной цепи, существенно ниже (на $-5 \div -10$ ккал/моль), чем в структурах шейпа *eee* (ср. данные столбцов 1, 3 и 4, 5, 7 табл. 3). Такое понижение энергии обусловлено тем, что *gg*- и *gt*-конформеры по углу ω на фрагменте Gal-Man образуют изгиб углеродной цепи, в результате чего сближенными оказываются остатки соседних мономеров, которые могут взаимодействовать между собой.

Дисперсионные взаимодействия в пределах двух повторяющихся трисахаридов Man-Rha-Gal особенно эффективны при следующих углах вращения на звене Gal-Man: $\Phi_3 40^\circ$, $\Psi_3 150^\circ$, $\omega 180^\circ$ (вариант 1, $\omega = 180^\circ$, табл. 1). В этом случае гликозидный атом кислорода остатка маннозы и атом O3 у галактозы сближены до расстояния ~ 3 Å, поэтому остатки с обоих концов дисахарида Gal-Man могут располагаться на расстояниях ван-дер-ваальсовых контактов. При нумерации моносахаридов с псевдонавливающегося конца (Man¹-Rha²-Gal³-Man⁴-Rha⁵-Gal⁶-Man⁷-...) энергии

взаимодействия остатков 1 и 6, 2 и 5, 2 и 6 (U_{1-6} , U_{2-5} , U_{2-6}) в вариантах 111, 121, 131, 141, 311 при $\omega 180^\circ$ составляют $-2 \div -3$ ккал/моль (табл. 5). В вариантах 324, 334, 341 при $\omega 180^\circ$ указанные остатки оказываются столь близкими, что между ними возникают невалентные отталкивающие, поэтому они нереальны.

Глобальная конформация шейпа *eff* (111, $\omega 180^\circ$, $U - 22,0$ ккал/моль) представляет собой складчатую структуру (рис. 3). Она оптимальна как по средним, так и по ближним взаимодействиям: на каждом дисахаридном звене представлен самый предпочтительный конформер и имеет место образование внутримолекулярных водородных связей Man(O2...O3)Rha, Rha(O5...O4)Gal, Gal(O2...O5)Man. Таким образом, в данном случае мы имеем пример согласованности ближних и средних взаимодействий в полисахаридной цепи. Компактность рассматриваемой конформации отражена и в величине трансляции вдоль оси спирали 4,7 Å (табл. 5) (ср. с h 14 Å в развернутой структуре 111, $\omega 60^\circ$). Другое ее характерное отличие состоит в том, что более гидрофобные остатки рамнозы в большей степени по сравнению с маннозой и галактозой участвуют во внутримолекулярных контактах, прежде всего между собой. Конформации 121, 131, 311 ($\omega 180^\circ$), приблизительно изоэнергетичные, имеют пространственную организацию, подобную глобальной конформации, но проигрывают ей как по ближним (на одном из звеньев отсутствуют водородные связи), так и по средним взаимодействиям.

В конформации дисахарида Gal-Man, определяемой углами $\omega 180^\circ$, $\Phi_3 - 60^\circ$, $\Psi_3 - 160^\circ$ (вариант 2, $\omega 180^\circ$, табл. 1), расстояние между концевыми атомами кислотных остатков O1 остатка маннозы и O3 остатка галактозы больше (6,5 Å), вследствие чего структуры полисахарида с такой конформацией дисахарида менее компактны. В этом случае энергетические составляющие U_{1-4} , U_{2-5} и U_{2-6} близки к нулю, а полные энергии приблизительно такие же, как в развернутых структурах (см. табл. 3). (В одной из таких структур — 112, $\omega 180^\circ$ — углы $\Phi_1 \dots \omega$ следующие: $-48,3$, $-9,0$; $39,2$; $-59,5$; $-60,6$; $-159,4$; $179,4^\circ$.) Эти структуры, как и развернутые, не исключены в условиях, при которых возможна межмолекулярная упаковка. Вместе с тем при данной конформации звена Gal-Man в совокупности углов вращения 332, $\omega 180^\circ$ образуется структура с наличием средних взаимодействий. В этом случае значительны (по абсолютной величине) энергии U_{2-7} и U_{3-7} (табл. 5). Остатки Gal³ и Man⁷ образуют водородную связь Gal(O2...O2)Man. Однако отсутствие водородных связей на дисахаридах Man-Rha и Gal-Man обуславливают более высокую энергию этой структуры ($U - 18,5$ ккал/моль) по сравнению с глобальной. Конформации полисахарида с углами вращения Φ_3 , Ψ_3 , ω , равными 20, -100 и 180° (вариант 3, $\omega 180^\circ$, табл. 1), малореальны (табл. 3) вследствие отсутствия дополнительных средних взаимодействий, которые могли бы скомпенсировать относительную энергетическую напряженность в пределах дисахарида Gal-Man (3 ккал/моль).

Пространственная организация полисахаридной цепи *S. anatum* для *gt*-конформеров по углу $\omega - 60^\circ$ аналогична конформации, когда углы ω равны 180° (*gg*). В этом случае изгибы углеводной цепи на звеньях Gal-Man также обуславливают такое сближение соседних повторяющихся единиц, при котором многие атомы остатков располагаются на расстояниях ван-дер-ваальсовых контактов. В трех низкоэнергетических вариантах с углом $\omega - 60^\circ$ (111, 131 и 311 — столбец 7 табл. 3) наиболее существенными оказываются дисперсионные взаимодействия между остатками рамнозы; энергетические вклады U_{2-5} равны $-2,5 \div -3$ ккал/моль (табл. 5). Из трех названных вариантов полная энергия ниже в спиральной конформации 131, $\omega - 60^\circ$ ($U - 21,7$ ккал/моль, табл. 3), которая является второй после глобальной в ряду стабильных конформеров *S. anatum*. В ней также значительна стабилизация, обусловленная взаимодействиями остатка маннозы одного повторяющегося звена с галактозой следующего (U_{1-6}

Энергетические составляющие, приходящиеся на мономерное звено Glu-Gal-Man в конформациях шейлов *eff* и *fff* с эффективными средними взаимодействиями, а также углы вращения (φ) и параметры спиралей

Идентификаторы углов	U * ккал/моль	Энергии взаимодействия остатков								φ_1	φ_2	φ_3	Ψ_3	ω	n	$h, \text{ \AA}$		
		(1) \uparrow (5)	(1) \uparrow (6)	(8) \uparrow (1)	(8) \uparrow (1)	(1) \uparrow (9)	(5) \uparrow (2)	(6) \uparrow (2)	(7) \uparrow (7)									
		(3) \uparrow (7)	(8) \uparrow (3)	(6) \uparrow (3)														
Шейл <i>eff</i>																		
111, ω 180°	-22,0	-2,1																
121	-18,1																	
131	-17,2	-0,5																
141	-16,5	-1,4																
311	-18,6																	
332	-18,5																	
111, ω -60°	-20,0	-0,7																
131	-21,7	-3,6																
311	-20,3																	
Шейл <i>fff</i>																		
211, ω -180°	-20,6		-1,9	-0,9														
211	-19,6																	
222, ω -60°	-20,0																	

* Указаны энергии ниже -0,5 ккал/моль.

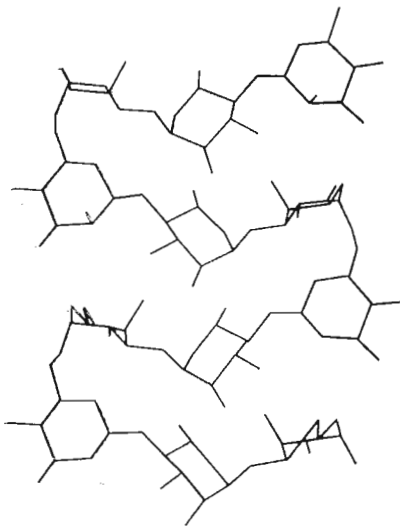


Рис. 3. Модель глобальной складчатой конформации *S. anatum* (111, ω 180°)

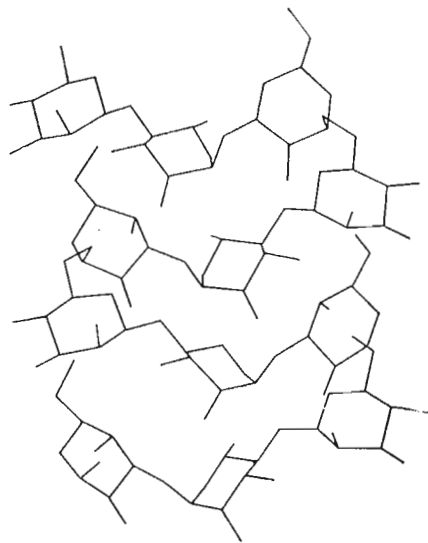


Рис. 4. Модель спиральной конформации 131, ω -60°

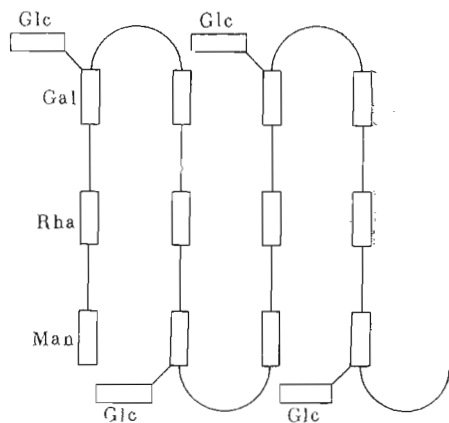
-3,6 ккал/моль, табл. 5). Молекулярная модель структуры 131, ω -60° показана на рис. 4. Ход углеводной цепи в этой спирали более сложен, так как изгибы располагаются в разных плоскостях.

Другие конформации, в которых угол ω равен -60°, существенно менее стабильны. В структуре 141, ω -60° (U -14,1 ккал/моль, табл. 3, столбец 7) имеются дополнительные взаимодействия между удаленными остатками (например, U_{2-5} -2,5 ккал/моль), однако они приводят к дестабилизации состояний дисахаридных звеньев. Например, у дисахарида Gal-Man в этом случае отсутствует водородная связь, в результате чего такая структура не может конкурировать с упомянутыми ранее. Подобные соображения можно высказать и о конформации 122, ω -60° (U -14,9 ккал/моль, табл. 3). В вариантах 321, 331, 341, ω -60°, как и в 312, 322, 332 и 342, ω -60°, остатки сближены на расстояния меньше допустимых, вследствие чего эти варианты нереальны.

В целом самые выгодные структуры шейпа *eff*, оптимальные как по ближним, так и по средним внутримолекулярным взаимодействиям, являются в высокой степени вероятными пространственными формами полисахаридной цепи *Salmonella anatum* в условиях водного окружения.

Выявленные складчатые структуры также должны быть в числе самых предпочтительных, очевидно, и для O-антигенного полисахарида *S. senftenberg* (серотипа E4), который в идентичной с *S. anatum* основной цепи имеет разветвления в виде остатков α -D-глюкозы у остатков галактозы (тип связывания 1→6) [2, 3]. Из анализа молекулярных моделей следует, что в этом случае боковые остатки глюкозы способны располагаться таким образом, что на каждом изгибе образуется система из семи моносахаридов (см. схему) с эффективными внутримолекулярными взаимодействиями (ср. с аналогичной ситуацией в полисахариде *S. typhimurium*).

Шейн fff. Шейп *f* на первом трисахаридном фрагменте Man-Rha-Gal может быть только при условии, что на звене Man-Rha угол Ψ , близок к 180°, т. е. дисахарид находится в конформации 3 (табл. 1). Три последовательных изгиба углеводной цепи образуют спиральные структуры. Только при 3 наборах углов вращения могут образовываться стабильные



спирали (столбцы 4, 7, 8, табл. 3); во всех остальных случаях имеют место невалентные отталкивания остатков соседних мономеров и витков.

Основной вклад в стабилизацию реальных конформаций $fff - 211$, $\omega 180^\circ$, 221 , $\omega 180$ и 222 , $\omega -60^\circ$ (табл. 5) вносят взаимодействия

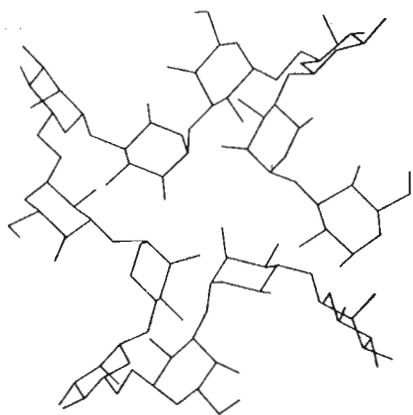


Рис. 5. Модель спиральной конформации 222 , $\omega -60^\circ$

остатков рамнозы в каждом тетрасахаридном фрагменте Rha-Gal-Man-Rha. Так, в последних двух вариантах соответствующие энергии U_{2-5} равны -4 и -6 ккал/моль (табл. 5). Понижение энергии U_{2-5} до -6 ккал/моль обусловлено образованием водородной связи между соседними остатками рамнозы: Rha(O6...O2)Rha. В спиральных 221 , $\omega 180^\circ$ и 222 , $\omega -60^\circ$ содержится ~ 4 повторяющихся звеньев на виток и одна из проекций имеет крестообразную форму (рис. 5). Таким образом, наличие структуры с плотной внутримолекулярной упаковкой остатков рамнозы, с внешней стороны которых находятся более полярные остатки галактозы и маннозы. В определенной степени в *O*-специфической полисахаридной цепи *S. anatum* представлено гидрофобное

ядро. Несмотря на относительную стабильность найденных спиралей fff , которые по внутримолекулярным энергиям незначительно проигрывают самым выгодным складчатым конформациям (см. табл. 5), подчеркнем гипотетический характер таких структур, так как значения углов Ψ (O1—C4), близкие к 180° , в исследованных кристаллографических структурах олигосахаридов не обнаружены [9].

Шейны ffe и fef . В конформациях этих шейпов (табл. 3) средние взаимодействия отсутствуют, поэтому можно выделить ряд растянутых складчатых структур, оптимальных только по ближайшим взаимодействиям, в которых полная энергия равна $-12 \div -13$ ккал/моль. В конформации типа $fef 212$, $\omega 60^\circ$ в каждом дисахариде есть водородная связь (Man(O5...O3)Rha, Rha(O5...O4)Gal, Gal(O2...O4)Man, и соседние повторяющиеся трисахаридные звенья располагаются относительно друг друга приблизительно в перпендикулярных плоскостях (рис. 6). Значения углов вращения ($30,3$; $168,8$; $39,3$; $-59,5$; $15,7$; $144,3$; $56,3^\circ$) и параметров спирали (величина трансляции вдоль оси спирали $9,6$ Å) указывают на то, что она является промежуточной между развернутыми и складчатыми конформациями. Подобным образом организованы и другие низкоэнергетические структуры этих шейпов, например 212 , $\omega 180^\circ$ (ffe) или 211 .

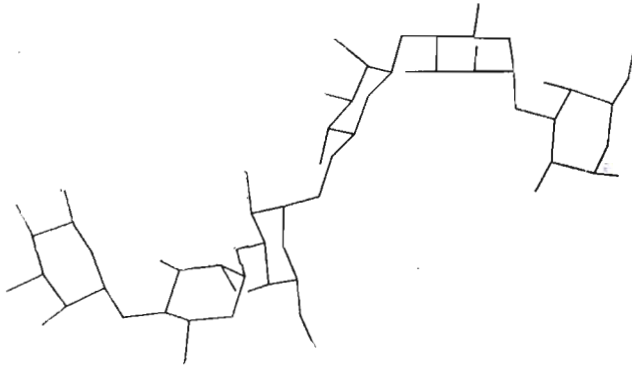


Рис. 6. Модель конформации 212, ω 60°

ω 60° (*fef*), в которых величина трансляции вдоль оси спирали также составляет ~ 9 Å.

Таким образом, теоретический конформационный анализ О-специфического полисахарида грамотрицательной бактерии *S. anatum*, в котором имеется тип связывания 1→6 моносахаридных остатков, приводит к заключению, что его самые низкоэнергетические конформации представляют собой складчатые или спиральные структуры и что в их стабилизации важную роль играют дисперсионные взаимодействия между соседними повторяющимися трисахаридными единицами Man-Rha-Gal. Такие конформации образуются только в случае *gg*- или *gt*-конформеров по углу вращения вокруг связи C5—C6 остатка маннозы, при которых могут иметь место изгибы углеводной цепи. Глобальная складчатая конформация, несмотря на наличие средних взаимодействий, оптимальна также по ближним взаимодействиям и имеет водородные связи на дисахаридных звеньях. Такая насыщенность полисахаридной цепи О-антигена *S. anatum* внутримолекулярными взаимодействиями, ее предрасположенность к межмолекулярным контактам с идентичными структурами, а также возможность ее взаимодействий с другими компонентами поверхности клетки, с которой она связана, может обуславливать стабильность вторичной структуры такого регулярного полисахарида в условиях водного окружения. Не исключено, что первичная последовательность О-специфического полисахарида *S. anatum* такова, что он способен к самоорганизации в конкретных условиях на поверхности бактериальной клетки.

Анализ пространственного строения О-специфических клеточных полисахаридов дает определенные основания для понимания молекулярных структурных основ иммуносpezifичности О-антигенов, определяемых рядом О-факторов. Для микроорганизмов группы E показано, что β-D-манноза является иммунодоминантным сахаром фактора 3, а β-D-галактоза — фактора 15 [10]. Однако то обстоятельство, что кросс-реакции между О-антигенами групп E₁ и E₂, в которых присутствует α-аномер галактозы, сильнее, чем между E₁ и E₂ (в E₂ присутствует β-связанная галактоза), что приводит к заключению, что весь детерминантный фактор простирается на область, включающую как маннозу, так и галактозу. Предложенная нами складчатая конформация *S. anatum* вполне удовлетворительна для объяснения характера О-фактора 15, так как в ней на изгибах углеводной цепи присутствуют как раз остатки галактозы и маннозы.

Более тщательное исследование Штауб [11] показало, что анти-3-антигена могут состоять по крайней мере из двух различных популяций, на основании чего ею было предположено, что эти популяции (анти-3а и анти-3) ориентируются с разных сторон иммунодоминантного остатка маннозы. По нашему мнению, этот факт естественнее связать с существованием энергетически близких разных устойчивых конформаций у полисахарида *S. anatum*, способных самостоятельно индуцировать антитела.

ЛИТЕРАТУРА

1. Липкин Г. М., Кочетков Н. К. (1980) Биоорг. химия, 6, 1817–1829.
2. Fukuda M., Egami F., Hämmerling G., Lüderitz O., Bagdian G., Staub A.-M. (1971) Eur. J. Biochem., 20, 438–441.
3. Lindberg B., Svensson S. (1973) MTP Intern. Rev. Sci. Org. Chem., ser. I, vol. 7, Carbohydrates, pp. 319–344.
4. Killean R. C. G., Lawrence J. L., Sharma V. C. (1971) Acta Cryst., B27, 1707–1710.
5. Sheldrick B. (1976) Acta Cryst., B32, 1016–1020.
6. Jeffrey G. A., McMillan R. K., Takagi Sh. (1977) Acta Cryst., B33, 728–737.
7. Tvaroska I., Perez S., Marchessault R. H. (1978) Carbohydr. Res., 61, 97–106.
8. Shimanouchi T., Mizushima S. (1955) J. Chem. Phys., 23, 707–711.
9. Perez S., Marchessault R. H. (1978) Carbohydr. Res., 65, 114–120.
10. Jann K., Westphal O. (1975) The Antigens, vol. III, pp. 1–125. Acad. Press, New York, San Francisco, London.
11. Lüderitz O., Westphal O., Staub A. M., Nikaido H. (1971) Microbial Toxins (Weinbaum G., Kadis S., Ajl S. J., eds), vol. IV, pp. 145–233, Acad. Press, N. Y.

Поступила в редакцию
17.XII.1979

После доработки
6.II.1980

THEORETICAL CONFORMATIONAL ANALYSIS OF SPECIFIC O-ANTIGENIC POLYSACCHARIDES. II. O-ANTIGENIC POLYSACCHARIDE *SALMONELLA ANATUM*

LIPKIND G. M., KOCHETKOV N. K.

*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy of
Scienc.s of the USSR, Moscow*

Theoretical conformational analysis has been carried out of *Salmonella anatum*. O-specific polysaccharide having a trisaccharide repeating unit $\rightarrow 6)$ -D-Man($\beta 1 \rightarrow 4$)-L-Rha($\alpha 1 \rightarrow 3$)-D-Gal($\alpha 1 \rightarrow$). It is shown that polysaccharide may form compact folded and helical structures characterized by nonbonded interactions between repeating units and intramolecular hydrogen bonds within disaccharide fragments. Among low-energy conformations only *gg* and *gt* conformers about rotation angle ω of mannose C5–C6 bond are present. The rhamnose residues are screened from external media to a higher degree than those of mannose and galactose.