



УДК 547.962:541.68

## КОНФОРМАЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ФРАГМЕНТОВ ОНКОБЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА p21ras

### 4. АДРЕСНЫЕ ФРАГМЕНТЫ РЕЦЕПТОРНЫХ ОНКОБЕЛКОВ

© 2003 г. К. Д. Мзареулов

Бакинский государственный университет, 370033, Баку, Московский просп., 66–20, Азербайджан

Поступила в редакцию 09.01.2002 г. Принята к печати 12.08.2002 г.

Представлены результаты теоретического конформационного анализа декапептидных фрагментов онкобелков scg, fgr, fps и yes, для которых выявлено расположение ионизированных радикалов, комплементарное к участку связывания p21. Показано сходство конформационных свойств исследованных последовательностей, а также структурная комплементарность этих пептидов адресному фрагменту p21. На основе данных вычислительного эксперимента предложена модель взаимодействия между онкобелками семейства p21ras и их клеточными рецепторами.

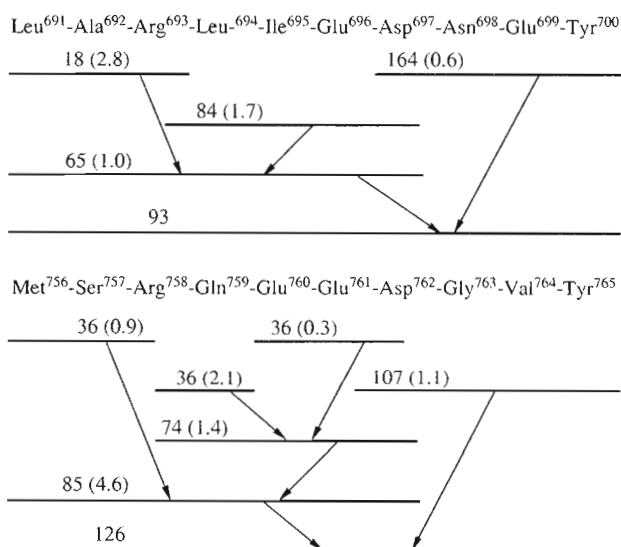
**Ключевые слова:** онкобелок p21, ras, участок связывания, пространственная структура, клеточные рецепторы.

Первые статьи данного цикла [1–3] были посвящены изучению структурных свойств ряда функциональных фрагментов онкобелков семейства p21ras. В настоящей работе излагаются результаты исследования пространственного строения и конформационных возможностей нескольких клеточных онкобелков, которые, как следует из экспериментальных данных (подробнее см. [1]), могут образовывать комплексы с p21. Был проведен теоретический конформационный анализ двух декапептидов: фрагмента 756–765 онкобелка fps, а также фрагмента 691–700 онкобелка yes. Отметим, что последовательность, полностью идентичная участку 691–700 полипептидной цепи yes, содержится также в онкобелках scg и fgr, занимая в их первичной структуре позиции соответственно 407–416 и 544–553. Аминокислотные последовательности и схемы поэтапного конформационного анализа обоих фрагментов представлены на рис. 1.

#### Декапептид 691–700 онкобелка yes

Для промежуточных перекрывающихся фрагментов указанного отрезка молекулы (рис. 1) не было выявлено выраженной энергетической дифференциации по формам их основной цепи. Так, в случае трипептида 691–693 минимуму относительной энергии соответствует шейп *fe*, однако и другие структурные типы характеризуются сравнительно низкими величинами относительной энергии: 1.7 (*ee*), 2.8 (*ef*) и 3.4 (*ff*) ккал/моль.

Еще слабее выражена энергетическая дифференциация структур для тетрапептида 697–700, для которого восемь шейпов имеют относительную энергию, не превышающую 3.2 ккал/моль. При этом оптимальная конформация принадлежит структурному типу *eff*, далее, в порядке возрастания относительной энергии, следуют шейпы *ffe* ( $E_{отн} = 0.2$  ккал/моль), *fee* (0.6), *fef* (1.0), *f<sub>3</sub>* (1.1).



**Рис. 1.** Схема поэтапного расчета фрагмента 691–700 онкобелка yes и фрагмента 756–765 онкобелка fps. Для каждого фрагмента указаны число рассчитанных структурных вариантов и относительная энергия конформационного состояния (в скобках, ккал/моль), соответствующего геометрии глобальной структуры всей последовательности.

Сообщение 3 см. [1].

Эл. почта: stegocefal@mail.ru.

**Таблица 1.** Величины относительной энергии, невалентного, электростатического и торсионного вкладов (ккал/моль) и расстояния между концевыми атомами  $C^\alpha$  (Å) для наиболее предпочтительных структур фрагмента 691–700 онкобелка yes

Шейпы	Конформации	$E_{отн}$	$E_{нев}$	$E_{эл}$	$E_{торс}$	$R(C_{691}^\alpha - C_{700}^\alpha)$		
<i>efefef</i>	<i>fee</i>	$B_3R_1B_{23}R_{21}B_1R_3$	$R_2B_1B_2R_3$	0.0	-51.2	14.8	6.2	15.2
	<i>fef</i>		$R_2B_1R_3R_3$	8.6	-42.0	15.3	5.1	18.2
<i>ffe<sub>3</sub>ffee</i>	$R_3R_1B_{21}B_3B_3R_3R_2B_1B_2R_3$			1.6	-47.6	15.0	4.1	12.1
<i>f<sub>9</sub></i>	$R_2R_1R_1R_{21}R_3R_3R_2R_1R_3R_3$			3.9	-59.9	21.1	12.5	9.9
<i>e<sub>3</sub>fef</i>	<i>fee</i>	$B_3B_1B_3R_{21}B_1R_3R_2$	$B_1B_2R_3$	4.7	-44.8	14.8	4.4	18.1
	<i>fef</i>		$B_1R_3R_3$	7.5	-40.7	13.8	4.3	20.4
<i>ffefeffee</i>	$R_3R_1B_{23}R_{21}B_1R_3R_2B_1B_2R_3$			5.0	-45.3	15.0	5.2	15.4
<i>ffefefee</i>	<i>eff</i>	$R_3R_1B_{23}R_{21}B_2B_3$	$B_2R_2R_3R_3$	6.0	-47.3	17.6	5.4	17.6
	<i>f<sub>3</sub></i>		$R_2R_1R_3R_3$	7.0	-46.3	18.8	4.4	11.2
	<i>fee</i>		$R_1B_1B_2B_3$	7.3	-44.3	17.2	4.2	16.8
	<i>efe</i>		$B_3R_3B_3R_3$	8.1	-43.3	17.5	3.7	19.0
	<i>fef</i>		$R_1B_1R_3R_3$	8.2	-44.3	18.2	4.1	18.6
	<i>ffe</i>		$R_1R_1B_2R_3$	8.3	-46.6	19.8	4.9	17.2
	<i>e<sub>3</sub></i>		$B_2B_2B_2R_3$	9.1	-43.3	18.2	4.1	24.5
<i>efeffeffe</i>	$B_2R_1B_{23}R_{21}R_3B_3R_3R_3B_3R_3$			9.1	-47.3	20.7	5.5	10.6

При составлении исходных вариантов для исследования строения пентапептида 693–697 использовались данные, полученные ранее при изучении структурных свойств гомологичных участков онкобелка p21 [1, 2]. Пентапептид 693–697 также оказался лабильным. Глобальная конформация обладает строением основной цепи, которое соответствует структурному типу *e<sub>3</sub>f*. Относительную энергию около 1.6 ккал/моль имеют шейпы *f<sub>4</sub>*, *effe* и *efef*, а для шейпов *e<sub>4</sub>*, *eeff* и *efee* относительные энергии равны соответственно 2.1, 3.1 и 3.8 ккал/моль. Подобная неопределенность строения пентапептида, три из пяти остатков которого несут на боковых цепях ионизированные радикалы, связана с множественностью форм основной цепи, благоприятствующих реализации различных контактов остатка аргинина с глутаминовой и аспарагиновой кислотами. В результате этого практически нивелируется различие в энергии даже между полностью свернутым и полностью развернутым структурными типами.

Лабильность трехмерной структуры оказалась присущей и фрагменту 691–697, для которого относительную энергию ниже 8.0 ккал/моль имеют 12 шейпов, обладающих принципиально различным строением полипептидного остова. Оптимальная конформация этого гептапептида принадлежит шейпу *ffefee*, т.е. “состыкована” из тех форм фрагментов 691–693 и 693–697, которые имели далеко не самые выгодные энергетические параметры: 3.4 и 3.8 ккал/моль соответственно. Низкая энергия данного структурного типа объяс-

няется оптимальным балансом невалентных и кулоновских вкладов, включая исключительно сильный (-15.7 ккал/моль) контакт между аргинином и глутаминовой кислотой, а также интенсивные невалентные взаимодействия пространственно сближенных массивных боковых цепей изолейцина, аргинина и двух остатков лизина. Глобальной конформации существенно уступают структуры *fef<sub>4</sub>*, *efe<sub>3</sub>f* и *ffe<sub>3</sub>f*, относительные энергии которых равны соответственно 4.6, 4.7 и 5.3 ккал/моль. Далее, в порядке возрастания энергии, следуют родственные шейпы *efeffe* ( $E_{отн} = 5.7$  ккал/моль), *efefef* (6.0), *efeeff* (6.4) и *e<sub>3</sub>fef* (6.9). Относительная энергия  $\alpha$ -спиральной структуры составила 7.3 ккал/моль.

Основные энергетические и геометрические характеристики оптимальных структур всего декапептидного фрагмента представлены в табл. 1–4. На рис. 2 схематически изображено строение основной цепи важнейших конформаций декапептида.

Глобальная конформация  $B_3RB_{23}R_{21}B_1R_3R_2B_1B_2R_3$  образует развернутую структуру полипептидного остова с изгибом на участке 697–700. Встречная ориентация боковых цепей Arg693 и Glu696 приводит к оптимальному сближению разноименно заряженных радикалов с образованием солевого мостика (табл. 3). Пространственно сближенными оказываются также боковые цепи других пар аминокислотных остатков: Ile695–Glu699 и Asp697–Asn698 (табл. 2). Вклад последнего контакта составляет -4.8 ккал/моль. Боковые цепи обоих остатков лейцина экспонированы в растворитель,

энергия взаимодействия между этими остатками составляет -3.0 ккал/моль. Среди прочих межостаточных взаимодействий, не вошедших в табл. 2, отметим взаимодействия остатка Arg693 с остатками Leu691 и Tyr700, энергия которых составляет -1.5 ккал/моль. Наиболее интенсивные контакты формируются ионогенными боковыми радикалами остатков фрагмента 691-699 (табл. 2).

Более выраженный изгиб основной цепи пептида характерен для конформации  $R_3RB_{21}B_{31}B_3R_3R_2B_1B_2R_3$  шейпа  $ffe_3ffe$ , энергия которой несильно отличается от глобальной, разница составляет ~1.6 ккал/моль (табл. 1). В полости, образованной изгибом пептидного скелета, расположены боковые цепи остатков аргинина, изолейцина, тирозина и двух остатков глутамата. Энергия взаимодействия остатка тирозина с остатками аргинина и аспарагиновой кислоты составляет соответственно -2.9 и -4.5 ккал/моль. Боковые цепи остатков лейцина, как и в случае глобальной по энергии конформации, удалены от области компактной укладки атомов. Боковые цепи остатков аспарагина и аспарагиновой кислоты также обращены в растворитель. Как следствие, эти остатки взаимодействуют лишь с соседними по цепи пептидными звеньями молекулы.

Среди спиральных структур наиболее предпочтительной оказалась конформация  $R_2RR_1R_{21}R_3R_3R_2R_1R_3R_3$ . Боковые цепи большинства аминокислотных остатков направлены вдоль полипептидного остова и участвуют в интенсивных невалентных и кулоновских взаимодействиях. Значения энергии взаимодействия попарно сближенных боковых цепей остатков Leu691-Glu696 и Ile695-Tyr700 равны соответственно -4.6 и -3.8 ккал/моль, а взаимодействие остатков Glu699 и Tyr700 вносит в полную энергии конформации вклад, составляющий -2.1 ккал/моль. Свернутое строение полипептидной цепи благоприятствует пространственной сближенности остатка Leu691 с Asp697 и Glu696 с Ala692. Энергия взаимодействия между указанными парами остатков составляет соответственно -2.4 и -2.3 ккал/моль, тогда как контакты остатка Ala692 с Leu691 и Asp697 характеризуются энергетическими вкладами в -1.7 ккал/моль. Ионизированные боковые цепи аргинина, глутаминовой и аспарагиновой кислот компактно расположены по одну сторону  $\alpha$ -спиральной основной цепи декапептидного фрагмента. В то же время следует отметить, что ориентация боковой цепи остатка Leu694 препятствует пространственному сближению разномимоно заряженных боковых цепей остатков Arg693 и Asp697.

**Таблица 2.** Значения энергии межостаточных взаимодействий на участке нуклеации 694-699 онкобелка yes, ккал/моль

Leu694	Ile695	Glu696	Asp697	Asn698	Glu699	
-3.1	-2.4	-13.2	-3.5	-0.6	-4.0	Arg693
-4.1	-1.4	-11.1	-3.5	-0.6	-3.7	
-0.4	-0.5	-4.9	-5.0	-1.1	-3.9	
	-3.3	-0.3	-0.1	0.0	-0.1	Leu694
	-1.7	-1.0	0.0	0.0	0.0	
	-3.1	-1.2	-1.5	-3.0	-3.5	
		-1.3	-1.1	-1.7	-2.4	Ile695
		-1.1	-1.0	-1.2	-3.5	
		-1.0	-0.9	-0.5	-2.7	
			4.0	-0.4	3.4	Glu696
			4.0	-0.4	3.4	
			5.5	-0.6	3.7	
				-4.6	3.4	Asp697
				-4.4	3.4	
				-2.8	3.2	
					-1.1	Asn698
					-1.3	
					0.0	

Примечание. В каждой ячейке таблицы: верхняя строка соответствует конформации  $efefeffe$ , средняя -  $ffe_3ffe$ , нижняя -  $f_9$ .

*Декапептид 756-765 онкобелка fps*

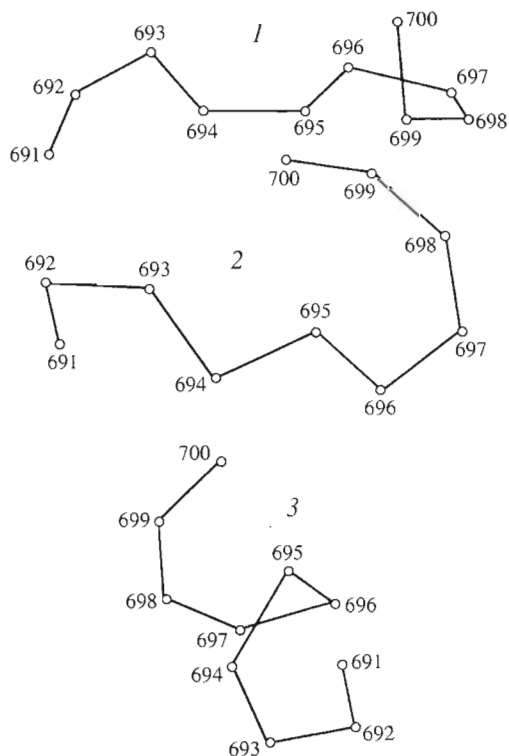
В ходе изучения ди- и трипептидных составляющих этого фрагмента не было выявлено существенной энергетической предпочтительности каких-либо структурных типов. Так, в случае фрагмента 756-757 шейпы  $fe$  и  $ef$  характеризуются относительной энергией соответственно 0.0 и 0.9 ккал/моль, тогда как полностью свернутый и полностью развернутый структурные типы имеют одинаковую относительную энергию  $E_{отн} = 2.1$  ккал/моль. Для дипептида Arg-Gln дифференциация форм выражена так же слабо: конформационные состояния  $RB, BR, RR$  и  $BB$  имеют значения относительной энергии соответственно 0.0, 1.8, 1.9 и 2.1 ккал/моль.

Особо отметим участок Glu760-Glu761-Asp762, включающий три аминокислотных остатка, боковые цепи которых несут отрицательные заряды. Кулоновское отталкивание одноименно заряженных радикалов дестабилизирует структуру трипептида, в результате чего большинство исследованных конформаций этой последовательности имеют относительную энергию, не превышающую 5.0 ккал/моль. Для оптимальных представителей шейпов  $ff, fe, ef$  и  $ee$  относительная энергия составляет соответственно 0.0, 0.1, 0.3 и 0.6 ккал/моль.

**Таблица 3.** Длины водородных связей (Å) в наиболее предпочтительных структурах фрагмента 691–700 онкобелка уес

Водородные связи	<i>efefeffee</i>	<i>ffe<sub>3</sub>ffee</i>	<i>f<sub>9</sub></i>
Leu691 NH...O <sup>δ</sup> Asp697	–	–	2.59
Arg693 H <sup>ε</sup> ...OC Leu694	–	2.62	–
Arg693 H <sup>ε</sup> ...O <sup>δ</sup> Glu696	2.87	–	–
Arg693 H <sup>ε</sup> ...OC Leu694	2.11	–	–
Arg693 H <sup>ε</sup> ...O <sup>δ</sup> Glu696	2.07	1.90	–
Arg693 CO...H <sup>δ</sup> Asn698	–	–	2.50
Leu694 CO...HN Asp697	–	–	2.72
Leu694 CO...H <sup>δ</sup> Asn698	–	–	2.60
Leu694 CO...HN Glu699	–	–	2.28
Ile695 CO...HN Asp697	–	–	3.42
Ile695 CO...HN Tyr700	–	–	1.94
Asp697 O <sup>δ</sup> ...HN Asn698	3.23	3.22	3.38
Asp697 O <sup>δ</sup> ...H <sup>δ</sup> Asn698	1.86	1.94	2.97
Asn698 H <sup>δ</sup> ...O <sup>ε</sup> Tyr700	2.21	2.11	–

Таким образом, вычисления позволили определить наиболее выгодные ориентации боковых цепей этой тройки остатков, а также получить оптимальные значения двугранных углов для ис-



**Рис. 2.** Схематическое изображение структуры наиболее вероятных конформаций фрагмента 691–700 онкобелка уес: 1 – *efefeffee*, 2 – *ffe<sub>3</sub>ffee*; 3 – *f<sub>9</sub>*.

пользования в качестве начальных приближений при расчете более протяженных отрезков последовательности. Так было показано, что для обоих остатков глутаминовой кислоты наименее выгодно значение угла боковой цепи  $\chi_1 = 60^\circ$ , тогда как минимальным величинам полной энергии трипептида соответствуют значения  $\chi_1$  вблизи  $-60^\circ$ .

Расчет показал, что остатки фрагмента 762–765 характеризуются конформационной подвижностью. Минимуму полной энергии фрагмента отвечает шейп *fef*, всего 0.3 ккал/моль уступает оптимальной структуре наиболее низкоэнергетическая конформация шейпа *fee*, а шейпы *eef* и *e<sub>3</sub>* имеют относительную энергию соответственно 0.7 и 0.9 ккал/моль. Для преимущественно свернутых структур характерна энергетическая дифференциация не только по шейпам, но и по формам основной цепи. Например, в случае структурного типа *ffe* форма *BPRR* имеет относительную энергию, равную 1.1, а *RRBR* – 3.2 ккал/моль. Формы *BPRR* и *RRRR*, принадлежащие полностью свернутому структурному типу *f<sub>3</sub>*, имеют относительную энергию, равную соответственно 2.8 и 3.1 ккал/моль. Аналогично, относительная энергия формы *RPRR* (шейп *eff*) составляет 3.3 ккал/моль, тогда как для формы *BRRR* того же шейпа  $E_{\text{отн}} = 6.0$  ккал/моль.

Расчет позволил выявить конформационно жесткую структуру участка 758–762. Сильное электростатическое взаимодействие разноименных зарядов приводит к реализации лишь ограниченного числа энергетически предпочтительных форм основной цепи. Относительную энергию ниже 5.0 ккал/моль имеют представители четырех шейпов указанного фрагмента. Глобальная конформация принадлежит структурному типу *efee*, лишь 1.8 ккал/моль уступает гомологичная ему структура *efef*, полностью свернутый шейп *ffff* характеризуется относительной энергией  $E_{\text{отн}} = 3.3$  ккал/моль, а для нелинейной структуры *eeff*  $E_{\text{отн}} = 3.3$  ккал/моль. Далее, в порядке возрастания энергии, следуют конформации шейпов *eeef* ( $E_{\text{отн}} = 5.5$  ккал/моль), *e<sub>3</sub>f* (5.6) и *feff* (6.6).

Выраженная дифференциация структур заметна и среди конформаций гептапептида 756–762. Глобальному минимуму энергии соответствует полностью свернутый тип строения полипептидного остова, для которого величины дисперсионного, электростатического и торсионного вкладов равны соответственно  $-32.4$ ,  $11.2$  и  $4.2$  ккал/моль. Несколько более высокую энергию ( $E_{\text{отн}} = 2.6$  ккал/моль) имеют конформации шейпа *efefee*, в этом случае ранее перечисленные вклады составляют соответственно  $-30.3$ ,  $13.1$  и  $2.9$  ккал/моль. Таким образом,  $\alpha$ -спиральная структура обеспечивает баланс дисперсионных и кулоновских контактов, что сопровождается лишь незначительным отклонением величин двугранных углов от

**Таблица 4.** Минимизированные величины двугранных углов для декапептида 691–700 онкобелка уес, град

Остатки	Номер структуры*	Двугранные углы, град						
		$\omega$	$\varphi$	$\chi_1$	$\chi_2$	$\chi_3$	$\chi_4$	$\psi$
Leu691	1	-179	-109	-54	172	175	180	143
	2	177	-100	-53	176	-177	180	-59
	3	-177	-132	-168	158	-171	179	-70
	4	-178	-115	-59	171	-176	180	139
	5	-179	-99	-168	168	-167	180	-66
	6	180	-99	-53	176	-174	180	-57
Ala692	1	168	-79	61	-	-	-	-46
	2	174	-97	60	-	-	-	-54
	3	-177	-108	52	-	-	-	-85
	4	179	-100	60	-	-	-	116
	5	-176	-89	60	-	-	-	-52
	6	-179	-89	61	-	-	-	-53
Arg693	1	-177	-119	-152	-63	-179	180	102
	2	180	-119	168	60	-179	180	120
	3	-171	-159	54	-165	-179	175	-53
	4	-179	-120	-155	-62	180	-179	101
	5	-178	-118	-155	-63	180	180	101
	6	-177	-118	-154	-60	180	180	100
Leu694	1	174	-118	172	58	180	179	-62
	2	173	-78	-77	60	180	179	144
	3	-165	-118	176	64	180	178	-82
	4	177	-116	176	61	180	180	-62
	5	-179	-118	179	60	179	-178	-63
	6	177	-114	175	59	180	180	-59
Ile695	1	165	-135	58	-174	177	180	156
	2	-177	-94	-59	-179	179	180	118
	3	-167	-75	-60	-175	175	-176	-39
	4	167	-134	56	-173	-178	177	157
	5	166	-135	54	-179	-176	180	156
	6	177	-150	180	-175	180	-173	134
Glu696	1	174	-105	-64	180	90	-	-60
	2	-178	-101	-59	178	92	-	-63
	3	-174	-84	-61	179	90	-	-23
	4	173	-103	-64	180	91	-	-60
	5	174	-104	-64	180	90	-	-61
	6	180	-106	-62	175	89	-	140
Asp697	1	177	-112	173	89	-	-	-62
	2	180	-112	175	88	-	-	-61
	3	168	-88	180	90	-	-	-69
	4	177	-113	175	89	-	-	-63
	5	178	-112	174	91	-	-	-62
	6	180	-111	-169	90	-	-	163
Asn698	1	180	-125	61	91	-	-	177
	2	177	-123	62	91	-	-	174
	3	-166	-103	62	89	-	-	-40
	4	180	-124	61	90	-	-	176
	5	180	-124	62	91	-	-	177
	6	-173	-92	-175	93	-	-	-50

Таблица 4. Окончание

Остатки	Номер структуры*	Двугранные углы, град						
		$\omega$	$\varphi$	$\chi_1$	$\chi_2$	$\chi_3$	$\chi_4$	$\psi$
Glu699	1	-178	-91	-179	178	90	-	148
	2	-176	-92	-179	180	89	-	147
	3	-171	-71	-69	164	83	-	-63
	4	-178	-92	-179	178	90	-	148
	5	180	-94	179	-179	87	-	151
	6	-170	-87	-60	-178	90	-	-60
Tyr700	1	179	-128	-61	91	-	-	-59
	2	179	-128	-61	91	-	-	-59
	3	-172	-132	-59	99	-	-	-66
	4	179	-128	-61	91	-	-	-59
	5	179	-128	-60	90	-	-	-60
	6	-175	-140	-59	96	-	-	-61

\* В позициях 1 – 6 для каждого остатка представлены данные, соответствующие следующим структурам: 1 –  $efefef_2e_2$ ; 2 –  $f_2ef_2e_2$ ; 3 –  $f_9$ ; 4 –  $efefef_2e_2$ ; 5 –  $f_2efef_2e_2$ ; 6 –  $f_2efef_2$ .

их наиболее оптимальных значений. Для низкоэнергетических конформаций шейпов  $ef_3fee$ ,  $ffefee$  и  $feefee$  значения относительной энергии составляют соответственно 3.2, 3.4 и 4.0 ккал/моль, а для шейпов  $efefef$  и  $ef_4$  величина  $E_{отн}$  равна соответственно 4.6 и 4.7 ккал/моль. Одинаковую относительную энергию 5.2 ккал/моль имеют шейпы  $efeeff$  и  $ffefef$ . Таким образом, наиболее предпочтительными для данного гептапептида оказались конформации, у которых конформационно жесткая нуклеация имеет строение  $efee$ ,  $f_4$  и  $efef$ .

На основе данных, полученных при исследовании гептапептида 756–762 и тетрапептида 762–765, был осуществлен конформационный анализ всей последовательности фрагмента 756–765. Результаты вычислений представлены в табл. 4–6 и на рис. 3.

Наиболее предпочтительные формы декапептида составлены из весьма ограниченного набора структурных блоков. Так, для последовательности 756–761 энергетически выгодными оказываются конформации, принадлежащие шейпу  $efefe$

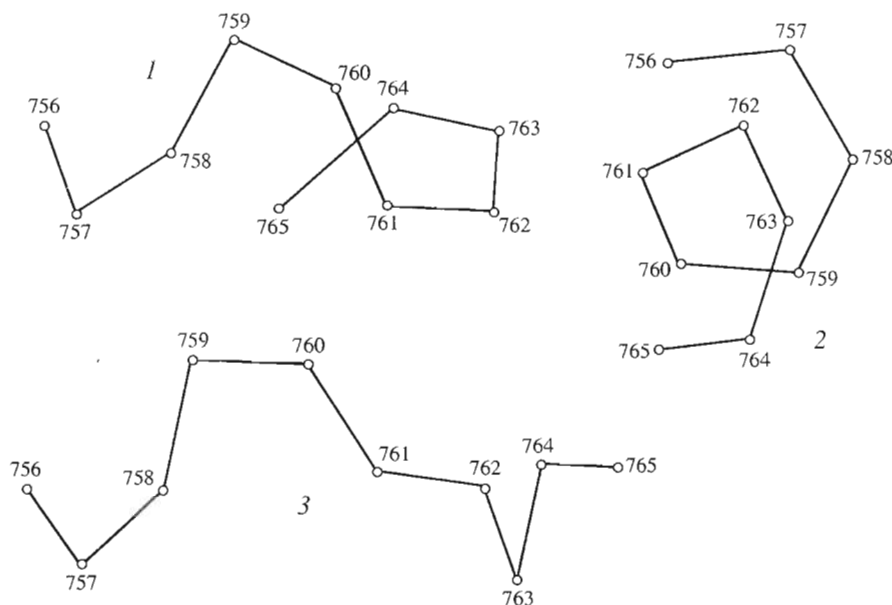


Рис. 3. Схематическое изображение структуры наиболее вероятных конформаций фрагмента 756–765 онкобелка fps: 1 –  $efefef_3e$ , 2 –  $f_9$ , 3 –  $efefeeefee$ .



**Таблица 5.** Величины относительной энергии, невалентного, электростатического и торсионного вкладов (ккал/моль) и расстояния между концевыми атомами C<sup>α</sup> (Å) для наиболее предпочтительных по энергии структур фрагмента 756–765 онкобелка fps

Шейпы	Конформации	$E_{отн}$	$E_{нев}$	$E_{эл}$	$E_{торс}$	$R(C_{756}^{\alpha}-C_{765}^{\alpha})$
<i>efefef<sub>3e</sub></i>	$B_1R_1B_1R_2B_3R_3B_3PB_2R_3$	0.0	-49.5	15.2	3.4	13.8
<i>f<sub>9</sub></i>	$R_3R_1R_3R_3R_3R_2R_2RR_2R_2$	1.2	-48.5	14.2	4.6	8.1
<i>ffefef<sub>3e</sub></i>	$R_2R_1B_1R_2B_3R_3B_1PB_2R_3$	3.2	-46.8	15.5	3.6	12.9
<i>efefeefee</i>	$B_1R_1B_1R_2B_3B_1R_1BB_2R_3$	3.7	-44.5	13.2	4.2	18.0
<i>efefeefef</i>	$B_1R_1B_1R_2B_3B_2R_2BR_2R_3$	3.9	-44.2	13.3	3.8	19.6
<i>e<sub>3</sub>feefef</i>	$B_2B_3B_1R_2B_3B_1R_1BR_2R_3$	4.5	-43.5	13.5	3.6	14.2
<i>efefeefee</i>	$B_1R_1B_1R_2B_3R_3R_1BB_2R_3$	5.2	-45.3	16.0	3.6	18.1
<i>efefe<sub>5</sub></i>	$B_1R_1B_2R_2B_3B_1B_2BB_2R_3$	5.5	-44.0	14.7	4.0	18.5
<i>ffefeefee</i>	$R_2R_1B_1R_2B_3R_3R_3BB_2R_3$	5.9	-44.2	15.8	3.5	16.7
<i>efefeefef</i>	$B_1R_1B_1R_2B_3R_3R_1BR_2R_3$	6.3	-44.7	16.3	3.2	19.6
<i>e<sub>3</sub>fe<sub>5</sub></i>	$B_2B_3B_1R_2B_3B_1B_2BB_1R_3$	6.3	-42.1	13.6	3.9	9.8
<i>ffefeefef</i>	$R_2R_1B_1R_2B_3R_3R_2BR_2R_3$	6.9	-43.4	16.1	3.3	17.3
<i>efefe<sub>4f</sub></i>	$B_1R_1B_1R_2B_3B_1B_1BR_2R_3$	7.0	-41.8	14.3	3.6	18.6
<i>e<sub>3</sub>fe<sub>4f</sub></i>	$B_2B_3B_1R_2B_3B_1B_1BR_2R_3$	7.4	-41.6	14.5	3.6	10.3
<i>ffefeefef</i>	$R_2R_1B_1R_2B_3R_3B_2BR_2R_3$	9.1	-41.7	16.9	3.0	17.1
<i>ffefe<sub>5</sub></i>	$R_2R_1B_2R_2B_3B_1B_1BB_2R_3$	9.9	-39.9	14.9	4.0	16.0

и родственным ему типам полипептидной цепи *ffefe* и *e<sub>3</sub>fe*. Несколько большей лабильностью характеризуется пентапептид 761–765. К числу низкоэнергетических относятся также полностью свернутые формы, образующие спиральные конформации декапептидного отрезка молекулы онкобелка.

Пептидный остов глобальной по энергии конформации  $B_1R_1B_1R_2B_3R_3B_3PB_2R_3$  (табл. 5) соответствует повороту основной цепи молекулы на участке 761–764. Боковые цепи большинства остатков экспонированы в растворитель. Пространственно сближенными оказываются лишь боковые цепи остатков Arg и Glu. При этом боковая цепь остатка аргинина ориентирована параллельно основной цепи пептида, тогда как боковые цепи, несущие отрицательные заряды, расположены ортогонально к ней. Несмотря на не слишком плотную укладку аминокислот, данная конформация обеспечивает минимальное значение энергии невалентных взаимодействий. Структура, отличающаяся от глобальной лишь конформационным состоянием остатка метионина ( $R_2$  вместо  $B_1$ ), имеет относительную энергию 3.2 ккал/моль. Из контактов, не отмеченных в табл. 6, 7, выделим взаимодействия остатка метионина с остатками серина, аргинина и глутамин, характеризующиеся энергией от -1.6 до -2.0 ккал/моль, а также взаимодействие остатков серина и аргинина: -2.6 ккал/моль. На участке 760–765 отметим контакты остатка тирозина с остатком валина (-2.1 – -3.5 ккал/моль). Кон-

формация  $R_3R_1R_{3233}R_3R_3R_2R_2RR_2R_2$  оказалась самой низкоэнергетической среди структур  $\alpha$ -спирального типа *f<sub>9</sub>*. Боковые цепи большинства аминокислотных остатков вытянуты вдоль  $\alpha$ -спирального фрагмента. Вследствие такого строения, боковая цепь остатка метионина сближена с обоими остатками глутаминовой кислоты, вклады этих контактов составляют -3 ккал/моль, главным об-

**Таблица 6.** Значения энергии межостаточных взаимодействий на участке 758–762 онкобелка fps, ккал/моль

Gln759	Glu760	Glu761	Asp762	
-1.7	-6.6	-11.9	-5.2	Arg758
-1.3	-3.6	-4.4	-12.7	
-1.4	-5.7	-13.2	-6.8	
	-2.4	-0.2	0.0	Gln75 <sup>c</sup>
	-0.6	-0.7	-0.6	
	-2.3	-0.5	0.1	
		3.6	3.2	Glu760
		4.4	3.0	
		4.0	3.2	
			4.6	Glu761
			6.5	
			3.8	

В верхней, средней и нижней строках соответственно приведены данные для структур *efefef<sub>3e</sub>*, *f<sub>9</sub>* и *efefeefee*.

**Таблица 7.** Длины водородных связей (Å) в наиболее предпочтительных структурах фрагмента 756–765 онкобелка fps

Водородные связи	<i>efefef<sub>3e</sub></i>	<i>f<sub>9</sub></i>	<i>efefefee</i>
Met756 NH...OC Glu760	–	1.92	–
Ser757 NH...OC Glu761	–	2.43	–
Ser757 O <sup>γ</sup> ...HN Arg758	2.29	2.26	2.21
Ser757 H <sup>γ</sup> ...OC Glu761	–	3.09	–
Ser757 H <sup>γ</sup> ...OC Asp762	–	3.10	–
Arg758 NH...OC Glu761	–	3.04	–
Arg758 H <sup>ε</sup> ...O <sup>ε</sup> Glu761	–	–	2.71
Arg758 H <sup>ε</sup> ...OC Asp762	–	2.02	–
Arg758 H <sup>ζ</sup> ...OC Glu761	3.01	–	–
Arg758 H <sup>ζ</sup> ...O <sup>ε</sup> Glu761	3.44	–	2.54
Arg758 H <sup>ζ</sup> ...O <sup>δ</sup> Asp762	–	2.68	–
Arg758 H <sup>ζ</sup> ...OC Asp762	–	2.16	–
Arg758 H <sup>ζ</sup> ...OC Gly763	–	1.88	–
Glu760 NH...OC Val764	–	2.99	–
Glu761 NH...OC Tyr765	–	2.49	–
Glu761 CO...H <sup>ζ</sup> Tyr765	3.36	–	–
Asp762 NH...O <sup>δ</sup> Asp762	3.16	–	–
Asp762 O <sup>δ</sup> ...HN Gly763	–	–	2.89
Asp762 O <sup>δ</sup> ...H <sup>ζ</sup> Tyr765	3.27	–	–
Asp762 CO...HN Val764	2.56	–	1.99
Gly763 NH...O <sup>ζ</sup> Tyr765	2.59	–	2.80

разом, за счет дисперсионных взаимодействий. Пространственно сближены также боковые цепи остатков аргинина, серина и аспарагиновой кислоты, причем боковые цепи аргинина и аспарагиновой кислоты образуют солевой мостик. Спиральное строение полипептидной цепи обеспечивает попарное сближение глутамина с валином, а также обоих остатков глутаминовой кислоты с тирозином – вклады этих контактов имеют величину от –2.0 до –3.0 ккал/моль.

В значительной степени сходна с глобальной преимущественно развернутая конформация  $B_1R_1B_1R_2B_3B_1R_1BB_2R_3$  (табл. 5, 8). Боковые цепи большинства аминокислотных остатков этой структуры экспонированы в растворитель. Пространственно сближенными оказываются лишь остатки на участке 762–765, энергетические вклады их попарных контактов близки по величине и составляют около –2.0 ккал/моль. В этой конформации боковые цепи остатков аргинина и Glu760 направлены в противоположные стороны и лежат приблизительно в плоскости основной цепи участка нуклеации 758–762 (табл. 6). Взаимно противоположную ориентацию имеют также боковые цепи остатков Glu761 и Asp762, но их ионизированные боковые цепи ориентированы

перпендикулярно к плоскости конформационно жесткой части фрагмента.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализируя данные, полученные в ходе вычислительного эксперимента, можно сделать вывод о существенном сходстве конформационных свойств адресных фрагментов p21 и его клеточных рецепторов. На пентапептидном участке нуклеации Asp–Ser–Tyr–Arg–Lys молекулы p21 реализуются лишь три типа строения основной цепи: *efee*, *f<sub>4</sub>* и *efef*, а идентичная последовательность свободного декапептида может находиться в конформационных состояниях *efef*, *f<sub>4</sub>*, *efee* и *effe*. Аналогичный, с зеркальным расположением ионизированных радикалов, участок Arg–Leu–Ile–Glu–Asp, принадлежащий рецепторным онкобелкам src, yes и fgr, также имеет четыре предпочтительных структурных типа *efef*, *e<sub>3f</sub>*, *f<sub>4</sub>* и *efee*. Для нуклеации Arg–Gln–Glu–Glu–Asp онкобелка fps разрешенными оказалось всего три шейпа: *efef*, *f<sub>4</sub>* и *efee*.

Таким образом, налицо практически идеальное совпадение конформационных возможностей обеих групп участков связывания. Подобная комплементарность пространственного строения основных цепей взаимодействующих онкобелковых молекул свидетельствует в пользу гипотезы Чертова и соавт. [4] о том, что изучаемые последовательности исполняют роль адресных фрагментов. Поэтому представляет особый интерес решение вопроса о конкретном типе актуальной конформации, отвечающей за осуществление межмолекулярного связывания.

Было бы уместно предположить, что искомая активная структура должна встречаться во всех изученных последовательностях, участвующих в процессе образования комплексов белок–рецептор. Таковых шейпов выявлено три: *efee*, *f<sub>4</sub>* и *efef*.

Обращает на себя внимание тот факт, что шейп *efef* входит в глобальные конформации свободного декапептида и соответствующих фрагментов рецепторных онкобелков, однако, в случае участка 34–46 нативного p21, данный структурный тип проявляется лишь в конформации, имеющей достаточно высокую относительную энергию, равную 11.4 ккал/моль. Это обстоятельство, однако не должно иметь решающего значения, поскольку в ходе вычислительного эксперимента исследованы не слишком протяженные отрезки белковых цепей. Даже имеющая сравнительно высокую относительную энергию конформация олигопептидного фрагмента вполне может быть реализована в нативной молекуле белка, став низкоэнергетической за счет благоприятных взаимодействий со своим окружением, влияние которого не учитывалось в осуществлен-



**Таблица 8.** Минимизированные величины двугранных углов для декапептида 756–765 онкобелка fps, град

Остатки	Номер структуры*	Двугранные углы, град						
		$\omega$	$\varphi$	$\chi_1$	$\chi_2$	$\chi_3$	$\chi_4$	$\psi$
Met756	1	179	-145	66	180	-177	180	176
	2	-179	-91	-63	178	-173	189	-59
	3	-179	-89	-176	177	178	180	-51
	4	179	-142	65	180	-177	180	172
	5	179	-142	65	180	-177	179	172
	6	180	-121	-177	177	-179	180	129
Ser757	1	178	-81	56	180	-	-	-57
	2	180	-104	61	179	-	-	-61
	3	175	-89	57	179	-	-	-56
	4	177	-86	56	180	-	-	-60
	5	177	-86	56	180	-	-	-60
	6	179	-88	-59	180	-	-	102
Arg758	1	179	-151	61	-177	-179	179	168
	2	-172	-117	-78	174	-76	-75	-71
	3	177	-151	61	-177	-179	178	168
	4	178	-151	50	-177	-179	179	159
	5	178	-151	50	-177	-179	179	159
	6	-178	-150	51	-177	-179	179	159
Gln759	1	-179	-84	-178	178	100	-	-62
	2	-172	-107	-72	-178	93	-	-74
	3	-179	-84	-178	178	100	-	-61
	4	180	-91	-178	178	100	-	-56
	5	180	-91	-178	178	100	-	-56
	6	180	-91	-178	178	100	-	-56
Glu760	1	-176	-103	-62	180	90	-	141
	2	179	-117	-64	180	90	-	-67
	3	-175	-102	-61	180	90	-	141
	4	-177	-102	-60	179	91	-	129
	5	-177	-102	-60	179	91	-	129
	6	-177	-102	-60	179	91	-	129
Glu761	1	-177	-89	-62	-178	90	-	-48
	2	176	-109	177	178	90	-	-82
	3	-178	-88	-62	-178	90	-	-48
	4	-176	-155	64	-179	91	-	172
	5	-176	-155	64	-179	91	-	172
	6	-176	-155	64	-179	91	-	172
Asp762	1	175	-114	-61	90	-	-	154
	2	-175	-121	177	88	-	-	-64
	3	175	-113	-61	90	-	-	155
	4	-178	-90	57	104	-	-	-41
	5	-179	-92	57	106	-	-	-41
	6	-179	-92	57	106	-	-	-41
Gly763	1	-178	94	-	-	-	-	-78
	2	-176	-92	-	-	-	-	-92
	3	-177	95	-	-	-	-	-77
	4	-175	-76	-	-	-	-	75
	5	-175	-76	-	-	-	-	72
	6	-175	-76	-	-	-	-	73

Таблица 8. Окончание

Остатки	Номер структуры*	Двугранные углы, град						
		$\omega$	$\phi$	$\chi_1$	$\chi_2$	$\chi_3$	$\chi_4$	$\psi$
Val764	1	-178	-101	180	-	-	-	138
	2	178	-103	-179	-	-	-	-61
	3	-178	-100	180	-	-	-	138
	4	179	-106	-179	-	-	-	129
	5	179	-102	-178	-	-	-	-57
	6	178	-102	-178	-	-	-	-57
Tyr765	1	-177	-132	-58	89	-	-	-60
	2	179	-110	180	90	-	-	-60
	3	-177	-132	-58	89	-	-	-60
	4	-177	-141	-55	91	-	-	-60
	5	-177	-114	-54	104	-	-	-57
	6	-177	-114	-54	104	-	-	-57

\* В позициях 1–6 для каждого остатка представлены данные, соответствующие следующим структурам: 1 – *efefef<sub>3e</sub>*; 2 – *fg*; 3 – *ffefefee*; 4 – *efefefee*; 5 – *efefefef*; 6 – *efefef*.

ных нами расчетах. В то же время можно утверждать, что все три выделенных шейпа являются низкоэнергетическими в молекуле свободного декапептида, соответствующего последовательности 35–44 природного p21.

Более убедительные соображения в пользу одного из структурных типов подсказывают данные рентгеноструктурного анализа молекулы бычьего панкреатического трипсинового ингибитора, осуществленного Дайзенхофером и Стайгеманном [5] с точностью 1.5 Å. Эксперимент показал, что участок БПТИ Glu49-Asp50-Cys51-Met52-Arg53 имеет спиральное строение, соответствующее конформационному состоянию  $R_{31}R_3R_2R_{333}R_{221}$  [5, 6]. Невозможно убедиться, что фрагмент 49–53 трипсинового ингибитора обладает высокой гомологией с

участком Glu37-Asp38-Ser39-Tyr40-Arg41 молекулы p21: расположение ионизированных остатков в обоих полипептидах идентично, к тому же имеет место “консервативная” замена цистеина на обладающий сходными конформационными свойствами серин. Таким образом, рентгеноструктурные данные дают основание предположить, что в нативном p21 участок конформационно стабильной нуклеации адресного фрагмента также принимает  $\alpha$ -спиральную конформацию.

Не менее важный довод в пользу  $\alpha$ -спирального строения нуклеативных участков представляют полученные в ходе вычислительного эксперимента данные о взаимном расположении боковых цепей, несущих заряженные радикалы. Как в молекуле p21 и свободного декапептида, так и в случае рецепторных онкобелков все ионизированные боковые цепи на участке нуклеации лишь в спиральной структуре расположены по одну сторону молекулы. В то же время для шейпов типа *efee* и *efef* заряженные боковые радикалы ориентированы во взаимно противоположных направлениях. Таким образом, анализ координат атомов также показывает, что наиболее благоприятные условия для связывания p21 с рецептором складываются в том случае, когда адресные фрагменты обоих онкобелков обладают полностью свернутым строением пептидного остова. На рис. 4 схематически изображено наиболее вероятное расположение боковых цепей взаимодействующих молекул *gas* и *yes* в случае  $\alpha$ -спиральных нуклеативных участков.

Дальнейшие исследования молекулярного механизма связывания онкобелков семейства p21 с клеточными рецепторами будут проводиться пу-

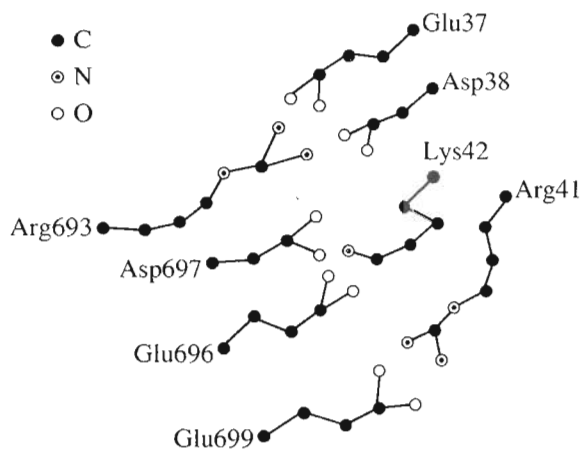


Рис. 4. Вероятное расположение боковых цепей взаимодействующих молекул *gas* и *yes*.

тем построения компьютерной модели взаимодействия разноименных зарядов низкоэнергетических конформаций адресных фрагментов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мзареулов К.Д. // Биоорганическая химия. 2003. Т. 29. С. 361–372.
2. Мзареулов К.Д. // Биоорганическая химия. 1992. Т. 18. С. 474–483.
3. Мзареулов К.Д. // Биоорганическая химия. 1992. Т. 18. С. 484–497.
4. Чертов О.Ю., Хохлачев А.В., Дейчин В.И. // Биоорганическая химия. 1986. Т. 12. С. 1157–1163.
5. Deisenhofer J., Steigemann W. // Acta Crystallogr. B. 1975. V. 31. P. 238–250.
6. Попов Е.М. Структурная организация белков. М.: Наука, 1989. 352 с.

**Conformational Aspects of Biological Activity of Functional Fragments of the p21ras Oncoproteins: 4. Address Fragments of the Receptor Oncoproteins**

**K. D. Mzareulov<sup>#</sup>**

<sup>#</sup> E-mail: [stegocefal@mail.ru](mailto:stegocefal@mail.ru)

*Baku State University, Moskovskii pr. 66–20, Baku, 370033 Azerbaijan*

Decapeptide fragments of the scr, fgr, fps, and yes oncoproteins were studied by theoretical conformational analysis, and the arrangement of ionized residues in these fragments was found to be complementary to the binding site of p21. The results demonstrated a similarity in conformational properties of these peptides and their structural complementarity to the address fragment of p21. On the basis of this computation, a model of interaction of the p21ras family of oncoproteins with their cellular receptors was suggested. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2003, vol. 29, no. 4; see also <http://www.maik.ru>.

*Key words: binding site, p21ras oncoprotein, ras, spatial structure, cellular receptors*