



MC

ИЗ

УДК 547.962:541.63

## АПРИОРНЫЙ РАСЧЕТ ТРЕХМЕРНОЙ СТРУКТУРЫ АПАМИНА

### II. ФРАГМЕНТ Cys<sup>1</sup>—Leu<sup>10</sup>

*Мельников П. Н., Попов Е. М.*

*Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина  
Академии наук СССР, Москва*

Исследованы конформационные возможности фрагмента Cys<sup>1</sup>-Asn<sup>2</sup>-Cys<sup>3</sup>-Lys<sup>4</sup>-Ala<sup>5</sup>-Pro<sup>6</sup>-Glu<sup>7</sup>-Thr<sup>8</sup>-Ala<sup>9</sup>-Leu<sup>10</sup> апамина. Расчет выполнен на основе данных анализа пространственного строения составляющих декапептид участков цепи Thr<sup>8</sup>-Ala<sup>9</sup>, Ala<sup>9</sup>-Leu<sup>10</sup>, Ala<sup>5</sup>-Thr<sup>8</sup>, Cys<sup>1</sup>-Thr<sup>8</sup>, Cys<sup>1</sup>-Ala<sup>9</sup>, а также Cys<sup>1</sup>-Pro<sup>6</sup>, рассмотренного в предшествующем сообщении [1]. Показано, что в самых стабильных и представительных структурах декапептида Cys<sup>1</sup>-Leu<sup>10</sup> октапептидный участок Cys<sup>1</sup>-Thr<sup>8</sup> является сложившейся, конформационно жесткой, особенно в отношении формы основной цепи, нуклеацией, а остатки Ala<sup>9</sup> и Leu<sup>10</sup> отличаются большой лабильностью. В этих конформациях имеет место практически совершенная согласованность межостаточных взаимодействий на всех участках фрагмента Cys<sup>1</sup>-Leu<sup>10</sup>.

В серии сообщений будут изложены результаты проведенного нами теоретического исследования пространственного строения нейротоксина апамина, молекула которого состоит из 18 аминокислотных остатков, в том числе четырех цистеинов, образующих два дисульфидных мостика Cys<sup>1</sup>-Cys<sup>11</sup> и Cys<sup>3</sup>-Cys<sup>15</sup>. Конформационный анализ выполнен априори. Использованные в расчете экспериментальные данные касались только химического строения молекулы, длин связей и валентных углов. Наличие дисульфидных связей не принималось во внимание. Мы исходили из предположения, что результаты расчета линейной последовательности должны автоматически привести на завершающей стадии к сближенности соответствующие остатки Cys.

В предыдущем сообщении [1] были рассмотрены конформационные возможности N-концевого фрагмента апамина Cys<sup>1</sup>-Asn<sup>2</sup>-Cys<sup>3</sup>-Lys<sup>4</sup>-Ala<sup>5</sup>-Pro<sup>6</sup>. Анализ проведен на основе рассчитанных предвзвешенно конформационных состояний перекрывающихся четырех дипептидных, трех трипептидных и тетрапептидного участков. Найденные для каждой формы основной цепи наборы предпочтительных конформаций дипептидов служили исходными в расчете трипептидов и т. д. Было показано, что для последовательности Cys<sup>1</sup>-Pro<sup>6</sup> самой выгодной формой основной цепи является R<sup>1</sup>-B<sup>2</sup>-R<sup>3</sup>-R<sup>4</sup>-B<sup>5</sup>-R<sup>6</sup> шейпа *jeffe*. Ее стабильность обусловлена главным образом невалентными взаимодействиями между элементами основной цепи и системой водородных связей; боковые цепи при этом обладают, как правило, довольно большой конформационной свободой. Поэтому форма R<sup>1</sup>-B<sup>2</sup>-R<sup>3</sup>-R<sup>4</sup>-B<sup>5</sup>-R<sup>6</sup> представлена не единственной конформацией, а набором самых предпочтительных для фрагмента Cys<sup>1</sup>-Pro<sup>6</sup> состояний, отличаю-

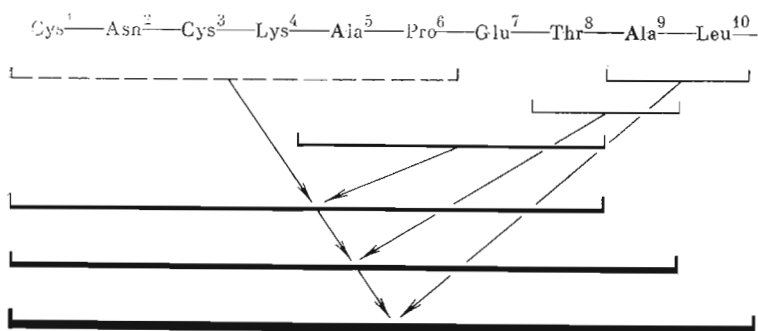


Рис. 1. Схема расчета конформаций фрагмента апамина  $\text{Cys}^1 - \text{Leu}^{10}$

щихся друг от друга ориентациями боковых цепей  $-\text{Cys}^1-$ ,  $-\text{Cys}^3-$  и  $-\text{Lys}^4-$ . По сравнению с другими возможными формами основной цепи гексапептида она обладает наименьшей энтальпией и наибольшей энтропией.

Следующая за глобальной структурой  $R_2^1 - B_{23}^2 - R_2^3 - R_{222}^4 - B^5 - R^6$  конформация шейки  $fffje R_3^1 - R_{13}^2 - R_3^3 - R_{222}^4 - B^5 - R^6$  имеет относительную энергию около 5 ккал/моль. Для исследования конформационных возможностей более длинных участков последовательности апамина нами отобран целый ряд структурных вариантов фрагмента  $\text{Cys}^1 - \text{Pro}^6$  в интервале 0—8 ккал/моль, представляющих многие формы и шейки пептидного скелета фрагмента (см. табл. 9 в [1]).

Конформационный анализ апамина выполнялся с учетом невалентных и электростатических взаимодействий атомов, водородных связей и торсионного вклада. Исползованные в расчете потенциальные функции, система параметризации и принятые обозначения даны в работе [1].

В настоящем сообщении изложены результаты теоретического конформационного анализа декапептидного участка апамина  $\text{Cys}^1 - \text{Asn}^2 - \text{Cys}^3 - \text{Lys}^4 - \text{Ala}^5 - \text{Pro}^6 - \text{Glu}^7 - \text{Thr}^8 - \text{Ala}^9 - \text{Leu}^{10}$ . Расчет осуществлен в несколько этапов. Вначале рассмотрен фрагмент  $\text{Ala}^5 - \text{Pro}^6 - \text{Glu}^7 - \text{Thr}^8$ . На основе низкоэнергетических вариантов различных форм и шейпов основной цепи гексапептида  $\text{Cys}^1 - \text{Pro}^6$  [1] и тетрапептида  $\text{Ala}^5 - \text{Thr}^8$ , перекрывающихся по двум остаткам, исследованы конформационные возможности октапептида  $\text{Cys}^1 - \text{Thr}^8$ . Полученные здесь данные и результаты по дипептидам  $\text{Thr}^8 - \text{Ala}^9$  и  $\text{Ala}^9 - \text{Leu}^{10}$  послужили исходными для анализа сначала нона-, а затем декапептидных фрагментов апамина. Схема расчета представлена на рис. 1. Разбиение фрагмента  $\text{Cys}^1 - \text{Leu}^{10}$  на структурные элементы  $b$  и  $s$ , их нумерация, а также принятые в расчете переменными двугранные углы  $\Phi$ ,  $\Psi$ ,  $\chi$  даны на рис. 2.

*Тетрапептидный фрагмент  $\text{Ala}^5 - \text{Thr}^8$ .* Особенность этого участка апамина заключается в незначительной конформационной свободе остатка  $\text{Pro}^6$ , который дополнительно ограничивает подвижность соседнего остатка  $\text{Ala}^5$  [2]. Исходные приближения для минимизации энергии при варьировании 12 двугранных углов  $\Phi$ ,  $\Psi$ ,  $\chi$  (рис. 2) сформированы из  $B^5 - B^6$ ,  $B^5 - R^6$  и  $L^5 - R^6$ -состояний фрагмента  $\text{Ala}^5 - \text{Pro}^6$  и конформаций метиламидов  $N$ -ацетил- $L$ -глутаминовой кислоты [3] и  $L$ -треонина [4] при учете результатов расчета трипептида  $\text{Ala}^5 - \text{Pro}^6 - \text{Glu}^7$  [1]. Последние два остатка включали  $R$ -,  $B$ - и  $L$ -формы основной цепи и все конформеры боковых цепей по углу  $\chi^1$ . Полученные таким образом 117 вариантов распадаются по 20 формам основной цепи и четырем шейпам.

Распределение конформаций по величинам относительной энергии дано в табл. 1. В табл. 2 приведена энергия конформаций с  $E_{\text{общ}} \leq 8$  ккал/моль. В интервале 0—8 ккал/моль не вошел ни один вариант шейки  $esf$ . Высокоэнергетичными и поэтому малоперспективными для последующего

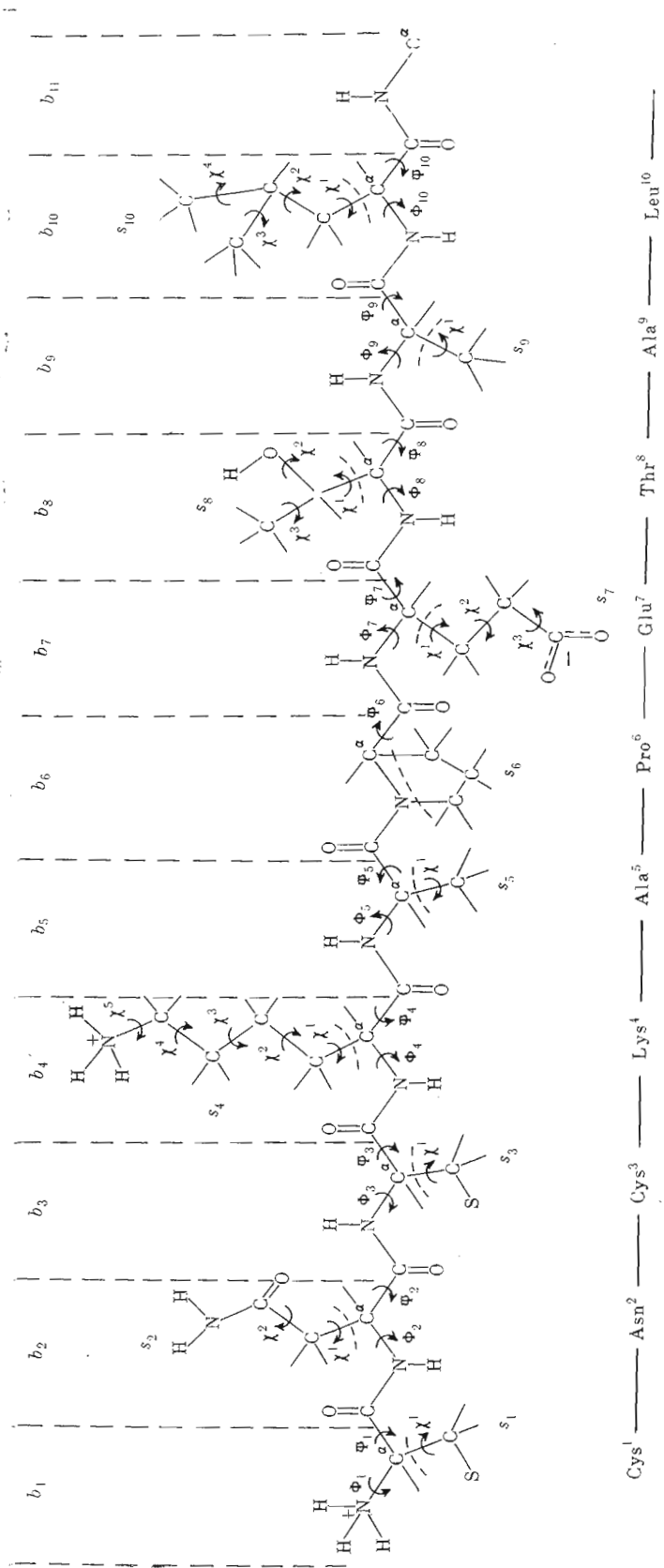


Рис. 2. Расчетная модель фрагмента амина Cys<sup>1</sup>—Leu<sup>10</sup>

Энергетическое распределение конформаций фрагмента  
Ala<sup>5</sup>-Pro<sup>6</sup>-Glu<sup>7</sup>-Thr<sup>8</sup>

Шейпа	Форма	Интервал $E_{05щ}$ , ккал/моль						
		>8	8-6	6-4	4-3	3-2	2-1	1-0
<i>eee</i>	$B^5-B^6-B^7-B^8$	2	1	—	—	—	—	—
	<i>B-B-B-R</i>	—	3	—	—	—	—	—
	<i>B-B-R-L</i>	3	—	—	—	—	—	—
	<i>B-R-L-B</i>	—	—	3	—	—	—	—
<i>eej</i>	<i>B-R-L-R</i>	—	3	—	—	—	—	—
	<i>B-B-B-L</i>	3	—	—	—	—	—	—
	<i>B-B-R-B</i>	9	—	—	—	—	—	—
<i>eje</i>	<i>B-B-R-R</i>	9	—	—	—	—	—	—
	<i>B-R-R-L</i>	8	1	—	—	—	—	—
	<i>L-R-R-L</i>	3	—	—	—	—	—	—
	<i>B-R-B-B</i>	—	6	2	1	—	—	—
<i>eff</i>	<i>B-R-B-R</i>	—	4	4	1	—	—	—
	<i>L-R-B-B</i>	—	5	1	—	—	—	—
	<i>L-R-B-R</i>	3	3	—	—	—	—	—
	<i>B-R-R-B</i>	—	2	3	2	1	—	1
	<i>B-R-R-R</i>	—	2	1	2	2	1	1
	<i>B-R-B-L</i>	5	3	1	—	—	—	—
	<i>L-R-R-B</i>	—	2	—	1	—	—	—
<i>L-R-R-R</i>	—	1	—	2	—	—	—	
	<i>L-R-B-L</i>	6	—	—	—	—	—	—

расчета оказались все конформации шейпа *eee*. Для данной последовательности структуры пептидного скелета *eej* и *eee* не обеспечивают в должной мере реализации средних взаимодействий. Так, при шейпе *eee* (рис. 3) сближенными оказываются боковые цепи остатков Ala<sup>5</sup>, Glu<sup>7</sup> и Pro<sup>6</sup>, Thr<sup>8</sup>, которые из-за природы первого остатка в каждой паре не могут образовывать между собой эффективных контактов. Как видно из табл. 3, где представлены количественные энергетические характеристики межостаточных контактов, в конформации типа *eee* весьма незначительны дипептидные и практически отсутствуют три- и тетрапептидные взаимодействия (взаимодействия остатков в положениях 1-2, 1-3 и 1-4 соответственно).

Наиболее предпочтительные конформации фрагмента Ala<sup>5</sup>-Thr<sup>8</sup> принадлежат шейпам *eff* и *eje*. Однако и здесь наблюдается неравномерное энергетическое распределение конформаций как с одинаковыми, так и с различными формами основной цепи. Конформации с *L*-формой остатков Ala<sup>5</sup> и Thr<sup>8</sup> имеют, за очень редким исключением, высокую энергию. Наиболее низкоэнергетичными оказались варианты с формами  $B^5-R^6-R^7-B^8$  ( $R^8$ ) шейпа *eff* и  $B^5-R^6-B^7-B^8$  ( $R^8$ ) шейпа *eje*. В глобальной конформации  $B-R-R_{311}-R_{11}$  (*eff*) боковая цепь остатка Glu<sup>7</sup> при значениях  $\chi^1 \sim -60^\circ$  и  $\chi^2, \chi^3 \sim 60^\circ$  эффективно взаимодействуют с боковой цепью Pro<sup>6</sup> (-3,3 ккал/моль), а также -Ala<sup>5</sup>- и -Thr<sup>8</sup>- (-1,1 ккал/моль). Свернутый характер основной цепи (рис. 3) предопределяет возникновение стабилизирующих контактов между элементами  $b_5$  и  $b_9$ ,  $b_6$  и  $b_8$ ,  $b_7$  и  $b_9$ , суммарная энергия которых составляет -2,8 ккал/моль. Таким образом, компактная форма  $B^5-R^6-R^7-R^8$  предоставляет условия для взаимодействия между всеми звеньями фрагмента Ala<sup>5</sup>-Thr<sup>8</sup>.

В отношении ди- и трипептидных взаимодействий ей эквивалентна другая форма  $B^5-R^6-B^7-B^8$  предпочтительных конформаций шейпа *eje*. Здесь также весьма значителен стабилизирующий эффект:  $E_{s_6-s_7} = -3,3$ ,  $E_{b_6-b_8} = -1,0$  и  $E_{b_6-s_8} = -1,3$  ккал/моль. Несколько большие величины  $E_{общ}$  у конформаций этого типа по сравнению с конформациями шейпа *eff* объясняются незначительностью тетрапептидных взаимодействий (сближенные в

Таблица 2

Относительная энергия конформаций фрагмента Ala<sup>5</sup>-Pro<sup>6</sup>-Glu<sup>7</sup>-Thr<sup>8</sup>

Шейп	Конформация	$E_{\text{общ}}$ , ккал/ /моль	Шейп	Конформация	$E_{\text{общ}}$ , ккал/ /моль	Шейп	Конформация	$E_{\text{общ}}$ , ккал/ /моль	
eee	$B^5-B^6-B_{211}^7-R_{11}^8$	7,1	efe	$B^5-R^6-B_{131}^7-R_{31}^8$	6,1	eff	$B^5-R^6-R_{311}^7-B_{11}^8$	0,9 *	
	$B-B-B_{211}-R_{11}$	6,1		$B-R-B_{211}-R_{11}$	4,4		$B-R-R_{311}-B_{21}$	3,8	
	$B-B-B_{211}-R_{21}$	7,5		$B-R-B_{211}-R_{21}$	5,9		$B-R-R_{311}-B_{31}$	2,5	
	$B-B-B_{211}-R_{31}$	6,5		$B-R-B_{211}-R_{31}$	4,5		$B-R-R_{121}-R_{11}$	3,0	
	$B-R-L_{331}-B_{11}$	5,4		$B-R-B_{311}-R_{11}$	4,5		$B-R-R_{121}-R_{21}$	6,2	
	$B-R-L_{331}-B_{21}$	5,7		$B-R-B_{311}-R_{21}$	6,3		$B-R-R_{121}-R_{31}$	2,8	
	$B-R-L_{331}-B_{31}$	5,8		$B-R-B_{311}-R_{31}$	3,9 *		$B-R-R_{221}-R_{11}$	3,2	
	$B-R-L_{331}-R_{11}$	6,5		$L-R-B_{131}-B_{11}$	6,6		$B-R-R_{221}-R_{21}$	6,8	
	$B-R-L_{331}-R_{21}$	7,2		$L-R-B_{131}-B_{21}$	7,6		$B-R-R_{221}-R_{31}$	4,7	
	$B-R-L_{331}-R_{31}$	6,2		$L-R-B_{131}-B_{31}$	7,9		$B-R-R_{311}-R_{11}$	0 *	
	efe	$B-R-R_{311}-L_{31}$		6,2	$L-R-B_{311}-B_{11}$		7,0	$B-R-R_{311}-R_{21}$	3,7
		$B-R-B_{131}-B_{11}$		4,1	$L-R-B_{311}-B_{21}$		6,2	$B-R-R_{311}-R_{31}$	1,1
		$B-R-B_{131}-B_{21}$		5,6	$L-R-B_{311}-B_{31}$		5,1	$B-R-B_{131}-L_{11}$	7,8
		$B-R-B_{131}-B_{31}$		5,8	$L-R-B_{131}-R_{11}$		7,5	$B-R-B_{211}-L_{11}$	7,2
$B-R-B_{211}-B_{11}$		5,5	$L-R-B_{311}-R_{21}$	7,6	$B-R-B_{211}-L_{31}$	7,3			
$B-R-B_{211}-B_{21}$		7,0	$L-R-B_{311}-R_{31}$	7,7	$B-R-B_{311}-L_{11}$	5,9			
$B-R-B_{211}-B_{31}$		6,5	eff	$B-R-R_{121}-B_{11}$	3,9	$L-R-R_{311}-B_{11}$	3,7		
$B-R-B_{311}-B_{11}$		6,6		$B-R-R_{121}-B_{21}$	6,6	$L-R-R_{311}-B_{21}$	7,5		
$B-R-B_{311}-B_{21}$		7,4		$B-R-R_{121}-B_{31}$	4,8	$L-R-R_{311}-B_{31}$	6,2		
$B-R-B_{311}-B_{31}$		3,1 *		$B-R-R_{221}-B_{11}$	3,6	$L-R-R_{311}-R_{11}$	3,4		
$B-R-B_{131}-R_{11}$		5,5		$B-R-R_{221}-B_{21}$	6,5	$L-R-R_{311}-R_{21}$	6,3		
$B-R-B_{131}-R_{21}$		6,9		$B-R-R_{221}-B_{31}$	5,2	$L-R-R_{311}-R_{31}$	3,8		

Примечание. Звездочкой отмечены конформации, включенные в последующий расчет.

Таблица 3

Энергетические составляющие конформаций фрагмента Ala<sup>5</sup>-Pro<sup>6</sup>-Glu<sup>7</sup>-Thr<sup>8</sup>

Шейп	Конформация	$E_{\text{общ}}$ , ккал/моль	Энергия взаимодействия, ккал/моль			
			моно-	ди-	три-	тетра-
eff	$B-R-R_{311}-R_{11}$	0	-4,9	-7,1	-2,1	-2,3
	$B-R-R_{221}-R_{11}$	3,2	-4,1	-4,4	-1,9	-2,0
	$B-R-R_{311}-R_{31}$	1,1	-4,3	-7,0	-1,9	-1,4
	$B-R-R_{311}-B_{11}$	0,9	-5,9	-5,7	-2,0	-1,7
	$B-R-R_{321}-B_{12}$	7,6	-4,7	-4,0	-0,8	-0,1
efe	$B-R-B_{311}-B_{31}$	3,1	-5,4	-5,7	-1,8	-0,7
	$B-R-B_{311}-B_{31}$	3,6	-4,4	-6,6	-1,7	-0,3
eee	$B-B-B_{211}-B_{11}$	7,1	-6,2	-2,9	-0,1	0

Примечание. Скобкой над идентификаторами обозначены водородные связи типа 4—1.

случае *efe* боковые цепи остатков Ala<sup>5</sup> и Thr<sup>8</sup> не образуют эффективных контактов, а элементы  $b_5$  и  $b_9$  удалены друг от друга; рис. 3, табл. 3).

Нами опробовано большое число вариантов структур тетрапептида с водородной связью типа 4—1, приводящих к образованию так называемого  $\beta$ -изгиба. Были рассмотрены возможные ситуации с центральными остат-

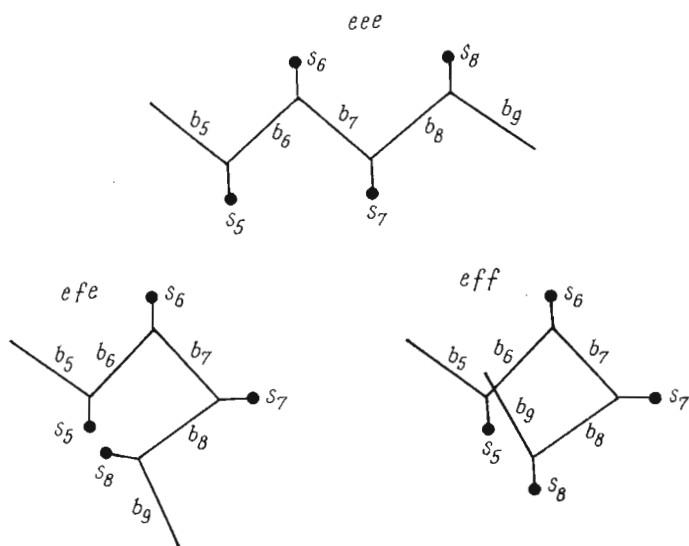


Рис. 3. Шейны основной цепи фрагмента апамина Ala<sup>5</sup>-Pro<sup>6</sup>-Glu<sup>7</sup>-Thr<sup>8</sup>

ками в повороте цепи Pro<sup>6</sup>-Glu<sup>7</sup> и Glu<sup>7</sup>-Thr<sup>8</sup>. Во всех случаях образование β-изгиба с водородной связью 4—1 сопровождалось увеличением конформационной энергии. В табл. 3 приведены данные о двух таких структурах шейпов *eff* и *efe*, в которых неблагоприятные контакты минимальны.

Таким образом, результаты расчета фрагмента Ala<sup>5</sup>-Thr<sup>8</sup> свидетельствуют о резкой энергетической дифференциации конформаций. Перспективными для последующего анализа являются лишь конформации указанных выше двух форм основной цепи шейпов *eff* и *efe*. Они имеют одинаковое конформационное состояние дипептида Ala<sup>5</sup>-Pro<sup>6</sup> (*B*<sup>5</sup>-*R*<sup>6</sup>) и по существу различаются между собой только формой основной цепи -Glu<sup>7</sup>, поскольку *B*- и *R*-формы C-концевого -Thr<sup>8</sup> практически эквивалентны. Предпочтительность состояния *B*<sup>5</sup>-*R*<sup>6</sup> перед *B*<sup>5</sup>-*B*<sup>6</sup>, *L*<sup>5</sup>-*B*<sup>6</sup> и *L*<sup>5</sup>-*R*<sup>6</sup> следовала также из расчетов фрагментов Cys<sup>1</sup>-Pro<sup>6</sup> и Ala<sup>5</sup>-Glu<sup>7</sup> [1]. Отобранные для расчета октапептида Cys<sup>1</sup>-Thr<sup>8</sup> лучшие конформации обоих шейпов отмечены в табл. 2 звездочками.

*Октапептидный фрагмент Cys<sup>1</sup>-Thr<sup>8</sup>.* Знание конформационных возможностей гексапептида Cys<sup>1</sup>-Pro<sup>6</sup> и тетрапептида Ala<sup>5</sup>-Thr<sup>8</sup> в их свободном состоянии делает реальным структурное исследование октапептидного участка апамина Cys<sup>1</sup>-Thr<sup>8</sup>. Его пулевые приближения были составлены из 10 конформационных состояний Cys<sup>1</sup>-Pro<sup>6</sup> с относительной энергией менее 8 ккал/моль, являющихся представителями 10 шейпов пептидного остова, и двух самых выгодных конформационных состояний Ala<sup>5</sup>-Thr<sup>8</sup>, представляющих шейпы *eff* и *efe*.

Минимизация энергии по всем переменным углам Φ, Ψ, χ (рис. 2) привела к величинам  $E_{\text{общ}}$ , представленным в табл. 4. Энергетические составляющие предпочтительных конформаций различных форм даны в табл. 5, а их шейпы изображены на рис. 4.

Лучшие конформации октапептидов принадлежат шейпам *feffefe* ( $E_{\text{общ}} = 0$ ) и *feffeff* ( $E_{\text{общ}} = 0,5$  ккал/моль). Они представляют собой сочетания глобальной конформации фрагмента Cys<sup>1</sup>-Pro<sup>6</sup> и двух самых выгодных состояний Ala<sup>5</sup>-Thr<sup>8</sup>, которые образуют между собой новые стабилизирующие взаимодействия. Наиболее существенным из них является электростатическое притяжение между группой COO<sup>-</sup> боковой цепи -Glu<sup>7</sup>- и NH<sub>3</sub><sup>+</sup> основной цепи -Cys<sup>1</sup>- (-3,9 ккал/моль) и боковой цепи -Lys<sup>4</sup>- (-1,2 ккал/

Относительная энергия конформаций фрагмента  
Cys<sup>1</sup>-Asn<sup>2</sup>-Cys<sup>3</sup>-Lys<sup>4</sup>-Ala<sup>5</sup>-Pro<sup>6</sup>-Glu<sup>7</sup>-Thr<sup>8</sup>

Шейп	Конформация	$E_{\text{общ.}}$ , ккал/моль
<i>eeeeefe</i>	$B_2^1-B_{13}^2-B_2^3-B_{1211}^4-B^5-R^6-B_{311}^7-B_{31}^8$	6,5
<i>eeeeeff</i>	$B_2-B_{13}-B_2-B_{1211}-B-R-R_{311}-B_{11}$	12,6
<i>eeefefe</i>	$B_2-B_{13}-B_2-R_{3222}-B-R-B_{311}-B_{31}$	8,6
<i>eefefeff</i>	$B_2-B_{13}-B_2-R_{3222}-B-R-R_{311}-B_{11}$	5,6 *
<i>feeeefe</i>	$R_2-B_{13}-B_2-B_{1223}-B-R-B_{311}-B_{31}$	6,9
<i>feeeeff</i>	$R_2-B_{13}-B_2-B_{1223}-B-R-R_{311}-B_{31}$	10,7
<i>efefefe</i>	$B_2-R_{13}-B_2-R_{3222}-B-R-B_{311}-B_{31}$	9,1
<i>efefeff</i>	$B_2-R_{13}-B_2-R_{3222}-B-R-R_{311}-B_{11}$	7,5
<i>fefefefe</i>	$R_2-B_{13}-R_2-B_{2222}-B-R-B_{311}-B_{31}$	6,7
<i>fefeffff</i>	$R_2-B_{13}-R_2-B_{2222}-B-R-R_{311}-B_{11}$	6,2 *
<i>ffeeefe</i>	$R_3-R_{13}-B_3-B_{2222}-B-R-B_{311}-B_{31}$	10,6
<i>ffeeeff</i>	$R_3-R_{13}-B_3-B_{2222}-B-R-R_{311}-B_{11}$	10,0
<i>fffefefe</i>	$R_3-R_{13}-B_3-R_{3222}-B-R-B_{311}-B_{31}$	9,7
<i>fffefeff</i>	$R_3-R_{13}-B_3-R_{3222}-B-R-R_{311}-B_{11}$	7,5
<i>feffefe</i>	$R_2-B_{23}-R_2-\overline{R_{2222}}-B-R-B_{311}-B_{31}$	0 *
<i>feffeff</i>	$R_2-B_{23}-R_2-\overline{R_{2222}}-B-R-R_{311}-B_{11}$	0,5 *
<i>fffefefe</i>	$R_3-R_{13}-R_3-B_{2222}-B-R-B_{311}-B_{31}$	6,5
<i>fffefeff</i>	$R_3-R_{13}-R_3-B_{2222}-B-R-R_{311}-B_{11}$	6,4
<i>ffffefefe</i>	$R_3-R_{13}-R_3-R_{2222}-B-R-B_{311}-B_{31}$	6,3 *
<i>ffffeff</i>	$R_3-R_{13}-R_3-R_{2222}-B-R-R_{311}-B_{11}$	4,6 *

\* См. примеч. к табл. 2 и 3.

4/моль). Заметный стабилизирующий вклад вносят также взаимодействия остатка Thr<sup>8</sup> с элементами  $b_1$ ,  $b_2$ ,  $b_3$  и  $s_1$ ,  $s_2$  (-3 ккал/моль).

Исключительность конформаций *feffefe* и *feffeff* состоит в том, что возникновение весьма эффективных взаимодействий между сближенными противоположными концами фрагмента (рис. 4) не приводит к какому-либо ослаблению контактов внутри лучших конформационных состояний гексапептида Cys<sup>1</sup>-Pro<sup>6</sup> и тетрапептида Ala<sup>5</sup>-Thr<sup>8</sup>. Следовательно, конформации, самые низкоэнергетические для свободных фрагментов, составляющих октапептид Cys<sup>1</sup>-Thr<sup>8</sup>, оказались комплементарными друг другу, т. е. предрасположенными к дополнительным взаимодействиям между собой. Согласованность взаимодействий имеет место только в этих конформациях. Во всех остальных случаях конформационная энергия или близка к аддитивной сумме соответствующих составляющих, или превышает ее, что указывает на образование дестабилизирующих контактов. К первым можно отнести низкоэнергетические варианты шейпов *fffefeff*, *feffeff* и *eeffeff*, уступающих наиболее предпочтительным около 5 ккал/моль и более (табл. 5, рис. 4). Их энергия от пента- до октапептидных взаимодействий в сумме не превышает -3,0 ккал/моль, тогда как в глобальной конформации *feffefe* она составляет -10,6 ккал/моль. Тем не менее и они приняты нами во внимание в последующем анализе. Все отобранные для последующих расчетов конформации отмечены в табл. 4 звездочками.

**Нонапептидный фрагмент Cys<sup>1</sup>-Ala<sup>9</sup>.** Расчет этого участка аламина предпринят для уточнения конформационного состояния остатка Thr<sup>8</sup>, который, находясь на С-конце октапептида, мог взаимодействовать только с предшествующими остатками, а также для выяснения состояний -Ala<sup>9</sup>.

Энергетические составляющие предпочтительных конформаций окта-, нона- и декапептидного фрагмента

Шейп	Конформация	E <sub>общ</sub> , ккал/ /моль	Энергия взаимодействия, ккал/моль									
			мно-	ди-	три-	тетра-	пента-	гекса-	гепта-	окта-	нона-	дека-
Cys <sup>1</sup> -Asn <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Lys <sup>4</sup> -Ala <sup>5</sup> -Pro <sup>6</sup> -Glu <sup>7</sup> -Thr <sup>8</sup>												
<i>ieffefee</i>	$\sqrt{1}$ $R_2^1-B_2^3-R_2^3-R_2^4$ $-B^5-R^6-B_7^8-B_{31}^{10}$	0	-14,2	-13,4	-4,4	-3,5	-2,9	-2,3	-4,7	-1,7	-	-
<i>ieffeff</i>	$\sqrt{1}$ $R_2-B_{23}-R_2-R_{2222}-B-R-R_{311}-B_{11}$	0,5	-14,3	-13,6	-4,1	-4,1	-2,9	-2,3	-4,8	-0,1	-	-
<i>iffefefe</i>	$\sqrt{1}$ $R_3-R_{13}-R_3-R_{2222}-B-R-B_{311}-B_{31}$	6,3	-17,4	-12,3	-5,8	-2,8	-1,2	+0,6	-2,3	0	-	-
<i>ieffeff</i>	$\sqrt{1}$ $R_2-B_{13}-R_2-B_{2222}-B-R-R_{311}-B_{11}$	6,2	-17,2	-13,1	-3,9	-3,4	-0,7	+0,6	-1,9	-0,1	-	-
<i>eeeffefe</i>	$\sqrt{1}$ $B_2-B_{13}-B_2-R_{3222}-B-R-R_{311}-B_{11}$	5,6	-18,4	-13,9	-4,5	-0,8	-1,3	+0,3	-1,6	-0,1	-	-
Cys <sup>1</sup> -Asn <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Lys <sup>4</sup> -Ala <sup>5</sup> -Pro <sup>6</sup> -Glu <sup>7</sup> -Thr <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup>												
<i>ieffefee</i>	$\sqrt{1}$ $R_2^1-B_2^3-R_2^3-R_2^4$ $-B^5-R^6-B_7^8-B_{31}^{10}-B^9$	0	-17,2	-13,5	-4,1	-4,2	-3,4	-1,6	-4,9	-1,1	0	-
<i>ieffeff</i>	$\sqrt{1}$ $R_2-B_{23}-R_2-R_{2222}-B-R-B_{311}-B_{31}-L$	0,4	-15,6	-13,9	-4,1	-4,1	-2,9	-2,3	-5,2	-0,8	-0,5	-
<i>iffefefe</i>	$\sqrt{1}$ $R_3-R_{13}-R_3-R_{2222}-B-R-R_{311}-B_{11}-B$	3,0	-19,2	-13,4	-5,9	-3,8	-1,6	+0,8	-2,0	-1,3	-0,5	-
<i>eeeffefe</i>	$\sqrt{1}$ $B_2-B_{13}-B_2-R_{3222}-B-R-R_{311}-B_{22}-B$	2,2	-20,2	-14,1	-5,0	-0,8	-2,7	-1,0	-3,0	-0,3	-0,2	-
Cys <sup>1</sup> -Asn <sup>2</sup> -Cys <sup>3</sup> -Lys <sup>4</sup> -Ala <sup>5</sup> -Pro <sup>6</sup> -Glu <sup>7</sup> -Thr <sup>8</sup> -Ala <sup>9</sup> -Leu <sup>10</sup>												
<i>ieffefeee</i>	$\sqrt{1}$ $R_2^1-B_2^3-R_2^3-R_2^4$ $-B^5-R^6-B_7^8-B_{31}^{10}-B_{32}^{10}$	2,2	-18,9	-14,7	-4,5	-4,1	-3,0	-1,5	-4,8	-1,4	0	-0,2
<i>ieffefeej</i>	$\sqrt{1}$ $R_2-B_{23}-R_2-R_{2222}-B-R-B_{311}-B_{31}-R-B_{32}$	0,9	-18,6	-15,7	-5,0	-3,9	-3,0	-2,4	-5,3	-0,8	-0,1	-0,1
<i>ieffefele</i>	$\sqrt{1}$ $R_2-B_{23}-R_2-R_{2222}-B-R-B_{311}-B_{31}-L-B_{32}$	0	-17,6	-15,3	-5,5	-5,2	-2,8	-2,4	-4,8	-1,6	-0,8	+0,2
<i>iffefefe</i>	$\sqrt{1}$ $R_3-R_{13}-R_3-R_{2222}-B-R-R_{311}-B_{11}-R-B_{32}$	3,0	-20,4	-14,3	-5,8	-4,3	-1,8	+0,6	-2,9	-2,3	-0,8	-0,2
<i>eeeffefee</i>	$\sqrt{1}$ $B_2-B_{13}-B_2-R_{3222}-B-R-R_{311}-B_{22}-B-B_{32}$	8,6	-22,5	-14,8	-5,4	+0,1	-2,0	-4,4	-1,5	0	-0,1	0



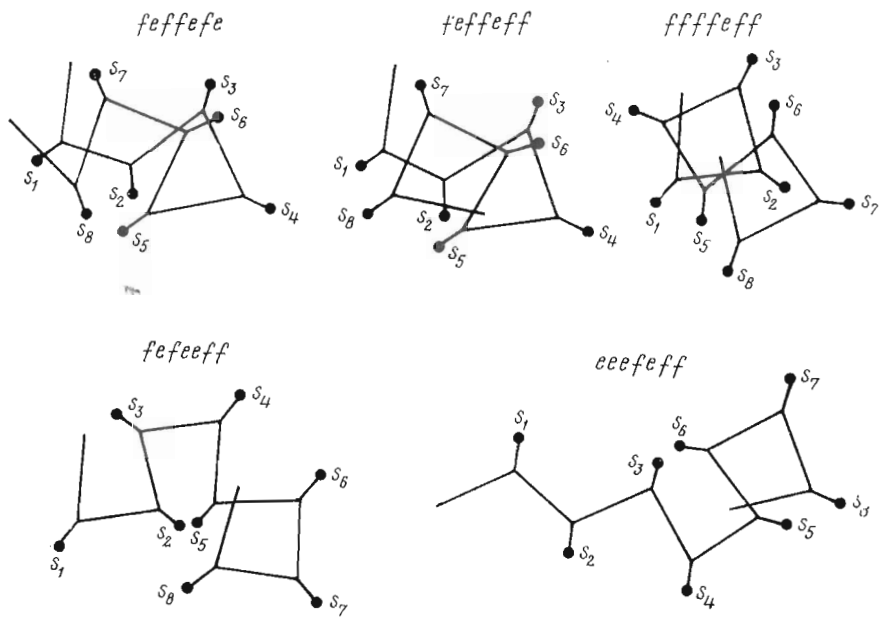


Рис. 4. Шейпы основной цепи фрагмента апамина Cys<sup>1</sup>-Asn<sup>2</sup>-Cys<sup>3</sup>-Lys<sup>4</sup>-Ala<sup>5</sup>-Pro<sup>6</sup>-Glu<sup>7</sup>-Thr<sup>8</sup>

Варианты для минимизации были составлены из отмеченных в табл. 4 низкоэнергетических конформаций Cys<sup>1</sup>-Thr<sup>8</sup> и дипептида Thr<sup>8</sup>-Ala<sup>9</sup>, детали расчета которого опущены.

Найденные величины относительной энергии и ее составляющих приведены в табл. 6 и 5.

В структурах нонапептида типа *fffffffe* и *ffffff*, образованных на основе одной из самых предпочтительных конформаций октапептида ( $E_{\text{общ}} = -0,5$  ккал/моль, табл. 4), возникают значительные невалентные отталкивания между остатками Ala<sup>9</sup>, Thr<sup>8</sup> и Lys<sup>4</sup>, Ala<sup>5</sup>. Неблагоприятные контакты нельзя снять изменением значений двугранных углов, не выходя за пределы областей соответствующих форм основной цепи, т. е. не переходя к другим шейпам. Конформации Cys<sup>1</sup>-Ala<sup>9</sup> шейпов *fffffffe* и *ffffff*, основу которых составляет глобальная структура октапептида (*fffffffe*), имеют самую низкую энергию. Однако присоединение остатка Ala<sup>9</sup> в состоянии, ведущем как к свернутой, так и к развернутой форме основной цепи дипептида Thr<sup>8</sup>-Ala<sup>9</sup>, не вызывает появления эффективных дополнительных взаимодействий в этих конформациях. Они возникают в конформациях типа *ffffffe* между -Ala<sup>9</sup>- и остатками Asn<sup>2</sup>, Pro<sup>6</sup> и Glu<sup>7</sup> ( $-3,0$  ккал/моль), а также в конформациях *eeeffe*, где -Ala<sup>9</sup>- оказывается в центре структуры и осуществляет стабилизирующие контакты главным образом своей основной цепью ( $b_8, b_{10}$ ) с остатками Cys<sup>3</sup>, Lys<sup>4</sup> и Pro<sup>6</sup> ( $\sim -3,5$  ккал/моль). В результате сокращается по сравнению с октапептидом разрыв между величинами  $E_{\text{общ}}$  глобальной структуры (*fffffffe*) и предпочтительных структур шейпов *ffffffe* и *eeeffe*. Включенные в расчет декапептида конформации пяти шейпов отмечены в табл. 6.

*Декапептидный фрагмент Cys<sup>1</sup>-Leu<sup>10</sup>*. Конформационный анализ этого участка апамина представляет особый интерес, так как он уже содержит атом C<sup>α</sup> остатка Cys<sup>11</sup>, боковая цепь которого образует дисульфидный мостик с Cys<sup>4</sup>. Отобранный для минимизации энергии при варьировании 40 переменных двугранных углов  $\Phi, \Psi, \chi$  (рис. 2) набор из 21 структурного варианта Cys<sup>1</sup>-Leu<sup>10</sup> распадается по 9 шейпам. Каждый шейп представлен от одной до трех конформаций с различными формами основной цепи.

Относительная энергия конформаций фрагмента  
Cys<sup>1</sup>-Asn<sup>2</sup>-Cys<sup>3</sup>-Lys<sup>4</sup>-Ala<sup>5</sup>-Pro<sup>6</sup>-Glu<sup>7</sup>-Thr<sup>8</sup>-Ala<sup>9</sup>

Шейп	Конформация	$E_{\text{общ}}$ , ккал/моль
<i>feffefee</i>	$R_2^1-B_{23}^2-R_2^3-R_{2222}^4-B^5-R^6-B_{311}^7-B_{31}^8-B^9$ $R_2-B_{23}-R_2-R_{2222}-B-R-B_{311}-R_{31}-L$	0* 3,1*
<i>feffefef</i>	$R_2-B_{23}-R_2-R_{2222}-B-R-B_{311}-B_{31}-L$ $R_2-B_{23}-R_2-R_{2222}-B-R-B_{311}-R_{31}-B$	0,4* 2,9*
<i>feffefje</i>	$R_2-B_{23}-R_2-R_{2222}-B-R-R_{311}-B_{22}-B$ $R_2-B_{23}-R_2-R_{2222}-B-R-R_{311}-R_{11}-L$	(.) (.)
<i>feffefff</i>	$R_2-B_{23}-R_2-R_{2222}-B-R-R_{311}-R_{11}-B$ $R_2-B_{23}-R_2-R_{2222}-B-R-R_{311}-B_{22}-L$	(.) (.)
<i>fffefeee</i>	$R_3-R_{13}-R_3-R_{2222}-B-R-B_{311}-B_{31}-B$ $R_3-R_{13}-R_3-R_{2222}-B-R-B_{311}-R_{31}-L$	6,8 8,6
<i>fffefefj</i>	$R_3-R_{13}-R_3-R_{2222}-B-R-B_{311}-B_{31}-L$ $R_3-R_{13}-R_3-R_{2222}-B-R-B_{311}-R_{31}-B$	8,2 7,6
<i>fffefefe</i>	$R_3-R_{13}-R_3-R_{2222}-B-R-R_{311}-B_{11}-B$ $R_3-R_{13}-R_3-R_{2222}-B-R-R_{311}-R_{11}-L$	3,0* 3,8*
<i>fffeffff</i>	$R_3-R_{13}-R_3-R_{2222}-B-R-R_{311}-R_{22}-B$ $R_3-R_{13}-R_3-R_{2222}-B-R-R_{311}-B_{22}-L$	8,8 7,3
<i>fejeeffe</i>	$R_2-B_{13}-R_2-B_{2222}-B-R-R_{311}-B_{22}-B$ $R_2-B_{13}-R_2-B_{2222}-B-R-R_{311}-R_{22}-L$	8,2 9,4
<i>fejeefff</i>	$R_2-B_{13}-R_2-B_{2222}-B-R-R_{311}-R_{22}-B$ $R_2-B_{13}-R_2-B_{2222}-B-R-R_{311}-B_{22}-L$	8,8 8,8
<i>eeefeffe</i>	$B_2-B_{13}-B_2-R_{3222}-B-R-R_{311}-R_{22}-B$ $B_2-B_{13}-B_2-R_{3222}-B-R-R_{311}-R_{22}-L$	2,2* 5,0*
<i>eeefefff</i>	$B_2-B_{13}-B_2-R_{3222}-B-R-R_{311}-R_{22}-B$ $B_2-B_{13}-B_2-R_{3222}-B-R-R_{311}-B_{22}-L$	6,1 3,2*

Примечание. Точкой обозначены конформации с большой энергией; см. примеч. к табл. 2.

Как следует из предшествующего анализа, в нонапептидном фрагменте Cys<sup>1</sup>-Ala<sup>9</sup> по сравнению с октапептидом Cys<sup>1</sup>-Thr<sup>8</sup> (табл. 4) сокращен разрыв между величинами  $E_{\text{общ}}$  в ряду его низкоэнергетических конформаций (табл. 6). Результаты расчета декапептида (табл. 7) показывают, что присоединение остатка Leu<sup>10</sup> опять сужает круг предпочтительных конформаций. Энергетическая дифференциация выделяет структуры трех родственных шейпов *feffefefe*, *feffefef* и *feffefeee*, лучшие представители которых имеют величины  $E_{\text{общ}}$  соответственно 0; 0,9 и 2,2 ккал/моль. В этих конформациях фрагмента Cys<sup>1</sup>-Leu<sup>10</sup> состояния гекса-, окта- и нонапептидных участков отвечают соответствующим глобальным структурам Cys<sup>1</sup>-Pro<sup>6</sup> (табл. 11 в [1]), Cys<sup>1</sup>-Thr<sup>8</sup> (табл. 4) и Cys<sup>1</sup>-Ala<sup>9</sup> (табл. 6). Сравнительно небольшую энергию ( $E_{\text{общ}}=3,0$  ккал/моль) имеет еще одна конформация типа *fffefeff*.

Что же касается вариантов с наиболее развернутыми формами основной цепи шейпов *eeefeffe*, *eeefeffef* и *eeefefffe*, то все они обладают высокими величинами  $E_{\text{общ}}$ . Между тем энергия соответствующих им конформаций в нонапептидном фрагменте была весьма близка к глобальной структуре (2,2 и 3,2 ккал/моль, табл. 6). Повышение относительной энергии

Относительная энергия конформаций фрагмента  
Cys<sup>1</sup>-Asn<sup>2</sup>-Cys<sup>3</sup>-Lys<sup>4</sup>-Ala<sup>5</sup>-Pro<sup>6</sup>-Glu<sup>7</sup>-Thr<sup>8</sup>-Ala<sup>9</sup>-Leu<sup>10</sup>

Шейп	Конформация	$E_{\text{общ}}$ , ккал/моль
<i>jeffejee</i>	$R_2^1-B_{23}^2-R_2^3-R_{2222}^4-B^5-R^6-B_{311}^7-D_{31}^8-B^9-B_{32}^{10}$	2,2
	$R_2-B_{23}-R_2-R_{2222}-B-R-R_{311}-B_{31}-R-L_{32}$	3,3
	$R_2-B_{23}-R_2-R_{2222}-B-R-B_{311}-R_{31}-L-B_{22}$	2,8
<i>jeffejeef</i>	$R_2-B_{23}-R_2-R_{2222}-B-R-B_{311}-B_{31}-B-L_{32}$	4,3 *
	$R_2-B_{23}-R_2-R_{2222}-B-R-B_{311}-B_{31}-R-B_{32}$	0,9 *
<i>jeffejeje</i>	$R_2-B_{23}-R_2-R_{2222}-B-R-B_{311}-B_{31}-L-B_{32}$	0 *
	$R_2-B_{23}-R_2-R_{2222}-B-R-B_{311}-R_{31}-B-B_{32}$	4,0
<i>jeffejejf</i>	$R_2-B_{23}-R_2-R_{2222}-B-R-B_{311}-R_{31}-R-L_{32}$	4,3
	$R_2-B_{23}-R_2-R_{2222}-B-R-B_{311}-R_{31}-R-B_{32}$	4,2
<i>ffffejee</i>	$R_2-B_{23}-R_2-R_{2222}-B-R-B_{311}-R_{31}-B-L_{32}$	4,9
	$R_3-R_{13}-R_3-R_{2222}-B-R-R_{311}-B_{11}-B-B_{32}$	4,4 *
	$R_3-R_{13}-R_3-R_{2222}-B-R-R_{311}-B_{11}-R-L_{32}$	4,9
	$R_3-R_{13}-R_3-R_{2222}-B-R-R_{311}-R_{11}-L-B_{32}$	8,0
<i>ffffejef</i>	$R_3-R_{13}-R_3-R_{2222}-B-R-B_{311}-B_{11}-B-L_{32}$	6,0
	$R_3-R_{13}-R_3-R_{2222}-B-R-R_{311}-B_{11}-R-B_{32}$	3,0 *
<i>eeefjee</i>	$B_2-B_{13}-B_2-R_{3222}-B-R-R_{311}-B_{22}-B-B_{32}$	8,6 *
	$B_2-B_{13}-B_2-R_{3222}-B-B-R_{311}-B_{22}-R-L_{32}$	14,7
	$B_2-B_{13}-B_2-R_{3222}-B-R-R_{311}-R_{22}-L-B_{32}$	(.)
<i>eeefjejf</i>	$B_2-B_{13}-B_2-R_{3222}-B-R-R_{311}-B_{22}-B-L_{32}$	15,7
	$B_2-B_{13}-B_2-R_{3222}-B-R-R_{311}-B_{22}-R-B_{32}$	9,0
<i>eeefjeffe</i>	$B_2-B_{13}-B_2-R_{3222}-B-R-R_{311}-B_{22}-L-B_{32}$	7,4

\* См. примеч. к табл. 2, 3 и 6.

конформаций этих шейпов при включении в цепь остатка Leu<sup>10</sup> связано с возникновением невалентных отталкиваний атомов. Как видно из рис. 5, где представлены различные шейпы декапептида, и как следует из расчета, остаток Leu<sup>10</sup> в конформациях шейпа *eeefjee* и аналогичных шейпов наталкивается на остатки Lys<sup>4</sup>, Cys<sup>3</sup>, Ala<sup>5</sup> и Thr<sup>8</sup>. Снятие неблагоприятных контактов ведет к конформационной перестройке. В частности, изменяет свое состояние боковая цепь остатка Thr<sup>8</sup>, что сопровождается потерей ее стабилизирующих взаимодействий с -Lys<sup>4</sup>- и -Ala<sup>5</sup>- и повышением энергии соответственно на 2,0 и 1,3 ккал/моль. По сравнению с нонапептидом на 1,0 ккал/моль ухудшаются также взаимодействия -Lys<sup>4</sup>- с -Ala<sup>5</sup>- и на 1,7 ккал/моль -Cys<sup>3</sup>- с -Ala<sup>5</sup>-.

В табл. 5 для конформации этого типа с  $E_{\text{общ}}=8,6$  ккал/моль даны энергетические составляющие. Их сопоставление с конформациями фрагмента Cys<sup>1</sup>-Ala<sup>9</sup> и конформациями других шейпов Cys<sup>1</sup>-Leu<sup>10</sup> показывает, что снятие повышающей энергию неблагоприятных контактов происходит за счет значительной дестабилизации многих средних взаимодействий. Самые низкоэнергетические структуры фрагмента Cys<sup>1</sup>-Leu<sup>10</sup> с величинами  $E_{\text{общ}}=0$ ; 0,9 и 2,2 ккал/моль (табл. 7) имеют одинаковое конформационное состояние октапептидного участка Cys<sup>1</sup>-Thr<sup>8</sup>. Они отличаются друг от друга лишь формой основной цепи С-концевого дипептида Ala<sup>9</sup>-

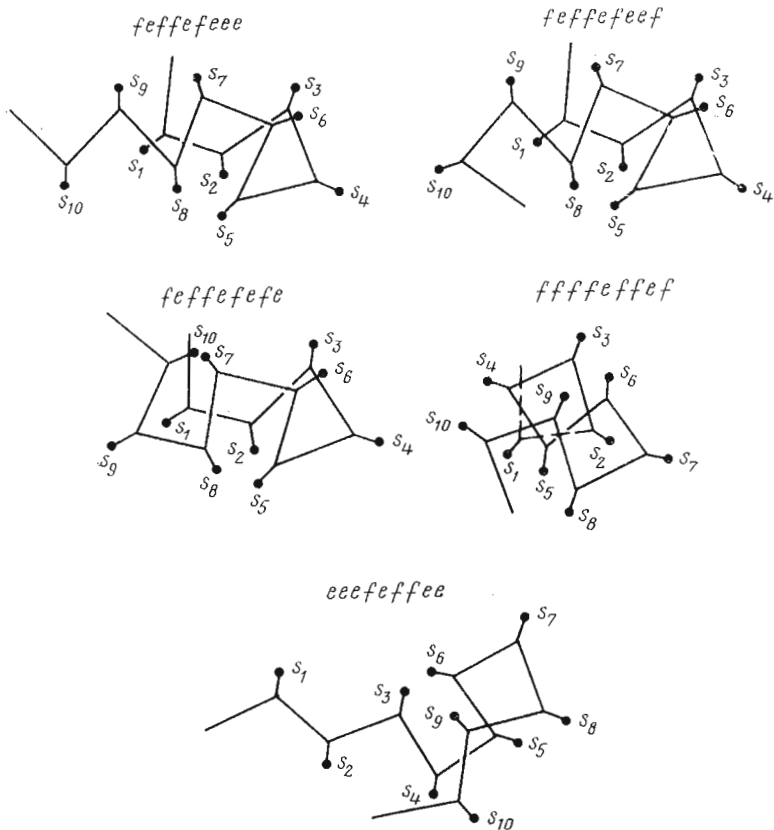


Рис. 5. Шейны основной цепи фрагмента апамина Cys<sup>1</sup>-Asn<sup>2</sup>-Cys<sup>3</sup>-Lys<sup>4</sup>-Ala<sup>5</sup>-Pro<sup>6</sup>-Glu<sup>7</sup>-Thr<sup>8</sup>-Ala<sup>9</sup>-Leu<sup>10</sup>

Leu<sup>10</sup>. Из расчета (см. рис. 5) следует, что в конформациях шейпов *feffffeee* ( $E_{\text{общ}}=2,2$  ккал/моль) и *feffffeeef* ( $E_{\text{общ}}=0,9$  ккал/моль) остатки Ala<sup>9</sup> и Leu<sup>10</sup> удалены от остальной части фрагмента и взаимодействуют с ним лишь на ди- и значительно менее эффективно на трипептидном уровнях. В конформации шейпа *feffffefefe* ( $E_{\text{общ}}=0$ ) сближенными оказываются остатки Glu<sup>7</sup> и Leu<sup>10</sup>, энергия взаимодействия между которыми составляет  $-1,2$  ккал/моль. Этим контактом и объясняется ее более низкая энергия, поскольку в отношении ди- и трипептидных взаимодействий указанные три конформации практически равноценны.

Следовательно, основная причина энергетической дифференциации конформационных состояний декапептида заключается не в появлении дополнительных стабилизирующих взаимодействий (они во всех случаях незначительны), а в возникновении в конформациях ряда шейпов дестабилизирующих невалентных отталкиваний.

В табл. 8 для одной из самых выгодных конформаций (*feffffeeef*,  $E_{\text{общ}}=0,9$  ккал/моль) приведены значения энергии межостаточных взаимодействий. Из этой таблицы видно, что аминокислотные остатки в гептапептидном участке Cys<sup>1</sup>-Glu<sup>7</sup> фрагмента Cys<sup>1</sup>-Leu<sup>10</sup> интенсивно взаимодействуют между собой, причем взаимодействия между удаленными остатками здесь не менее эффективны, чем взаимодействия между ближайшими по цепи.

Конформационное состояние участка Cys<sup>1</sup>-Glu<sup>7</sup>  $R_2^1-B_{23}^2-R_2^3-R_{2222}^4-B^5-R^6-B_{311}^7$  входит во все самые предпочтительные структуры окта-, нона- и декапептида, т. е. является наиболее стабильным для последовательности

Энергия межостаточных взаимодействий (ккал/моль) в конформациях фрагментов Cys<sup>1</sup>-Leu<sup>10</sup>, Cys<sup>1</sup>-Ala<sup>9</sup>, Cys<sup>1</sup>-Thr<sup>8</sup>, Cys<sup>1</sup>-Pro<sup>6</sup> и Ala<sup>5</sup>-Thr<sup>8</sup>

	Cys <sup>1</sup>	Asn <sup>2</sup>	Cys <sup>3</sup>	Lys <sup>4</sup>	Ala <sup>5</sup>	Pro <sup>6</sup>	Glu <sup>7</sup>	Thr <sup>8</sup>	Ala <sup>9</sup>	Leu <sup>10</sup>
Cys <sup>1</sup>	-0,6	-1,0	+0,1	1,2	-2,3	-1,9	-3,8	-0,8	-0,1	-0,1
	-0,6	-1,0	+0,1	1,2	-2,2	-1,1	-3,8	-1,1	-0,1	-
	-0,6	-1,0	+0,1	1,2	-2,3	-2,0	-3,7	-1,7	-	-
	-0,6	-1,0	+0,1	1,1	-2,3	-1,8	-	-	-	-
Asn <sup>2</sup>		-2,0	-2,4	-1,9	-2,2	-4,1	-0,3	-1,4	0	0
		-1,9	-2,4	-1,9	-2,2	-4,2	-0,3	-1,1	0	-
		-1,7	-2,5	-1,9	-1,8	-0,8	-0,2	-1,0	-	-
		-1,7	-2,5	-1,9	-1,6	-0,8	-	-	-	-
Cys <sup>3</sup>			-0,5	-1,8	-0,1	-1,4	0,3	-0,2	0	0
			-0,5	-1,8	-0,1	-1,4	0,3	-0,2	0	-
			-0,4	-1,9	-0,2	-1,3	0,3	-0,1	-	-
			-0,4	-1,9	-0,2	-1,4	-	-	-	-
Lys <sup>4</sup>				-2,5	-1,4	-0,4	-1,0	0	0	-0,1
				-2,5	-1,4	-0,5	-1,0	0	0	-
				-2,3	-1,5	-0,6	-1,0	0	-	-
				-2,2	-1,5	-0,7	-	-	-	-
Ala <sup>5</sup>					-0,6	-1,6	-0,1	-0,6	0	0
					-0,5	-1,6	-0,1	-0,8	0	-
					-0,7	-1,6	-0,1	-0,6	-	-
					-0,4	-1,6	-	-	-	-
					-0,4	-1,6	-0,2	-1,0	-	-
Pro <sup>6</sup>						-0,8	-3,6	-1,7	0	0,1
						-0,8	-3,6	-1,6	0	-
						-0,8	-3,6	-1,7	-	-
						-0,8	-	-	-	-
						-0,5	-3,9	-1,8	-	-
Glu <sup>7</sup>							-5,0	-1,3	-0,1	0,1
							-5,0	-1,3	0	-
							-5,2	-1,3	-	-
							-	-	-	-
							-5,2	-1,1	-	-
Thr <sup>8</sup>								-2,8	-1,0	-0,8
								-3,1	-0,8	-
								-2,6	-	-
								-	-	-
								-2,6	-	-
Ala <sup>9</sup>									-1,7	-1,2
									-2,2	-
									-	-
									-	-
Leu <sup>10</sup>										-2,2
										-
										-

Примечание 1. Энергетические данные по разным типам межостаточных взаимодействий относятся к конформациям следующих фрагментов аламина (в порядке следования строк для каждого остатка в столбце): Cys<sup>1</sup>-Leu<sup>10</sup>(R<sub>2</sub>-B<sub>23</sub>-R<sub>2</sub>-R<sub>2222</sub>-B-R-B<sub>31</sub>-B<sub>31</sub>-B, табл. 7); Cys<sup>1</sup>-Ala<sup>9</sup>(R<sub>2</sub>-B<sub>23</sub>-R<sub>2</sub>-R<sub>2222</sub>-B-R-B<sub>31</sub>-B<sub>31</sub>-B, табл. 6); Cys<sup>1</sup>-Thr<sup>8</sup>(R<sub>2</sub>-B<sub>23</sub>-R<sub>2</sub>-R<sub>2222</sub>-B-R-B<sub>31</sub>-B<sub>31</sub>, табл. 4); Cys<sup>1</sup>-Pro<sup>6</sup>(R<sub>2</sub>-B<sub>23</sub>-R<sub>2</sub>-R<sub>2222</sub>-B-R, табл. 11 в [1]); Ala<sup>5</sup>-Thr<sup>8</sup>(B-R-B<sub>31</sub>-B<sub>31</sub>, табл. 2).

2. Энергия взаимодействий атомов в остатке  $E_m = E_{b_m} + E_{b_{m+1}} + E_{s_m} + E_{b_m-b_{m+1}} + E_{v_m-s_m} + E_{b_{in}+1-s_m}$ , между остатками  $-E_{m-n} = E_{b_m-b_{n+1}} + E_{b_m-s_n} + E_{s_m-b_{n+1}} + E_{s_m-s_n}$  (см. рис. 3).

Cys<sup>1</sup>-Glu<sup>7</sup>. Взаимодействие остатка Thr<sup>8</sup> с участком Cys<sup>1</sup>-Glu<sup>7</sup> составляет -4,4 ккал/моль. Контакты -Thr<sup>8</sup> с двумя последующими остатками оцениваются в -1,8 ккал/моль. Дипептидный участок Ala<sup>9</sup>-Leu<sup>10</sup> практически не связан с Cys<sup>1</sup>-Glu<sup>7</sup> (табл. 5 и 8) и, как следует из расчета, может находиться в близких по энергии состояниях B<sup>9</sup>-B<sup>10</sup>(R<sup>10</sup>), R<sup>9</sup>-B<sup>10</sup>(R<sup>10</sup>), L<sup>9</sup>-B<sup>10</sup>(R<sup>10</sup>).

Таким образом, результаты конформационного анализа позволяют заключить, что в самых стабильных и наиболее представительных по количеству структурах декапептида Cys<sup>1</sup>-Leu<sup>10</sup> гептапептидный участок Cys<sup>1</sup>-Glu<sup>7</sup> представляет собой сложившуюся, конформационно жесткую (прежде всего в отношении формы основной цепи) нуклеацию, а два предшествующих -Cys<sup>11</sup>- остатка (Ala<sup>9</sup> и Leu<sup>10</sup>) отличаются во фрагменте большой лабильностью. Промежуточное положение занимает остаток Thr<sup>8</sup>, однако его конформационное состояние, особенно состояние боковой цепи, в большей степени определяется взаимодействиями с нуклеацией.

В табл. 8 приведены значения энергии межостаточных взаимодействий в глобальных конформациях свободных пептидов Cys<sup>1</sup>-Ala<sup>9</sup>, октапептида Cys<sup>1</sup>-Thr<sup>8</sup>, гексапептида Cys<sup>1</sup>-Pro<sup>6</sup> и конформации с  $E_{\text{общ}}=3,1$  ккал/моль тетрапептида Ala<sup>5</sup>-Thr<sup>8</sup>. Они отвечают состояниям соответствующих участков цепи в декапептиде Cys<sup>1</sup>-Leu<sup>10</sup>.

Как следует из сравнения данных, представленных в соответствующих клетках, включение того или иного участка в этом конформационном состоянии в более длинный фрагмент не приводит, несмотря на возникновение многочисленных и эффективных новых взаимодействий между остатками, к ослаблению его внутренних стабилизирующих контактов. Почти полное совпадение всех значений энергии межостаточных взаимодействий имеет место даже в конформации  $B^5-R^6-B_{31}^7-B_{31}^8$  на участке Ala<sup>5</sup>-Thr<sup>8</sup> как в свободном состоянии, так и включенного в среднюю часть фрагмента Cys<sup>1</sup>-Leu<sup>10</sup>, в котором он испытывает дополнительные взаимодействия, энергия которых равна -19,5 ккал/моль (при внутренних взаимодействиях, включая монопептидные, -18,3 ккал/моль). Следовательно, уникальность самых низкоэнергетических конформаций декапептидного участка Cys<sup>1</sup>-Leu<sup>10</sup> апамина заключается в практически совершенной согласованности межостаточных взаимодействий на всех участках цепи.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Попов Е. М., Мельников П. Н. (1979) Биоорганич. химия, 5, 828-847.
2. Schimmel P. R., Flory P. I. (1968) J. Mol. Biol., 34, 105-120.
3. Липкинд Г. М., Архипова С. Ф., Будковская В. Н., Попов Е. М. (1974) Молекулярная биология, 8, 902-912.
4. Kreissler M. A., Arkhipova S. F., Lipkind G. M., Popov E. M. (1974) J. Chem. Phys., 71, 907-912.

Поступила в редакцию  
15.XII.1978

#### A PRIORI CALCULATION OF THREE-DIMENSIONAL STRUCTURE OF APAMIN. II. FRAGMENT Cys<sup>1</sup>-Leu<sup>10</sup>

MEL'NIKOV P. N., POPOV E. M.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy  
of Sciences of the USSR, Moscow*

The conformational possibilities of the apamin Cys<sup>1</sup>-Asn<sup>2</sup>-Cys<sup>3</sup>-Lys<sup>4</sup>-Ala<sup>5</sup>-Pro<sup>6</sup>-Gly<sup>7</sup>-Thr<sup>8</sup>-Ala<sup>9</sup>-Leu<sup>10</sup> (Cys<sup>1</sup>-Leu<sup>10</sup>) fragment were assessed. Calculations were based on the preliminary analysis of the peptides Thr<sup>8</sup>-Ala<sup>9</sup>, Ala<sup>9</sup>-Leu<sup>10</sup>, Ala<sup>5</sup>-Thr<sup>8</sup>, Cys<sup>1</sup>-Thr<sup>8</sup>, Cys<sup>1</sup>-Ala<sup>9</sup> and Cys<sup>1</sup>-Pro<sup>6</sup> described in the preceding communication. In the most stable decapeptide structures, the octapeptide Cys<sup>1</sup>-Thr<sup>8</sup> and particularly its backbone were shown to constitute a conformationally rigid «nucleus», while considerable flexibility was observed for Ala<sup>9</sup> and Leu<sup>10</sup> residues. The most stable Cys<sup>1</sup>-Leu<sup>10</sup> conformations exhibited a very high degree of correlation for all inter-residue interactions.