

## Модель трехмерной структуры основной антигенной детерминанты белка gp120 HIV<sub>Thailand</sub>

А. М. Андрианов

Институт биоорганической химии НАН Беларуси  
Ул. Академика Купревича, 5/2, Минск, 220141, Беларусь

*С использованием данных спектроскопии ЯМР, опубликованных в литературе, построена модель трехмерной структуры основной антигенной детерминанты белка gp120 HIV<sub>Thailand</sub>. Определены элементы ее вторичной структуры и конформации нерегулярных сегментов. Исследованы конформационные возможности фрагмента, формирующего иммунодоминантный эпитоп вируса. Полученные результаты обсуждены вместе с известными данными о пространственной организации гомологичного участка белка gp120 HIV<sub>MN</sub>.*

**Введение.** Высокая вариабельность белков оболочки HIV-1 является главным препятствием на пути создания эффективных лекарственных препаратов для профилактики и лечения СПИДа. Поэтому в последние годы значительные усилия исследователей направлены на выявление консервативных фрагментов этих белков и установление их роли в процессе функционирования вируса. В частности, поиск консервативных фрагментов в пределах ОАД HIV-1 (петля V3 белка gp120 [1]) показал [2], что, несмотря на высокий уровень мутаций, первичная структура ее отдельных участков сохраняется в большинстве исследованных вирионов HIV-1. Этот факт позволяет рассматривать данный фрагмент в качестве конструктивной основы для разработки противовирусной вакцины [3, 4], что придает особую актуальность работам по изучению принципов его пространственной организации (см. например, [5—7]).

Цель настоящего сообщения состояла в определении по данным спектроскопии ЯМР локально точной трехмерной структуры ОАД HIV<sub>Thailand</sub> и в ее сопоставлении с конформацией соответствующего фрагмента белка gp120 HIV<sub>MN</sub> [8].

Очевидно, чтобы получить точную и достоверную информацию о пространственной структуре ОАД HIV<sub>Thailand</sub>, формирующей конформационно

лабильный участок белка gp120 [6, 9], необходимо осуществить систематический поиск в конформационном пространстве ( $\phi$ ,  $\psi$ ,  $\chi$ ) полного распределения структур, удовлетворяющих теоретическим и экспериментальным данным. Основным препятствием в реализации указанного подхода является неизбежный при такой постановке задачи комбинаторный взрыв, делающий невозможным простое алгоритмическое вычисление всех вероятных конформаций фрагмента.

В работе предпринята попытка выполнить детальный конформационный анализ ОАД HIV<sub>Thailand</sub> с помощью разработанного ранее расчетно-теоретического метода [10, 11], в котором для решения комбинаторной задачи применен ряд приемов [12—15], позволяющих значительно сократить требуемую для «просмотра» область конформационного пространства.

Ранее автором [16, 17] сообщены результаты теоретического исследования трехмерной структуры фрагмента 13—24 ОАД HIV<sub>Thailand</sub>, аминокислотная последовательность которого включает участок Gly-Pro-Gly-Gln-Val-Phe, формирующий ИДЭ вируса [19]. (Здесь и далее используется нумерация остатков синтетического пептида [18], аминокислотная последовательность которого на участке 2—36 совпадает с первичной структурой ОАД белка

Принятые сокращения: HIV-1 — вирус иммунодефицита человека типа 1; HIV<sub>Thailand</sub> и HIV<sub>MN</sub> — субтипы HIV-1, выделенные у вирусоносителей из Таиланда и США (штат Миннесота) соответственно; ОАД — основная антигенная детерминанта; ИДЭ — иммунодоминантный эпитоп.

gp120 HIV<sub>Thailand</sub>.) В данной статье представлены результаты расчета полной пространственной структуры упомянутой аминокислотной последовательности.

**Материалы и методы.** Метод [10, 11] позволяет выполнить прямое (без построения трехмерной структуры) преобразование спектральных параметров в двугранные углы аминокислотных остатков, рассматриваемые как начальное приближение для поиска в конформационном пространстве всех структур, согласующихся с данными спектроскопии ЯМР и энергетическими критериями [20].

Моделирование пространственной структуры ОАД HIV<sub>Thailand</sub> осуществляли в три последовательных этапа. Первый этап — определение наиболее вероятных значений двугранных углов фрагмента — был выполнен ранее [17] с помощью вероятностного подхода [12], реализованного в компьютерной программе CONFNMR [17, 21]. Необходимые для этой цели экспериментальные данные заимствованы из работы Гупты и соавт. [18] (подробности см. в сообщении [17]).

Установленную таким образом конформацию полипептидной цепи (таблица) использовали как стартовую на втором этапе расчета, в результате реализации которого построена геометрическая модель пространственной укладки ОАД HIV<sub>Thailand</sub>. С применением программы SG [11] моделировали структуры, удовлетворяющие экспериментальным геометрическим ограничениям — стартовым значениям углов внутреннего вращения (таблица) и геометрии замыкания дисульфидной связи Cys-2—Cys-36 [1]. Для замыкания S-S-мостика, обеспечиваемого системой штрафных потенциалов [25], осуществляли перебор возможных значений углов  $\chi_1$  цистеиновых остатков в окрестностях 60, 180 и  $-60^\circ$ . В каждой исходной конформации проводили минимизацию штрафной функции  $F$  вида [10, 11]

$$F = \sum \beta_i (D_i^B - D_i^T)^2 + \sum \alpha_j (\theta_j^B - \theta_j^C)^2, \quad (1)$$

где  $\beta_i$  и  $\alpha_j$  — весовые множители;  $D_i^B$  и  $D_i^T$  — соответственно вычисленное и требуемое значения расстояний между заданной  $i$ -й парой атомов S-S-мостика;  $\theta_j^B$  и  $\theta_j^C$  — вычисленное и стартовое значения  $j$ -го угла внутреннего вращения.

В результате расчетов отобраны 26 структур, уточняемых на третьем этапе, выполненном с помощью программы SE [11] в виде последовательного процесса минимизации целевой функции

$$E = U + F, \quad (2)$$

включавшей конформационную энергию ( $U$ ) и штрафной потенциал ( $F$ ). На этапе энергетического уточнения, состоявшего из 10 последовательных

циклов, параметр  $\alpha_j$  в штрафной функции (1) был принят равным нулю, а значения весовых множителей  $\beta_i$  для каждого последующего цикла уменьшались в два раза. При этом каждый раз использовали стартовые значения углов  $\phi$ ,  $\psi$ ,  $\chi$ , полученные на предыдущем шаге. На последнем цикле уточнения была проведена «свободная» минимизация конформационной энергии рассматриваемых структур, приведшая к их заметной энергетической дифференциации. В результате такого многоступенчатого процесса уточнения для дальнейших исследований были отобраны пять наиболее перспективных по величине внутримолекулярной энергии структур, сохранивших при «свободной» оптимизации конформационных параметров характеристики, введенные в качестве ограничений на втором этапе расчета.

Конформационный анализ выполняли в предположении жесткой валентной схемы пептидов со стандартной геометрией аминокислотных остатков. Параметры для вычисления энергии невалентных и электростатических взаимодействий, водородных связей и торсионных вкладов взяты из работы [26]. Для минимизации конформационной энергии применяли метод Давидона—Флетчера—Пауэлла [27]. В качестве критерия отбора конформационно стабильных структур использовали величину энергетического интервала  $\Delta = 25$  ккал/моль [10, 11].

Отнесения аминокислотных остатков к различным типам регулярных вторичных структур выполняли с учетом величин двугранных углов  $\phi$ ,  $\psi$  [28]:  $\phi = -64,7^\circ$  (12,8°),  $\psi = -39,8^\circ$  (12,2°) для остатков в  $\alpha$ -спирали;  $\phi = -112,6^\circ$  (41,4°),  $\psi = 123,0^\circ$  (60°) для остатков в «вытянутой» конформации;  $\phi = -62,8^\circ$  (38,0°),  $\psi = -16,5^\circ$  (34,7°) для остатков в спирали  $3_{10}$  (в скобках указаны величины стандартных отклонений).

Для идентификации  $\beta$ -изгибов использовали классификацию, предложенную Льюисом и соавт. [29]. При определении инверсных  $\gamma$ -изгибов привлекали критерии, описанные в работе [30].

**Результаты и обсуждение.** Энергетически предпочтительные конформации анализировали, сопоставляя их попарно в пространстве двугранных углов и декартовых координат атомов (см., например, монографию [11]). Сравнительный анализ показал, что, несмотря на локальные различия, наблюдаемые в центральной области петли V3, все расчетные структуры характеризуются незначительным разбросом углов внутреннего вращения и имеют близкие пространственные укладки полипептидной цепи: среднеквадратичные отклонения углов внутреннего вращения в полученном ансам-

Двугранные углы основной цепи, использованные в качестве начального приближения для расчета пространственной структуры ОАД HIV<sub>Thailand</sub>

Остаток	Двугранные углы, град <sup>1,2,3,4</sup>		$\Delta(\phi, \psi)^5$		Остаток	Двугранные углы, град <sup>1,2,3,4</sup>		$\Delta(\phi, \psi)^5$	
	$\phi \pm \sigma$	$\psi \pm \sigma$	$\Delta(\phi)$	$\Delta(\psi)$		$\phi \pm \sigma$	$\psi \pm \sigma$	$\Delta(\phi)$	$\Delta(\psi)$
Cys-1	-100±16	-10±15	12	10	Gly-18	-100±32	-45±23	30	21
Cys-2	-90±15	-10±25	14	21		-100±32	-45±23	28	21
Thr-3	-85±26	-5±20	18	13		100±29	0±31	22	37
Arg-4	-115±20	135±28	14	17		100±29	0±31	25	24
Pro-5	-50±15	-20±22	2	13	Gln-19	-95±15	-15±20	11	18
Ser-6	-90±15	-10±25	14	21	Val-20	-115±20	135±28	16	24
Asn-7	-115±20	135±28	18	16	Phe-21	-90±15	-10±25	19	21
Asn-8	-90±15	-10±25	8	22	Tyr-22	-90±15	-10±25	17	23
Thr-9	90±15	-10±25	20	17	Arg-23	-90±15	-10±25	14	27
Arg-10	-115±20	135±28	24	30	Thr-24	-115±20	135±28	12	6
Thr-11	-115±20	135±28	8	22	Gly-25 <sup>2</sup>	—	—	—	—
Ser-12	-115±20	135±28	16	27	Asp-26	-115±20	135±28	14	25
He-13	-115±20	135±28	14	27	He-27	-115±20	135±28	17	23
Thr-14	-115±20	135±28	28	33	He-28	-115±20	135±28	17	17
He-15	-90±15	-10±25	2	23	Gly-29 <sup>2</sup>	—	—	—	—
Gly-16	90±40	-115±25	49	29	Asp-30	-115±20	135±28	12	21
	-90±40	115±25	25	17	He-31	-115±20	135±28	14	19
	90±40	-115±25	52	21	Arg-32	-65±20	-35±17	6	5
	-90±40	115±25	34	28	Lys-33	-65±20	-35±17	3	14
	90±40	-115±25	23	26	Ala-34	-65±20	-35±17	15	17
Pro-17	-50±15	130±12	14	12	Tyr-35	-60±18	-10C26	12	15
Gly-18	-90±40	115±25	41	20	Cys-36 <sup>3</sup>	—	—	—	—

П р и м е ч а н и е. <sup>1</sup>Для остатков Gly-16 и Gly-18 в стартовой модели использовали значения углов внутреннего вращения, полученные в работе [16] в результате моделирования трехмерной структуры фрагмента 13—24 ОАД HIV<sub>Thailand</sub>; <sup>2</sup>при формировании начального приближения для остатков Gly-25 и Gly-29, конформации которых не могут быть установлены однозначно по данным спектроскопии ЯМР [12], рассматривали все вероятные минимумы глицинов [8], согласующиеся с наблюдаемой в спектрах ядерного эффекта Оверхаузера системой d-связей [18] ( $d_{\alpha N^-}$ ,  $d_{NN^-}$  и  $d_{\beta N^-}$  — расстояния между амидным протоном остатка ( $i+1$ ) и протонами C<sup>α</sup>H, NH и C<sup>β</sup>H остатка  $i$  — используются для отнесения сигналов протонов в спектрах ядерного эффекта Оверхаузера [22, 23] и рассматриваются в методе [12] в качестве основной экспериментальной информации для определения двугранных углов остова исследуемой молекулы, подробности см. в работе [12]); <sup>3</sup>из-за отсутствия d-связей у C-концевого цистеина и вследствие этого невозможности определения его двугранных углов в набор стартовых конформаций этого остатка включили основные локальные минимумы, характерные для монопептидов с подвижной боковой цепью [24]; <sup>4</sup> $\sigma$  — стандартные отклонения двугранных углов от их взвешенных средних значений, оцененные для соответствующих областей конформационного пространства [17] на основе данных рентгеноструктурного анализа белков высокого разрешения [12]; <sup>5</sup>отклонения двугранных углов  $\phi$ ,  $\psi$ , от их стартовых (взвешенных средних) значений, полученные в результате энергетического уточнения структур (приведены данные для «глобальной» конформации выявленного кластера конформеров (см. текст)).

бле конформеров варьируют в интервале 17,3—22,5°, а соответствующие значения для координат атомов не превышают 1,8 Å. Поэтому для построения модели, описывающей трехмерную структуру ОАД белка gp120 HIV<sub>Thailand</sub>, их объединили в один кластер подобных конформеров (рис. 1), содержащий информацию о ее динамических и конформационных свойствах в растворе.

Согласно полученным данным (рис. 2), ОАД белка gp120 HIV<sub>Thailand</sub> формирует на N-конце один виток спирали  $3_{10}$  (остатки 1—3), переходящей в близкую по форме остова последовательность из двух  $\beta$ -изгибов III—III (остатки 4—7 и 7—10). Участки 10—14 и 24—31 образуют два «вытянутых» фрагмента, а C-концевой сегмент 32—36 — конформацию правой  $\alpha$ -спирали. Анализ структур-

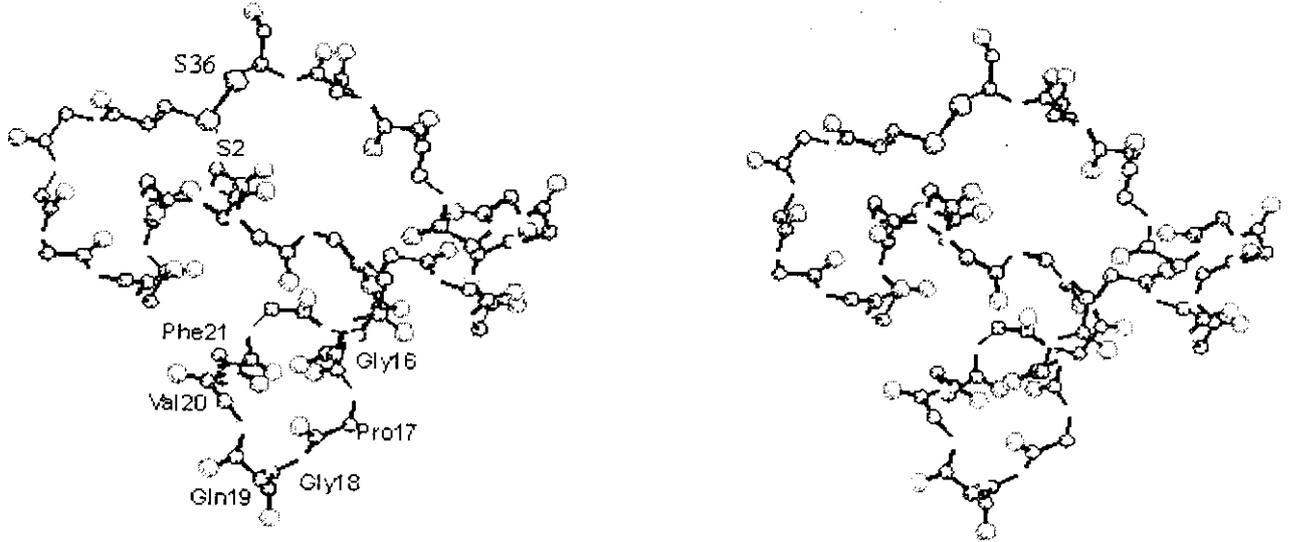


Рис. 1. Стереорепрезентация пространственной укладки остова основной антигенной детерминанты белка gp120 HIV<sub>Thailand</sub> в лучшей по значению внутримолекулярной энергии конформации. Отмечены остатки цистеина, замыкающие петлю V3 на дисульфидный мостик [1], а также участок, формирующий иммунодоминантный эпитоп вируса [19]. В приведенной структуре гексапептид Gly-Pro-Gly-Gln-Val-Phe образует инверсный  $\gamma$ -изгиб (остатки 16—18), переходящий в нестандартный  $\beta$ -поворот IV (18—21)

ных параметров центральной области петли V3 (гексапептид Gly-16-Pro-17-Gly-18-Gln-19-Val-20-Phe-21) приводит к выводу, сделанному ранее [16, 17] в результате конформационного ЯМР анализа фрагмента 13—24 ОАД HIV<sub>Thailand</sub>: на данном участке вероятно реализация пяти конформеров, представляющих различные комбинации перекрывающихся изгибов полипептидной цепи (рис. 2). При этом в двух конформерах трипептид Gly-16-Pro-17-Gly-18 формирует инверсный  $\gamma$ -изгиб. В связи с этим следует отметить, что  $\gamma$ -изгибы редко встречаются в белках [30] и, согласно полученным данным, этот специфический элемент структуры может участвовать в формировании «конформации комплексообразования», обеспечивающей идентификацию ИДЭ антителами.

Как видно из рис. 2, во всех расчетных структурах остаток Phe-21 входит в состав спирали  $3_{10}$  (сегмент 21—23). Известно [31], что перекрывающиеся изгибы, расположенные на N- или C-конце спирального участка, образуют экспонированную в растворитель компактную петлю (рис. 1), что обеспечивает структурную основу для ее эффективных взаимодействий с антителами.

Сопоставление вторичных структур ОАД белка gp120 в вирионах HIV<sub>Thailand</sub> (рис. 2) и HIV<sub>MN</sub> [8] позволяет выделить консервативные фрагменты на N-конце петли V3 и в ее центральной области. Так, в обоих субтипах вируса N-концевой трипептид, включающий участок N-гликозилирования

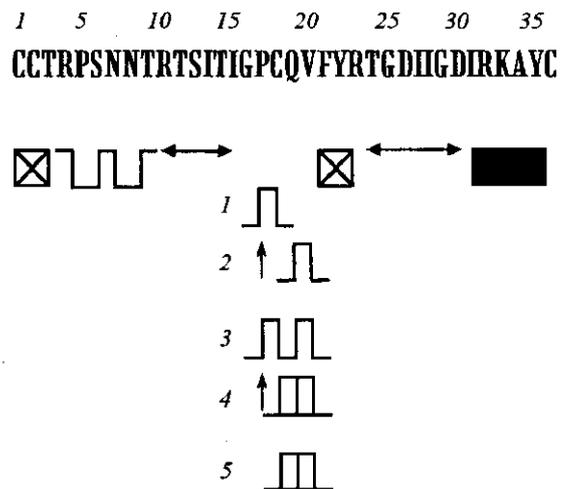


Рис. 2. Элементы вторичной структуры основной антигенной детерминанты (ОАД) белка gp120 HIV<sub>Thailand</sub>: черный прямоугольник — правая  $\alpha$ -спираль; перекрестный прямоугольник — спираль  $3_{10}$ ; двойная стрелка — «вытянутая» конформация; вертикальная стрелка — центральный остаток инверсного  $\gamma$ -изгиба; «колодец» —  $\beta$ -изгиб III; «башня» —  $\beta$ -изгиб IV. Цифрами 1—5 обозначены конформеры гексапептида Gly-Pro-Gly-Gln-Val-Phe, отобранные посредством энергетической дифференциации различных структурных вариантов фрагмента 13—24 ОАД HIV<sub>Thailand</sub> [16, 17] и оставшиеся в списке его вероятных конформаций в результате построения полной трехмерной структуры петли V3

(остаток Asp), образует конформацию  $\beta$ -изгиба, которая, по-видимому, выполняет роль «сигнальной структуры», необходимой для его узнавания гликозилтрансферазой [32].

Сопоставление структур гексапептидов показывает, что выявленный для этого участка набор энергетически предпочтительных конформеров близок к полученному при изучении трехмерной структуры пептида gr70 [8] — синтетической молекулы, имитирующей ОАД белка gp120 HIV<sub>MN</sub>. Согласно проведенным исследованиям, в обоих субтипах HIV-1 конформационные состояния гексапептида могут быть описаны наборами конформеров, в которых представлено ограниченное число топологически близких структурных вариантов (подробности см. в работе [17]).

Сравнивая вторичные структуры петли V3 белка gp120 в двух субтипах HIV-1, необходимо также отметить, что С-концевой сегмент ОАД HIV<sub>MN</sub> образует в водном растворе конформацию  $\beta$ -изгиба, переходящую в правую  $\alpha$ -спираль при добавлении трифторэтанола [8]. Исследование вторичной структуры ОАД HIV<sub>Thailand</sub> подтверждает отмеченную в работе [8] тенденцию к формированию в С-концевой области петли V3 свернутых структур: из приведенной на рис. 2 информации видно, что участок 32—36 принимает конформацию правой  $\alpha$ -спирали, что соответствует данным по исследованию пептидов — фрагментов ОАД HIV-1 методами спектроскопии ЯМР (см. например, работу [33]).

Таким образом, полученные в результате моделирования трехмерной структуры ОАД HIV<sub>Thailand</sub> данные согласуются со сделанным ранее [16, 17] предположением о том, что пептидная цепь ИДЭ HIV-1 обладает свойствами метастабильного олигопептида, который в зависимости от субтипа вируса принимает в качестве доминирующей одну из конформаций, представленных в растворе (рис. 2). К сожалению, в случае вирионов HIV<sub>Thailand</sub> имеющиеся в литературе опытные данные содержат недостаточно сведений для однозначного установления иммунореактивной конформации ИДЭ, однако их анализ, выполненный с учетом рассмотренных выше результатов, позволяет осуществить подобную оценку для вирусных частиц HIV<sub>MN</sub>. Сопоставление вероятных конформеров участка Gly-Pro-Gly-Gln-Val-Phe (рис. 2) с рентгеновскими конформациями гомологичных фрагментов пептидов gp142 [34] и aib142 [35], включающих область связывания белка gp120 HIV<sub>MN</sub> с антителами, показывает, что конформер 3 (рис. 2) формирует структуру, реализующуюся при образовании комплекса вирусный антиген—антитело. Данный факт доказывает, что именно эта конформация, наблюдаемая, согласно

проведенным расчетам, в обоих субтипах HIV-1 [16, 17], ответственна за присутствие в антисыворотке клона антител, инактивирующих вирионы HIV<sub>MN</sub>. Этот вывод коррелирует с величиной доступной растворителю площади поверхности, вычисленной для фрагмента His-Ile-Gly-Pro-Gly-Arg-Ala-Phe-Tyr-Thr в энергетически предпочтительной конформации пептида gp142 [8]: по данным рентгеноструктурного анализа [34], площадь контактирующей с ним поверхности FАВ-фрагмента моноклонального антитела составляет 469 Å<sup>2</sup>, в то время как соответствующее значение в расчетной конформации gp142 равно 455 Å<sup>2</sup>. Очевидно, эти данные указывают на наличие структурных предпосылок, необходимых для реализации результативных взаимодействий пептида с антителами.

Приведенные данные о конформации ОАД HIV<sub>Thailand</sub> существенно отличаются от результатов работы [18], в которой модель ее пространственной структуры построена на основе спектральных параметров ЯМР методом динамической имитационной обработки (simulated annealing). Сопоставление структур, проведенное с использованием статистических методов (см., например, обзор [20]), свидетельствует о значительных расхождениях между ними: согласно критерию  $\chi^2$ , различия по углам  $\phi$ , и  $\psi$  статистически значимы, а наибольший вклад в стандартные отклонения двугранных углов (соответственно 50,2° и 73°) вносят остатки, для которых в структуре [18] характерны значительные нарушения геометрических ограничений (эти данные относятся к «глобальной» структуре, показанной на рис. 1, для остальных конформеров ансамбля величины стандартных отклонений близки к приведенным выше). Сравнительный анализ качества структур, в котором для оценки точности их определения были привлечены два критерия — соответствие геометрических параметров экспериментальным ограничениям и локализация аминокислотных остатков в стерически разрешенных областях пространства ( $\phi$ ,  $\psi$ ) — показывает, что, в отличие от данных работы [18], использование подхода [10] позволило провести корректное согласование спектральных и структурных характеристик ОАД HIV<sub>Thailand</sub>. Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что конформационные характеристики построенной модели согласуются с использованными в расчетах экспериментальными ограничениями. Значения двугранных углов  $\phi$ ,  $\psi$  во всех отобранных структурах расположены в окрестностях локальных минимумов аминокислотных остатков начальной конформации (таблица), полностью удовлетворяющей данным о  $d_{\alpha N}$ -,  $d_{NN}$ - и  $d_{\beta N}$ -связях [18]. В частности, среднеквадратичное

отклонение между углами  $\phi$ ,  $\psi$  стартовой конформации и расчетной структуры с энергией  $E_{отн} = 0$  ккал/моль (рис. 1) составляет  $17,8^\circ$ . Следует, однако, отметить, что величины двугранных углов отдельных остатков выходят за пределы стандартных отклонений  $\sigma$ , рассчитанных в работе [12] для соответствующих областей пространства ( $\phi$ ,  $\psi$ ) (таблица). Тем не менее, анализ амплитуды этих отклонений (таблица) показывает, что они не являются причиной изменений областей остатков, отвечающих стартовой структуре, и, следовательно, не нарушают геометрических ограничений, заданных на основе данных спектроскопии ЯМР [18]. Аналогичный вывод можно сделать относительно дисульфидного мостика Cys-2—Cys-36, геометрические параметры которого близки к экспериментальным значениям:  $r_{s...s} = 2,04$ ,  $r_{c...s} = 3,05$ ,  $r_{c...f} = 3,85$  Å (см., например, [24]). При этом связь C—S находится относительно связи S—S в гош-положении (двугранный угол  $\chi^{S-S}$  близок к  $90^\circ$ ), отвечающим минимуму торсионного потенциала.

Результаты всестороннего тестирования вероятностного подхода [10—12, 20], проведенного с привлечением модельных и реальных данных спектроскопии ЯМР, дают основание утверждать [20], что точность определения трехмерной структуры ОАД HIV<sub>Thailand</sub> (рис. 1) соответствует уровню, который обеспечивает метод рентгеноструктурного анализа белков среднего (2,5—3,0 Å) разрешения.

Хотя использованный метод расчета не гарантирует нахождения всех низкоэнергетических конформаций ОАД HIV<sub>Thailand</sub>, удовлетворяющих экспериментальным данным, установленный в настоящей работе набор расчетных структур более полно и достоверно (по сравнению с моделью [18]) отражает основные черты пространственной организации этого функционально важного участка белка gp120 в растворе.

Выводы. Суммируя результаты исследования пространственной структуры ОАД HIV<sub>Thailand</sub>, автором были сделаны следующие выводы.

N- и C-концевые области ОАД белка gp120 HIV<sub>Thailand</sub> образуют в растворе свернутые структуры, в то время как фрагменты, примыкающие к ее центральному гексапептиду Gly-Pro-Gly-Gln-Val-Phe — вытянутые конформации.

В центральной области петли V3, формирующей ИДЭ HIV-1, наиболее вероятна реализация нескольких конформеров, один из которых (вероятно, доминирующий) определяет специфичность связывания вируса с антителами.

Аминокислотные последовательности ОАД в вирионах HIV<sub>Thailand</sub> и HIV<sub>MN</sub> содержат два структурно консервативных фрагмента: конформацион-

ные свойства участка N-гликозилирования и сегмента, ответственного за взаимодействие вируса с антителами, близки в обоих субтипах HIV-1.

Структура двойного  $\beta$ -изгиба — наиболее вероятная иммунореактивная конформация ИДЭ белка gp120 HIV<sub>MN</sub>.

Работа поддержана Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (грант X01—066).

A. M. Andrianov

3D structure model for the principal neutralizing determinant of the HIV<sub>Thailand</sub> protein gp120

Summary

3D structure model for the principal neutralizing determinant of the HIV<sub>Thailand</sub> protein gp120 has been proposed on the basis of NMR spectroscopy data reported in literature. The elements of the protein secondary structure and conformations of the irregular segments have been determined. The conformational flexibility of a fragment forming the virus immunodominant epitope is studied. The results obtained are discussed conjointly with the data on the spatial structure of the HIV<sub>MN</sub> protein gp120 homologous site.

A. M. Андрианов

Модель тривимірної структури основної антигенної детермінанти білка gp120 HIV<sub>Thailand</sub>

Резюме

З використанням даних спектроскопії ЯМР, опублікованих у літературі, побудовано модель тривимірної структури основної антигенної детермінанти білка gp120 HIV<sub>Thailand</sub>. Визначено елементи її вторинної структури і конформації нерегулярних сегментів. Досліджено конформаційні можливості фрагмента, який формувє імунодомінантний епітоп вірусу. Отримані результати обговорюються разом з відомими даними щодо просторової організації гомологічної ділянки білка gp120 HIV<sub>MN</sub>.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Leonard C. K., Spellman M. W., Riddle L., Harris R. J., Thomas J. N., Gregory T. J. Assignment of intra-chain disulfide bond and characterization of potential glycosylation sites of the type 1 recombinant human immunodeficiency virus envelope glycoprotein (gp120) expressed in chinese hamster ovary cells // J. Biol. Chem.—1990.—265.—P. 10373—10382.
2. LaRosa G. J., Davide J. P., Weinhold K., Waterbury J. A., Profy A. T., Lewis J. A., Langlois A. J., Dressman G. R., Boswell R. N., Shadduk P., Holley L. H., Karplus M., Bolognesi D. P., Matthews T. J., Emini E. A., Putney S. D. Conserved sequence and structural elements in the HIV-1 principal neutralizing determinant // Science.—1990.—249.—P. 932—935.
3. Pau C. -P., Kai M., Holloman-Candal D. L., Luo C.-C., Kalish M. L., Schochetman G., Byers B., George J. R. The WHO network for HIV isolation and characterization. Antigenic variation and serotyping of HIV type 1 from four world health organization-sponsored HIV vaccine sites // AIDS Res. Hum. Retroviruses.—1994.—10, N 11.—P. 1369—1377.
4. Gaschen B., Taylor J., Yusim K., Foley B., Gao F., Lang D., Novitsky V., Haynes B., Hahn B. H., Bhattacharya T., Korber

- B. Diversity considerations in HIV-1 vaccine selection // *Science*.—2002.—296.—P. 2354—2362.
5. Vranken W. F., Fant F., Budesinsky M., Borremans F. A. Conformational model for the consensus V3 loop of the envelope protein gp120 of HIV-1 in 20 % trifluoroethanol/water solution // *Eur. J. Biochem.*—2001.—268, N 9.—P. 2620—2628.
  6. Huisman J. G., Carotenuto A., Labrijn A. F., Papavoine C. H., Laman J. D., Schellekens M. M., Koppelman M. H., Hilbers C. W. Recognition properties of V3-specific antibodies to V3 loop peptides derived from HIV-1 gp120 presented in multiple conformations // *Biochemistry*.—2000.—39, N 35.—P. 10866—10876.
  7. Wu G., MacKenzie R., Durda P. J., Tsang P. The binding of a glycoprotein 120 V3 loop peptide to HIV-1 neutralizing antibodies. Structural implications // *J. Biol. Chem.*—2000.—275, N 47.—P. 36645—36652.
  8. Andrianov A. M. Global and local structural properties of the principal neutralizing determinant of the HIV-1 envelope protein gp120 // *J. Biomol. Struct. and Dynam.*—1999.—16.—P. 931—953.
  9. Chandrasekhar K., Profy A. T., Dyson H. J. Solution conformational preferences of immunogenic peptides derived from the principal neutralizing determinant of the HIV-1 envelope glycoprotein gp120 // *Biochemistry*.—1991.—30, N 38.—P. 9187—9194.
  10. Sherman S. A., Andrianov A. M., Akhrem A. A. Method of modeling protein structure by the two-dimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy data; Application to the proteinase inhibitor BUSI IIА from bull seminal plasma // *J. Biomol. Struct. and Dynam.*—1988.—5.—P. 785—801.
  11. Шерман С. А., Андрианов А. М., Ахрем А. А. Конформационный анализ и установление пространственной структуры белковых молекул.—Минск: Наука и техника, 1989.—240 с.
  12. Sherman S. A., Andrianov A. M., Akhrem A. A. Method of determining protein conformations by the two-dimensional nuclear Overhauser enhancement spectroscopy data // *J. Biomol. Struct. and Dynam.*—1987.—B4, N 5.—P. 869—884.
  13. Andrianov A. M., Sherman S. A. Promises of combined use of molecular mechanics and nuclear Overhauser effect spectroscopy data in modelling spatial peptide and protein structures // *Stud. biophys.*—1990.—135.—P. 107—114.
  14. Андрианов А. М. Конформационный анализ боковых цепей белков на основе данных двумерной спектроскопии ядерного эффекта Оверхаузера // *Молекуляр. биология*.—1991.—25, № 2.—С. 348—357.
  15. Sherman S. A., Johnson M. E. Determination of locally accurate solution protein structures and unambiguous stereospecific <sup>1</sup>H-NMR assignments // *Proteins: Structure, dynamics and design* / Eds V. Renugopalakrishnan, P. R. Carey, I. C. P. Smith, S. G. Huang, A. C. Storer.—Leiden: Esom Sci. Publ., 1991.—P. 62—67.
  16. Андрианов А. М. Структура и конформационные свойства иммунодоминантного эпитопа белка gp120 HIV<sub>Thailand</sub> // *Молекуляр. биология*.—2002.—35, № 4.—С. 715—724.
  17. Andrianov A. M. Local structural properties of the V3 loop of Thailand HIV-1 isolate // *J. Biomol. Struct. and Dynam.*—2002.—19, N 6.—P. 973—990.
  18. Gupta G., Anantharamaiah G. M., Scott D. R., Eldridge J. H., Myers G. Solution structure of the V3 loop of a Thailand HIV isolate // *J. Biomol. Struct. and Dynam.*—1993.—11.—P. 345—366.
  19. Javaherian K., Langlois A. J., LaRosa G. J., Profy A. T., Bolognesi D. P., Herlihy W. C., Putney S. D., Matthews T. J. Broadly neutralizing antibodies elicited by the hypervariable neutralizing determinant of HIV-1 // *Science*.—1990.—250.—P. 1590—1593.
  20. Sherman S. A., Johnson M. E. Derivation of locally accurate spatial protein structure from NMR data // *Progr. Biophys. and Mol. Biol.*—1993.—59.—P. 285—339.
  21. Андрианов А. М. Конформация третьего домена овомукоида индейки в растворе. Структурный анализ по данным двумерной спектроскопии ядерного эффекта Оверхаузера // *Молекуляр. биология*.—1991.—25, № 5.—С. 1215—1224.
  22. Wuthrich K., Wider J., Wagner G., Braun W. Sequential resonance assignments as a basis for determination of spatial protein structures by high resolution proton nuclear magnetic resonance // *J. Mol. Biol.*—1982.—155, N 3.—P. 311—319.
  23. Wuthrich K. Sequential individual resonance assignments in the <sup>1</sup>H-NMR spectra of polypeptides and proteins // *Biopolymers*.—1983.—22, N 1.—P. 131—138.
  24. Понов Е. М. Структурная организация белков.—М.: Наука, 1989.—352 с.
  25. Momany F. A., McGuire R. F., Burgess A. W., Scheraga H. A. Energy parameters in polypeptides. VII. Geometric parameters, partial atomic charges, nonbonded interactions, hydrogen bond interactions and intrinsic torsional potentials for the naturally occurring amino acids // *J. Phys. Chem.*—1975.—79, N 22.—P. 2361—2381.
  26. Шерман С. А. КОМПАС-86 — комплекс программно-алгоритмических средств для исследования пространственной структуры белков и пептидов. Описание применения и рекомендации по использованию // Программное обеспечение ЭВМ.—Минск: Изд-во Ин-та математики, 1986.—Вып. 68.—С. 5—30.
  27. Fletcher R., Powell M. J. D. A rapidly convergent descent method // *Comp. J.*—1963.—6.—P. 163—168.
  28. Smith L. J., Bolin K. A., Schwalbe H., McArthur M. W., Thornton J. M., Dobson C. M. Analysis of main chain torsion angles in proteins: Prediction of NMR coupling constants for native and random coil conformations // *J. Mol. Biol.*—1996.—255.—P. 494—506.
  29. Lewis P. N., Momany F. A., Scheraga H. A. Chain reversals in proteins // *Biochim. et biophys. acta.*—1973.—303.—P. 211—229.
  30. Milner-White E. J., Ross B. M., Ismail R., Belhaj-Mostefa K., Poet R. One type of gamma-turn, rather than the other gives rise to chain-reversal in proteins // *J. Mol. Biol.*—1988.—204.—P. 777—782.
  31. Isogai Y., Nemethy G., Rackovsky S., Leach S. J., Scheraga H. A. Characterization of multiple bends in proteins // *Biopolymers*.—1980.—19.—P. 1183—1210.
  32. Smith J. A., Pease L. J. Reverse turns in peptides and proteins // *CRC Crit. Rev. Biochem.*—1980.—8.—P. 315—399.
  33. Vranken W. F., Budesinsky M., Fant F., Boulez K., Borremans F. A. M. The complete consensus V3 loop peptide of the envelope protein gp120 of HIV-1 shows pronounced chelical character in solution // *FEBS Lett.*—1995.—374.—P. 117—121.
  34. Ghiara J. B., Stura E. A., Stanfield R. L., Profy A. T., Wilson I. A. Crystal structure of the principal neutralization site of HIV-1 // *Science*.—1994.—264.—P. 82—85.
  35. Ghiara J. B., Ferguson D. C., Satterthwait A. C., Dyson H. J., Wilson I. A. Structural-based design of a constrained peptide mimic of the HIV-1 V3 loop neutralization site // *J. Mol. Biol.*—1997.—266.—P. 31—42.

УДК 577.322.5:543.25

Надійшла до редакції 09.12.02