

# Локальная структура петли V3 белка gp120 HIV-1. Сравнительный анализ конформаций фрагмента в вирусных штаммах HIV-MN и HIV-Thailand

А. М. Андрианов

Институт биоорганической химии НАН Беларуси  
Ул. Академика Купревича, 5/2, Минск, 220141, Республика Беларусь  
E. mail: andrianov01@iboch.bas-net.by

---

*Определены элементы вторичной структуры и конформации нерегулярных сегментов петли V3 белка gp120 HIV-MN, в состав которой входит иммунодоминантный эпитоп вируса, а также детерминанты, ответственные за процессы клеточного тропизма и слияния клеток. Расчеты, проведенные с использованием литературных данных спектроскопии ЯМР в водном растворе, показали, что N-концевой фрагмент петли V3 формирует «вытянутый» участок с 1-го по 14-й аминокислотный остаток (а. о.), разделенный двойным β-изгибом 15–20 а. о. с неупорядоченной C-концевой областью 21–35 а. о. Результаты сравнительного анализа рассчитанной конформации и установленной ранее локальной структуры петли V3 белка gp120 HIV-Thailand свидетельствуют о том, что различия между ними статистически значимы. Однако, несмотря на существенные структурные отличия, 14 а. о. фрагмента, семь из которых входят в его функционально активные сайты, сохраняют конформационные состояния в вирусных штаммах HIV-MN и HIV-Thailand. Структурно консервативные остатки можно рассматривать как потенциальные мишени для методов белковой инженерии, используемых в работах по созданию противовирусных препаратов.*

---

*Ключевые слова: вирус иммунодефицита человека, белок gp120, петля V3, конформационный анализ, спектроскопия ЯМР, локальная структура.*

---

**Введение.** Петля V3 белка gp120 оболочки HIV-1 состоит из 35 аминокислотных остатков (а. о.) и образует дисульфидный мостик между двумя инвариантными цистеинами в положениях 303 и 338 полипептидной цепи [1]. Сравнительный анализ первичных структур петли V3 в различных вирусных частицах показал [2], что за исключением небольшого консервативного участка, расположенного в центральной области, ее аминокислотная последовательность подвержена значительным му-

тациям. Однако, несмотря на это, петля V3 играет ключевую роль в процессе функционирования HIV-1 [3], образуя основную антигенную детерминанту (ОАД) вируса [4–6].

Многочисленные эксперименты, в частности [7, 8], свидетельствуют о том, что антитела, нейтрализующие вирусную активность в разных штаммах HIV-1, взаимодействуют только с ее консервативной областью. Связывание нейтрализующих антител блокирует внедрение вируса в Т-клетку, но не предотвращает его взаимодействия с первичным рецептором CD4 [9–11]. Кроме иммунодоминант-

ного эпитопа (ИДЭ), анализируемый участок белка gp120 формирует главные детерминанты, ответственные за процесс клеточного тропизма и образование синцития [12—16], которое сопровождается протеолитическим расщеплением пептидной связи в пределах петли V3 [17—19]. Присутствие в пептидной цепи консервативных аминокислот, входящих в состав биологически активных участков фрагмента, указывает на высокую вероятность их вклада в формирование функциональных особенностей вируса, проявляющихся на различных этапах его репликационного цикла.

Важная роль петли V3 в процессах нейтрализации вируса, клеточного тропизма и слияния клеток объясняет тот факт, что в последние годы она стала объектом пристального внимания со стороны исследователей, занимающихся разработкой лекарств для профилактики и лечения СПИДа [20—23]. Очевидно, создание конструктивной основы для успешной реализации проектов по целенаправленному синтезу препаратов, обладающих противовирусным действием, невозможно без наличия информации о тонких деталях структуры этого функционально важного участка белка gp120 HIV-1.

К сожалению, из-за экспериментальных сложностей трехмерная структура белка gp120 в кристалле не содержит данных о петле V3 [24]. Однако из литературы известно несколько рентгеновских моделей [25—30], описывающих конформации синтетических молекул, имитирующих центральную область петли V3 штамма HIV-1, выделенного у вирусоносителей из США, штат Миннесота (HIV-MN), в комплексе с нейтрализующими антителами. Согласно этим моделям, ИДЭ HIV-MN (гексапептид Gly-Pro-Gly-Arg-Ala-Phe) может принимать в кристалле как минимум две конформации, одна из которых образует структуру двойного  $\beta$ -изгиба II-III (комплексы пептидов V3 с Fab фрагментами антител 50.1 [25], 59.1 [26] и 83.1 [29]), а другая формирует одиночный  $\beta$ -поворот I (комплексы V3 пептидов с Fab фрагментом антитела 58.2 [28]).

Рентгеновские исследования химерного риновируса MN-III-2 [31], содержащего главный иммуногенный участок HIV-1, свидетельствуют о том, что, будучи встроенным в чужеродную пептидную цепь, он принимает конформацию двойного  $\beta$ -изгиба I-I, напоминающую структуру, реализуемую в комплексе V3 пептидов с антителом 58.2 [28]. Результаты анализа петли V3, выполненного с

помощью методов спектроскопии ЯМР, свидетельствуют о том [32—39], что в водном растворе она образует неупорядоченную конформацию с ярко выраженной популяцией реверсивных изгибов на инвариантном тетрапептиде Gly-Pro-Gly-Arg. Однако при их количественной идентификации получены неоднозначные результаты.

Так, согласно данным работ [32, 33], конформационные параметры центрального дипептида Pro-Gly отвечают структуре  $\beta$ -изгиба II. В то же время исследованиями других авторов показано, что на рассматриваемом участке петли V3 не исключена вероятность реализации и других конформационных состояний: динамической смеси двух конформеров —  $\beta$ -изгибов I и II [34-37], нестандартного  $\beta$ -поворота [38], а также двойного  $\beta$ -изгиба [39], аналогичного обнаруженному в пептидах, связанных с Fab фрагментами антител 50.1 [25], 59.1 [26] и 83.1 [29].

Таким образом, анализ данных литературы показывает, что они содержат недостаточную, а в большинстве случаев и противоречивую информацию о принципах пространственной организации ОАД HIV-1, что обуславливает необходимость проведения дальнейших исследований ее трехмерной структуры.

Результаты, представленные в настоящей статье, являются продолжением начатого ранее [40—42] теоретического изучения пространственной структуры ОАД HIV-MN. В предыдущих работах были получены данные о трехмерной структуре ее центрального гексапептида, формирующего ИДЭ вируса.

Цель настоящего исследования заключалась в определении локальной структуры всех аминокислотных остатков фрагмента и в сопоставлении расчетных параметров с установленными ранее [43] конформационными характеристиками гомологичного участка белка gp120 штамма HIV-1, выделенного у вирусоносителей из Таиланда (HIV-Thailand).

Для достижения этой цели выполнены следующие исследования: 1) по данным спектроскопии ЯМР [32] осуществлен расчет конформаций аминокислотных остатков ОАД HIV-MN в водном растворе; 2) установлены элементы вторичной структуры и конформации нерегулярных сегментов фрагмента; 3) проведен сравнительный анализ локальных структур петли V3 белка gp120 в вирусных штаммах HIV-MN и HIV-Thailand, на основа-

нии чего идентифицированы конформационно жесткие и лабильные участки.

В результате построена модель структурной организации ОАД HIV-MN, описывающая ее конформационные свойства в геометрическом пространстве углов внутреннего вращения.

**Материалы и методы.** Локальную структуру ОАД HIV-MN определяли по методу [44], позволяющему на основе вероятностной модели конформации белка осуществлять прямой (без построения трехмерной структуры) расчет взвешенных средних значений двугранных углов молекулы по данным спектроскопии ЯМР, статистический анализ которых проводится с учетом эмпирической функции распределения углов внутреннего вращения. При расчетах применяли компьютерную программу CONFNMR-2 [43]. С помощью этой программы и с использованием информации о d-связях [45] для каждого аминокислотного остатка определяли области пространства  $(\phi, \psi)$  (рис. 1), а затем, учитывая рентгеновские данные о заселенностях различных участков карты Рамачандрана, вычисляли соответствующие им наиболее вероятные значения двугранных углов [44].

В табл. 1 приведен использованный в расчетах набор данных спектроскопии ЯМР [32], включающий сведения о расстояниях  $d_{\alpha N}$ ,  $d_{NN}$  и  $d_{\beta N}$  [45] между соседними по цепи аминокислотными остатками. Поскольку выбранный для исследования локальной структуры ОАД HIV-MN метод позволяет анализировать информацию о межпротонных контактах  $d \leq 3,3 \text{ \AA}$  (наличие d-связи) и  $d > 3,3 \text{ \AA}$  (ее отсутствие) [44], при формировании набора экспериментальных данных расстояния  $d_{\alpha N}$ ,  $d_{NN}$  и  $d_{\beta N}$  разделяли в соответствии с этими критериями на две группы (табл. 1).

В состав ОАД HIV-MN входят три глицина, конформации которых не могут быть однозначно установлены по данным спектроскопии ЯМР [44]. Поэтому для остатка Gly-28 (здесь и далее использована нумерация остатков синтетического пептида [32], аминокислотная последовательность которого совпадает с первичной структурой HIV-MN) с помощью программы CONFNMR-2 [43] определяли вероятные области его локализации в пространстве  $(\phi, \psi)$  и рассматривали все возможные решения, из которых для заключительного анализа отобрали наиболее вероятную конформацию [44]. Конформации остатков Gly-15 и Gly-17, использованные в настоящей работе, были установлены ранее [42]

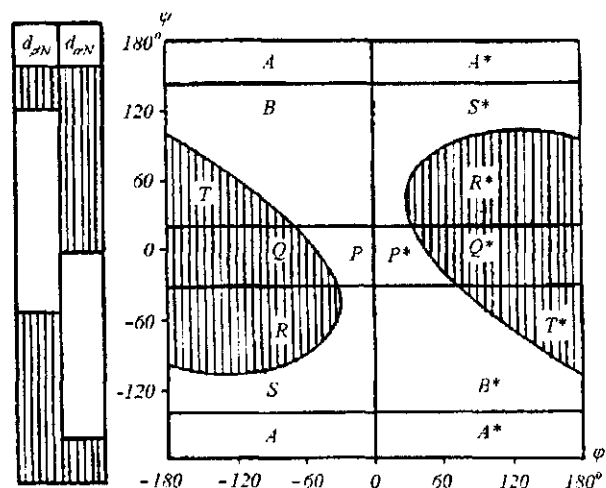


Рис. 1. Диаграмма взаимосвязи межпротонных расстояний  $d_{\alpha N}$ ,  $d_{NN}$  и  $d_{\beta N}$  (расстояния между амидным протоном NH  $(i+1)$ -го остатка и протонами  $C^{\alpha}H$ , NH и  $C^{\beta}H$  остатка  $i$  соответственно [45]) с областями конформационного пространства  $(\phi, \psi)$  [44]. Заштрихованы интервалы углов  $\phi$  и  $\psi$ , для которых ожидается проявление соответствующих d-связей в спектрах ядерного эффекта Оверхаузера. Пространство  $(\phi, \psi)$  разделено на области таким образом, чтобы каждой из них соответствовал специфический набор d-связей. Так, в области B ожидается проявление только  $d_{\alpha N}$ -связи, в области R —  $d_{NN}$  и  $d_{\beta N}$ -связей и т. д. (подробности см. в работе [44])

детальным исследованием структуры ИДЭ HIV-MN методами молекулярной механики и квантовой химии (подробности см. в работах [40—42]).

На последнем этапе расчетов, учитывая полученные данные об углах внутреннего вращения индивидуальных аминокислотных остатков, идентифицировали элементы регулярной вторичной структуры,  $\beta$ -изгибы и неупорядоченные сегменты полипептидной цепи.

Для отнесения аминокислотных остатков к различным типам регулярных вторичных структур рассматривали такие интервалы величин углов  $\phi$ ,  $\psi$  [46]:  $\phi = -112,6 \pm 41,4^\circ$ ,  $\psi = 123,0 \pm 60^\circ$  для остатков в «вытянутой» конформации;  $\phi = -62,8 \pm 38,0^\circ$ ,  $\psi = -16,5 \pm 34,7^\circ$  для остатков в спирали  $3_{10}$ .

При идентификации  $\beta$ -изгибов использовали классификацию Льюиса и соавт. [47]. Для определения  $\beta$ -изгибов привлекали критерии, приведенные в работе [48].

Локальные структуры ОАД белка gp120 в вариантах HIV-MN и HIV-Thailand сравнивали, используя среднеквадратичные отклонения двугранных углов (A) (см., например, монографию [49]).

Таблица 1

Данные спектроскопии ЯМР [32], использованные для расчета локальной структуры петли V3 белка gp120 HIV-MN

| Остаток* | d-Связь**       |                 |                 | Остаток* | d-Связь**       |                 |                 |
|----------|-----------------|-----------------|-----------------|----------|-----------------|-----------------|-----------------|
|          | d <sub>αN</sub> | d <sub>NN</sub> | d <sub>βN</sub> |          | d <sub>αN</sub> | d <sub>NN</sub> | d <sub>βN</sub> |
| C-1      | +               | 0               | 0               | A-19     | +               | +               | 0               |
| T-2      | +               | 0               | 0               | F-20     | +               | 0               | 0               |
| R-3      | —               | —               | —               | Y-21     | +               | 0               | +               |
| P-4      | +               | —               | 0               | T-22     | +               | 0               | 0               |
| N-5      | +               | 0               | 0               | T-23     | +               | +               | 0               |
| Y-6      | +               | 0               | 0               | K-24     | +               | +               | 0               |
| N-7      | +               | 0               | 0               | N-25     | +               | +               | 0               |
| K-8      | +               | 0               | 0               | I-26     | +               | 0               | 0               |
| R-9      | +               | 0               | 0               | I-27     | +               | +               | 0               |
| K-10     | +               | 0               | 0               | G-28     | +               | +               | —               |
| R-11     | +               | 0               | 0               | T-29     | +               | +               | +               |
| I-12     | +               | 0               | 0               | I-30     | +               | +               | 0               |
| H-13     | +               | 0               | 0               | R-31     | +               | +               | +               |
| I-14     | +               | 0               | 0               | Q-32     | +               | +               | 0               |
| G-15     | —               | —               | —               | A-33     | +               | +               | 0               |
| P-16     | +               | —               | 0               | H-34     | +               | 0               | 0               |
| G-17     | +               | 0               | —               | C-35     | —               | —               | —               |
| R-18     | +               | +               | 0               |          |                 |                 |                 |

Примечание. «+» и «0» — наличие ( $d \leq 3,3 \text{ \AA}$ ) и отсутствие ( $d > 3,3 \text{ \AA}$ ) кросс-пиков в спектрах ядерного эффекта Оверхаузера (см. «Материалы и методы») соответственно; «—» — d-связи нет из-за отсутствия необходимых протонов (например, протона NH в остатке пролина). \*Аминокислотная последовательность петли V3 белка gp120 HIV-MN представлена в однобуквенном коде; \*\*d-связи между соседними по цепи остатками  $i$  и  $i+1$ .

Величину  $A$  рассчитывали по формуле

$$A = (1/M \sum_{m=1}^M (\Theta_m - \Theta'_m)^2)^{1/2},$$

где  $M$  — общее количество двугранных углов;  $\Theta_m$  и  $\Theta'_m$  — их величины в двух рассматриваемых структурах.

Поскольку точность определения углов  $\phi$ ,  $\psi$  ( $\sigma$ ), достигаемая с помощью метода [44], составляет  $25^\circ$  [50], отклонения, превышающие  $75^\circ$  ( $3\sigma$ ), рассматривали как статистически значимые для выявления достоверных различий между конформациями остатков в сравниваемых структурах [51].

Наряду с величиной  $A$  для сопоставления структур привлекали дополнительный критерий — распределение  $\chi^2$  [52], с помощью которого осуществляли проверку «нулевой» гипотезы о подобии вариационных рядов ( $\phi$ ,  $\psi$ ), выполненную при уровне достоверности, равном 0,99.

**Результаты и обсуждение.** В табл. 2 приведены области конформационного пространства (рис. 1) и отвечающие им наиболее вероятные значения двугранных углов  $\phi$ ,  $\psi$  аминокислотных остатков ОАД HIV-MN, рассчитанные по данным спектроскопии ЯМР [32] в водном растворе.

Анализ двугранных углов петли V3 белка gp120 HIV-MN позволяет выделить на N-конце «вытянутый»  $\beta$ -участок (остатки 1–14) (рис. 2), который, однако, не участвует в образовании элементов супервторичной структуры —  $\beta$ -листов, характерных для данного конформационного состояния полипептидной цепи [49]. Об этом свидетельствует отсутствие в спектрах ядерного эффекта Оверхаузера (ЯЭО) [32] специфического для них набора межпротонных контактов [54]. Ранее [42] нами показано, что в центральной области петли (остатки 15–20), в пределах которой локализован ИДЭ HIV-1 [4], наиболее вероятна реализация нескольких конформеров, имеющих свернутую форму полипептидного остова. Согласно исследова-

Таблица 2  
Конформации аминокислотных остатков петли V3 белка gp120 HIV-MN (I) и HIV-Thailand (II) согласно данным спектроскопии ЯМР в водном растворе

| Остаток* | Область |    | Двугранные углы, град |        |        |        |
|----------|---------|----|-----------------------|--------|--------|--------|
|          |         |    | I                     |        | II     |        |
|          | I       | II | $\phi$                | $\psi$ | $\phi$ | $\psi$ |
| C-1      | B       | P  | -100                  | 135    | -90    | -10    |
| T-2      | B       | Q  | -100                  | 135    | -85    | -5     |
| R-3      | B       | B  | -100                  | 135    | -115   | 135    |
| P-4      | B       | P  | -50                   | 130    | -50    | 20     |
| N-5 (S)  | B       | P  | -100                  | 135    | -90    | -10    |
| Y-6 (N)  | B       | B  | -100                  | 135    | -115   | 135    |
| N-7      | B       | P  | -100                  | 135    | -90    | -10    |
| K-8 (T)  | B       | P  | -100                  | 135    | -90    | -10    |
| R-9      | B       | B  | -100                  | 135    | -115   | 135    |
| K-10 (T) | B       | B  | -100                  | 135    | -115   | 135    |
| R-11 (S) | B       | B  | -100                  | 135    | -115   | 135    |
| I-12     | B       | B  | -100                  | 135    | -115   | 135    |
| H-13 (T) | B       | B  | -100                  | 135    | -115   | 135    |
| I-14     | B       | P  | -100                  | 135    | -90    | -10    |
| G-15     | R       | B  | -100                  | -45    | -90    | 115    |
| P-16     | B       | B  | -50                   | 130    | -50    | 130    |
| G-17     | R       | R  | -100                  | -45    | -100   | -45    |
| R-18 (Q) | T       | T  | -90                   | 20     | -95    | 20     |
| A-19 (V) | T       | B  | -90                   | 20     | -115   | 135    |
| F-20     | B       | P  | -100                  | 135    | -90    | -10    |
| Y-21     | A       | P  | -105                  | 160    | -90    | -10    |
| T-22 (R) | B       | P  | -100                  | 135    | -90    | -10    |
| T-23     | T       | B  | -90                   | 20     | -115   | 135    |
| K-24 (G) | T       | A  | -90                   | 20     | -115   | 180    |
| N-25 (D) | T       | B  | -90                   | 20     | -115   | 135    |
| I-26     | B       | B  | -100                  | 135    | -115   | 135    |
| I-27     | T       | B  | -90                   | 20     | -115   | 135    |
| G-28     | R*      | A  | 100                   | 45     | -115   | 180    |
| T-29 (D) | K       | A  | -75                   | -10    | -115   | 135    |
| I-30     | T       | B  | -90                   | 20     | -115   | 135    |
| R-31     | K       | R  | -75                   | -10    | -65    | -35    |
| Q-32 (K) | T       | R  | -90                   | 20     | -65    | -35    |
| A-33     | T       | R  | -90                   | 20     | -65    | -35    |
| H-34 (Y) | B       | P  | -100                  | 135    | -60    | -10    |
| C-35     | —       | —  | —                     | —      | —      | —      |

П р и м е ч а н и е. Области пространства ( $\phi$ ,  $\psi$ ) (рис. 1) и отвечающие им наиболее вероятные значения двугранных углов основной цепи, вычисленные по данным спектроскопии ЯМР. Данные для петли V3 HIV-Thailand заимствованы из работы [43]. Для аминокислотных остатков Gly-15 и Gly-17 приведены конформационные параметры в наиболее предпочтительных конформерах, найденных в результате энергетической оптимизации гексапептидов Gly-Pro-Gly-Arg-Ala-Phe (HIV-MN) и Gly-Pro-Gly-Gln-Val-Phe (HIV-Thailand) методами молекулярной механики и квантовой химии [42, 53]. \*В скобках указаны аминокислотные остатки, занимающие соответствующие позиции в первичной структуре петли V3 белка gp120 HIV-Thailand.

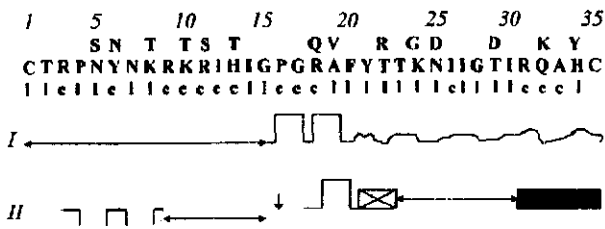


Рис. 2. Вторичные структуры петли V3 белка gp120 в вирионах HIV-MN (I) и HIV-Thailand (II) согласно данным спектроскопии ЯМР. Условные обозначения: двойная стрелка — «вытянутая» конформация; «башня» —  $\beta$ -изгиб IV; кривая линия — нерегулярная конформация; «колодец» —  $\beta$ -изгиб III; вертикальная стрелка — центральный остаток инверсного  $\gamma$ -изгиба; перечеркнутый прямоугольник — спираль  $3_{10}$ ; заштрихованный прямоугольник — искаженная  $\alpha$ -спираль. Буквой «\*» отмечены структурно консервативные остатки, а буквой «!» — конформационно лабильные аминокислоты. Над аминокислотной последовательностью петли V3 HIV-MN указаны остатки, занимающие соответствующие позиции в первичной структуре ОАД HIV-Thailand

ниям, проведенным в работе [42], данный участок ОАД HIV-MN обладает свойствами метастабильного олигопептида, образующего ансамбль структур, в состав которого, наряду с доминирующей конформацией (двойной  $\beta$ -изгиб IV-IV; рис. 2), входят и минорные конформеры. Величины углов внутреннего вращения аминокислотных остатков, расположенных в С-концевой области ОАД HIV-MN (остатки 21—35), свидетельствуют о том, что в водном растворе этот фрагмент принимает неупорядоченную конформацию (рис. 2).

Сравнительный анализ локальных структур петли V3 в вирусных штаммах HIV-MN и HIV-Thailand показывает (табл. 2), что вариабельность аминокислотного состава белка gp120 приводит к ее существенной структурной реорганизации. Как видно из рис. 2, «вытянутый» сегмент 3—9, наблюдаемый в вирионах HIV-MN, преобразуется в штамме HIV-Thailand в последовательность из двух  $\beta$ -изгибов III-III (остатки 3—6 и 6—9), что приводит к сокращению протяженного N-концевого  $\beta$ -участка до остатков 9—13. В то же время в С-концевой области петли V3 изменение силового поля фрагмента, вызванное аминокислотными заменами, инициирует преобразование неупорядоченной конформации (HIV-MN) в ансамбль регулярных структур (HIV-Thailand), который представлен двумя свернутыми участками (остатки 20—22 и 31—35), разделенными в пептидной цепи «вытянутым» сегментом 23—30. Мутации аминокислотной последовательности белка gp120 затрагивают и центральную область петли V3 (гексапеп-

тид Gly-Pro-Gly-Arg(Gln)-Ala(Val)-Phe), определяющую специфику связывания вируса с антителами [4]: в работах [43, 53] при исследовании конформационных свойств ИДЭ HIV-Thailand нами показано, что наиболее вероятной конформацией фрагмента является структура, в которой инвариантный трипептид Gly-Pro-Gly образует инверсный  $\gamma$ -изгиб, переходящий на сегменте Gly-Gln-Val-Phe в нестандартный  $\beta$ -поворот IV (рис. 2). Из сопоставления этих данных с результатами настоящего исследования следует, что главный иммуногенный участок белка gp120 формирует разные иммунореактивные конформации в вирионах HIV-MN и HIV-Thailand. Вероятно, это является одной из основных причин, определяющих факт специфичности связывания вируса с антителами: известно [3], что антитела, нейтрализующие вирионы одного субтипа HIV-1, неактивны по отношению к другим вирусным частицам.

Таким образом, согласно данным спектроскопии ЯМР [32], петля V3 белка gp120 образует в вирусных штаммах HIV-MN и HIV-Thailand различные вторичные структуры (рис. 2). Очевидно, это является следствием конформационных переходов, которым подвергаются аминокислотные остатки фрагмента в результате изменения окружающей его среды, что создает конфликтную ситуацию в геометрическом пространстве углов внутреннего вращения индивидуальных аминокислотных остатков петли V3 HIV-1.

Действительно, при сравнительном анализе локальных структур ОАД HIV-1 в двух вирусных частицах (рис. 3) выявлены существенные расхождения между конформациями большинства остатков: 20 аминокислот испытывают значительные структурные преобразования, а разброс в углах внутреннего вращения свидетельствует о том, что различия между их конформациями статистически значимы (см. «Материалы и методы»). Этот вывод подтверждает количественное сравнение структур с использованием критериев математической статистики.

Так, расчет величин  $A$ , выполненный для всех остатков фрагмента и его разных сегментов, показывает, что существенные конформационные изменения затрагивают как концевые области петли V3, так и ее центральный участок 15—20. Величина  $A$ , вычисленная для всех остатков фрагмента, составляет  $79^\circ$  и превышает среднее значение, характерное для отобранных случайным образом

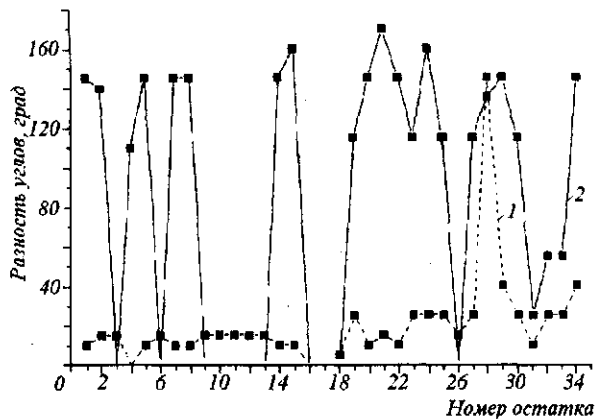


Рис. 3. Разность двугранных углов  $\phi$  (1) и  $\psi$  (2) для аминокислотных остатков петли V3 белка gp120 в вирионах HIV-MN и HIV-Thailand

конформационных состояний полипептидной цепи (см., например, обзор [50]). Этот факт свидетельствует о наличии систематических сдвигов между углами  $\phi$  и  $\psi$  сравниваемых конформаций и подтверждается данными анализа вариационных рядов ( $\phi$ ,  $\psi$ ) в этих структурах, выполненного с помощью критерия  $\chi^2$ .

Сопоставляя конформации петли V3 в вирионах HIV-MN и HIV-Thailand, следует обратить внимание на тот факт, что, несмотря на выявленные структурные различия, более трети остатков сохраняют конформационные параметры (рис. 2, 3). В связи с этим возникает следующий вопрос: какова степень подвижности аминокислот, входящих в функционально активные участки ОАД HIV-1? Как видно из рис. 2 и 3, в сегменте Gly-15-Pro-16-Gly-17-Arg(Gln)-18-Ala(Val)-19-Phe-20, на долю которого приходится подавляющее количество контактов с нейтрализующими антителами [26], три остатка (Pro-16, Gly-17 и Arg(Gln)-18) не изменяют значения углов внутреннего вращения, а для трех других остатков наблюдаются статистически значимые расхождения, ведущие к его структурной реорганизации (рис. 2). Среди аминокислот, проявляющих структурный консерватизм, необходимо выделить инвариантный остаток Pro: величины углов  $\phi$ ,  $\psi$  этого остатка, близкие к приведенным в табл. 2, получены ранее [55, 56] в результате моделирования трехмерных структур главного иммуногенного участка белка gp120 в вирусных частицах HIV-Haiti и HIV-RF.

Как показано в работе [56], остаток Pro, располагаясь в области В пространства ( $\phi$ ,  $\psi$ ),

проявляет определенную гибкость пептидной цепи, реализующуюся в структурных переходах между двумя соседними локальными минимумами, один из которых соответствует «вытянутой» конформации (HIV-MN, HIV-Haiti), а другой — конформации М (HIV-Thailand, HIV-RF).

Возможность таких структурных преобразований отмечена нами в работе [57], в которой с использованием данных спектроскопии ЯМР [34] детально проанализированы конформационные свойства пептида gp70 — синтетической молекулы, воспроизводящей аминокислотную последовательность петли V3 HIV-MN. Склонность остатка Pro к локализации в области В подтверждают и результаты рентгеноструктурного анализа V3 пептидов, связанных с Fab фрагментами антител 50.1, 58.2, 59.1 и 83.1 [25, 26, 28, 29]: в рентгеновских структурах трех из четырех исследованных комплексов вирусный антиген—антитело величины его двугранных углов отвечают данному участку карты Рамачандрана. Конформационные приоритеты и высокая частота появления остатка Pro в соответствующей позиции петли V3 HIV-1 [2] дают основание предположить, что он является активным участником событий, происходящих в течение жизненного цикла вируса. Из восьми остатков, причастных к процессу клеточного тропизма [9, 12—15, 58], четыре (Arg-3, Arg-11, His-13, и Gln-32) сохраняют локальную структуру в вирионах HIV-MN и HIV-Thailand, а для остатков Ala-19, Thr-23, Lys-24 и Asp-25 имеют место серьезные противоречия между углами внутреннего вращения (рис. 3) (указаны остатки синтетического пептида [32], занимающие в петле V3 белка gp120 HIV-1 позиции, в которых располагаются аминокислоты, ответственные за процесс клеточного тропизма [9, 12—15]). Среди остатков, сохраняющих конформации, следует особо выделить инвариантный Arg-3, который, согласно данным работы [58], вносит определяющий вклад во взаимодействие вируса с корецептором CCR-5.

Полученные данные о конформации петли V3 белка gp120 HIV-MN существенно расходятся с результатами работы [32], в которой значения двугранных углов ее основной цепи определяли на основе спектральных параметров ЯМР методами молекулярного моделирования, отличными от примененных в настоящей работе. Сопоставление локальных структур, расшифрованных двумя разными методами, показывает (рис. 4), что разброс

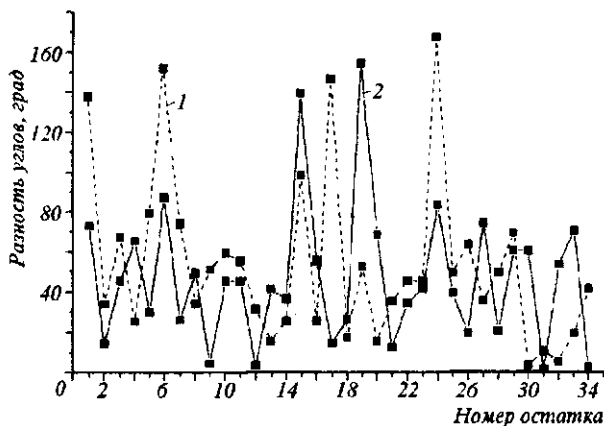


Рис. 4. Разность двугранных углов  $\phi$  (1) и  $\psi$  (2) для аминокислотных остатков петли V3 HIV-MN в структурах, рассчитанных в настоящей работе и в исследовании [32]

двугранных углов не является случайным, а носит систематический характер: аналогично ситуации, рассмотренной выше, проверка «нулевой» гипотезы о подобии конформаций регистрирует статистически значимые расхождения между ними. Как и следовало ожидать, наибольший вклад в стандартные отклонения двугранных углов ( $59^\circ$ ) вносят остатки, для которых в структуре [32] наблюдаются нарушения геометрических ограничений.

Сравнительный анализ качества локальных структур, в котором для оценки точности их определения были привлечены два критерия — соответствие геометрии аминокислотных остатков экспериментальным ограничениям и их локализация в стерически разрешенных областях пространства ( $\phi$ ,  $\psi$ ) [59], — показывает, что в отличие от данных работы [32] использование вероятностного подхода позволило автору провести корректное согласование спектральных и структурных характеристик ОАД HIV-MN: все ее аминокислотные остатки расположены в энергетически благоприятных областях карты Рамачандрана (рис. 1), а их конформации (табл. 2) полностью согласуются с экспериментальными данными (табл. 1).

В связи с этим необходимо отметить, что главная цель применения большинства традиционных методов, использующих данные спектроскопии ЯМР для изучения пространственной организации белков, заключается в построении их трехмерной структуры, а величины двугранных углов молекулы вычисляются из координат атомов построенной модели [60]. Известно [50, 61], что такой подход приводит к нежелательной ситуации, когда возни-

кает необходимость решения некорректной физической задачи: количество определяемых геометрических параметров значительно превышает таковое экспериментальной информации.

В традиционных теоретических процедурах «грубые» структуры, полученные с помощью алгоритмов дистанционной геометрии, уточняют методами энергетической оптимизации. Для этой цели применяют интегральную функцию, включающую отдельные составляющие, с помощью которых налагаются штрафы за нарушения экспериментальных ограничений и контролируется величина внутримолекулярной энергии. Разумеется, это позволяет уменьшить количество аминокислотных остатков, находящихся в стерически запрещенных областях конформационного пространства, однако не может существенно повысить точность определения конформации белка: локализация отдельных аминокислот в стерически запрещенных областях карты ( $\phi$ ,  $\psi$ ) необходима для обеспечения оптимального значения интегральной целевой функции [50]. Другими словами, построение пространственной структуры без предварительного анализа конформаций индивидуальных аминокислотных остатков неизбежно приводит к тому, что некоторые из них попадают в ложные локальные минимумы («конформационные капканы»), которые не могут быть устранены последующим применением методов энергетической оптимизации [50].

Вероятно, именно это обстоятельство является одной из главных причин неудовлетворительного воспроизведения локальной структуры ОАД HIV-MN, рассчитанной с помощью одного из таких подходов в работе [32]: существенная часть аминокислотных остатков фрагмента в этой структуре расположена в стереохимически неблагоприятных участках пространства ( $\phi$ ,  $\psi$ ), а их конформации противоречат данным спектроскопии ЯМР.

Очевидно, низкое разрешение структуры, предложенной в работе [32] на основе данных спектроскопии ЯМР, предопределило основную цель настоящего исследования — выполнить повторный, более корректный анализ имеющейся экспериментальной информации.

В действительности [50], задача установления конформации белка является более простой, чем расчет его трехмерной структуры: по сравнению с пространством декартовых координат атомов для анализа локальной структуры требуется гораздо меньшее количество геометрических параметров.



Кроме того, известно, что аминокислотные остатки должны быть расположены в энергетически благоприятных областях конформационного пространства и поэтому для двугранных углов  $\phi$ ,  $\psi$  около 60 % соответствующего геометрического пространства может быть исключено из дальнейшего рассмотрения уже на предварительном этапе расчетов. Именно по этой причине для достижения поставленных целей здесь применен расчетный метод [44], учитывающий все отмеченные выше факторы и определяющий конформацию белка прямым (без построения трехмерной структуры) преобразованием спектральных данных в конформационные характеристики исследуемой молекулы, обеспечивая при этом стабильное и точное решение задачи [50].

Результаты компьютерных экспериментов убедительно доказывают [50], что применение такого математического подхода преобразует проблему определения локальной структуры белков по данным спектроскопии ЯМР в корректную физическую задачу и дает основание утверждать, что точность расчета конформации ОАД HIV-MN, достигнутая в настоящей работе, соответствует уровню, который обеспечивает рентгеноструктурный анализ белков среднего (2.5—3.0 Å) разрешения (подробности см. в обзоре [50]).

**Выводы.** На основе полученных результатов можно сделать следующие выводы относительно пространственной организации петли V3 белка gp120 HIV-1.

1. Петля V3 белка gp120 HIV-MN в водном растворе на N-конце формирует «вытянутый» участок с 1-го по 14-й а. о., разделенный двойным  $\beta$ -изгибом 15—20 а. о. с неупорядоченной C-концевой областью, насчитывающей 21—35 а. о.

2. Анализируемый участок белка gp120 HIV-1 представляет собой конформационно лабильный фрагмент: различия между локальными структурами петли V3 в вирусных штаммах HIV-MN и HIV-Thailand являются статистически значимыми.

3. Несмотря на значительные расхождения в величинах двугранных углов большинства аминокислот, 14 а. о. петли V3, семь из которых входят в функционально важные участки ОАД HIV-1, сохраняют конформационные состояния в двух штаммах вируса. Эти остатки представляют собой потенциальные мишени для методов белковой инженерии, используемых в работах по созданию противовирусных препаратов.

4. Список структурно консервативных аминокислотных остатков содержит инвариантный остаток Arg-3, выполняющий ключевую роль в процессе связывания вируса с корцептором CCR-5 клеточной мембраны.

Предложенная модель структуры ОАД HIV-1 являет собой основу для более глубокого понимания механизмов функционирования вируса и поэтому в дальнейшем может быть использована для изучения взаимосвязи между структурой и функцией фрагмента, его динамикой и окружающей средой, что является необходимым элементом для реализации белково-инженерных проектов, направленных на создание эффективных лекарственных препаратов, обладающих противовирусным действием [11, 23, 30, 62].

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

A. M. Andrianov

Local structure for the HIV-1 gp120 V3 loop. Comparative analysis of the fragment conformations in HIV-MN and HIV-Thailand isolates

Summary

*Secondary structure elements and conformations of irregular stretches for the HIV-MN gp120 V3 loop, comprising the virus immunogenic crown as well as the sites liable for cell tropism and cell fusion, were defined using the theoretical method developed previously. Computations based on the published data of NMR spectroscopy in water point out that the V3 loop N-terminal segment exhibits the extended site 1—14 separated by a double ( $\beta$ -turn 15—20 from its unordered C-terminal region 21—35. Collating the conformation obtained with the one derived earlier for the Thailand HIV-1 gp120 V3 loop indicates that the differences in their local structures are statistically significant. Despite the essential structures divergence, fourteen amino acids of the stretch under consideration, seven of which reside in its functionally active sites, were shown to preserve their conformational states in the MN and Thailand HIV-1 isolates. The residues keeping their conformations can be considered as the potential targets for the protein engineering methods used in the studies on developing the antiviral agents.*

*Key words: human immunodeficiency virus, protein gp120, V3 loop, conformational analysis, NMR spectroscopy, local structure.*

O. M. Андрианов

Локальна структура петлі V3 білка gp120 HIV-1. Порівняльний аналіз конформацій фрагмента у вірусних штаммах HIV-MN і HIV-Thailand

Резюме

*Визначено елементи вторинної структури і конформації нерегулярних сегментів петлі V3 білка gp120 HIV-MN, до складу якої входять імунодомінантний епітоп вірусу, а також детермінанти, відповідальні за процеси клітинного тропізму і*

злиття клітин Розрахунки, здійснені з використанням літературних даних щодо спектроскопії ЯМР у водному розчині, показали, що N-кінцевий фрагмент петлі V3 формує «втягнуту» ділянку з 1-го по 14-й амінокислотний залишок (а. з.), розділений подвійним β-згином 15–20 а. з. з неупорядкованою C-кінцевою областю 21–35 а. з. Результати порівняльного аналізу розрахованої конформації та встановленої раніше локальної структури петлі V3 білка gp120 HIV-Thailand свідчать про те, що розбіжності між ними статистично значущі. Проте, незважаючи на суттєву різницю в структурі, 14 а. з. фрагмента, сім з яких входять до його функціонально активних сайтів, зберігають конформаційні стани у вірусних штаммах HIV-MN і HIV-Thailand. Структурно консервативні залишки можна розглядати як потенційні мішені для методів білкової інженерії, що застосовують у роботах із створення противірусних препаратів.

Ключові слова: вірус імунодефіциту людини, білок gp120, петля V3, конформаційний аналіз, спектроскопія ЯМР, локальна структура.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- 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.
- 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., Emami E. A., Putney S. D. Conserved sequence and structural elements in the HIV-1 principal neutralizing determinant // *Science.*—1990.—249.—P. 932—935.
- Skinner M. A., Langlois A. J., McDanal C. B., McDougal J. A., Bolognesi D. P., Matthews T. J. Neutralizing antibodies to an immunodominant envelope sequence do not prevent gp120 binding to CD4 // *J. Virol.*—1988.—62.—P. 4195—4200.
- 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.
- Rusche J. R., Javaherian K., McDanal C., Petro J., Lynn D. L., Grimalta R., Langlois A., Gallo R. C., Arthur L. O., Fischinger P. J., Bolognesi D. P., Putney S. D., Matthews T. J. Antibodies that inhibit fusion of human immunodeficiency virus-infected cells bind a 24-amino acid sequence of the viral envelope, gp120 // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1988.—85.—P. 3198—3202.
- Schreiber M., Wachsmuth C., Muller H., Odemuyiwa S., Schmitz H., Meyer S., Meyer B., Schneider-Mergener J. The V3-directed immune response in natural human immunodeficiency virus type 1 infection is predominantly directed against a variable discontinuous epitope presented by the gp120, V3 domain // *J. Virol.*—1997.—71.—P. 9198—9205.
- Gorny M. K., Xu J.-Y., Karwowska S., Buchbinder A., Zolla-Pazner S. Repertoire of neutralizing human monoclonal antibodies specific for the V3 domain of HIV-1 gp120 // *J. Immunol.*—1993.—150.—P. 635—643.
- Javaherian K., Langlois A. J., McDanal C., Ross K. L., Eckler L. I., Jellis C. L., Profy A. T., Rusche J. R., Bolognesi D., Putney S. D., Matthews T. J. Principal neutralizing domain of the human immunodeficiency virus type 1 envelope protein // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1989.—86.—P. 6768—6772.
- Wu L., Gerard N. P., Wyatt R., Choe H., Parolin C., Ruffin N., Borsetti A., Cardoso A. A., Desjardin E., Newman W., Gerard C., Sodroski J. CD-4 induced interaction of primary HIV-1 gp120 glycoproteins with the chemokine receptor CCR 5 // *Nature.*—1996.—384.—P. 179—183.
- Trkola A., Dragic T., Arthos J., Binley J. M., Olson W., Allaway G. P., Cheng-Mayer C., Robinson J., Maddon P. J., Moore J. P. CD-4 dependent, antibody sensitive interactions between HIV-1 and its co-receptor CCR 5 // *Nature.*—1996.—384.—P. 184—187.
- Dettin M., Ferranti P., Scarinci C., Picariello G., Di Bello C. Is the V3 loop involved in HIV binding to CD4? // *Biochemistry.*—2003.—42.—P. 9007—9012.
- Chavda S. C., Griffin P., Han-Liu Z., Keys B., Vekony M. A., Cann A. J. Molecular determinants of the V3 loop of human immunodeficiency virus type 1 glycoprotein gp120 responsible for controlling cell tropism // *J. Gen. Virol.*—1994.—75.—P. 3249—3253.
- Mammano F., Salvatori F., Ometto L., Panozzo M., Chieco-Bianchi L., DeRossi A. Relationship between the V3 loop and the phenotypes of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) isolates from children perinatally infected with HIV-1 // *J. Virol.*—1995.—69.—P. 82—92.
- Milich L., Margolin B. H., Swanstrom R. V3 loop of the human immunodeficiency virus type 1 Env protein: interpreting sequence variability // *J. Virol.*—1993.—67.—P. 5623—5634.
- Shioda T., Levy J. A., Cheng-Mayer C. Small amino acid changes in the V3 hypervariable region of gp120 can affect the T-cell-line and macrophage tropism of human immunodeficiency virus type 1 // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1992.—89.—P. 9434—9438.
- Yamashita A., Yamamoto N., Matsuda J., Koyanagi Y. Cell type-specific heterogeneity of the HIV-1 V3 loop in infected individuals: selection of virus in macrophages and plasma // *Virology.*—1994.—204.—P. 170—179.
- Goudsmit J., Debouck C., Melen R. H., Smit L., Bakker M., Asher D. M., Wolff A. V., Gibbs C. J., Jr., Gajdusek D. C. Human immunodeficiency virus type 1 neutralization epitope with conserved architecture elicits early-specific antibodies in experimentally infected monkeys // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1988.—85.—P. 4478—4482.
- Clements G. J., Price-Jones M. J., Stephens P. E., Sutton C., Schulz T. F., Clapham P. R., McKeating J. A., McClure M. O., Thomson S., Marsh M., Kay J., Weiss R. A., Moore J. P. The V3 loops of the HIV-1 and HIV-2 surface glycoproteins contain proteolytic cleavage sites: a possible function in viral fusion? // *AIDS Res. Hum. Retroviruses.*—1991.—7.—P. 3—16.
- Callebeaut C., Krust B., Jacotot E., Hovanessian A. G. T cell activation antigen, CD26, as a cofactor for entry of HIV in CD4+ cells // *Science.*—1993.—262.—P. 2045—2050.
- Di Bello C., Pasquato A., Dettin M. Synthetic peptides for AIDS research // *Curr. Protein Pept. Sci.*—2004.—5.—P. 225—234.
- Ling H., Usami O., Xiao P., Gu H. X., Hattori T. The N-terminal of the V3 loop in HIV type 1 gp120 is responsible for its conformational-dependent interaction with cell surface molecules // *AIDS Res. Hum. Retroviruses.*—2004.—20.—P. 213—218.
- Gorny M. K., Revesz K., Williams C., Volsky B., Louder M. K., Anyangwe C. A., Krachmarov C., Kayman S. C., Pinter

- A., Nadas A., Nyambi P. N., Mascola J. R., Zolla-Pazner S. The V3 loop is accessible on the surface of most human immunodeficiency virus type 1 primary isolates and serves as a neutralization epitope // *J. Virol.*—2004.—78.—P. 2394—2404.
23. Yang Z.-Y., Chakrabarti B. K., Xu L., Welcher B., Kong W.-P., Leung K., Panet A., Mascola J. R., Nabel G. J. Selective modification of variable loops alters tropism and enhances immunogenicity of human immunodeficiency virus type 1 envelope // *J. Virol.*—2004.—78.—P. 4029—4036.
  24. Kwong P. D., Wyatt R., Robinson J., Sweet R. W., Sodroski J., Hendrickson W. A. Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody // *Nature.*—1998.—393.—P. 648—659.
  25. Rini J. M., Stanfield R. L., Stura E. A., Salinas P. A., Profy A. T., Wilson I. A. Crystal structure of a human immunodeficiency virus type 1 neutralizing antibody, 50.1, in complex with its V3 loop // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1993.—90.—P. 6325—6329.
  26. 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.
  27. 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—42.
  28. 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.
  29. Stanfield R. L., Ghiara J. B., Saphire E. O., Profy A. T., Wilson I. A. Recurring conformation of the human immunodeficiency virus type 1 gp120 V3 loop // *Virology.*—2003.—315.—P. 159—173.
  30. Stanfield R. L., Gorny M. K., Williams C., Zolla-Pazner S., Wilson I. A. Structural rationale for the broad neutralization of HIV-1 by human monoclonal antibody 447-52D // *Structure.*—2004.—12.—P. 193—204.
  31. Ding J., Smith A. D., Geisler S. C., Ma X., Arnold G. F., Arnold E. Crystal structure of a human rhinovirus that displays part of the HIV-1 V3 loop and induces neutralizing antibodies against HIV-1 // *Structure.*—2002.—10.—P. 999—1011.
  32. 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.
  33. 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.
  34. 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.
  35. Vu H. M., de Lorimier R., Moody M. A., Haynes B. F., Spicer L. D. Conformational preference of a chimeric peptide HIV-1 immunogen from the C4-V3 domains of gp120 envelope protein of HIV CANOA based on solution NMR: comparison to a related immunogenic peptide from HIV-1 RF // *Biochemistry.*—1996.—35.—P. 5158—5165.
  36. Vranken W. F., Budesinsky M., Martins J. C., Fant F., Boulez K., Gras-Masse H., Borremans F. A. M. 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.
  37. 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.
  38. Tolman R. L., Bednarek M. A., Johnson B. A., Leanza W., Marburg S., Underwood D. J., Emini E. A., Conley A. J. Cyclic V3 loop-related HIV-1 conjugate vaccines // *Int. J. Pept. Protein Res.*—1993.—41.—P. 455—466.
  39. Jelinek R., Terry T. D., Gesell J. J., Malik P., Perham R. N., Opella S. NMR structure of the principal neutralizing determinant of HIV-1 displayed in filamentous bacteriophage coat protein // *J. Mol. Biol.*—1977.—266.—P. 649—655.
  40. Андрианов А. М. Модель трехмерной структуры иммунодоминантного эпитопа белка gp120 HIV-MN // *Вестн НАН Беларуси, сер. хим. наук.*—2003.—№ 1.—С. 68—75.
  41. Андрианов А. М., Соколов Ю. А. Иммунореактивная конформация иммунодоминантного эпитопа HIV-MN // *Вестн НАН Беларуси, сер. хим. наук.*—2003.—№ 3.—С. 88—94.
  42. Andrianov A. M., Sokolov Yu. A. 3D structure model of the principal neutralizing epitope of Minnesota HIV-1 isolate // *J. Biomol. Struct. and Dynam.*—2004.—21.—P. 577—590.
  43. 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.
  44. 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.
  45. 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.
  46. 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.
  47. Lewis P. N., Momany F. A., Scheraga H. A. Chain reversals in proteins // *Biochim. et Biophys. Acta.*—1973.—303.—P. 211—229.
  48. 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.
  49. Шерман С. А., Андрианов А. М., Ахрем А. А. Конформационный анализ и установление пространственной структуры белковых молекул.—Минск: Наука и техника, 1989.—240 с.
  50. 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.
  51. 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.
  52. Худсон Д. Статистика для физиков. Лекции по теории вероятностей и элементарной статистике.—М.: Мир, 1967.—242 с.
  53. 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.

54. *Wuthrich K., Billeter M., Braun W.* Polypeptide secondary structure determination by nuclear magnetic resonance observation of short proton-proton distances // *J. Mol. Biol.*—1984.—180.—P. 715—740.
55. *Andrianov A. M.* Structure and polymorphism of the HIV-1 principal neutralizing epitope // *Proc. Fours Int. Conf. on Bioinform. of Genome Regulation and Structure (Novosibirsk, Russia)*.—Novosibirsk, 2004.—Vol. 1.—P. 235—238.
56. *Andrianov A. M.* Dual spatial folds and different local structures of the HIV-1 immunogenic crown in various virus isolates // *J. Biomol. Struct. and Dynam.*—2004.—22.—P. 159—170.
57. *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.
58. *Wang W.-K., Dudek T., Zhao Y.-J., Brumblay H. G., Essex M., Lee T.-H.* CCR5 coreceptor utilization involves a highly conserved arginine residue of HIV type 1 gp120 // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1998.—95.—P. 5740—5745.
59. *McArthur M. W., Thornton J. M.* Conformational analysis of protein structures derived from NMR data // *Proteins: Structure, Function, and Genetics.*—1993.—17.—P. 232—251.
60. *Wuthrich K.* NMR studies of structure and function of biological molecules // *Biosci. Rep.*—2003.—23.—P. 119—153.
61. *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.
62. *Hsu S. T., Bonvin A. M.* Atomic insight into the CD4 binding-induced conformational changes in HIV-1 gp120 // *Proteins.*—2004.—55.—P. 582—593.

УДК 577.322.5:543.25  
Надійшла до редакції 28.10.04