

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОПОЛИМЕРОВ И ИХ КОМПЛЕКСОВ

УДК 577.150.2

РОЛЬ СТРУКТУРНОГО КОНТЕКСТА В ОТБОРЕ КОНФОРМАЦИИ ГИДРОФОБНЫХ БОКОВЫХ ЦЕПЕЙ, РАСПОЛОЖЕННЫХ В *a*- И *d*-ПОЗИЦИЯХ α -СПИРАЛЕЙ

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

Институт белка Российской академии наук, Пущино, 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 *a*- и *d*-позициях α -спиралей белков класса “лейциновых застежек”, происходит не случайно, а в соответствии с определенными закономерностями. Так, например, в двуспиральных структурах большинство боковых цепей в *a*-позициях имеют *t*-изомеры, а в *d*-позициях – *g*⁻-изомеры. В тетрамерах, наоборот, большая часть боковых цепей в *a*-позициях имеет *g*⁻-изомеры, а в *d*-позициях – *t*-изомеры. Таким образом, отбор изомеров боковых цепей зависит от способа упаковки α -спиралей, т.е. определяется структурным контекстом.

Ключевые слова: α -белки, разрешенная конформация, стереохимический анализ, упаковка α -спиралей.

ROLE OF THE STRUCTURAL CONTEXT IN SELECTION OF HYDROPHOBIC SIDE-CHAIN ROTAMERS IN *a*- AND *d*-POSITIONS OF α -HELICES, by E. V. Brazhnikov, A. V. Efimov* (Institute of Protein Research, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia; *e-mail: efimov@protres.ru) The study shows that in coiled-coil proteins the distribution of hydrophobic side-chain rotamers in *a*- and *d*-positions of α -helices is strongly dependent on the mutual arrangement of the α -helices. In coiled-coil dimers, where α -helices are packed “face-to-face”, most side chains occupying *a*-positions adopt *t*-rotamers, and those in *d*-positions adopt *g*⁻-rotamers. In tetramers, where α -helices are packed “side-by-side”, most side chains in *a*-positions adopt *g*⁻-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: α -helix packing, coiled-coil structures, rotamer preference, stereochemical analysis.

По мере того как увеличивается число расфривированных 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*⁻-изомер ($\chi_1 = -60^\circ$), *g*⁺-изомер ($\chi_1 = +60^\circ$) и

t-изомер ($\chi_1 = 180^\circ$). В α -спиральных участках молекул основная цепь накладывает дополнительные ограничения на конформационную свободу боковых цепей, и *S* _{β} -разветвленные боковые цепи в составе α -спиралей имеют только по одному разрешенному конформеру (Val – *t*-изомер, Ile – *g*⁻-изомер, Thr – *g*⁻-изомер), а неразветвленные на *S* _{β} -атомах боковые цепи могут иметь или *g*⁻, 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 α -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@protres.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 α -спиральных белков класса “лейциновых застежек”. В результате нам удалось обнаружить новые закономерности в распределении g^- - и t -изомеров боковых цепей в гидрофобных ядрах α -спиральных структур, а также проследить зависимость конформации боковых цепей от способа упаковки α -спиралей.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Основным объектом исследования выбран класс сс-белков (от английского coiled coils – скрученные спирали), иначе называемых “лейциновыми застежками”. Эти белки состоят из длинных α -спиралей, упакованных параллельно или антипараллельно в димеры, тримеры, тетрамеры и редко в пентамеры. Это могут быть гомо- или гетероолигомеры. В большинстве известных сс-белков α -спирали упакованы под углом $\Omega \approx 20^\circ$. В идеальных случаях под такими углами между осями упаковываются α -спирали, имеющие в кодирующих их аминокислотных последовательностях гептадные повторы (abcdefg) $_n$, 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 сс-белках и их смоделированных аналогах а- и d-позиции часто заняты остатками лейцинов. Такой почти гомогенный набор боковых цепей приближает упаковку α -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 сс-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 сс-белков состоит в том, что они образованы длинными α -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 χ_1 рассчитывали с помощью программы MOLMOL [13].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В белках α -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 α -спиралей в зоне контакта и образуют двойной слой гидрофобных боковых цепей. Такие упаковки наблюдаются во всех димерных сс-белках с параллельной или антипараллельной ориентацией α -спиралей, а также в длинных обособленных α -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 α -спиралей наблюдаются в тетрамерах и пентамерах сс-белков (табл. 4, 5) и в четырехспиральных пучках глобулярных белков. В тримерах сс-белков упаковка α -спиралей больше похожа на упаковку “бок о бок”, хотя имеет некоторые признаки упаковки “лоб в лоб” (табл. 3). Таким образом, в различных упаковках α -спиралей гидрофобные боковые цепи располагаются по-разному друг относительно друга и относительно остовов α -спиралей, т.е. имеют разное структурное окружение, что существенно влияет на их конформацию.

В табл. 1 представлены рассчитанные углы χ_1 для всех остатков, расположенных в а- и d-позициях сс-димеров, в которых α -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 χ_1 для остатков Leu в а- и d-позициях сс-димеров с параллельной упаковкой α -спиралей.

Рассчитанные значения углов χ_1 для остатков в а- и d-позициях α -спиралей 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 α -спиралей, хотя и менее ярко выраженная. Будем считать t -изомерами такие конформации боковых цепей, которые имеют углы χ_1 в интервале от -150° до $+150^\circ$, а g^- -изомерами – в интервале от -50° до -100° . Эти критерии более жесткие чем, напри-

Таблица 1. Углы χ_1 для остатков в а- и d-позициях в димерах се-белков с параллельной упаковкой α -спиралей*

№	Код PDB	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										
2	1DH3(A)	169	L290	R294	A297	R301	K304	V308	L311	V315	L318	N322	L325	L329	L332						
		E287	L290	R294	A297	R301	K304	V308	L311	V315	L318	N322	L325	L329	L332						
3	1GD2(E)	-155	L104	V108	L111	H115	T118	N122	L125	V129	L132	L136	L139								
		L101	L104	V108	L111	H115	T118	N122	L125	V129	L132	L136	L139								
4	1ZII(A)	M2	L5	V9	L12	A16	L19	V23	L26	V30	R33										
		-176	L5	V9	L12	A16	L19	V23	L26	V30	R33										
5	1UIX(A)	V982	L985	K989	L992	L996	A999	L1003	L1006	E1010	A1013	K1017	F1020	L1024	E1027	K1031	A1034	L1038			
		171	L985	K989	L992	L996	A999	L1003	L1006	E1010	A1013	K1017	F1020	L1024	E1027	K1031	A1034	L1038			
6	1KDD(A)	V2	L5	V9	L12	L16	L19	V23	L26	N30	C33										
		178	L5	V9	L12	L16	L19	V23	L26	N30	C33										
7	1CZ7(A)	L321	C324	L328	S331	R335	L338	V342	L345												
		157	C324	L328	S331	R335	L338	V342	L345												
8	1KQL(A)	V32	L35	N39	L42	V46	L49	V53	L56	L60	Q63	Y67	I70	L74	A77	M81					
		171	L35	N39	L42	V46	L49	V53	L56	L60	Q63	Y67	I70	L74	A77	M81					
9	1S9K(D)		L165	T169	L172	K176	L179	I183	L186	K190											
			L165	T169	L172	K176	L179	I183	L186	K190											
10	1S9K(E)	R280	K283	I287	L290	V294	L297	N301	L304	A308	L311	V315	L318								
		-83	K283	I287	L290	V294	L297	N301	L304	A308	L311	V315	L318								
11	1LLM(C)	H50	I53	L57	L60	V64	L67	N71	L74	V78	L81	V85									
		159	I53	L57	L60	V64	L67	N71	L74	V78	L81	V85									
12	1CE9(A)	V3	L6	V10	L13	N17	L20	V24	L27	V31	R34										
		47	L6	V10	L13	N17	L20	V24	L27	V31	R34										
13	1T6F(A)	L2	A5	N9	L12	I16	K19	I23	L26	N30	L33	A37									
		-104	A5	N9	L12	I16	K19	I23	L26	N30	L33	A37									
14	1P9I(A)	M1	L4	L8	L11	N15	L18	V22	L25	V29											
		-	L4	L8	L11	N15	L18	V22	L25	V29											
			-135	169	-77	174	-71	166	-67	163											

* В этой и последующих таблицах углы χ_1 измерены в градусах и показаны под соответствующими остатками и их номерами.

Параллельные димеры

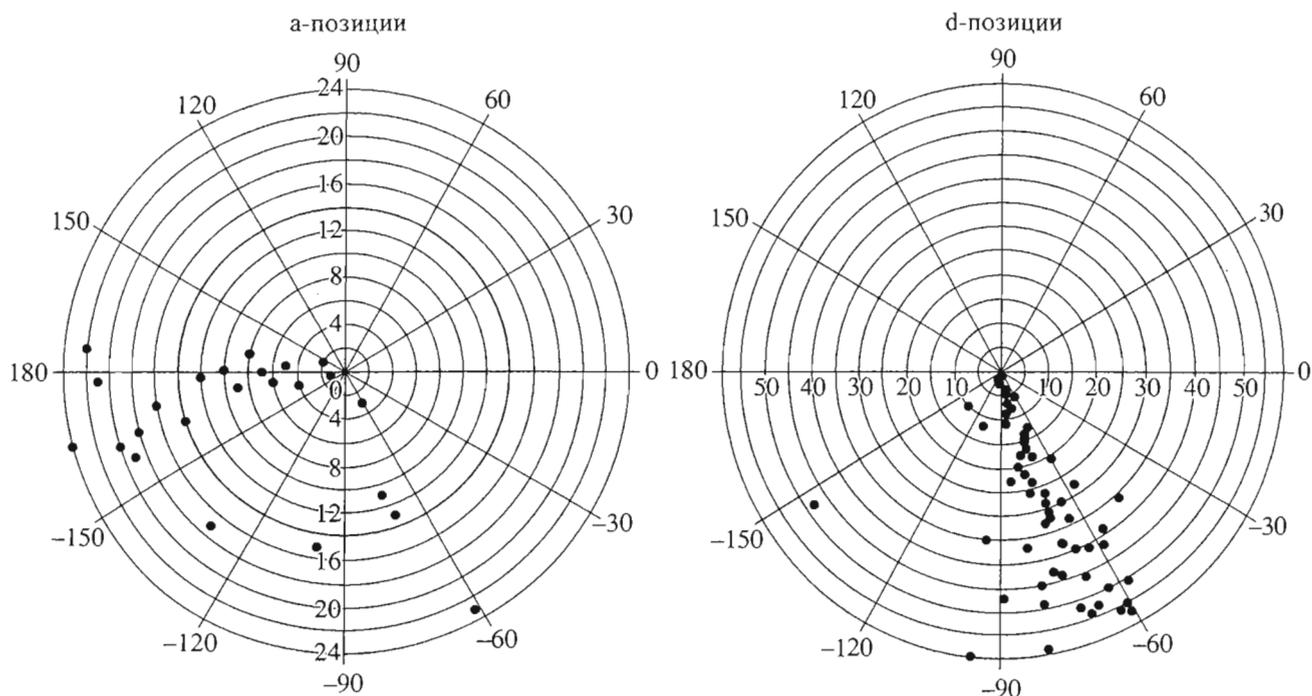


Рис. 1. Распределение торсионных углов χ_1 для лейцинов, находящихся в а- и d-позициях параллельных α -димеров (на основе данных табл. 1), показанное с помощью круговых диаграмм. Верхние полуокружности соответствуют положительным ($\chi_1 = 0-180^\circ$), нижние – отрицательным ($\chi_1 = 0- -180^\circ$) значениям углов.

Антипараллельные димеры и шпильки

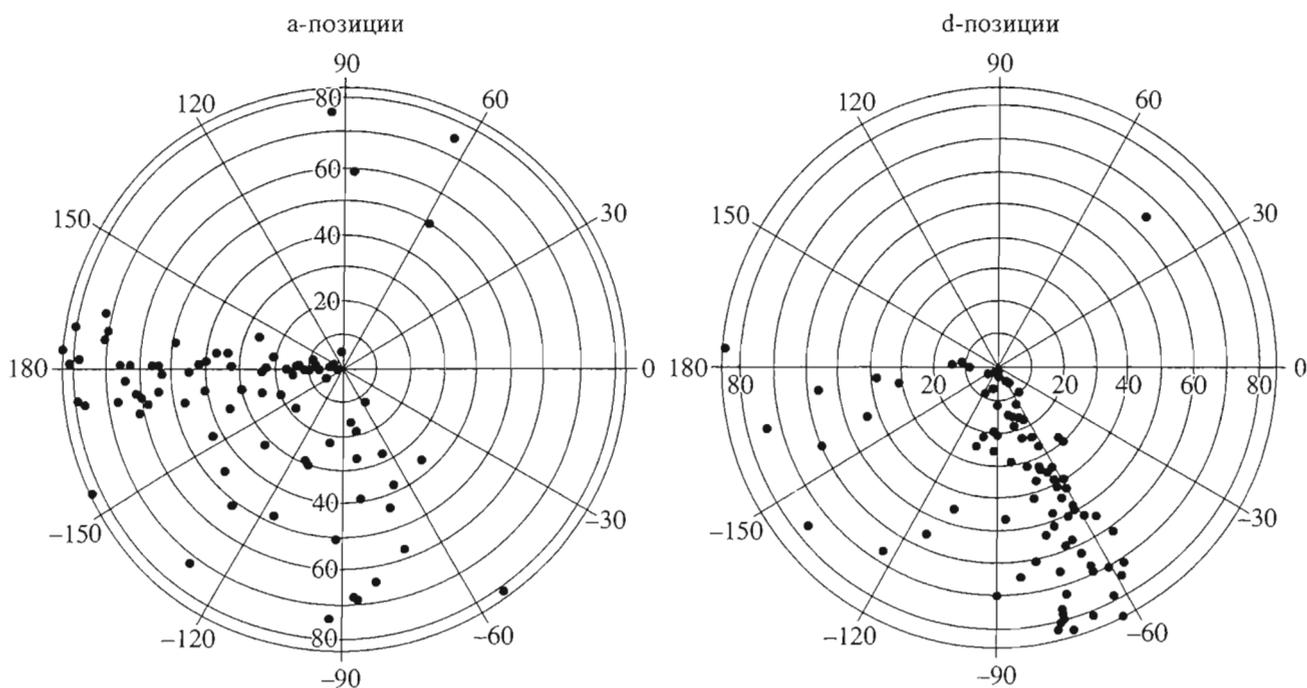


Рис. 2. Распределение торсионных углов χ_1 для остатков Leu, Phe и Tyr, находящихся в а- и d-позициях антипараллельных α -димеров и α -спиральных шпилек (на основе данных табл. 2), показанное с помощью таких же диаграмм, как на рис. 1.

Таблица 2. Продолжение

№	Код PDB	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d
10	IIDS(1)		G22	E26	H29	H33	Y36	A40	A43	L47	A50								
	IIDS(2)			-178	-179	-165	-63	-	-60	-81	-								
11	IQOI(1)	P629	L632	170	-76	H73	H76	W80	L83										
	IQOI(2)	A655		-86	-64	178	-72	-57	-57										
12	IQSD(1)	L6	K9	-100	L665	F669	A672												
	IQSD(2)	L48	Q51	180	-95	E20	Y23	L27	Q30	V34	L37								
13	ISRY(1)	L30	L33	-178	L40	L44	V47	R51	V54	-177	176								
	ISRY(2)	-178	L69	G73	L76	A80	L83	L87	K90	L94	L97								
14	ICII(1)		L232	Q236	L239	Q243	N246	I250	A253	L257	V260								
	ICII(2)			71	-116	-165	179	-60	-	173	168								
			A383	I387	A390	V394	A397	L401	R404	Q408	A411								
				-56	-	158	-	-172	-72	-167	-								
			I425	L429	I432	I436	E439	Q443											
			-72	-164	-77	-61	172	-159											
			I70	D74	I77	K81	L84	Q88	N91	R95	A98								
			-47	-90	-73	-73	-60	-173	-112	-180	-								
			Q132	L136	A139	E143	F146	I150	Y153	R157	T160								
			-170	159	-	-178	-63	-53	-76	-164	-58								
15	IL8D(1)	L399	L402	K406	I409	R413	I416	I420	L423	I427	L430								
	IL8D(2)	D453	R456	L460	Y463	L467	S470	L474	L477	K481	L484								
		-59	175	-81	-69	-139	-58	-173	-112	-178	-73								
		T17	L20	F24	L27	Y31													
16	IFPO(1)	55	179	164	-72	-54	L61												
	IFPO(2)	Q44	A47	S51	I54	W58	-64												
		-65	-	-169	-60	152													

Таблица 2. Окончание

№	Код PDB	a	d	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									
24	1K1F(A)	V28 168	M49 -61	K53 -154	L56 -94	I60 -75	M63 -162	Y67 -154	K70 73	M56 -	L59 -65	L63 64	E66 -178				
25	1ENV(A)		I31 -43	L35 -169	A38 -	I42 -74	L45 -64	V49 170	E52 -63	L55 -87	T58 62						
26	1JAL(A)	W117 -171	W120 -177	I124 -87	Y127 -77	I131 -58	L134 -87	S138 -64	Q141 -103	N145 -66	E148 -77	L152 -93					
27	1QVR(A)		A133 -	L137 178	C140 179	I144 -79	L147 -70	A151 -	G154 -								
	1QVR(A)	L162 176	M165 -64	L169 172	L172 -63												
	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 χ_1 для остатков в **a**- и **d**-позициях тримеров

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

мер, в работе [7], где *t*-изомерами считают конформации с углами $\chi_1 = 180 \pm 60^\circ$, а *g*⁻-изомерами – конформации с углами χ_1 от 0° до -120° . Простой подсчет показывает, что 64% боковых цепей Leu, Phe и Tyr, находящихся в *a*-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 *a*-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

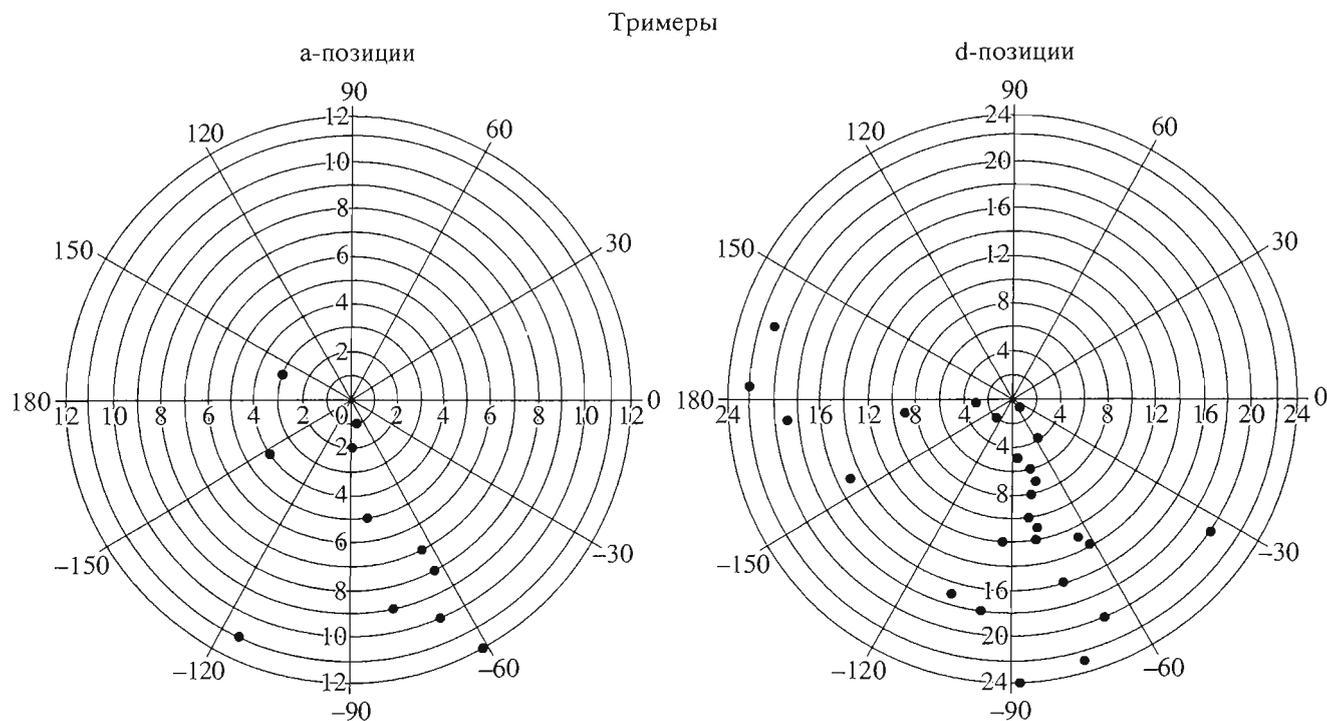


Рис. 3. Распределение торсионных углов χ_1 для остатков Leu, Phe и Tyr, расположенных в а- и d-позициях тримеров (на основе данных табл. 3). Обозначения такие же, как на рис. 1.

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 χ_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	4NB1(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	

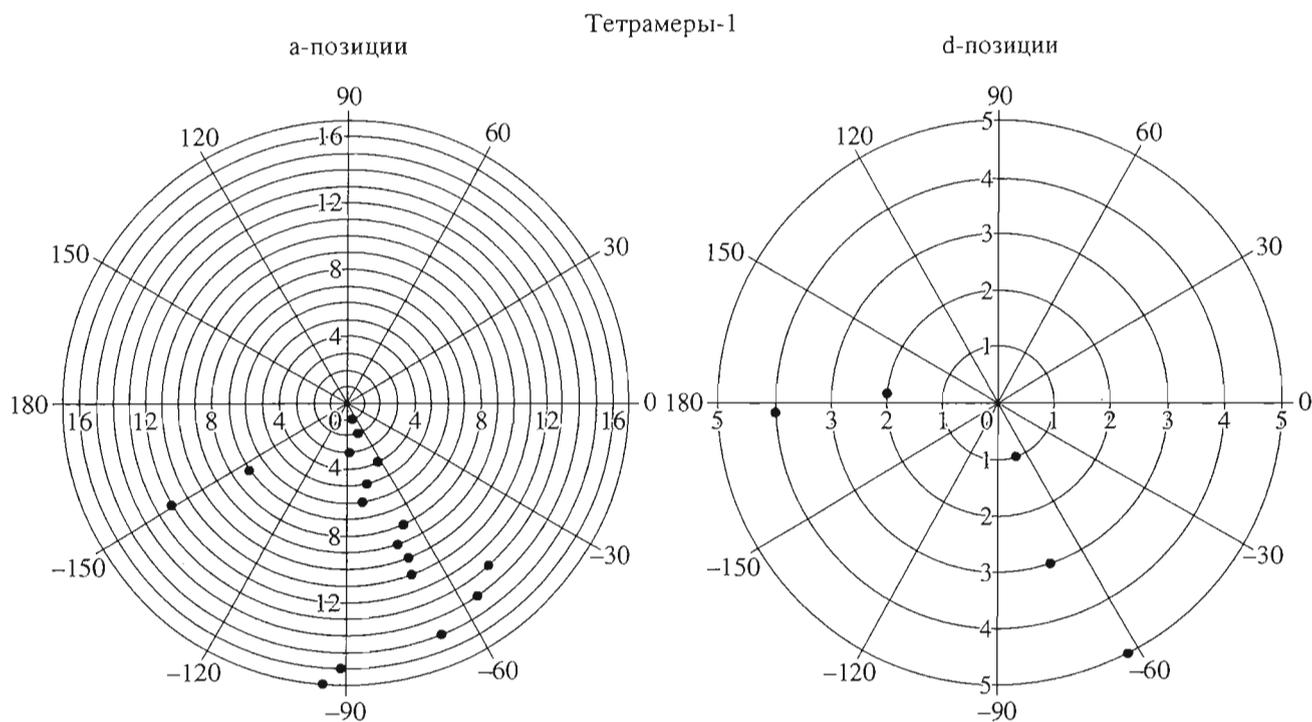


Рис. 4. Распределение торсионных углов χ_1 лейцинов, находящихся в а- и d-позициях тетрамеров-1 (на основе данных табл. 4). Обозначения такие же, как на рис. 1.

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 Tug 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 α -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 α -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 α -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 α -спиралей. Таким образом, межспиральные взаимодействия и стремление к плотной упаковке сближают между собой остовы α -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 Tug, но и C _{β} -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 χ_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	Y88 -61	K91 170
	ISFC(B)																		
	ISFC(C)																		
	ISFC(D)																		
2	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	A195 - L224	M202 -57 A227
	IGL2(C)																		
	IGL2(D)																		
3	IHVV(D)	I195 -78	R198 177 M33	I202 -69 L37	L205 -180 T40	I209 -70 L44	L212 177 V47	F216 -67 L51	M219 179 Q54	V223 171 I58	Q226 -64 L61	I230 -69 V65	I233 -74 C68	V237 168	A240 - -	V244 -56	A247 -		
4	IVDF(A)*																		
5	INHL	A36	S39	G43	T46	L50	Q53	L57	I60	L64	I67	M71	T74	L78	L81				
6	IJTH(A)	D4	M7	L11	M14	A18	L21	S25	S28	M32	L35	S39	A42						
	IJTH(A)																		
	IJTH(B)																		
7	2B1F(D)	L5 -67	A8	L12	A15	L19	A22	L26	L29	V223 167	Q226 -73	I230 -78	I233 -73	V237 171					
8	4HB1(A)																		
9	IGCL(A)	M2 -59	I5 -87	L9 -77	I12 -58	L16 -71	I19 -82	L23 -49	I26 -67	L30 -95									
10	IG11(A)																		
11	IHTM(B)**	N49 -88	L52 174	I56 -62	T59 66	F63 -81	I66 -63	F70 -92	V73 147	I77 -64	L80 180	V84 168	T87 -75	L91 -77	Y94 176	V237			

* Пентамер. ** Тример.

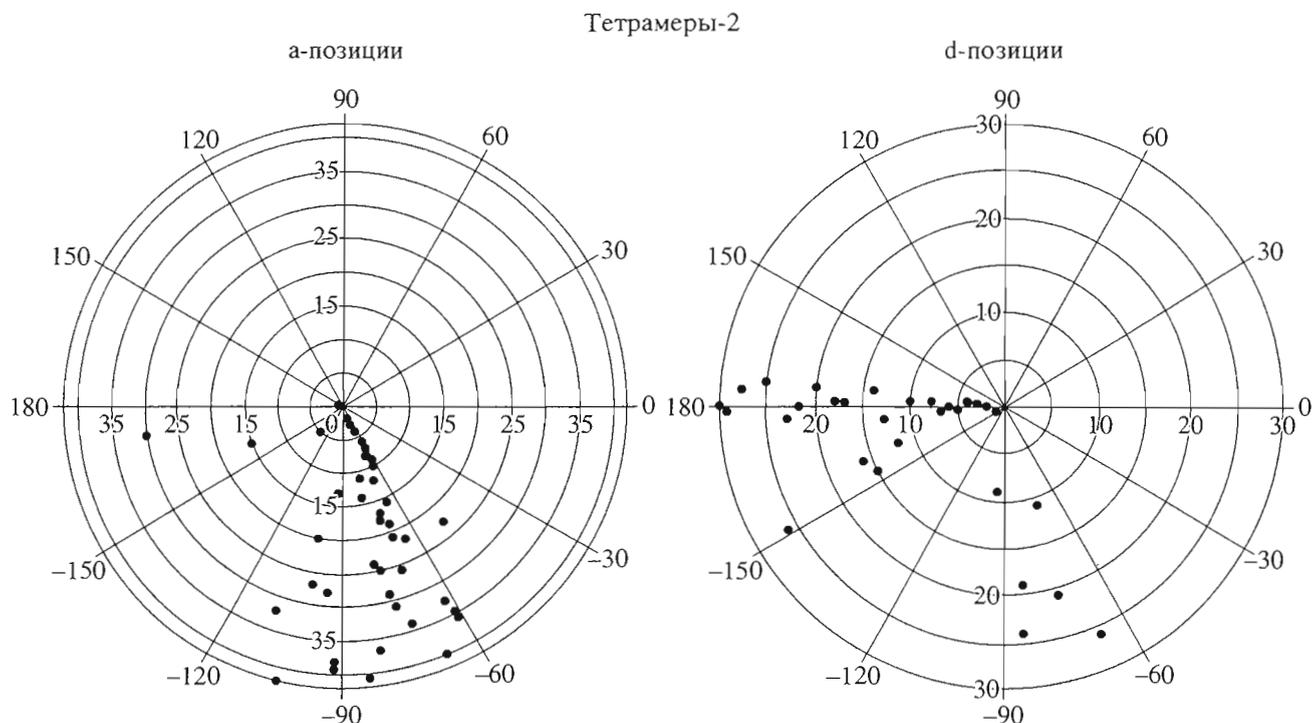


Рис. 5. Распределение торсионных углов χ_1 для остатков Leu, Phe и Trp, находящихся в а- и d-позициях тетрамеров-2 (на основе данных табл. 5). Обозначения такие же, как на рис. 1.

сто краевые эффекты. По-видимому, это связано с тем, что в ряде случаев α -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 α -спиральных белках (см. [9, 10]), что явится предметом наших дальнейших исследований.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Janin J., Wodak S., Levitt M., Maigret B. 1978. Conformation of amino acid side-chains in proteins. *J. Mol. Biol.* **125**, 357–386.
- 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.
- 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.
- Dunbrack R.L., Jr., Karplus M. 1993. Backbone-dependent rotamer library for proteins: Application to side-chain prediction. *J. Mol. Biol.* **230**, 543–571.
- Lovell S.C., Word J.M., Richardson J.S., Richardson D.C. 2000. The penultimate rotamer library. *Proteins.* **40**, 389–408.
- 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.
- Dunbrack R.L., Jr., Cohen F.E. 1997. Bayesian statistical analysis of protein side-chain rotamer preferences. *Protein Sci.* **6**, 1661–1681.
- Chamberlain A.K., Bowie J.U. 2004. Analysis of side-chain rotamers in transmembrane proteins. *Biophys. J.* **87**, 3460–3469.
- Ефимов А.В. 1977. Стереохимия упаковок α -спиралей и β -структуры в компактной глобуле. *Докл. АН СССР.* **235**, 699–702.
- Ефимов А.В. 1979. Packing of α -helices in globular proteins. Layer-structure of globin hydrophobic cores. *J. Mol. Biol.* **134**, 23–40.
- Lupas A. 1996. Coiled coils: new structures and new functions. *Trends Biochem. Sci.* **21**, 375–382.
- Ефимов А.В. 1999. Complementary packing of α -helices in proteins. *FEBS Lett.* **463**, 3–6.
- Koradi R., Billeter M., Wutrich K. 1996. MOLMOL: a program for display and analysis of macromolecular structures. *J. Mol. Graph.* **14**, 51–55.