

Компьютерное моделирование иммунореактивной конформации иммунодоминантного эпитопа HIV-RF

А. М. Андрианов, Ю. А. Соколов

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

С помощью предложенного ранее расчетно-теоретического метода построена модель пространственной структуры иммунодоминантного эпитопа (ИДЭ) HIV-RF, согласующаяся с данными спектроскопии ЯМР. Установлено, что главный иммуногенный участок вируса образует в водном растворе доминирующую структуру, в которой инверсный γ -изгиб на участке Gly-Pro-Gly преобразуется в нестандартный β -поворот IV (Gly-Arg-Val-Ile). Показано, что лучшая по энергии конформация ИДЭ HIV-RF подобна структуре, обнаруженной в кристалле в комплексе пептидного антигена с Fab-фрагментом антитела 58.2. На основе сравнительного анализа трехмерных структур ИДЭ в вирионах HIV-RF, HIV-Thailand и HIV-MN сделан вывод о том, что исследуемый участок белка gp120 формирует в трех субтипах вируса подобные пространственные формы основной цепи, реализующиеся из разных локальных минимумов входящих в его состав аминокислотных остатков.

Ключевые слова: вирус иммунодефицита человека, белок gp120, иммунодоминантный эпитоп, конформационный анализ, спектроскопия ЯМР, трехмерная структура.

Введение. Данные о пространственной структуре консервативных фрагментов белков оболочки вируса иммунодефицита человека типа 1 (HIV-1) могут обеспечить конструктивную основу для разработки эффективных лекарственных препаратов, обладающих противовирусным действием. В связи с этим в последние годы проводятся интенсивные исследования по идентификации таких фрагментов, изучению их биологической активности и установлению роли отдельных аминокислотных остатков на различных этапах репликационного цикла вируса. В частности, показано [1, 2], что иммунохимические свойства основной антигенной детерминанты (ОАД) HIV-1 (петля V3 белка gp120 [3]) позволяют рассматривать ее в качестве перспективного фрагмента для создания противовирусной вакцины.

Сравнительный анализ первичных структур ОАД в разных субтипах HIV-1 (HIV-RF, HIV-MN и HIV-Thailand — субтипы HIV-1, выделенные у вирусоносителей из Гаити, США (штат Миннесота) и Таиланда соответственно) показал [4], что, несмотря на высокий уровень мутаций, центральная область этого участка белка gp120, входящая в состав иммунодоминантного эпитопа (ИДЭ) вируса [1, 5], инвариантна в большинстве исследованных вирусных частиц.

Функциональная значимость петли V3 и наличие в ее составе консервативных аминокислот стимулировали проведение исследований трехмерной структуры ОАД HIV-1 методами спектроскопии ЯМР. С помощью методов ЯМР оказалось возможным получить важную информацию о принципах пространственной организации ОАД в растворе (см., например, работы [6—13]).

Очевидно, для более глубокого понимания механизмов, ответственных за формирование комплекса «вирусный антиген—антитело», необходимо владеть данными о структуре и динамических свойствах ИДЭ в различающихся вирионах HIV-1.

Ранее [14—16] нами представлены результаты конформационного ЯМР анализа ОАД HIV-1, одним из главных итогов которого явились две модели трехмерной структуры ИДЭ вируса, описывающие структурные особенности этого участка белка gp120 в субтипах HIV-Thailand [14, 15] и HIV-MN [16]. Настоящая статья продолжает начатые в работах [14—16] исследования и посвящена моделированию пространственной структуры ИДЭ HIV-RF.

Для достижения этой цели были решены следующие задачи: 1) по данным спектроскопии ЯМР [11] осуществлено компьютерное моделирование трехмерной структуры фрагмента 13—24 ОАД HIV-RF (здесь и далее используется нумерация остатков синтетического пептида [11], аминокислотная последовательность которого совпадает с первичной структурой петли V3 белка gp120 HIV-RF; размер фрагмента выбран с учетом результатов работы [17], согласно которым конформационные свойства гексапептида в значительной степени определяются взаимодействиями с ближайшими соседями по цепи и их стабилизирующий эффект не нарушается при увеличении длины полипептидной цепи), в состав которого входит ИДЭ вируса — гексапептид Gly-Pro-Gly-Arg-Val-Ile [5, 6], и установлены все его конформеры, удовлетворяющие экспериментальным данным и энергетическим критериям; 2) конформеры сопоставлены между собой и с рентгеновскими конформациями идентичных участков синтетических пептидов [18—20], имитирующих область связывания белка gp120 HIV-1 с антителами; 3) на основе совместного рассмотрения расчетных и рентгеновских данных предложена модель пространственной организации ИДЭ HIV-RF, конформационные параметры которой сопоставлены с соответствующими характеристиками конформеров, предложенных ранее [14—16] для описания структурных свойств ИДЭ HIV-Thailand и HIV-MN.

Для реализации поставленных задач применена иерархическая процедура [15], использующая стратегию поэтапной сборки молекулярной модели и включающая вероятностную модель конформации белка [21] для формирования начального приближения — ансамбля стартовых структур, согла-

сующихся с данными спектроскопии ЯМР, методы молекулярной механики [22—24] для выделения из набора начальных конформаций низкоэнергетических конформеров, удовлетворяющих экспериментальным геометрическим ограничениям, а также методы квантовой химии [25] для оптимизации геометрических параметров структур, определения их относительного расположения на шкале теплот образования и расчета энергетических барьеров между ними (подробности см. в работе [15]).

Материалы и методы. *Формирование набора стартовых конформаций.* Для определения набора начальных конформаций фрагмента 13—24 ОАД HIV-RF использовали методику [21], включающую расчет взвешенных средних значений двугранных углов по данным спектроскопии ЯМР, статистический анализ которых проводят с учетом эмпирической функции распределения, построенной из рентгеновских данных белков высокого разрешения. Расчеты выполняли с помощью компьютерной программы CONFNMR-2 [14], которая дает возможность, используя данные о d-связях (табл. 1) [26, 27], определить для каждого аминокислотного остатка области конформационного пространства (ϕ , ψ) (рис. 1), а затем вычислить соответствующие им наиболее вероятные значения двугранных углов и стандартных отклонений [21].

В состав ИДЭ HIV-1 входят два инвариантных глицина [4], конформации которых не могут быть однозначно установлены по данным спектроскопии ЯМР [21, 23]. Поэтому начальные приближения для остатков Gly-16 и Gly-18 задавали в соответствии с основными локальными минимумами глицинов [28], а в остальных случаях использовали значения двугранных углов ϕ , ψ , вычисленные с применением программы CONFNMR-2.

Полученный таким образом набор «стартовых точек» (табл. 1) рассматривали как начальное приближение для поиска в конформационном пространстве полного распределения структур, удовлетворяющих теоретическим и экспериментальным данным.

Моделирование трехмерных структур. Конформационный анализ фрагмента 13—24 ОАД HIV-RF выполняли с помощью методов молекулярной механики в приближении стандартной геометрии аминокислотных остатков [22, 23].

Для минимизации энергии (силовое поле AMBER [29]) применяли метод сопряженных градиентов Флетчера-Ривса [30]. В качестве критерия отбора стабильных структур использовали величину

Таблица 1

Данные о *d*-связях [11], отвечающие им области конформационного пространства и взвешенные средние значения двугранных углов ϕ , ψ фрагмента 13–24 основной антигенной детерминанты HIV-RF

Остаток	<i>d</i> -Связь			Область (ϕ , ψ)	Двугранный угол, град	
	$d_{\alpha N}$	d_{NN}	$d_{\beta N}$		ϕ	ψ
Phe-13	+	?	0	B	-100	135
				T	-90	20
Thr-14	+	0	+	A	-105	160
Lys-15	+	+	0	T	-90	20
Gly-16	—	—	—	*	*	*
Pro-17	+	—	0	B	-50	130
Gly-18	0	+	—	*	*	*
Arg-19	+	+	0	T	-90	20
Val-20	+	?	0	B	-100	135
				T	-90	20
Phe-21	+	+	0	T	-90	20
Tyr-22	+	?	0	B	-100	135
				T	-90	20
Ala-23	+	+	+	K	-75	-10
Thr-24	+	+	0	T	-90	20

Примечание. $+\ast$ — Наличие кросс-пика в спектре ядерного эффекта Оверхаузера (межпротонное расстояние $\leq 3,3 \text{ \AA}$); «0» — отсутствие кросс-пика (межпротонное расстояние $> 3,3 \text{ \AA}$) [21]; «?» — кросс-пик ядерного эффекта Оверхаузера не идентифицирован [11], поэтому для остатков Phe-13, Val-20 и Tyr-22 приведены два возможных решения, отвечающих как наличию, так и отсутствию соответствующей *d*-связи. В связи с этим «нулевые» приближения для этих остатков сформированы из конформеров, локализованных в областях В и Т пространства (ϕ , ψ). «*» — набор стартовых структур остатков Gly-16 и Gly-18 включал главные локальные минимумы глицинов [28] (см. текст).

ну энергетического интервала $\Delta U = 11$ ккал/моль [22, 23].

Выбранные согласно этому критерию конформации фрагмента группировали по формам основной цепи путем их попарного сопоставления с привлечением величин среднеквадратичных отклонений координат атомов, вычисленных при оптимальном совмещении структур [23]. В результате сравнительного анализа на главном иммуногенном участке белка gp120 HIV-RF (гексапептид Gly-Pro-Gly-Arg-Val-Phe) выделены две стерически состоятельные конформации, отвечающие заданным геометрическим ограничениям.

Для определения относительного расположения структур на потенциальной поверхности гексапептида их геометрические параметры (табл. 2) были уточнены с использованием методов квантовой химии [25], что позволило оценить относительные заселенности конформеров в ансамбле расчетных структур, рассчитать энергетические барьеры между ними и предсказать доминирующую конформа-

цию, которая рассматривается как наиболее вероятная иммунореактивная конформация ИДЭ HIV-RF.

Квантово-химические расчеты. Уточнение структур гексапептида и определение теплот образования осуществляли с помощью квантово-химического метода PM3 [25], эффективность которого подтверждается расчетами геометрических и энергетических характеристик широкого класса соединений [31].

В качестве начального приближения для углов ϕ , ψ использовали соответствующие параметры, найденные по данным спектроскопии ЯМР на предыдущих этапах расчета (табл. 2). Для обеспечения полного соответствия между геометрией структур и опытными данными проводили предварительный поиск наиболее благоприятных условий оптимизации структурных параметров. Из-за большой размерности матрицы Хартри-Фока (около 200 атомных орбиталей) в целях экономии компьютерного времени на предварительном этапе расчета

геометрию оптимизировали только по двугранным углам, а на заключительном шаге — по всем независимым переменным.

Предварительные расчеты показали, что значения двугранных углов ϕ , ψ в двух рассматриваемых конформерах (табл. 2) не выходят за пределы геометрических ограничений, налагаемых на них

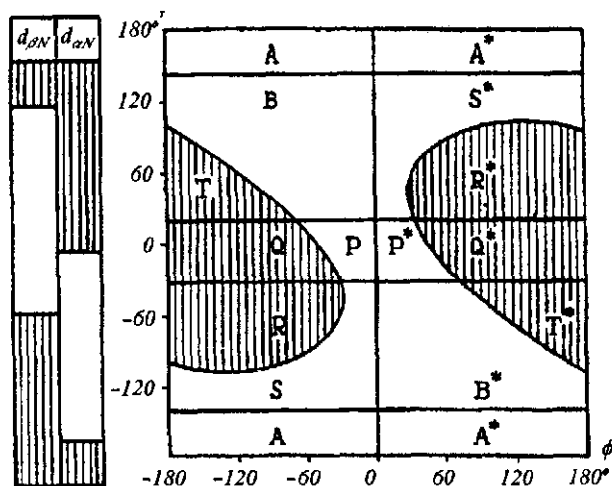


Рис. 1. Диаграмма взаимосвязи межпротонных расстояний $d_{\alpha N}$, d_{NN} и $d_{\beta N}$ (расстояния между амидным протоном NH ($i+1$)-го остатка и протонами $C^{\alpha}H$, NH и $C^{\beta}H$ остатка i соответственно [26, 27]) с областями конформационного пространства (ϕ , ψ) [21, 23]. Заштрихованы интервалы углов ϕ и ψ , для которых ожидается проявление соответствующих d-связей в спектрах ядерного эффекта Оверхаузера. Пространство (ϕ , ψ) разделено на области таким образом, чтобы каждой из них мог быть поставлен в соответствие специфический набор d-связей. Так, в области В ожидается проявление только $d_{\alpha N}$ связи, в области R — d_{NN} и $d_{\beta N}$ связей и т. д. (подробности см. в работах [21, 23])

Таблица 2

Конформеры гексапептида Gly-Pro-Gly-Arg-Val-Ile, отобранные в результате конформационного анализа фрагмента 13—24 ОАД HIV-RF и использованные в качестве начального приближения для уточнения их геометрических параметров методами квантовой химии

Конформер	Аминокислотный остаток											
	Gly*		Pro**		Gly*		Arg**		Val**		Ile**	
	ϕ	ψ	ϕ	ψ	ϕ	ψ	ϕ	ψ	ϕ	ψ	ϕ	ψ
1	100	0	-50	130	90	-115	-90	20	-90	20	-90	20
2	-100	-45	-50	130	90	-115	-90	20	-100	135	-90	20

Примечание. Конформеры пронумерованы в порядке увеличения внутримолекулярной энергии фрагмента 13—24 ОАД HIV-RF (см. текст). *Углы ϕ , ψ (град) получены с помощью энергетической минимизации фрагмента 13—24 ОАД HIV-RF методами молекулярной механики (см. текст). **Углы ϕ , ψ (град) вычислены на основе данных спектроскопии ЯМР программой CONFNMR-2 (см. текст).

результатами спектроскопии ЯМР [11], т. е. для обоих конформеров гексапептида уточненные величины углов ϕ , ψ полностью согласуются с данными спектроскопии ЯМР [11] (табл. 1). Поэтому на заключительном шаге уточнения осуществляли минимизацию свободной энергии структур, рассчитанных на предшествующем этапе описанного выше алгоритма.

Энергетические барьеры между конформациями гексапептида находили из квантово-химических расчетов структур, полученных методом РМЗ, путем последовательного вращения с шагом 5° по соответствующим двугранным углам.

Анализ элементов вторичной структуры. Для анализа вторичной структуры фрагмента Gly-Pro-Gly-Arg-Val-Ile наряду со значениями двугранных углов ϕ , ψ использовали информацию об отдельных специфических межатомных расстояниях, вычисленных из координат атомов, полученных в результате квантово-химического уточнения расчетных конформаций.

Для идентификации β -изгибов использовали классификацию Льюиса и соавт. [32]. При определении инверсных γ -изгибов привлекали критерии, описанные в работе [33].

Координаты атомов рентгеновских конформаций синтетических пептидов [18—20] заимствовали из соответствующих файлов Международного банка белковых структур [34].

Результаты и обсуждение. В табл. 3 приведены относительные величины теплоты образования для оптимизированных структур гексапептида, изменения энергии, достигнутые в результате квантово-химического уточнения, а также отклонения дву-

Таблица 3

Относительные величины теплоты образования ($\Delta(\Delta H_f)$), изменения энергий ($\Delta(\Delta H'_f)$) и отклонения двугранных углов от их стартовых значений

Конформер	Аминокислотный остаток												$\Delta(\Delta H_f)$, ккал/моль	$\Delta(\Delta H'_f)$, ккал/моль
	Gly		Pro		Gly		Arg		Val		Ile			
	$\Delta\phi$	$\Delta\psi$	$\Delta\phi$	$\Delta\psi$	$\Delta\phi$	$\Delta\psi$	$\Delta\phi$	$\Delta\psi$	$\Delta\phi$	$\Delta\psi$	$\Delta\phi$	$\Delta\psi$		
1	2,8 (29)	16,0 (31)	5,8 (15)	5,7 (12)	11,5 (40)	2,4 (25)	3,8 (25)	1,4 (22)	6,2 (25)	9,6 (22)	3,2 (25)	2,2 (22)	0	433,3
2	3,6 (23)	24,8 (23)	0,5 (15)	6,5 (12)	1,6 (40)	0,3 (25)	2,9 (25)	3,6 (22)	7,9 (32)	0,9 (28)	2,2 (25)	8,7 (22)	4,5	555,6

Примечание: $\Delta(\Delta H_f)$ — разница между величинами теплоты образования для «глобальной» и рассматриваемой структур; $\Delta(\Delta H'_f)$ — разница между величинами теплоты образования для стартовой и уточненной структур. В скобках приведены значения стандартных отклонений от взвешенных средних значений двугранных углов ϕ , ψ , оцененные для соответствующих областей конформационного пространства из данных рентгеноструктурного анализа белков высокого разрешения [21, 23].

гранных углов ϕ , ψ от стартовых значений. Анализ этих данных показывает, что оптимизация геометрии фрагмента привела к существенному улучшению энергетических параметров стартовых структур, снизив отвечающие им величины теплоты образования без нарушения ограничений, заданных для углов внутреннего вращения. Во всех случаях их отклонения от начальных значений не приводят к изменениям областей конформационного пространства (ϕ , ψ), установленных на основе данных спектроскопии ЯМР [11] (табл. 1), а среднеквадратичные отклонения двугранных углов составляют $7,2^\circ$ (конформер 1) и $8,4^\circ$ (конформер 2). Аналогичный вывод можно сделать при сопоставлении стартовых и уточненных конформаций гексапептида в пространстве декартовых координат атомов. Оптимизация его геометрических параметров не сопровождается заметными искажениями пространственной структуры: величины среднеквадратичных отклонений координат атомов в обоих рассматриваемых случаях равны $0,9 \text{ \AA}$.

Таким образом, в результате квантово-химического уточнения двух вероятных структур ИДЭ белка gp120 HIV-RF (табл. 2) нам удалось значительно улучшить энергетические характеристики фрагмента, сохранив его конформационные параметры в пределах геометрических ограничений, оцененных из экспериментальных данных (табл. 3).

Сопоставление полученных результатов с данными теоретического конформационного анализа свидетельствует о том, что метод РМЗ сохраняет расположение конформеров на потенциальной по-

верхности гексапептида. Как и в случае метода молекулярной механики, использованного на втором этапе исследований, квантово-химический расчет определяет в качестве наиболее стабильной конформацию 1, за которой следует (в порядке увеличения теплоты образования) структура 2 (табл. 3). Оценка относительных заселенностей структур, выполненная с помощью уравнения Больцмана в приближении «изолированной молекулы» [35], показывает, что доля конформера 1 в наборе расчетных конформаций превышает 99 %, в то время как вероятность реализации конформера 2 составляет десятые доли процента. Тем не менее, учитывая все приближения, допущенные в расчетах, мы не можем исключить вероятности реализации в растворе в качестве минорного конформера структуры 2, уступающей «глобальной» конформации $4,5 \text{ ккал/моль}$ (табл. 3). В пользу этого предположения свидетельствуют величины энергетических барьеров, разделяющих рассматриваемые структуры: максимальное значение барьера интерконверсии, равное $1,6 \text{ ккал/моль}$, относительно невелико для исследуемого фрагмента.

Итак, данные расчета позволяют сделать вывод о том, что ИДЭ HIV-RF образует в водном растворе доминирующий конформер. Из анализа двугранных углов и межатомных расстояний следует, что основная цепь гексапептида формирует в нем структуру, в которой инвариантный трипептид Gly-Pro-Gly принимает конформацию инверсного γ -изгиба, переходящего на участке Gly-Arg-Val-Ile в нестандартный β -поворот IV. Этот результат представляет значительный интерес в связи с тем,

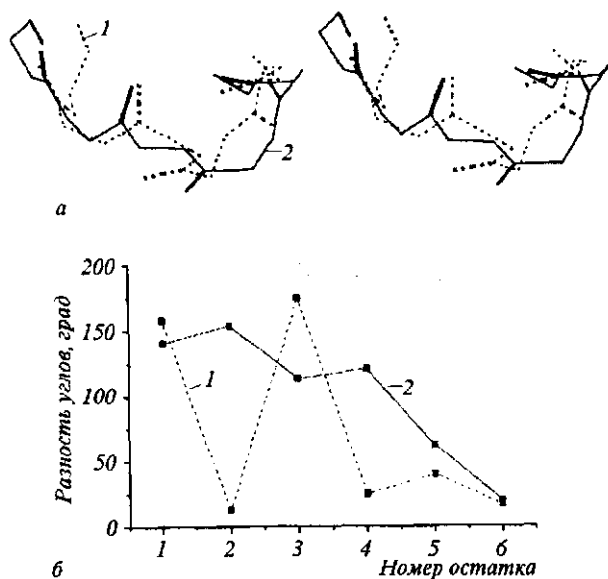


Рис. 2, а: стереоизображение совмещенных структур гексапептида в расчетной (1) и рентгеновской (2) конформациях (координаты атомов гексапептида в рентгеновской конформации — комплекс пептида с Fab-фрагментом антитела 58.2 — взяты из файла 3f58 Международного банка белковых структур [34]; величина стандартного отклонения для координат атомов основной цепи составляет 1,6 Å); б: разность двугранных углов ϕ (1) и ψ (2) в структурах, изображенных на рис. 2, а. (приведена нумерация остатков изолированного гексапептида; величины двугранных углов фрагмента для рентгеновской структуры взяты из работы [20])

что именно такая вторичная структура была предложена нами ранее [15] в качестве наиболее устойчивой конформации гомологичного участка белка gp120 HIV-Thailand (подробности см. в работах [14, 15]).

Доминирующий конформер гексапептида Gly-Pro-Gly-Arg-Val-Ile был сопоставлен с рентгеновскими структурами соответствующих участков синтетических пептидов, имитирующих область связывания белка gp120 HIV-1 с антителами [18—20]. Результаты сравнительного анализа (рис. 2, а) показывают, что трехмерные укладки основной цепи гексапептида в конформере 1 и в кристаллических структурах трех пептидных молекул, связанных с Fab-фрагментом моноклонального антитела 58.2 [20], подобны.

Таким образом, структура ИДЭ HIV-RF, преобладающая в наборе расчетных конформеров участка Gly-Pro-Gly-Arg-Val-Ile белка gp120, реализуется и в кристалле на гомологичном участке комплекса «пептид—антитело 58.2» [20]. Однако это заключение касается пространственных форм гексапептида, для которых характерны статистически

значимые различия в конформациях индивидуальных аминокислотных остатков (рис. 2, б), т. е. сходные трехмерные укладки остова гексапептида (рис. 2, а) формируются из разных минимумов входящих в его состав аминокислотных остатков. (Поскольку точность определения двугранных углов ϕ , ψ (σ), достигаемая с помощью метода [21], не превышает 25° (см. обзор [36]), это значение было использовано для обнаружения конформационных различий между конформерами: отклонения, превышающие 75° (3σ), рассматривали как статистически значимые (см., например, работу [37]).)

Сравнительный анализ предпочтительных структур гексапептида в вирионах HIV-RF и HIV-Thailand показывает (рис. 3, а), что они образуют практически идентичные пространственные формы остова. Но сопоставление структур в геометрическом пространстве двугранных углов (рис. 4, а) свидетельствует о значительных расхождениях в конформациях аминокислотных остатков фрагмента. Сопоставление структур ИДЭ HIV-RF и HIV-Thailand с конформацией соответствующего участка белка gp120 HIV-MN также указывает на сходство их пространственных форм (рис. 3, б, в) и существенный разброс в величинах двугранных углов фрагмента (рис. 4, б, в). Однако по сравнению со случаем, рассмотренным выше (вирионы HIV-RF и HIV-Thailand), в парах структур HIV-RF/HIV-MN и HIV-MN/HIV-Thailand трехмерные укладки гексапептида имеют более весомые отклонения координат атомов основной цепи (рис. 3, б, в). Очевидно, это связано с тем, что, согласно проведенным расчетам, в вирионах HIV-RF и HIV-Thailand ИДЭ образует комбинацию инверсного γ -изгиба с нестандартным β -поворотом IV, а в белке gp120 HIV-MN наиболее устойчивой конформацией фрагмента является структура двойного β -изгиба [16], обнаруженного в кристалле в комплексе «пептид—антитело 59.1» (подробности см. в работе [16]).

Таким образом, из данных сравнительного анализа видно (рис. 3, 4), что главный иммуногенный участок белка gp120 образует в вирионах HIV-RF, HIV-Thailand и HIV-MN сходные трехмерные укладки остова, для которых, тем не менее, характерны статистически значимые различия в конформациях отдельных остатков. Данный факт убедительно доказывает правомерность высказанного нами ранее [17] утверждения, согласно которому первичная структура гексапептида обладает боль-

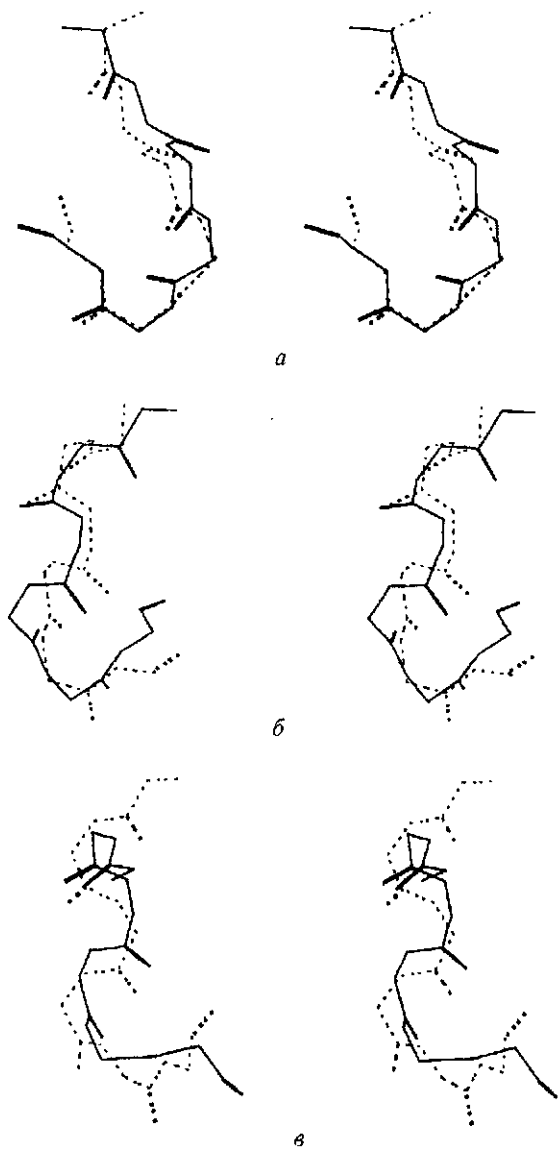


Рис. 3. Стереизображения совмещенных структур гексапептида в предпочтительных конформациях иммунодоминантного эпитопа HIV-RF, HIV-Thailand и HIV-MN. Приведены данные для пар структур: HIV-RF/HIV-Thailand (а); HIV-RF/HIV-MN (б); HIV-MN/HIV-Thailand (в). Первая структура в паре изображена сплошной линией, а вторая — пунктиром. Величины стандартных отклонений для координат атомов основной цепи составляют 0,9 (а); 1,7 (б) и 1,8 (в) Å. Координаты атомов фрагмента для вирионов HIV-Thailand и HIV-MN взяты из работ [15, 16]

шим запасом «конформационной прочности», что обеспечивает подобные пространственные формы фрагмента в разных силовых полях. Вероятно, обнаруженные расхождения в локальных структурах гексапептида (рис. 4) представляют собой одну из основных причин, объясняющих факт специфичности связывания вируса с антителами [4].

Согласие полученных результатов с рентгеновскими данными (рис. 2, а) свидетельствует об эффективности теоретической процедуры [15] и корректности принятых в расчетах приближений. Возможности вероятностного подхода [21], оцененные в работе [36], дают основание предположить, что его совместное использование с методами квантовой химии позволило расшифровать трехмерную структуру ИДЭ HIV-1 с точностью, близкой к уровню, который гарантирует рентгеноструктур-

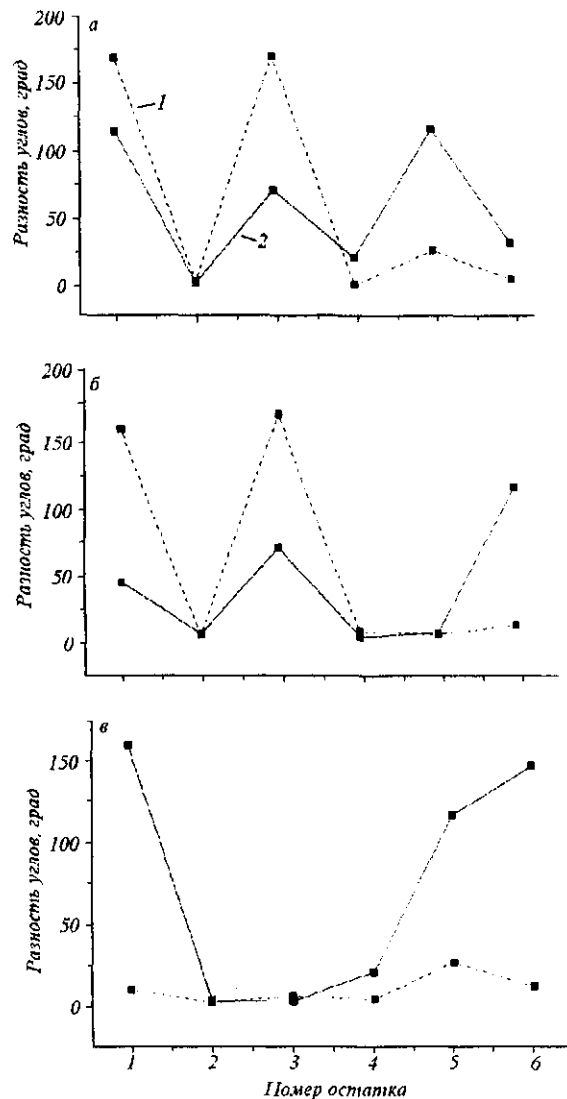


Рис. 4. Разность двугранных углов ϕ (1) и ψ (2) в наиболее вероятных иммунореактивных конформациях иммунодоминантного эпитопа HIV-RF, HIV-Thailand и HIV-MN; а, б, в — пары структур, указанные в подписи к рис. 3. Приведена нумерация остатков изолированного гексапептида. Величины двугранных углов фрагмента для вирионов HIV-Thailand и HIV-MN взяты из работ [15, 16]

ный анализ белков высокого разрешения. Кроме того, в результате проведенных исследований нам удалось получить дополнительную информацию, включающую данные обо всех предпочтительных структурах гексапептида, вероятностях их реализации в растворе и энергетических барьерах между ними.

Выводы. Полученные результаты позволили нам сделать следующие выводы о принципах пространственной организации главного иммуногенного участка HIV-RF.

1. ИДЭ HIV-RF образует в водном растворе доминирующую структуру, в которой инверсный γ -изгиб на участке Gly-Pro-Gly преобразуется в нестандартный β -поворот IV (Gly-Arg-Val-Ile). Именно этот элемент вторичной структуры был предложен ранее [15] для описания наиболее устойчивой конформации гомологичного участка белка gp120 HIV-Thailand.

2. Лучшая по энергии конформация ИДЭ HIV-RF подобна структуре, обнаруженной в кристалле в комплексе пептидного антигена с Fab-фрагментом антитела 58.2. Этот вывод относится к трехмерным укладкам гексапептида (рис. 2, а), для которых характерны статистически значимые различия в конформациях индивидуальных аминокислотных остатков (рис. 2, б).

3. Иммунореактивные конформации гексапептида в вирионах HIV-RF, HIV-Thailand и HIV-MN образуют сходные пространственные формы остова (рис. 3), реализующиеся из разных локальных минимумов входящих в его состав аминокислотных остатков (рис. 4).

Результаты исследования могут быть использованы в работах по развитию подхода к разработке противовирусной вакцины, базирующегося на знании структуры и конформационных свойств ИДЭ HIV-1 [2].

Работа поддержана Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (X04-058).

A. M. Andrianov, Yu. A. Sokolov

Computer modelling of the immunoreactive conformation of the HIV-RF immunodominant epitope

Summary

3D structure for the HIV-RF immunodominant epitope was computed in terms of NMR spectroscopy data using the theoretical procedure including a probabilistic approach in conjunction with the molecular mechanics algorithms and quantum chemical methods. The immunogenic crown of the virus protein gp120 was shown to form in water solution the prevalent conformation in which the

inverse γ -turn at the stretch Gly-Pro-Gly is transformed into the non-standard γ -turn IV (Gly-Arg-Val-Ile). The best energy conformation of the HIV-RF immunogenic tip was found to be similar to that revealed in crystal for peptide antigen complex with the Fab fragment of antibody 58.2. The following conclusion was drawn from the comparative analysis of simulated structures with the ones computed previously for the HIV-Thailand and HIV-MN isolates: the immunogenic tip of gp120 gives rise to the similar spatial backbone forms in different HIV-1 strains but has some inherent conformational flexibility of its individual amino acid residues.

Key words: human immunodeficiency virus, protein gp120, immunodominant epitope, conformational analysis, NMR spectroscopy, three-dimensional structure.

A. M. Андрианов, Ю. А. Соколов

Комп'ютерне моделювання імунореактивної конформації імунодомінантного епітопа HIV-RF

Резюме

За допомогою запропонованого раніше розрахунково-теоретичного методу побудовано модель просторової структури імунодомінантного епітопа (ІДЕ) HIV-RF, яка узгоджується з даними спектроскопії ЯМР. Виявлено, що головна імуногенна ділянка вірусу утворює у водному розчині домінуючу структуру, в якій інверсний γ -згин на ділянці Gly-Pro-Gly перетворюється в нестандартний β -поворот IV (Gly-Arg-Val-Ile). Показано, що краща за енергією конформація ІДЕ HIV-RF подібна до структури, знайденої в кристалі у комплексі пептидного антигену з Fab-фрагментом антитіла 58.2. На основі порівняльного аналізу тривимірних структур ІДЕ у вірионах HIV-RF, HIV-Thailand і HIV-MN зроблено висновок стосовно того, що досліджувана ділянка білка gp120 формує у трьох субтипах вірусу подібні просторові форми основного ланцюга, які реалізуються з різних локальних мінімумів амінокислотних залишків, що входять до його складу.

Ключові слова: вірус імунодефіциту людини, білок gp120, імунодомінантний епітоп, конформаційний аналіз, спектроскопія ЯМР, тривимірна структура.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 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.
2. Cabezas E., Wang M., Parren P. W. H. I., Stanfield R. L., Satterwait A. C. A structure-based approach to a synthetic vaccine for HIV-1 // Biochemistry.—2000.—39.—P. 14377—14391.
3. 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.
4. LaRosa G. J., Davide J. P., Weinhold K., Waterbury J. A., Profy A. T., Lewis J. A., Lan-glois A. J., Dressman G. R., Boswell R. N., Shaddock 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.

5. *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.
6. *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.—P. 9187—9194.
7. *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.
8. *Catasti P., Fontenot J. D., Bradbury E. M., Gupta G.* Local and global structural properties of the HIVMN V3 loop // *J. Biol. Chem.*—1995.—270.—P. 2224—2232.
9. *Vu H. M., de Lorimier R., Moody M. A., Haynes B. F., Spicer L. D.* Conformational preferences of a chimeric peptide HIV-1 immunogen from the C4-V3 domains of gp120 envelope protein of HIV-1 CANOA based on solution NMR: comparison to a related immunogenic peptide from HIV-1 RF // *Biochemistry*.—1996.—35.—P. 5158—5165.
10. *Vranken W. F., Budesinsky M., Martins J. C.* Conformational features of a synthetic cyclic peptide corresponding to the complete V3 loop of the RF HIV-1 strain in water and water/trifluoroethanol solutions // *Eur. J. Biochem.*—1996.—236.—P. 100—108.
11. *Catasti P., Bradbury E. M., Gupta G.* Structure and polymorphism of HIV-1 third variable loops // *J. Biol. Chem.*—1996.—271.—P. 8236—8242.
12. *Jelinek R., Terry T. D., Gessel J. J., Malik P., Perham R. N., Opella S. J.* NMR structure of the principal neutralizing determinant of HIV-1 displayed in filamentous bacteriophage coat protein // *J. Mol. Biol.*—1997.—266.—P. 649—655.
13. *Sarma A. V., Raju T. V., Kunwar A. C.* NMR study of the peptide present in the principal neutralizing determinant (PND) of HIV-1 envelope glycoprotein gp120 // *J. Biochem. and Biophys. Meth.*—1997.—34.—P. 83—98.
14. *Andrianov A. M.* Local structural properties of the V3 loop of Thailand HIV-1 isolate // *J. Biomol. Struct. and Dynam.*—2002.—19.—P. 973—990.
15. *Andrianov A. M., Sokolov Yu. A.* Structure and polymorphism of the principal neutralization site of Thailand HIV-1 isolate // *J. Biomol. Struct. and Dynam.*—2003.—20.—P. 603—614.
16. *Андрианов А. М., Соколов Ю. А.* Иммунореактивная конформация иммунодоминантного эпитопа HIV-MN // *Вестн НАН Беларуси, сер. хім. навук.*—2003.—№ 3.—С. 88—94.
17. *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.
18. *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.
19. *Ghiara J. B., Ferguson D. C., Satterthwait A. C., Dyson H. J., Wilson I. A.* Structure-based design of a constrained peptide mimic of the HIV-1 V3 loop neutralization site // *J. Mol. Biol.*—1997.—266.—P. 31—39.
20. *Stanfield R. L., Cabezas E., Satterthwait A. C., Stura E. A., Profy A. T., Wilson I. A.* Dual conformations for the HIV-1 gp120 V3 loop in complexes with different neutralizing Fabs // *Structure*.—1999.—7.—P. 131—142.
21. *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.—4.—P. 869—884.
22. *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.
23. *Шерман С. А., Андрианов А. М., Ахрем А. А.* Конформационный анализ и установление пространственной структуры белковых молекул.—Минск: Наука и техника, 1989.—240 с.
24. *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.
25. *Stewart J. J. P.* Optimization of parameters for semi-empirical methods. II. Applications // *J. Comput. Chem.*—1989.—10, N 12.—P. 221—227.
26. *Wuthrich K., Wider G., 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.—P. 311—319.
27. *Wuthrich K.* Sequential individual resonance assignments in the ¹H-NMR spectra of polypeptides and proteins // *Biopolymers*.—1983.—22.—P. 131—138.
28. *Понов Е. М.* Структурная организация белков.—М.: Наука, 1989.—352 с.
29. *Weiner P. K., Kollman P. A.* AMBER: Assisted model building with energy refinement—a general program for modelling molecules and their interactions // *J. Comput. Chem.*—1981.—2.—P. 287—303.
30. *Fletcher R., Reeves C. M.* A rapidly convergent descent method // *Comput. J.*—1964.—7.—P. 149—154.
31. *Оганесян Э. Т., Погребняк А. В.* Применение полуэмпирических квантово-химических методов для анализа количественных связей структура—активность // *Журн. общ. химии.*—1996.—66, № 2.—С. 277—285.
32. *Lewis P. N., Momany F. A., Scheraga H. A.* Chain reversals in proteins // *Biochim. et biophys. acta.*—1973.—303.—P. 211—229.
33. *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.
34. *Bernstein F. C., Koetzle T. F., Williams G. J. B., Meyer E. F., Brice M. D., Rodgers J. R., Kennard O., Shimanouchi T., Tasumi M.* The protein data bank. A computer-based archival file for macromolecular structures // *J. Mol. Biol.*—1977.—112.—P. 535—542.
35. *Дашевский В. Г.* Конформации органических молекул.—М.: Химия, 1974.—432 с.
36. *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.
37. *Kar L., Sherman S. A., Johnson M. E.* Comparison of protein structures in solution using local conformations derived from NMR data: application to cytochrome c // *J. Biomol. Struct. and Dynam.*—1994.—12.—P. 527—558.

УДК 577.322.5:543.25
Надійшла до редакції 02.12.03