



УДК 547.458.02:541.63

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ  
СПЕЦИФИЧЕСКИХ О-АНТИГЕННЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ.III. О-АНТИГЕННЫЙ ПОЛИСАХАРИД *SALMONELLA NEWINGTON*

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 *Salmonella newington* с повторяющимся звеном  $\rightarrow 6$ -D-Man ( $\beta 1 \rightarrow 4$ )-L-Rha ( $\alpha 1 \rightarrow 3$ )-D-Gal ( $\beta 1 \rightarrow$ ). Показано, что полимер может образовывать как развернутые, так и складчатые конформации за счет эффективных дисперсионных взаимодействий остатков вдоль цепи. Показана предпочтительность *gg*- и *gt*-конформеров вокруг связи C5—C6 остатка маннозы. Обсуждаются возможные конформации детерминантных олигосахаридов О-факторов 3 и 15 *Salmonella newington*.

Настоящее сообщение посвящено исследованию пространственного строения О-специфического полисахарида внешней мембраны граммотрицательной бактерии *Salmonella newington*. Ранее нами было рассмотрено пространственное строение полисахаридов бактерий *Salmonella typhimurium* и *Salmonella anatum* [1, 2]. Полисахарид *S. newington* входит в серологическую группу E *Salmonella* и отнесен к серотипу E2 [3, 4]. Он состоит из трисахаридных повторяющихся звеньев следующего строения [5]:



Эта структура отличается от структуры *S. anatum*, соответствующей серотипу E1, наличием остатков  $\beta$ -D-Gal вместо  $\alpha$ -D-Gal. Теоретический конформационный анализ О-антигенов одной и той же серологической группы позволяет провести сравнительное изучение конформационных состояний полисахаридов разных серотипов, в данном случае E1 и E2 *Salmonella*. Конформации регулярных структур исследуемого полисахарида определяются 7 углами вращения вокруг гликозидных связей и связи C5—C6 остатка галактозы —  $\varphi$  (C1—O),  $\psi$  (O—C) и  $\omega$  (C5—C6) (см. рис. 1 [2]). Методика расчета, параметризация энергетических функций и геометрических параметров, а также отсчет углов вращения указаны в работах [1, 2]. При минимизации потенциальной энергии различных конформаций полисахарида в качестве нулевых приближений для углов  $\varphi$ ,  $\psi$ ...  $\omega$  принимались значения углов вращения в локальных минимумах каждого дисахаридного звена.

Конформации ди- и трисахаридных звеньев *Salmonella newington*. Оптимальные конформеры для каждого дисахаридного звена, найденные из потенциальных сечений  $\varphi$ (C—O)— $\psi$ (O—C) (см. рис. 2 в [1]), пред-

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

<i>D</i> -Man( $\beta 1 \rightarrow 4$ )- <i>L</i> -Rha				<i>D</i> -Gal( $\beta 1 \rightarrow 6$ )- <i>D</i> -Man			
Номера конформаций	$\varphi, \psi$ , град	$U$ , ккал/моль	Водородные связи Man Rha	Номера конформаций	$\varphi_3, \psi_3$ , град	$U$ , ккал/моль	Водородные связи Gal Man
1	-50, -10	-4,4	O2...O3		$\omega$ 60°		
2	30, 170	-4,0	O5...O3	1	60, -80	-2,7	O2...O4
3	50, 10	-2,3		2	60, 180	-0,9	
<i>L</i> -Rha( $\alpha 1 \rightarrow 3$ )- <i>D</i> -Gal							
Номера конформаций	$\varphi_2, \psi_2$ , град	$U$ , ккал/моль	Водородные связи Rha Gal				
				1	$\omega$ 180°		
				1	20, -90	-3,1	O2...O5
				2	5, 85	-2,5	
				3	-30, -150	-1,0	
					$\omega$ -60°		
1	30, -65	-3,7	O5...O4	1	20, -90	-2,8	O2...O5
2	70, 50	-3,5	O5...O2	2	30, 70	-2,3	
3	50, -20	-2,3		3	60, 180	-0,9	
4	-45, -15	-1,6					

ставлены в табл. 1. На конформационной карте дисахарида Man-Rha выделяются две области допустимых значений углов  $\varphi, \psi$ : одна вблизи  $\psi \sim 0^\circ$ , другая при  $\psi \sim 180^\circ$ . В стабилизации предпочтительных конформеров важную роль играют внутримолекулярные водородные связи Man(O2...O3)Rha ( $\varphi, \psi$  -50, -10°) и Man(O5...O3)Rha ( $\varphi, \psi$  30, 170°). На звене Rha-Gal в образовании водородной связи могут участвовать циклический атом O5 остатка рамнозы и гидроксилы при C4 или C2 остатка галактозы. Потенциальная поверхность дисахарида *D*-Gal( $\beta 1 \rightarrow 6$ )-*D*-Man приведена на рис. 1. Каждое сечение соответствует одному из минимумов торсионного потенциала для связи C5-C6 остатка маннозы, т. е. значениям угла  $\omega$  60° (*tg*), 180° (*gg*) и -60° (*gt*). В самых предпочтительных вариантах у *gg*-, *gt*- и *tg*-конформеров может образовываться водородная связь, вследствие чего они почти изоэнергетичны (табл. 1). Отметим, что в низкоэнергетических конформациях дисахаридов Gal-Man и Rha-Gal (конформеры 1, 2, табл. 1) агликон находится в *gou*-ориентации по отношению к связи C1-O5, т. е. в положении, оптимальном по экзоаномерному эффекту [6]. В случае Man-Rha невалентные взаимодействия минимальны при *транс*-ориентации агликона (конформер 1, табл. 1). Однако конформеры 2 и 3 также удовлетворительны по этому критерию.

Пространственная структура полисахаридной цепи определяется конформационными типами составляющих ее трисахаридных звеньев — свернутыми или развернутыми шейпами *f* или *e* (см. работу [1]). В первом случае векторы, соединяющие гликозидные атомы цепи, имеют *цис*-, во втором — *транс*-ориентацию. На звене Man-Rha-Gal шейп *f* представлен только при равенстве угла  $\psi_1 \sim 180^\circ$ . Почти все конформации звена Rha-Gal-Man относятся к шейпу *e*. Звено Gal-Man-Rha является наиболее структурно переменным фрагментом полисахарида *S. newington*. В случае *tg*-конформеров звена Gal-Man этот трисахарид образует развернутые конформеры типа *e*, а в случае более предпочтительных *gg*- и *gt*-конформеров (конформеры 1 и 2, табл. 1) — свернутые формы *f*. В стабилизации последних существенную роль играют дисперсионные взаимодействия между концевыми остатками галактозы и рамнозы; их величина в основном определяется состоянием звена Gal-Man. При углах  $\varphi_3 \approx 20^\circ$ ,  $\psi_3 \approx 80^\circ$  и  $\omega$  180 или 60° (конформеры 2, табл. 1) энергия дисперсионного взаимодействия равна -2÷-3 ккал/моль. Особенность таких свернутых конформаций состоит в том, что гидроксилы расположены главным обра-

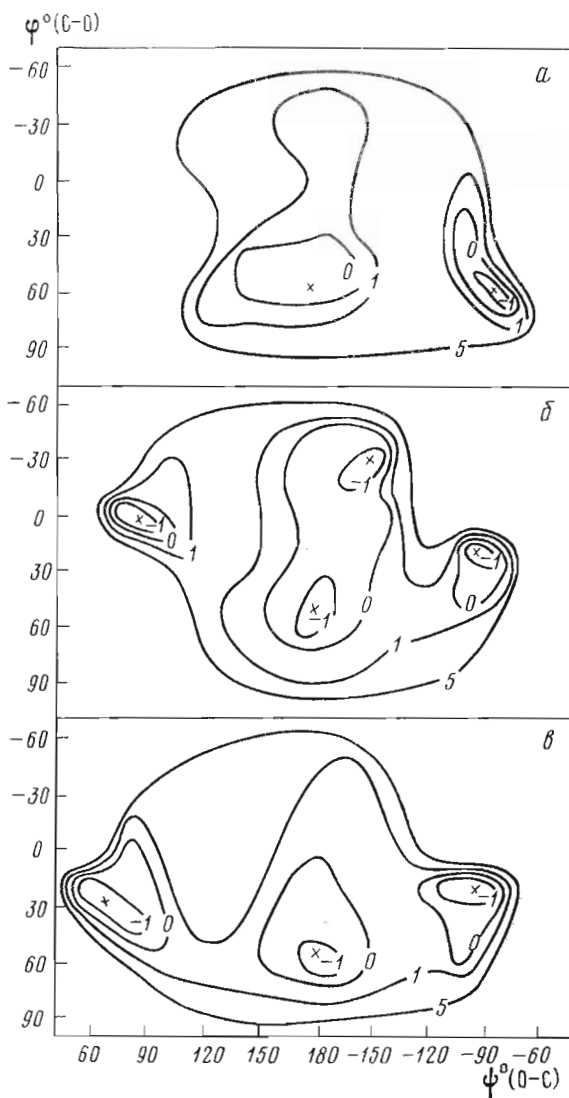


Рис. 1. Конформационные карты  $\varphi$ - $\psi$  дисахарида  $D\text{-Gal}(\beta 1 \rightarrow 6)D\text{-Man}$ ;  $\omega$   $60^\circ$  (а),  $180^\circ$  (б) и  $-60^\circ$  (в)

зом во внешней области молекулы, а менее полярные группы — внутри. Когда звено Gal-Man находится в конформации 1 ( $\omega -60^\circ$ , табл. 1), гидроксилы O2—H концевых остатков образуют водородную связь Gal(O2...O2)Rha, вследствие чего энергия взаимодействий этих остатков понижается до  $-5$  ккал/моль. Таким образом, потенция гидроксильных групп к взаимодействию со средой (например, с водой) компенсируется образованием внутримолекулярной водородной связи.

**Конформации полисахарида *S. newington*.** Суммарные энергии взаимодействий одного мономерного трисахаридного звена Man-Rha-Gal в конформациях полимерной цепи *S. newington*, полученные путем минимизации потенциальной энергии, приведены в табл. 2. Все конформации рассматриваемого полисахарида группируются в пределах 4 шейпов: *eee*, *eej*, *eff* и *fef*. Шейп *fff* оказался нереальным, так как в соответствующих конформациях величина трансляции вдоль оси спирали близка к нулю. В шейп *fef* входят все структуры, в которых угол  $\psi$  на звене Man-Rha

составляет  $\sim 180^\circ$ . Так как эффекты межмолекулярных взаимодействий и эффекты среды могут в значительной степени определять реализацию структур того или иного типа, рассмотрим низкоэнергетические конформации в пределах каждого шейпа.

*Шейп eee.* Развернутые конформации шейпа *eee* характеризуются наличием только ближних дисахаридных взаимодействий в полимерной цепи и максимальными значениями величины трансляций вдоль оси спирали,  $h \sim 11-14 \text{ \AA}$  (табл. 3). В таких конформациях на звеньях Gal-Man, как правило, представлены *tg*-конформеры. Углы вращения и параметры спиралей в низкоэнергетических структурах данного типа приведены в табл. 3. В самой низкоэнергетической конформации ( $111, \omega 60^\circ$ , рис. 2) на каждом дисахаридном звене имеются водородные связи (Man(O2... O3)Rha, Rha(O5... O4)Gal, Gal(O5... O4)Man), т. е. она является оптимальной по ближним взаимодействиям. Конформация 321 ( $\omega 60^\circ$ , табл. 2), в которой все значения углов соответствуют *gou*-ориентации агликонов относительно циклических атомов кислорода, в данной расчетной схеме несколько проигрывает конформации 111,  $\omega 60^\circ$  ( $\sim 1 \text{ ккал/моль}$ ), так как указанная водородная связь на звене Man-Rha невозможна. Длина трансляции вдоль оси спирали максимальна в варианте 112,  $\omega 60^\circ$ . В такой структуре все углеводные остатки располагаются практически вдоль одной линии. Отметим, что и в случае *gg*- и *gt*-конформеров для звеньев Gal-Man могут существовать низкоэнергетические конформации со значительными величинами трансляций (см. табл. 2 и 3).

*Шейп eef.* Структуры этого шейпа характеризуются присутствием конформаций типа *j* на звеньях Gal-Man-Rha и дополнительной энергетической стабилизацией, обусловленной дисперсионными взаимодействиями остатков галактозы и рамнозы. Поэтому в низкоэнергетических вариантах этого шейпа энергия на 2–2,5 ккал/моль ниже, чем в структурах *eee* (табл. 2 и 3). В большинстве спиралей имеется 2–3 мономерных единицы в витке, а трансляция вдоль оси находится в диапазоне 3–9  $\text{\AA}$  (табл. 3), т. е. это более или менее вытянутые зигзагообразные структуры. Некоторые комбинации углов вращения дают замкнутые формы с величиной  $h \sim 0 \text{ \AA}$  (например, структуры 112,  $\omega -60^\circ$  и 114,  $\omega 180^\circ$  (табл. 2)), вследствие чего в полимерной цепи они невозможны.

В низкоэнергетических конформациях шейпа *eef* представлены *gg*- или *gt*-конформеры дисахарида Gal-Man (табл. 3). Оба эти состояния равновероятны, только при  $\omega 180^\circ$  образуются левые, а при  $\omega -60^\circ$  — правые спирали. В олиго- и полисахаридах *gg*- и *gt*-конформеры для остатков, участвующих в связывании по типу 1 $\rightarrow$ 6, становятся более предпочтительными. Отметим, что в кристаллических структурах соответствующих углеводов *tg*-конформеры почти не обнаружены [7]. Конформации, в которых звенья Man-Rha находятся в состоянии 3 (т. е. не образуют внутримолекулярных водородных связей) и в состоянии 1 (табл. 1), близки по энергиям. Это обусловлено тем, что в первом случае энергия дисперсионных взаимодействий остатков галактозы и рамнозы в трисахаридных фрагментах Gal-Man-Rha на 1,5–2 ккал/моль ниже, чем во втором ( $\sim -3$  и 1,5 ккал/моль соответственно). Таким образом, дополнительные невалентные взаимодействия способствуют *gou*-ориентации агликона у маннозы.

Молекулярная модель одной из структур шейпа *eef* (322,  $\omega -60^\circ$ ) дана на рис. 3. Все остатки легко доступны для межмолекулярных взаимодействий, причем в изгибах, образованных трисахаридами Gal-Man-Rha, все свободные гидроксилы располагаются во внешней области цепи. Остатки маннозы в наибольшей степени удалены от оси спирали. Водородные связи образуются только в дисахаридах Rha-Gal (Rha(O5... O2)Gal).

*Шейп eef.* В конформациях этого шейпа полисахаридная цепь *S. newington* представляет собой компактную складчатую структуру. Образование таких структур возможно только при конформации звена Gal-Man,

Таблица 2  
Энергия мономерных трисахаридных звеньев Man-Rha-Gal (*U*, ккал/моль) в конформациях полисахарида *S. newington*

Индикаторы углов вращения звена в Man-Rha- Gal	Конформеры звена Gal-Man																	
	$\omega$ 60°				$\omega$ 180°				$\omega$ -60°									
	1		2		1		2		3		4		1		2		3	
	Шейп	<i>U</i>	Шейп	<i>U</i>	Шейп	<i>U</i>	Шейп	<i>U</i>	Шейп	<i>U</i>	Шейп	<i>U</i>	Шейп	<i>U</i>	Шейп	<i>U</i>	Шейп	<i>U</i>
11	<i>eee</i>	-10,5	<i>eee</i>	-9,2	<i>eef</i>	-8,2	<i>eef</i>	-12,0	<i>eee</i>	-9,2	<i>eee</i>	-9,4	<i>eff</i>	-13,4	<i>eef</i>	$\infty$	<i>eee</i>	-9,0
12		-10,0		-9,0		-9,2		-12,5		-9,3		-8,9		-16,2		-12,1		-9,4
13		-9,2		-8,2		-6,9		-10,9		-8,2		-8,6		-15,1		-11,0		-7,9
14		-9,0		-7,1		$\infty$		-8,4		-7,1		-8,0		-11,2		-9,8		-7,0
31	<i>eee</i>	-8,6	<i>eee</i>	-7,2	<i>eef</i>	-11,9	<i>eef</i>	-9,5	<i>eee</i>	-7,8	<i>eee</i>	-7,9	<i>eff</i>	-17,5	<i>eef</i>	-11,2	<i>eee</i>	-7,8
32		-9,5		-7,4		-8,2		-10,5		-7,8		-8,2		$\infty$		-12,2		-8,0
33		-7,8		-6,1		-10,2		-9,5		-6,9		-6,7		-11,7		-10,1		-6,6
34		-7,3		-5,5		-10,1		-8,8		-6,2		-6,2		-9,2		-9,2		-6,1
21	<i>fef</i>	-11,5	<i>fef</i>	-8,7	<i>fef</i>	-8,0	<i>fef</i>	-12,8	<i>fef</i>	-9,2	<i>fef</i>	-9,8	<i>fff</i>	$\infty$	<i>fef</i>	-13,5	<i>fef</i>	-10,0
22		-11,5		-9,5		-8,3		-13,5		-9,7		-10,3		$\infty$		-11,8		-11,5
23		-10,5		-8,1		-7,2		-12,1		-8,5		-9,1		$\infty$		-11,5		-11,1
24		-11,1		-9,0		-6,3		-11,2		-8,5		-9,0		$\infty$		$\infty$		$\infty$

\* Каждая цифра является номером конформера соответствующего псахаридного звена (см. табл. 1).

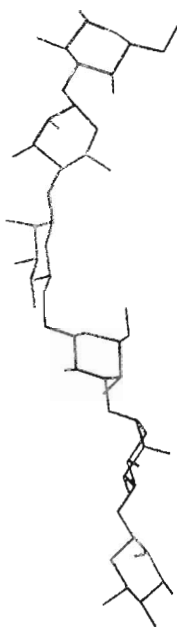


Рис. 2

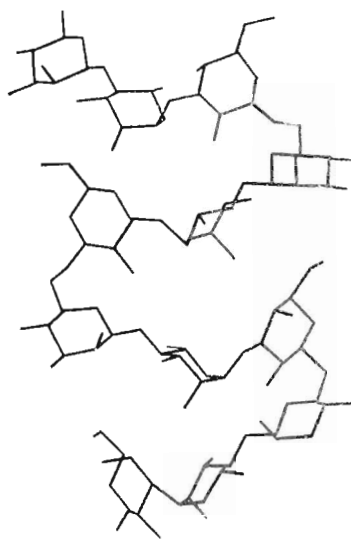


Рис. 4

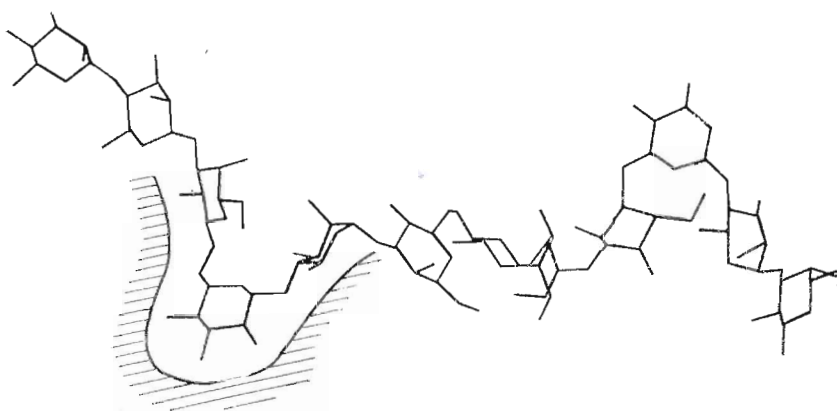


Рис. 3

Рис. 2. Молекулярная модель конформации 111,  $\omega$   $60^\circ$  (шейп *eee*)

Рис. 3. Модель конформации 322,  $\omega$   $-60^\circ$  (шейп *eei*)

Рис. 4. Модель конформации 121,  $\omega$   $-60^\circ$  (шейп *eff*)

характеризуемой углами  $\varphi$   $20^\circ$ ,  $\psi$   $-90^\circ$  и  $\omega$   $-60^\circ$  (состояние 1, табл. 1). В этом случае концевые гликозидные атомы кислорода трисахаридных фрагментов Gal-Man-Rha оказываются приближенными до минимального расстояния  $\sim 6$  Å и соседние повторяющиеся звенья располагаются на расстояниях ван-дер-ваальсовых контактов. Отражением компактности шейпа *eff* являются минимальные значения длин трансляций повторяющейся единицы вдоль оси спирали (3–6 Å, табл. 3).

В самой низкоэнергетической конформации полисахарида 311,  $\omega$   $-60^\circ$  существенны взаимодействия остатков Rha<sup>2</sup> и Rha<sup>5\*</sup> ( $U_{(2-5)}$   $-2,6$  ккал/

\* Цифровой индекс соответствует номеру остатка с псевдоставляющего конца.



Углы вращения и параметры спиралей в низкоэнергетических конформациях *S. newington*

Шейн	Идентификаторы углов	$\omega$	$U$ , ккал/моль	$\varphi_1$	$\psi_1$	$\varphi_2$	$\psi_2$	$\varphi_3$	$\psi_3$	$\omega$	$n^*$	$h$ , Å <sup>**</sup>
eee	111	60	-10,5	-48,1	-9,7	31,1	-62,5	58,5	-78,7	61,1	-5,1	12,8
	321	60	-9,5	50,1	10,2	74,1	48,1	57,3	-78,2	62,1	2,3	11,4
	112	60	-9,2	-47,8	-8,4	30,4	-64,4	56,5	178,8	60,4	-2,3	14,1
	114	180	-9,4	-47,5	-8,2	30,4	-64,8	-26,8	150,6	176,5	-2,6	11,3
eef	122	180	-12,5	-51,3	-12,7	77,3	47,7	-0,7	80,0	175,5	-2,8	2,8
	311	180	-11,9	55,1	4,3	30,6	-64,9	25,0	-92,4	-160,4	-2,5	6,1
	322	-60	-12,2	49,3	7,9	72,6	49,4	23,2	65,6	-70,2	3,5	9,5
	122	-60	-12,1	-46,3	-7,9	72,4	49,2	31,4	66,7	-65,6	2,2	9,7
eff	311	-60	-17,5	56,4	5,4	27,0	-64,6	34,1	-97,7	-57,6	-2,7	2,8
	121	-60	-16,2	-45,5	-7,8	73,3	48,7	22,4	-107,9	-61,5	2,3	5,5
	131	-60	-15,1	-47,3	-12,9	49,0	-20,4	22,6	-93,4	-61,7	2,0	6,9
	111	-60	-13,4	-46,1	-8,0	30,1	-63,7	22,8	-89,2	-58,5	2,2	6,9
fef	222	180	-13,5	28,3	168,0	73,9	48,4	7,1	85,6	177,1	-2,7	8,7
	212	180	-12,8	28,3	167,8	30,5	-63,3	7,4	86,1	177,3	-2,1	6,3
	212	-60	-13,5	29,1	167,8	31,3	-59,2	32,9	73,0	-59,2	-2,4	5,7
	222	-60	-11,8	19,4	167,8	71,0	48,8	31,2	70,2	-62,0	2,8	5,0

\*  $n$  — число остатков в витке спирали; знак «минус» относится к левым спиральям.\*\*  $h$  — трансляция остатка вдоль оси спирали.

/моль), Rha<sup>2</sup> и Gal<sup>6</sup> ( $U_{(2-6)}$  -2 ккал/моль) и Gal<sup>3</sup> и Rha<sup>5</sup> ( $U_{(3-5)}$  -5 ккал/моль); в целом энергия средних взаимодействий достигает -12 ккал/моль. Более низкое значение энергий  $U_{(3-5)}$  связано с образованием водородной связи Gal(O2...O2)Rha. Эта конформация представляет собой левую спираль с ~3 мономерными единицами в витке. Остатки маннозы располагаются с внешней стороны такой спирали, тогда как радикалы СН<sub>2</sub> остатков рамнозы ближе к ее центру. В следующей за глобальной конформации 121,  $\omega$  -60° отметим взаимодействия концевых остатков соседних повторяющихся звеньев -Man<sup>1</sup> с Gal<sup>6</sup> ( $U_{(1-6)}$  -2,2 ккал/моль) и Rha<sup>2</sup> с Gal<sup>6</sup> ( $U_{(2-6)}$  -2,3 ккал/моль), а также образование водородных связей на каждом дисахариде. В такой кросс-структуре остатки рамнозы оказываются экранированными в большей степени, чем галактозы или маннозы (рис. 4). Конформация 131,  $\omega$  -60° характеризуется взаимодействием остатка рамнозы одного звена с остатком галактозы следующего, которые образуют между собой водородную связь Rha(O2...O4)Gal ( $U_{(2-6)}$  -3,5 ккал/моль). В целом складчатые структуры шейпа *eff*, в стабилизации которых важную роль играют дисперсионные взаимодействия углеводных остатков, являются наиболее вероятными пространственными формами полисахаридной цепи *S. newington* в условиях слабой межмолекулярной ассоциации (в водной среде).

**Шейн *fef*.** Шейн *f* на трисахаридном звене Man-Rha-Gal возможен только при условии равенства угла  $\psi_1$  180°. Так как эта область значений угла  $\psi$  на приводимых в литературе дисахаридных конформационных картах [8] является запрещенной, такое семейство конформаций для полисахаридной цепи ранее не рассматривалось. По своим геометрическим и энергетическим параметрам спирали шейпа *fef* близки к спиральям шейпа *eef* (табл. 3). Как в первом, так и во втором случае в низкоэнергетических конформациях звено Gal-Man находится в состояниях 2,  $\omega$  180° или -60° (табл. 1), соответствующих *gg*- или *gt*-конформерам; при этом энергия дисперсионных взаимодействий остатков галактозы и рамнозы в трисахаридах Gal-Man-Rha составляет -2,5 ккал/моль. В конформации 212,  $\omega$  -60° свернутые формы трисахаридов Gal-Man-Rha и Man-Rha-Gal

следуют одна за другой, что приводит к такому сближению остатков галактозы соседних повторяющихся звеньев, при котором между ними возникает водородная связь Gal(O4...O2)Gal ( $U_{(3-6)}$  — 3 ккал/моль). В случае *gg*-конформеров ( $\omega$  180°) выпуклости свернутых форм соседних трисахаридов Gal-Man-Rha и Man-Rha-Gal направлены в противоположные стороны, указанного сближения остатков галактозы нет, поэтому структуры представляют собой зигзагообразные тяжи с осью симметрии второго порядка.

Таким образом, теоретический конформационный анализ полисахарида *S. newington* приводит к заключению, что его наиболее вероятными пространственными формами являются конформации шейпов *eff* или *eef*, которые включают в себя широкий диапазон структур — от компактных складчатых до более развернутых, потенциально предрасположенных к межмолекулярной ассоциации.

Сопоставление возможных конформационных состояний O-антигенных полисахаридов *S. anatum* (см. [2]) и *S. newington* серотипов E1 и E2 приводит к заключению об идентичности их пространственной организации. В самых низкоэнергетических вариантах представлены *gg*- или *gt*-конформеры звена Gal-Man, на котором независимо от конфигурации гликозного центра галактозы возможно образование водородной связи Gal(O2...O5)Man (ср. табл. 1 и табл. 1 в работе [2]). Если сравнить самые предпочтительные конформации шейпа *eff* этих полисахаридов, например 314,  $\omega$  —60° или 134,  $\omega$  —60° (E1) и 124,  $\omega$  —60° (E2) (углы вращения на звеньях Rha-Gal одинаковы), то можно отметить, что в первом случае это спирали с осью симметрии третьего порядка, с трансляцией вдоль оси 3 Å (ср. данные табл. 3 и работы [2]), в которых существенны дисперсионные взаимодействия соседних остатков рамнозы ( $U_{(2-5)}$  ~—3 ккал/моль); во втором случае обе спирали имеют ось симметрии второго порядка и характерное для складчатых структур взаимодействие маннозы первого звена с галактозой второго звена ( $U_{(1-6)}$  ~—3 ккал/моль). Однако переход от одного аномера галактозы к другому чаще всего сопряжен с изменением хиральности спиралей.

**O-Факторы антигенного полисахарида *S. newington*.** Серологические исследования антигенов *Salmonella* группы E позволили выявить наличие в основной полисахаридной цепи O-факторов, которые могут быть сопряжены не только с остатками на невозстанавливаемом конце, но и с внутренними фрагментами такой цепи [3, 4]. Как известно, антиген *S. newington* характеризуется O-факторами 3 и 15. В детерминанте фактора 3 определяющим является наличие дисахарида D-Man( $\beta$  1→4)-L-Rha, при этом важна конфигурация как  $\beta$ -маннозидной, так и  $\alpha$ -рамнозидной связей. Детерминантом фактора 15 является дисахарид D-Gal( $\beta$  1→6)-D-Man. Более эффективное ингибирование систем 3 и 15 трисахаридными звеньями цепи *S. newington* (Man-Rha-Gal и Gal-Man-Rha) по сравнению с дисахаридными звеньями (Man-Rha и Gal-Man) указывает на то, что в связывании с антителом скорее всего участвуют трисахаридные фрагменты [4]. Наличие дополнительных остатков как на невозстанавливающих, так и на восстанавливающих концах структур Man-Rha-Gal и Gal-Man-Rha не влияет на характеристики связывания с системами анти-3 и анти-15 соответственно [4, 9].

Рассмотрим, какие из пайденных конформаций *S. newington* предрасположены по стереохимическим критериям участвовать во взаимодействиях с макромолекулой антитела. Так как факторы 3 и 15 включены во внутренние участки полисахаридной цепи *S. newington*, можно допустить, что молекула антитела подходит и взаимодействует с одной стороны олигосахаридного фрагмента цепи. В случае детерминанта фактора 3 то обстоятельство, что введение заместителей в положение 6 остатка маннозы и в положения 4 и 6 остатка галактозы не влияет на активность этого фактора, позволяет предположить, что в связывании с анти-3-антителом



могут участвовать гидроксилы остатка маннозы в положениях 2, 3, 4 и остатка галактозы в положении 2. Найденные предпочтительные конформации трисахарида Man-Rha-Gal, в которых угол  $\psi$  звена Man-Rha близок к  $0^\circ$  (конформеры 1 или 3, табл. 1), таковы, что указанные гидроксилы остатков маннозы, галактозы и рамнозы оказываются по одну сторону от плоскости, проходящей через гликозидные связи детерминанта 3. Таким образом, чередование остатков *D*-Man и *L*-Rha приводит к отмеченной асимметрии расположения гидроксильных групп в молекуле. В низкоэнергетических структурах полисахарида *S. newington* фрагменты Man-Rha-Gal вполне доступны для межмолекулярных взаимодействий, как это следует, например, из моделей конформаций 322,  $\omega -60^\circ$  шейпа *eef* и 124,  $\omega -60^\circ$  шейпа *eff*.

Предпочтительные конформации звеньев Man-Rha-Gal с углом  $\psi_1 \sim 0^\circ$  представляют собой вытянутые структуры с размерами  $15 \times 7 \times 7 \text{ \AA}^3$  (с учетом ван-дер-ваальсовых радиусов атомов). Естественно предположить, что активный центр анти-3-антитела имеет приблизительно такие же размеры. Интересно, что в исследованном фрагменте иммуноглобулина Fab New полость связывания гаптена представляет собой неглубокий желоб величиной  $15 \times 6 \times 6 \text{ \AA}^3$  [10]. Таким образом, не исключено, что структура активного центра анти-3-антитела весьма близка к той, которая обнаружена в Fab New.

Детерминант фактора 15 сопряжен с трисахаридом *D*-Gal( $\beta 1 \rightarrow 6$ )-*D*-Man( $\beta 1 \rightarrow 4$ )-*L*-Rha, который, как было показано, является наиболее конформационно-лабильным звеном и обуславливает изгибы полисахаридной цепи *S. newington*. Для этого трисахарида характерна тенденция находиться в *gg*- или *gt*-состояниях (на звене Gal-Man) и принимать свернутые конформации. В вершине такой структуры находится остаток маннозы с гидроксильными, направленными во внешнюю область. То обстоятельство, что манноза является геометрическим центром детерминанта 15, согласуется с фактом, что не только трисахарид, но и дисахарид Man-Rha способен ингибировать систему 15 [4]. Присутствие заместителей в положении 4 остатка галактозы, что, например, имеет место в полисахариде *S. illinois* серотипа E3 [3], не меняет активности фактора 15. Такой заместитель также экранирует доступность гидроксила в положении 6. Таким образом, специфичность связывания галактозой фактора 15 может быть обусловлена только гидроксилом при атоме C2. Тот факт, что система 15 дискриминирует аномер галактозы, скорее всего сопряжен с тем, что протон при атоме C1  $\beta$ -*D*-Gal находится в непосредственном контакте с атомами активного центра белка, вследствие чего связывание агликона  $\alpha$ -*D*-Gal в таком локусе недопустимо. Из всех рассмотренных конформаций трисахарида Gal-Man-Rha только в тех, в которых звено Gal-Man находится в состояниях 2,  $\omega 180$  и  $-60^\circ$ , а также 1,  $\omega 60^\circ$ , гидроксил при атоме C2 и протон при атоме C1 остатка галактозы доступны для межмолекулярных взаимодействий, а гидроксилы остатка маннозы располагаются с той же стороны олигосахарида, что и указанные ранее атомы.

Конформации полисахарида *S. newington*, в которых звенья Gal-Man находятся в *gg*- или *gt*-конформациях, а углы  $\psi_3 \sim 10^\circ$ ,  $\psi_2 \sim 80^\circ$  (конформер 2, табл. 1), относятся к шейлу *eef* (табл. 3). Такие довольно растянутые зигзагообразные конформации (рис. 3) удовлетворительны как по фактору 3, так и по фактору 15. Предполагаемая ориентация фактора 15 в локусе анти-15-антитела дана на рис. 3 (заштрихованная область). Следует подчеркнуть, что к взаимодействию с антителами в большей степени предрасположены не самые выгодные конформации рассматриваемого полисахарида серотипа E2 (табл. 2 и 3). Складчатые конформации шейпа *eff* столь столь компактны, что те группировки, которые должны взаимодействовать с антителом, эффективно взаимодействуют с атомами в пределах самого детерминанта. Так, например, в варианте 311,  $\omega -60^\circ$  ато-

мы O2 и H1 остатка галактозы находятся во внутренней области звена Gal-Man-Rha, а атом O2, кроме того, образует водородную связь с гидроксильной группой O2-H рамнозы, поэтому в такой конформации полисахарида *S. newington* O-фактор 15 не активен. Вместе с тем нельзя исключить, что разные иммунохимические факторы одного полисахаридного антигена могут наиболее эффективно проявляться не в одной, а в различных конформациях, в которых наилучшим способом выполняется условие структурного соответствия определенному антителу. Так, в случае полисахарида *S. illinois* в складчатых конформациях шейпа *eff* иммунодоминантный боковой остаток  $\alpha$ -D-Glc фактора 34 располагается на периферии спирали (модельное построение) и детерминантный трисахарид D-Glc( $\alpha$  1 $\rightarrow$ 4)-D-Gal( $\beta$  1 $\rightarrow$ 6)-D-Man легко доступен для межмолекулярных взаимодействий, в данном случае с анти-34-антителом.

Средние размеры свернутых конформаций трисахаридов Gal-Man-Rha составляют  $12 \times 7 \times 12 \text{ \AA}^3$ . Отсюда можно заключить, что связывание детерминанта 15 происходит в более глубокой полости по сравнению с полостью анти-3-антитела. То, что глубина активного центра иммуноглобулинов может быть значительной, подтверждается рентгеноструктурным анализом фрагмента Fab McPC 603, у которого она равна  $12 \text{ \AA}$  [11]. Таким образом, активный центр Fab McPC 603 является приемлемой приблизительной моделью активного центра анти-15-антитела.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Липкинд Г. М., Кочетков Н. К. (1980) Биоорг. химия, 6, 1817–1829.
2. Липкинд Г. М., Кочетков Н. К. (1981) Биоорг. химия, 7, 111–122.
3. Jann K., Westphal O. (1975) in: The Antigens, Microbial Polysaccharides, vol. III, pp. 1–125.
4. Uchida T., Robbins P. W., Luria S. E. (1963) Biochemistry, 2, 663–668.
5. Lindberg B., Svensson S. (1973) MTP Intern. Rev. Sci., Org. Chem., ser. I, vol. 7, Carbohydrates, pp. 319–344.
6. Lemieux R. U. (1971) Pure Appl. Chem., 25, 527–548.
7. Tvaroska I., Perez S., Marchessault R. H. (1978) Carbohydr. Res., 61, 97–106.
8. Rees D. A. (1973) MTP Intern. Rev. Sci. Org. Chem., ser. I, vol. 7, Carbohydrates, pp. 251–283.
9. Тендетник Ю. Я., Овчарова Н. М., Черняк А. Д., Дмитриев Б. А. (1980) Биоорг. химия, 6, 250–258.
10. Amzel L. M., Poljak R. J., Saul F., Varga J. M., Richards F. F. (1974) Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 71, 1427–1430.
11. Segal D. M., Padlan E. A., Cohen G. H., Rudikoff S., Potter M., Davies D. R. (1974) Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 71, 4298–4302.

Поступила в редакцию  
2.VII.1980

### THEORETICAL CONFORMATIONAL ANALYSIS OF SPECIFIC O-ANTIGENIC POLYSACCHARIDES. III. O-ANTIGENIC POLYSACCHARIDE *SALMONELLA NEWINGTON*

LIPKIND G. M., KOCHETKOV N. K.

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

Theoretical conformational analysis of *Salmonella newington* O-specific polysaccharide with trisaccharide repeating unit  $\rightarrow 6$ -D-Man( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4)-L-Rha( $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 3)-D-Gal( $\beta$ 1 $\rightarrow$  has been carried out. It is shown that the polysaccharide can form both extended and folded structures due to effective nonbonded interactions along the chain. For the C5-C6 bond of mannose residues *gg*- and *gt*-conformers are preferable. Possible conformations of determinant oligosaccharides of the O-factors 3 and 15 *Salmonella newington* are discussed.