

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОПОЛИМЕРОВ И ИХ КОМПЛЕКСОВ

УДК 577.150.2

### РОЛЬ СТРУКТУРНОГО КОНТЕКСТА В ОТБОРЕ КОНФОРМАЦИИ ГИДРОФОБНЫХ БОКОВЫХ ЦЕПЕЙ, РАСПОЛОЖЕННЫХ В а- И d-ПОЗИЦИЯХ $\alpha$ -СПИРАЛЕЙ

© 2007 г. Е. В. Бражников, А. В. Ефимов\*

Институт белка Российской академии наук, Пушкино, Московская обл., 142290

Поступила в редакцию 25.05.2006 г.

Принята к печати 18.07.2006 г.

Впервые показано, что отбор поворотных изомеров боковых цепей, расположенных в а- и d-позициях  $\alpha$ -спиралей белков класса “лейциновых застёжек”, происходит не случайно, а в соответствии с определенными закономерностями. Так, например, в двуспиральных структурах большинство боковых цепей в а-позициях имеют t-изомеры, а в d-позициях – g<sup>-</sup>-изомеры. В тетрамерах, наоборот, большая часть боковых цепей в а-позициях имеет g<sup>-</sup>-изомеры, а в d-позициях – t-изомеры. Таким образом, отбор изомеров боковых цепей зависит от способа упаковки  $\alpha$ -спиралей, т.е. определяется структурным контекстом.

**Ключевые слова:**  $\alpha$ -белки, разрешенная конформация, стереохимический анализ, упаковка  $\alpha$ -спиралей.

ROLE OF THE STRUCTURAL CONTEXT IN SELECTION OF HYDROPHOBIC SIDE-CHAIN ROTAMERS IN a- AND d-POSITIONS OF  $\alpha$ -HELICES, by E. V. Brazhnikov, A. V. Efimov\* (Institute of Protein Research, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia; \*e-mail: efimov@protnet.ru) The study shows that in coiled-coil proteins the distribution of hydrophobic side-chain rotamers in a- and d-positions of  $\alpha$ -helices is strongly dependent on the mutual arrangement of the  $\alpha$ -helices. In coiled-coil dimers, where  $\alpha$ -helices are packed “face-to-face”, most side chains occupying a-positions adopt t-rotamers, and those in d-positions adopt g<sup>-</sup>-rotamers. In tetramers, where  $\alpha$ -helices are packed “side-by-side”, most side chains in a-positions adopt g<sup>-</sup>-rotamers and those in d-positions adopt t-rotamers. These features can be used for prediction of side-chain rotamers in protein modeling and design.

**Key words:**  $\alpha$ -helix packing, coiled-coil structures, rotamer preference, stereochemical analysis.

По мере того как увеличивается число расфигурованных белковых структур в Банке белковых данных (PDB), возрастает и число работ, в которых проводится анализ поворотных изомеров боковых цепей в белках. Большинство работ посвящены идентификации, классификации, статистическому анализу частот встречаемости различных поворотных изомеров боковых цепей в белках, а также созданию баз данных и библиотек поворотных изомеров (см., например, [1–5]). В этих и ряде других работ обнаружены статистически значимые различия в частотах встречаемости поворотных изомеров боковых цепей в зависимости от локальной конформации основной цепи [1–7], а также от мембранного окружения (для мембранных белков) [8]. В результате этих исследований установлено, что в белках боковые цепи имеют, как правило, один из трех стерически разрешенных поворотных изомеров, которые обозначаются как g<sup>-</sup>-изомер ( $\chi_1 = -60^\circ$ ), g<sup>+</sup>-изомер ( $\chi_1 = +60^\circ$ ) и

t-изомер ( $\chi_1 = 180^\circ$ ). В  $\alpha$ -спиральных участках молекул основная цепь накладывает дополнительные ограничения на конформационную свободу боковых цепей, и C $\beta$ -разветвленные боковые цепи в составе  $\alpha$ -спиралей имеют только по одному разрешенному конформеру (Val – t-изомер, Ile – g<sup>-</sup>-изомер, Thr – g<sup>-</sup>-изомер), а неразветвленные на C $\beta$ -атомах боковые цепи могут иметь или g<sup>-</sup>-, или t-изомеры.

Однако вопрос о других факторах, которые определяют отбор конформации боковых цепей в белках, изучен явно недостаточно. Ранее одним из нас показано, что плотная упаковка гидрофобных боковых цепей на поверхности  $\alpha$ -спиралей достигается при определенных комбинациях их поворотных изомеров [9, 10]. Там же показано, что конформация полярных боковых цепей может быть отобрана с учетом их структурного окружения. Если полярная боковая цепь имеет партнера для образования водородной или солевой связи, то отбирается одна, например, t-конформация, а если нет, то боковая цепь должна

\*Эл. почта: efimov@protnet.ru

приобрести другую конформацию, при которой ее полярная часть будет доступна молекулам воды [10]. В настоящей работе мы рассмотрели роль структурного контекста в отборе конформации гидрофобных боковых цепей на примере  $\alpha$ -спиральных белков класса “лейциновых застежек”. В результате нам удалось обнаружить новые закономерности в распределении  $g^-$ - и  $t$ -изомеров боковых цепей в гидрофобных ядрах  $\alpha$ -спиральных структур, а также проследить зависимость конформации боковых цепей от способа упаковки  $\alpha$ -спиралей.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Основным объектом исследования выбран класс  $\alpha$ -белков (от английского coiled coils – скрученные спирали), иначе называемых “лейциновыми застежками”. Эти белки состоят из длинных  $\alpha$ -спиралей, упакованных параллельно или антипараллельно в димеры, тримеры, тетрамеры и редко в пентамеры. Это могут быть гомо- или гетероолигомеры. В большинстве известных  $\alpha$ -белков  $\alpha$ -спирали упакованы под углом  $\Omega \approx 20^\circ$ . В идеальных случаях под такими углами между осями упаковываются  $\alpha$ -спирали, имеющие в кодирующих их аминокислотных последовательностях гептадные повторы (abcdefg)<sub>n</sub>, в которых позиции а и d заняты, как правило, гидрофобными остатками (см., например, обзоры [11, 12]).

Эти белки оказались наиболее подходящими для настоящей работы по ряду причин. Прежде всего, во многих  $\alpha$ -белках и их смоделированных аналогах а- и d-позиции часто заняты остатками лейцинов. Такой почти гомогенный набор боковых цепей приближает упаковку  $\alpha$ -спиралей к идеальной, в отличие от гетерогенного набора, особенно если боковые цепи сильно различаются по размерам. Чтобы изучать действительно отбор поворотных изомеров боковых цепей, в выборку включали только те  $\alpha$ -белки, у которых в а- и d-позициях находится много остатков Leu, Phe, Tyr (их боковые цепи наиболее близки по размерам и могут иметь по два изомера), и не включали белки, содержащие, в основном, Val и Ile в а- и d-позициях (см. табл. 1–5). В выборку включены также белки-гомологи и их смоделированные аналоги, которые в результате точечных замен могут переходить, например, из димеров в тримеры или тетрамеры. Это особенно важно для изучения влияния структурного контекста на отбор конформаций боковых цепей, поскольку, по существу, одинаковый или очень близкий набор боковых цепей оказывается при этом в разных структурных окружениях. Еще одно преимущество  $\alpha$ -белков состоит в том, что они образованы длинными  $\alpha$ -спиралями (в основном, 20 остатков и более), что сильно уменьшает вклад краевых эффектов. Необходимая структурная

информация получена из Банка белковых данных (<http://www.rcsb.org/pdb/>). Торсионные углы  $\chi_1$  рассчитывали с помощью программы MOLMOL [13].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В белках  $\alpha$ -спирали могут быть упакованы двумя основными способами, которые различаются взаимным расположением гидрофобных поверхностей (или кластеров), – это упаковки “лоб в лоб” и “бок о бок” [9, 10, 12]. В упаковках “лоб в лоб” гидрофобные кластеры располагаются между остовами  $\alpha$ -спиралей в зоне контакта и образуют двойной слой гидрофобных боковых цепей. Такие упаковки наблюдаются во всех димерных  $\alpha$ -белках с параллельной или антипараллельной ориентацией  $\alpha$ -спиралей, а также в длинных обособленных  $\alpha$ -спиральных шпильках глобулярных белков (табл. 1, 2). В упаковках “бок о бок” гидрофобные кластеры объединяются с образованием единого слоя гидрофобных боковых цепей на поверхности двухспиральной структуры. Такие упаковки  $\alpha$ -спиралей наблюдаются в тетрамерах и пентамерах  $\alpha$ -белков (табл. 4, 5) и в четырехспиральных пучках глобулярных белков. В тримерах  $\alpha$ -белков упаковка  $\alpha$ -спиралей больше похожа на упаковку “бок о бок”, хотя имеет некоторые признаки упаковки “лоб в лоб” (табл. 3). Таким образом, в различных упаковках  $\alpha$ -спиралей гидрофобные боковые цепи располагаются по-разному друг относительно друга и относительно остовов  $\alpha$ -спиралей, т.е. имеют разное структурное окружение, что существенно влияет на их конформацию.

В табл. 1 представлены рассчитанные углы  $\chi_1$  для всех остатков, расположенных в а- и d-позициях  $\alpha$ -белков, в которых  $\alpha$ -спирали упакованы параллельно и “лоб в лоб”. Анализ этих данных позволяет выявить важную закономерность в распределении поворотных изомеров гидрофобных боковых цепей, для которых стерически разрешены 2 изомера (Leu, Phe, Tyr, ...): большинство из них, находящихся в а-позициях, имеет  $t$ -изомеры, а в d-позициях –  $g^-$ -изомеры. Более наглядно это представлено на рис. 1, где на круговых диаграммах показано распределение углов  $\chi_1$  для остатков Leu в а- и d-позициях  $\alpha$ -белков с параллельной упаковкой  $\alpha$ -спиралей.

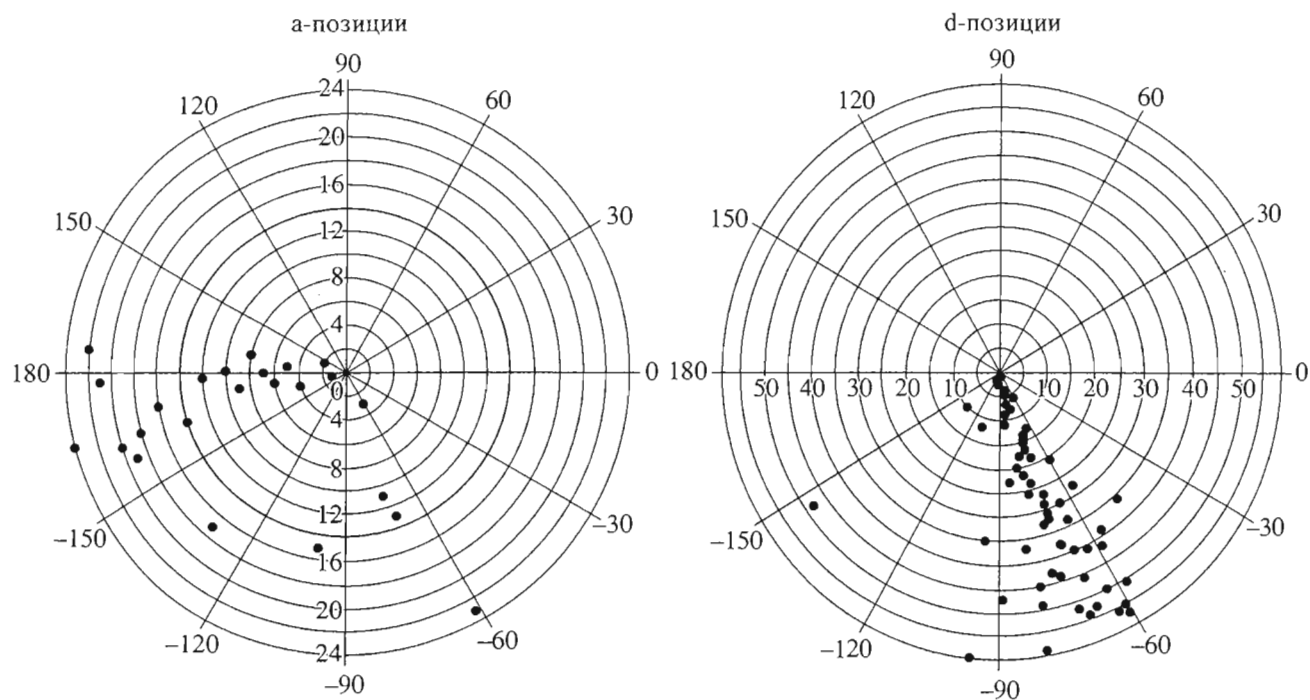
Рассчитанные значения углов  $\chi_1$  для остатков в а- и d-позициях  $\alpha$ -шпилек и антипараллельных димеров, а также их распределение на круговых диаграммах приведены в табл. 2 и на рис. 2. Здесь наблюдается та же закономерность, что и в димерах с параллельной упаковкой  $\alpha$ -спиралей, хотя и менее ярко выраженная. Будем считать  $t$ -изомерами такие конформации боковых цепей, которые имеют углы  $\chi_1$  в интервале от  $-150^\circ$  до  $+150^\circ$ , а  $g^-$ -изомерами – в интервале от  $-50^\circ$  до  $-100^\circ$ . Эти критерии более жесткие чем, напри-

Таблица 1. Углы  $\chi_1$  для остатков в а- и d-позициях в димерах сс-белков с параллельной упаковкой  $\alpha$ -спиралей\*

№	Код PDB	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d
1	1D7M(A)		M244	L248	L251	L255	E258	R262	L265	K269	L272	L276	L279	G283	R286	L290	L293	L297	T300	N304	E307
		R311	L314	L318	T321	R325	L328	L332	A335	K339	L342										
		169	-78	174	-67	179	-85	-178	-	-164	-145										
2	1DH3(A)	E287	L290	R294	A297	R301	K304	V308	L311	V315	L318	N322	L325	L329	L332						
		-155	-103	102	-	-136	-120	-26	-65	95	-79	-93	-61	-131	-61						
3	1GD2(E)	L101	L104	V108	L111	H115	T118	N122	L125	V129	L132	L136	L139								
		-167	-92	169	-109	169	50	174	-95	79	-63	-170	-								
4	1ZII(A)	M2	L5	V9	L12	A16	L19	V23	L26	V30	R33										
		-176	-77	167	-65	-	-74	171	-47	164	-										
5	1UIX(A)	V982	L985	K989	L992	L996	A999	L1003	L1006	E1010	A1013	K1017	F1020	L1024	E1027	K1031	A1034	L1038			
		171	-78	-72	-69	179	-	-71	-81	-	-	162	-96	-164	-76	171	-	175			
6	1KDD(A)	V2	L5	V9	L12	L16	L19	V23	L26	N30	C33										
		178	-63	167	-70	-73	-74	166	-70	-173	-177										
7	1CZ7(A)	L321	C324	L328	S331	R335	L338	V342	L345												
		157	180	-172	-165	-169	-76	162	-57												
8	1KQL(A)	V32	L35	N39	L42	V46	L49	V53	L56	L60	Q63	Y67	I70	L74	A77	M81					
		171	-78	-82	-71	167	-70	162	-67	-163	-164	-165	-133	-158	-	172					
9	1S9K(D)		L165	T169	L172	K176	L179	I183	L186	K190											
			-74	56	-72	-178	-57	-66	-63	170											
10	1S9K(E)	R280	K283	I287	L290	V294	L297	N301	L304	A308	L311	V315	L318								
		-83	-159	-53	-76	-175	-71	-89	-59	-	-58	168	-63								
11	1LLM(C)	H50	I53	L57	L60	V64	L67	N71	L74	V78	L81	V85									
		159	-59	-180	-70	169	-65	-75	-75	166	-71	-39									
12	1CE9(A)	V3	L6	V10	L13	N17	L20	V24	L27	V31	R34										
		47	-83	167	-80	-84	-71	165	-73	149	-104										
13	1T6F(A)	L2	A5	N9	L12	I16	K19	I23	L26	N30	L33	A37									
		-104	-	-172	-60	-68	-68	-69	-79	-72	-67	-									
14	1P9I(A)	M1	L4	L8	L11	N15	L18	V22	L25	V29											
		-	-135	169	-77	174	-71	166	-67	163											

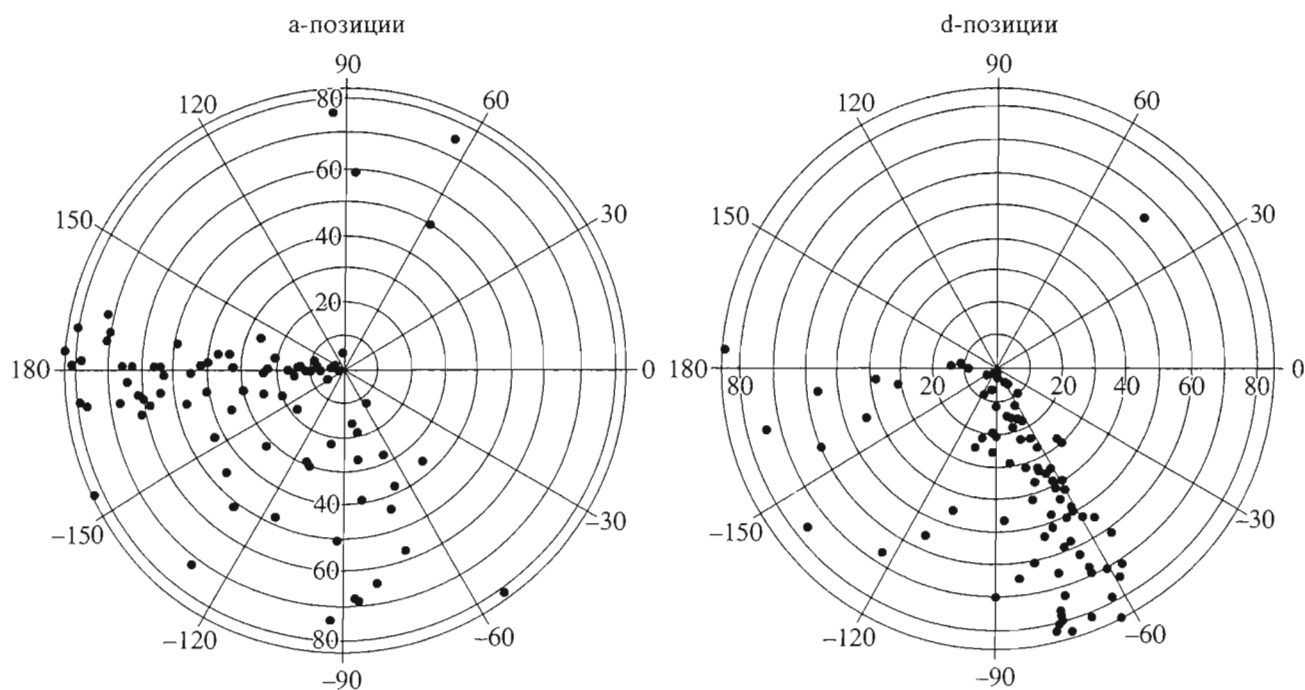
\* В этой и последующих таблицах углы  $\chi_1$  измерены в градусах и показаны под соответствующими остатками и их номерами.

## Параллельные димеры



**Рис. 1.** Распределение торсионных углов  $\chi_1$  для лейцинов, находящихся в а- и d-позициях параллельных сс-димеров (на основе данных табл. 1), показанное с помощью круговых диаграмм. Верхние полуокружности соответствуют положительным ( $\chi_1 = 0-180^\circ$ ), нижние – отрицательным ( $\chi_1 = 0- -180^\circ$ ) значениям углов.

## Антипараллельные димеры и шпильки



**Рис. 2.** Распределение торсионных углов  $\chi_1$  для остатков Leu, Phe и Tyr, находящихся в а- и d-позициях антипараллельных сс-димеров и  $\alpha$ -спиральных шпилек (на основе данных табл. 2), показанное с помощью таких же диаграмм, как на рис. 1.

**Таблица 2.** Углы  $\chi_1$  для остатков в **a**- и **d**-позициях в димерах сс-белков и  $\alpha$ -спиральных шпильках, в которых  $\alpha$ -спирали упакованы антипараллельно и “лоб в лоб”

№	Код PDB	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d
1	1A32(1)		P24	I28	L31	I35	L38	L42							
				-65	-88	-67	-171	-92							
2	1A32(2)		S51	L55	M58	R62	L65	L69	K72						
				177	-73	-170	-74	-129	-177						
3	1A36(1)	M644	L647	I651	K654	L658	A661	L665	A668	A672					
				-67	-35	173	-	-178	-	-					
			T680	V684	K687	V691	L694	L698	L701	A705	R708				
			-56	179	-76	172	-68	179	-71	-	-60				
4	1AQT(1)	E91	A94	K98	A101	I105									
		-173	-	-173	-	-70									
		Y114	A117	L121	A124	L128	I131								
		171	-	-173	-	-66	-73								
5	1CXZ(1)		A28	Q32	L35	R39	L42	I46	E49	K53	A56	R60	T63	G67	
				-78	-64	-76	-68	-70	-153	-112	-	-167	-60	-	
			V73	L77	S80	L84	L87	L91	L94						
			-152	-81	-175	-82	-62	-173	-60						
6	1DG3(1)		R539	L543	Q546	L550	K553	Q557	L560						
			-175	-180	-80	177	-74	-168	-74						
		S569	M572	I576	L579	M583									
		180	-77	-65	177	-70									
7	1E79(1)	L105	A108	L112	A115	L119									
		-149	-	-141	-	-171									
		R128	I131	I135	N138	V142	L145								
		-72	-41	-66	-75	-176	-65								
8	1FXK(A1)	V7	Q10	F14	L17	A21	I24	K28	V31	I35	T38	L42	L45		
		-170	-95	179	-79	-	-78	-166	78	-84	-61	-86	-90		
			K67	T71	L74	L78	L81	E85	I88	E92	V95	L99	M102	I106	
			165	-61	-74	178	-72	174	-69	-179	170	-82	-	-72	
		L7	I10	L14	Y17	V21	I24	M28	V31	I35	L38	E42	L45	Q49	
		-176	-55	-77	-75	168	-65	-73	179	-74	-79	-79	-61	-68	
		M94	I97	K101	L104	L108	M111	L115	I118	M122	L125	A129	L132	V136	
		-66	-67	-64	-67	-153	-69	179	-62	-71	-55	-	-57	66	
		A11	L14	L18	L21	R26	I29	I33	A36						
9	1GRJ(1)		-122	-158	-57	176	-72	-51	-						
		-	A51	Q55	C58	I62	I65	L69							
		Y48	-	-146	-68	-68	-64	-71							
		179	-												

**Таблица 2. Продолжение**

[illegible]

Таблица 2. Окончание

№	Код PDB	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d
17	1A92(A)	R13 -74	I16 -63	W20 -173	G23 -	L27 -168	L30 -75	L34 -168	L37 -173	I41 -64	L44 -123				
18	1GMJ(A)	I53 -75	H56 -74	I60 -74	L63 -65	I67 -70	H70 -73	I74 -71	L77 -67	E81 -161					
19	1Q05(A)	K81 -174	T84 -54	V88 165	I91 -62	I95 -68	L98 -61	R102 -170	L105 -69	A109 -	C112 171				
20	1YF2(A)		I174 -65	L178 -65	I181 -56	I185 -66	I188 -68	I192 -71	L195 -157	K199 168	L202 -65	L206 -93			
21	2C2A(A)	L285 -56	L288 -115	L292 -112	I295 -71	S299 -76	L302 -160	L306 179	L309 174						
22	2AYU(A)	V92 174	K95 -55	L99 -110	L102 -107	L106 -115	V109 -166	F113 173	E116 -69	L120 -172	K123 172				
23	1ZHC(A)	F19 95	I22 -49	H26 177	L29 -137	I33 46	A36 -159	N40 -90							
		V46 -168	M49 -61	K53 -154	L56 -94	I60 -75	M63 -162	Y67 -154	K70 73						
24	1K1F(A)	V28 168	I31 -43	L35 -169	A38 -	I42 -74	L45 -64	V49 170	E52 -63	M56 -	L59 -65	L63 64	E66 -178		
25	1ENV(A)		A30 -	L34 -136	I37 -74	Q41 -59	L44 -108	I48 -73	Q51 -76	L55 -87	T58 62				
	1ENV(A)	W117 -171	W120 -177	I124 -87	Y127 -77	I131 -58	L134 -87	S138 -64	Q141 -103	N145 -66	E148 -77	L152 -93			
26	1JAL(A)		A133 -	L137 178	C140 179	I144 -79	L147 -70	A151 -	G154 -						
	1JAL(A)	L162 176	M165 -64	L169 172	L172 -63										
27	1QVR(A)	I403 -80	L406 -54	K410 -179	L413 -50	R417 70	L420 -62								
	1QVR(A)		I435 -179	I439 -79	L442 -82	I446 -69	L449 -62	W453 -179	E456 -89						
	1QVR(A)		I459 -61	L463 -161	A466 -	L470 171	V473 167	I477 -72	A480 -	Y484 176	N487 -49	E491 59			
	1QVR(A)		R493 -174	L497 172	L500 -49	V504 94	L507 -59	L511 -65							

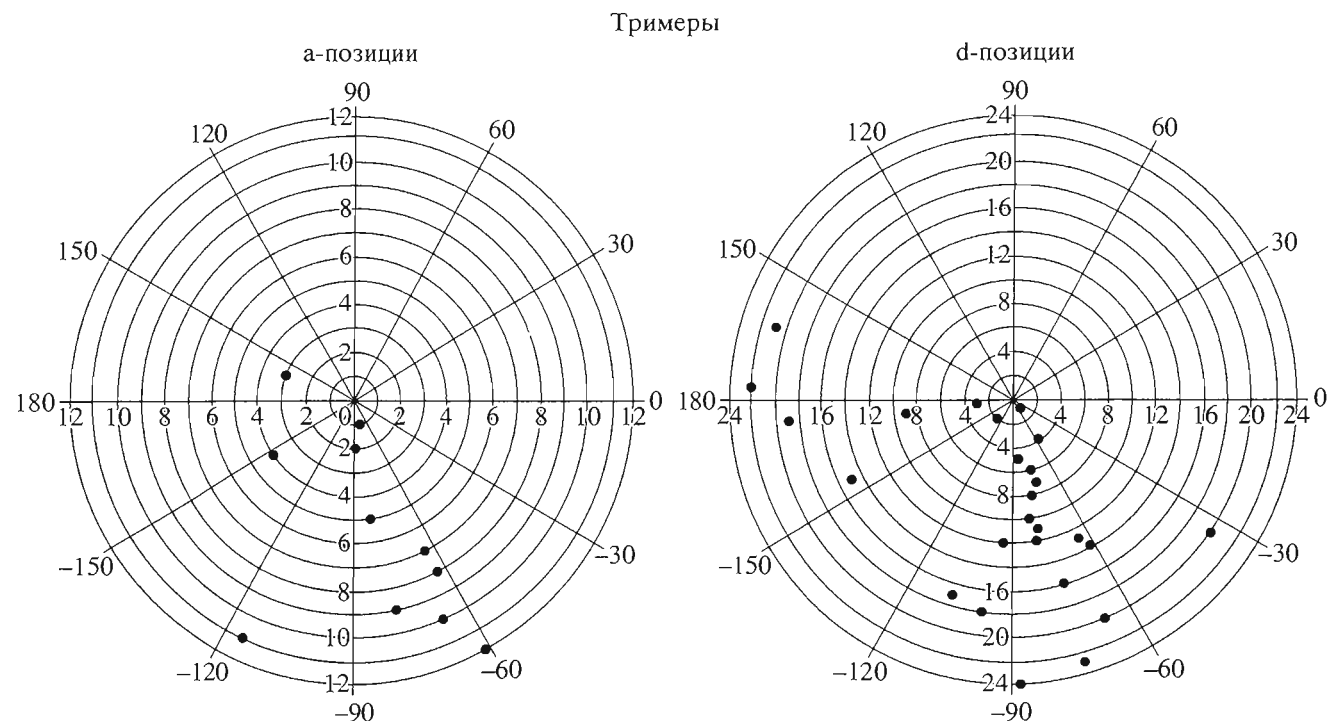
Таблица 3. Углы  $\chi_1$  для остатков в а- и d-позициях тримеров

№	Код PDB	a	d	a	d	a	d	a	d
1	1AQ5(A)	Q18 -88	V21 154	I25 -148	L28 -84	L32 160	V35 142	I39 -80	L42 -74
2	1B08(B)	V1204 -	L1207 -49	V1211 177	L1214 -75	V1218 175	L1221 -79	F1225 -158	Y1228 -88
3	1EQ7(A)		S2 65	I6 -72	L9 -74	V13 167	L16 -80	V20 166	L23 -107
		A41 -	A44 -	L48 -78	M51 60	Y55 -61			
4	1SWI(A)	M2 -49	L5 -128	V9 175	L12 -78	A16 -	L19 -64	V23 147	L26 -98
5	2BEZ(C)	Y899 -	Q902 -	A906 -	F909 178	I913 -82	I916 -77	L920 -64	T923 -64
			V934 162	A938 -	L941 -173	V945 174	L948 -61	F952 -75	I955 -68
6	1G2C(A)		L160 -174	V164 172	I167 -74	L171 -146	T174 -72	V178 171	L181 -175
7	1COS(B)	W2 -173	L5 -56	L9 -90	L12 -82	L16 -82	L19 -154	L23 -63	L26 -34
	1COS(C)	-60	-83	-115	-65	-94	-80	-78	163
№	Код PDB	a	d	a	d	a	d	a	d
1	1AQ5(A)	I46 -68							
2	1B08(B)	E1232 -133							
3	1EQ7(A)	V27 170	M30 -140	V34 178	A37 -				
4	1SWI(A)	V30 141							
5	2BEZ(C)								
		L959 -67	I962 -71	L966 -115	V969 156				
6	1G2C(A)	V185 168	L188 177	V192 165	L195 -74	I199 -64	Q202 -62	I206 67	K209 -
7	1COS(B)								

мер, в работе [7], где t-изомерами считают конформации с углами  $\chi_1 = 180 \pm 60^\circ$ , а g'-изомерами – конформации с углами  $\chi_1$  от  $0^\circ$  до  $-120^\circ$ . Простой подсчет показывает, что 64% боковых цепей Leu, Phe и Tyr, находящихся в а-позициях антипараллельных димеров и шпилек, имеют t-изомеры, 19% – g'-изомеры и 17% этих боковых цепей имеют стерически невыгодные конформации (рис. 2). Для сравнения: в а-позициях димеров с параллельной упаковкой спиралей 75% лейцинов имеют t-изомеры, 21% – g'-изомеры и 4% – стериче-

ски невыгодные конформации (рис. 1). В d-позициях шпилек и антипараллельных димеров 76% боковых цепей Leu, Phe и Tyr имеют g'-изомеры, 12% – t-изомеры и 12% – стерически невыгодные конформации (рис. 2). В d-позициях параллельных димеров практически все лейцины имеют g'-изомеры (рис. 1). На наш взгляд, большее число отклонений от общей закономерности в распределении конформеров на рис. 2 по сравнению с рис. 1 объясняется большей гетерогенностью состава





**Рис. 3.** Распределение торсионных углов  $\chi_1$  для остатков Leu, Phe и Tyr, расположенных в а- и d-позициях тримеров (на основе данных табл. 3). Обозначения такие же, как на рис. 1.

боковых цепей в антипараллельных димерах и шпильках.

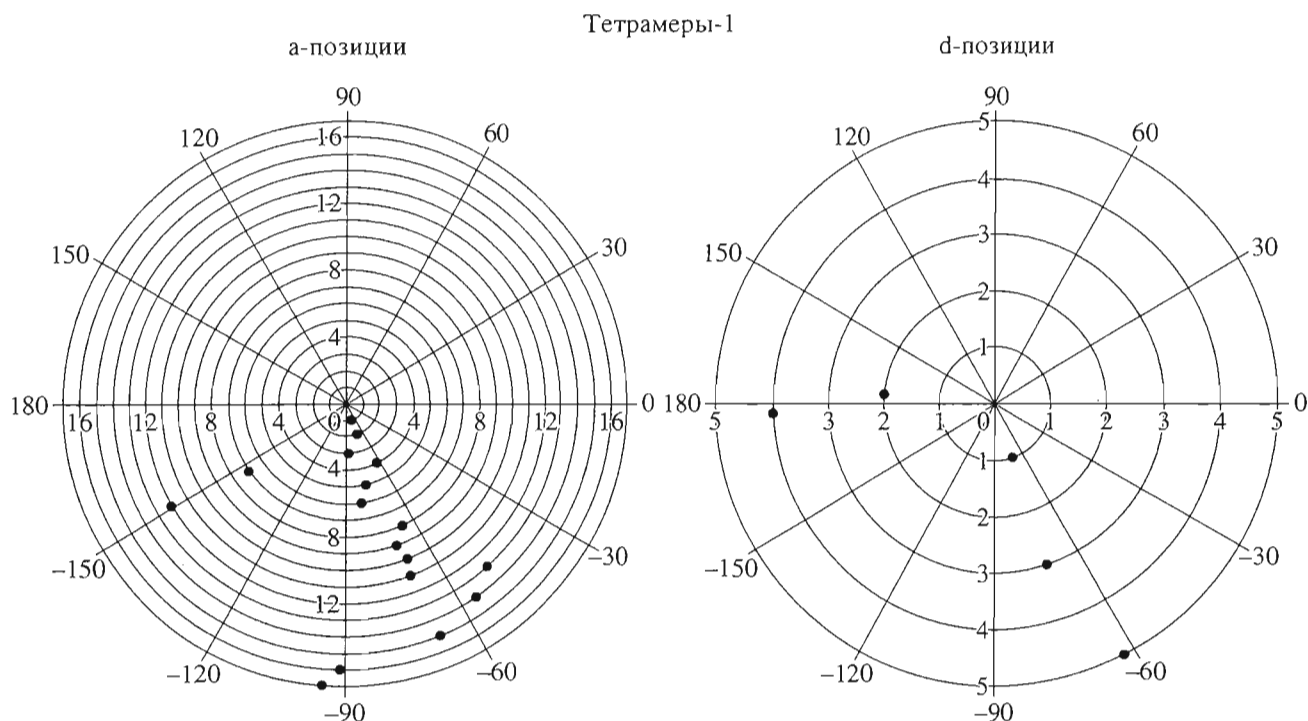
В тримерах картина распределения изомеров боковых цепей существенно отличается от димеров. Как показывает анализ данных в табл. 3 и на рис. 3, в тримерах большинство (75%) остатков в а-позициях имеет g'-изомеры, а не t-изомеры, как в димерах. В d-позициях ситуация в тримерах похожа на таковую в димерах: 63% остатков имеют g-изомеры, 25% – t-изомеры и 12% остатков имеют стерически невыгодные конформации. Ана-

логичная картина наблюдается в тетрамерах-1 (в а- и d-позициях тетрамеров-1 находятся, в основном, лейцины, в отличие от гетерогенного состава в тетрамерах-2). 82% лейцинов, расположенных в а-позициях тетрамеров-1, имеют g'-изомеры, 0% – t-изомеры, и 18% находятся в стерически невыгодных конформациях (см. табл. 4 и рис. 4). Из 5 остатков в d-позициях тетрамеров-1 3 имеют g'-изомеры и 2 остатка – t-изомеры.

В тетрамерах-2 картина распределения изомеров, по существу, является противоположной то-

**Таблица 4.** Углы  $\chi_1$  для остатков в а- и d-позициях тетрамеров-1

№	Код PDB	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d
1	2BNI(A)	M2	I5	L9	I12	G16	I19	L23	I26	L30	
		-59	-69	-77	-70	-	-69	-69	-77	-56	
2	2B1F(B)	V2	L5	V9	L12	N16	L19	V23	L26	V30	
		-69	-70	169	-71	-151	-178	165	-62	167	
3	1W5K(A)	M3	I6	L10	I13	L17	I20	L24	I27	L31	
		-170	-68	-73	-77	-82	-72	-70	-73	-68	
4	1C94(A)	R4	V7	L11	V14	L18	N21	L25	V28	L32	M35
		57	168	-88	162	-146	-77	-150	169	-91	49
5	4HB1(A)		L4	L8	A11	L15	A18	A22			
			175	-63	-	-66	-	-			
6	1GCL(A)	M2	I5	L9	I12	L16	I19	L23	I26	L30	
		-59	-87	-77	-58	-71	-82	-49	-67	-95	



**Рис. 4.** Распределение торсионных углов  $\chi_1$  лейцинов, находящихся в а- и d-позициях тетрамеров-1 (на основе данных табл. 4). Обозначения такие же, как на рис. 1.

му, что есть в димерах – большинство боковых цепей в а-позициях имеют g-изомеры, а в d-позициях – t-изомеры (табл. 5, рис. 5). Расчеты показывают, что в а-позициях тетрамеров-2 83% остатков Leu, Phe и Tyr имеют g-изомеры, 8% – t-изомеры, и 9% – стерически невыгодные конформации. В d-позициях тетрамеров-2 80% остатков имеют t-изомеры, и 20% – g-изомеры.

Таким образом, прослеживается четкая тенденция изменения поворотных изомеров в а-позициях от t-изомеров к g-изомерам, а в d-позициях от g-изомеров к t-изомерам при переходе от димеров к тримерам и тетрамерам, т.е. при переходе от упаковки  $\alpha$ -спиралей “лоб в лоб” к упаковке типа “бок о бок”. В “промежуточных” случаях тримеров и тетрамеров-1, особенно для случаев гомогенного набора боковых цепей, имеет место ситуация, когда и в а-, и в d-позициях, в основном, наблюдаются g-изомеры. Другими словами, прослеживается зависимость отбора поворотных изомеров боковых цепей в а- и d-позициях от способа упаковки  $\alpha$ -спиралей и, следовательно, от структурного контекста.

Наблюдаемые закономерности можно объяснить простым механизмом “выдавливания” боковых цепей из межспирального пространства. Как это может происходить, рассмотрим на примере димеров. Предположим, что сначала в димерах боковые цепи имели g-изомеры в а-позициях и t-изомеры – в d-позициях. В этом случае большая часть каждой боковой цепи в этих позициях попа-

дает в пространство между остовами  $\alpha$ -спиралей. При переходе боковых цепей, расположенных в а-позициях, в наблюдаемые t-изомеры, а боковых цепей в d-позициях – в g-изомеры происходит смещение центров масс боковых цепей из межспирального пространства “наружу”, а стремление к плотной упаковке приводит к уменьшению расстояния между осями  $\alpha$ -спиралей. Таким образом, межспиральные взаимодействия и стремление к плотной упаковке сближают между собой остова  $\alpha$ -спиралей и как бы выталкивают из межспирального пространства боковые цепи. Более детально анализ этого механизма будет опубликован в другом месте.

Несомненно, важными являются обнаруженные закономерности в распределении поворотных изомеров в димерах, тримерах и тетрамерах сс-белков. Эти закономерности могут быть использованы при моделировании белковых структур и при дизайне новых структур в белковой инженерии. Следует отметить, что предсказаны могут быть поворотные изомеры боковых цепей не только таких остатков, как Leu, Phe и Tyr, но и  $C_\beta$ -разветвленных остатков Val и Ile, так как в подавляющем большинстве случаев они имеют по одному стерически разрешенному изомеру (что можно легко проследить в табл. 1–5).

Наблюдаемые отклонения от закономерностей могут быть объяснены влиянием следующих факторов. Как показывает анализ, отклонения часто наблюдаются на концах спиралей, т.е. имеют ме-

Таблица 5. Углы  $\chi_1$  для остатков в а- и d-позициях тетрамеров-2

№	Код PDB	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d
1	ISFC(A)	L32 175	T35 -53 A191	V39 177 1195	V42 -173 R198	M46 -67 I202	N49 -79 L205	V53 109 I209	R56 169 L212	L60 -79 F216	L63 178 M219	A67 - V223	L70 -177 Q226	A74 - I230	F77 -179 I233	A81 - V23	L84 -151 A240	A -61	K91 170
	ISFC(B)																		
	ISFC(C)																		
2	ISFC(D)																		
	IGL2(A)	V12 175 M168	L15 -152 R171	V19 169 1175	V22 172 L178	M26 -63 I182	N29 -79 I185	I33 -146 F189	R36 -165 L192	L40 -77 I196	L43 178 Q199	T47 57 I203	L50 174 I206	S54 70 V210	F57 -180 A213	S61 -67 V217	V64 64 A220	-	M202 -57 A227 -
	IGL2(C)																		
3	IGCL2(D)																		
	IHVV(D)																		
	IVDF(A)*																		
4	INHL																		
	IJTH(A)																		
	IJTH(A)																		
5	IJTH(B)																		
	2B1F(D)																		
	4HB1(A)																		
6	IGCL(A)																		
	IGII(A)																		
	IHTM(B)**																		

\* Пентамер. \*\* Тример.

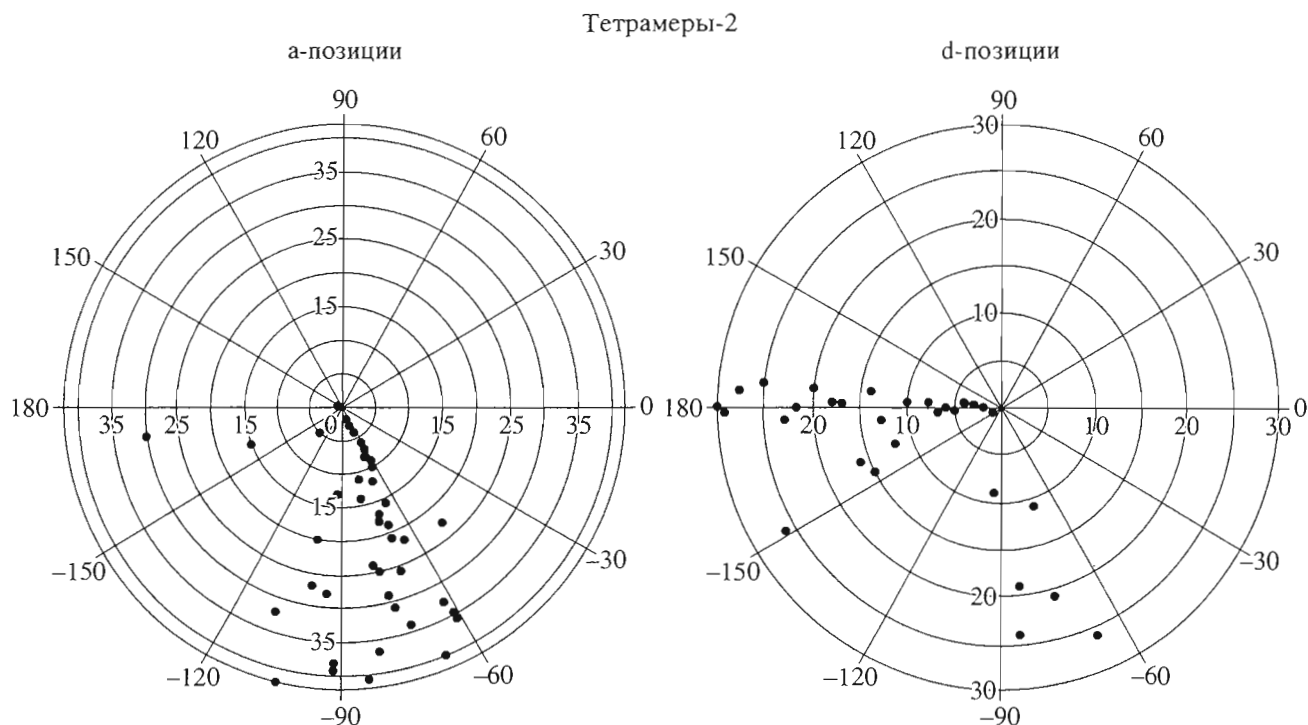


Рис. 5. Распределение торсионных углов  $\chi_1$  для остатков Leu, Phe и Tyr, находящихся в а- и d-позициях тетрамеров-2 (на основе данных табл. 5). Обозначения такие же, как на рис. 1.

сто краевые эффекты. По-видимому, это связано с тем, что в ряде случаев  $\alpha$ -спирали расходятся на концах олигомеров и взаимного влияния друг на друга уже не оказывают. Гетерогенность набора боковых цепей в а- и d-позициях также может быть причиной отклонений. Например, в параллельных димерах, где имеются почти гомогенные наборы из остатков Leu (рис. 1), закономерности проявляются намного четче, чем в антипараллельных димерах с гетерогенными наборами боковых цепей (рис. 2).

В заключение отметим, что аналогичные закономерности в распределении поворотных изомеров боковых цепей наблюдаются в четырехспиральных пучках (наши предварительные данные) и в других  $\alpha$ -спиральных белках (см. [9, 10]), что явится предметом наших дальнейших исследований.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (04-04-49393а).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Janin J., Wodak S., Levitt M., Maigret B. 1978. Conformation of amino acid side-chains in proteins. *J. Mol. Biol.* **125**, 357–386.
2. Ponder J.W., Richards F.M. 1987. Tertiary templates for proteins. Use of packing criteria in the enumeration of allowed sequences for different structural classes. *J. Mol. Biol.* **193**, 775–791.
3. Schrauber H., Eisenhaber F., Argos P. 1993. Rotamers: to be or not to be? An analysis of amino acid side-chain conformations in globular proteins. *J. Mol. Biol.* **230**, 592–612.
4. Dunbrack R.L., Jr., Karplus M. 1993. Backbone-dependent rotamer library for proteins: Application to side-chain prediction. *J. Mol. Biol.* **230**, 543–571.
5. Lovell S.C., Word J.M., Richardson J.S., Richardson D.C. 2000. The penultimate rotamer library. *Proteins*. **40**, 389–408.
6. McGregor M.J., Islam S.A., Sternberg M.J.E. 1987. Analysis of the relationship between side-chain conformation and secondary structure in globular proteins. *J. Mol. Biol.* **198**, 295–310.
7. Dunbrack R.L., Jr., Cohen F.E. 1997. Bayesian statistical analysis of protein side-chain rotamer preferences. *Protein Sci.* **6**, 1661–1681.
8. Chamberlain A.K., Bowie J.U. 2004. Analysis of side-chain rotamers in transmembrane proteins. *Biophys. J.* **87**, 3460–3469.
9. Ефимов А.В. 1977. Стереохимия упаковок  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -структуры в компактной глобуле. *Докл. АН СССР*. **235**, 699–702.
10. Efimov A.V. 1979. Packing of  $\alpha$ -helices in globular proteins. Layer-structure of globin hydrophobic cores. *J. Mol. Biol.* **134**, 23–40.
11. Lupas A. 1996. Coiled coils: new structures and new functions. *Trends Biochem. Sci.* **21**, 375–382.
12. Efimov A.V. 1999. Complementary packing of  $\alpha$ -helices in proteins. *FEBS Lett.* **463**, 3–6.
13. Koradi R., Billeter M., Wutrich K. 1996. MOLMOL: a program for display and analysis of macromolecular structures. *J. Mol. Graph.* **14**, 51–55.