

УТОЧНЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ β -ИЗГИБОВ ПО ДАННЫМ НЕЙТРОНОГРАФИИ

© 2023 г. А.А. Коробков*, А.А. Хурмузакий**, Н.Г. Есипова*, В.Г. Туманян*, А.А. Анашкина*.*

*Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, ул. Вавилова, 32, Москва, 119991, Россия

**Первый медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет), ул. Трубецкая, 8, Москва, 119991, Россия

*E-mail: anastasia.a.anashkina@mail.ru

Поступила в редакцию 14.11.23 г.

После доработки 04.12.23 г.

Принята к публикации 06.12.23 г.

β -Изгибы относятся к трудно интерпретируемому типу структуры остова полипептидной цепи глобулярных белков. До сих пор непонятен механизм стабилизации их часто энергетически невыгодных конформаций. Классификацию β -изгибов принято проводить по двугранным углам ϕ и ψ аминокислотных остатков $i+1$ и $i+2$ в β -изгибах. Однако анализ карты Рамачандрана аминокислотных остатков $i+1$ и $i+2$ указывает на возникающее в изгибе конформационное напряжение. Такого рода конформационные напряжения могут быть скомпенсированы, скорее всего, дополнительными взаимодействиями, такими как дополнительные водородные связи, геометрия и энергия которых и компенсирует напряжение β -изгиба. Нейтронография является прямым методом определения положения атомов водорода в структурах химических соединений, включая белки. В данной работе изучено 176 структур белков из PDB, установленных с помощью метода нейтронографии. В этих структурах по критерию замыкающей псевдоцикл водородной связи $i \rightarrow i+3$ было найдено 3733 β -изгиба. Определены величины конформационных углов для каждого типа изгиба. Гипотеза о наличии дополнительной водородной связи для стабилизации изгиба статистически удовлетворительного подтверждения не нашла.

Ключевые слова: β -поворот, конформация, полипептидная цепь, β -шпилька.

DOI: 10.31857/S0006302923060054, EDN: ROCZDC

β -Изгибы, как правило, присутствуют в белковых структурах. Именно такого рода структурные элементы обеспечивают резкий поворот полипептидной цепи назад. В 1968 г. Венкатачалам предложил обратить внимание на водородные связи, стабилизирующие такую конформацию. Он нашел, что расположение атомов между кислородом карбонильной группы основной цепи i -го остатка и атомом азота амидной группы остатка $i+3$ основной цепи следует назвать водородной связью. Венкатачалам выделил шесть подклассов β -изгибов [1].

П. Льюис в своей работе 1973 г. отметил, что сближение двух C_{α} -атомов основной цепи, разделенных двумя аминокислотными остатками, на расстояние меньше 7 Å, может рассматриваться как критерий для возникновения β -изгиба. Это позволило расширить классификацию изгибов до десяти типов [2].

В 1981 году Дж. Ричардсон [3], основываясь на трудах П. Чоу и Г. Фасмана [4], которые смогли рассчитать и наглядно визуализировать значения

углов ϕ и ψ , сделал вывод о том, что тип III β -поворотов можно исключить из классификации, так как он вместе с типом I формирует один очень плотный кластер. Помимо этого, предложенный Льюисом тип V не образовывал четкого и определенного кластера и по таким же соображениям тоже был удален из финальной классификации поворотов. Тип VI, образованный цис-пролиновыми поворотами, был разделен на две группы — VIa и VIb. Тип VIa содержит повороты со значениями углов пролина, характерными для α -спирали, имеет вогнутую ориентацию пептида и кольцо пролина следует общей кривой изгиба; такой изгиб обычно содержит водородную связь. Вторая группа — тип VIb — состоит из β -поворотов с характерными для β -структуры углами пролина, имеет выпуклую ориентацию пептида и пролина; водородная связь часто отсутствует. Тип VII характеризовался всего лишь двумя углами, поворот, относящийся к этому типу, принимает один из двух крайних вариантов, что делает этот класс неоднозначным. Поэтому Ричардсон ввел

Таблица 1. Восемь кластеров β -изгибов, полученных при кластеризации по конформационным углам β -изгибов из нейтронографических структур

	$i + 1$		$i + 2$	Число случаев	Доля, %
	ϕ	ψ	ϕ		
I	$-66 \pm 20^\circ$	$-22 \pm 25^\circ$	$-99 \pm 15^\circ$	948	27.0
II	$-58 \pm 20^\circ$	$132 \pm 20^\circ$	$85 \pm 30^\circ$	257	7.3
III	$-61 \pm 20^\circ$	$-33 \pm 30^\circ$	$-69 \pm 10^\circ$	2143	61.1
I'	$54 \pm 10^\circ$	$38 \pm 15^\circ$	$78 \pm 25^\circ$	89	2.5
II'	$54 \pm 10^\circ$	$-133 \pm 15^\circ$	$-92 \pm 15^\circ$	16	0.5
VI _a	$-61 \pm 20^\circ$	$139 \pm 18^\circ$	$-94 \pm 20^\circ$	17	0.5
VI _c	$-51 \pm 20^\circ$	$140 \pm 15^\circ$	$-77 \pm 15^\circ$	10	0.3
IV	$54 \pm 10^\circ$	$-133 \pm 15^\circ$	$-71 \pm 10^\circ$	25	0.7

тип IV, который включает в себя все повороты, не подходящие по критериям ни к одному из вышеупомянутых шести типов [3].

Следующий шаг в изучении β -изгибов заключался в анализе большего количества данных ради улучшения существующей классификации. Уилмот и Торнтон в 1988 г. выделили изгибы в 59 неидентичных белковых структурах [5]. Они использовали тот же метод предсказания β -изгибов, что и П. Льюис в своей работе 1973 г. Повороты разделили по определенному типу с допустимой вариацией величины углов ϕ , ψ : 30° для трех углов и 45° для четвертого угла в повороте. Результаты классификации показали, что тип I образует основной кластер. Авторы также предложили добавить в классификацию тип VIII. Он описывает повороты с углами закручивания, характерными для структур α -спирального типа в положении $i + 1$, и углами закручивания, характерными для β -структур в положении $i + 2$.

В 1990 г. Уилмот и Торнтон, продолжая свои исследования [6], заметили, что примерно 42% β -изгибов не попадают ни в один из восьми общепринятых типов. Они также предложили новую номенклатуру для β -поворотов, основанную на участках с допустимыми значениями торсионных углов на диаграмме Рамачандрана.

Спустя четыре года Торнтон вместе с Хатчинсоном [7] провели идентификацию и классификацию еще более крупной выборки β -поворотов, почти в четыре раза превышающей предыдущую. Эта работа показывает, насколько важно пересматривать общепринятое разделение изгибов, так как с увеличением опорной базы данных можно получать более реалистичную и осмысленную классификацию. В этих трудах было также отмечено, что примерно 42% β -поворотов встречаются в белке изолированно, многие же изгибы образуют множественные повороты, в которых как минимум один остаток является общим для этих β -поворотов.

В дальнейших исследованиях были продолжены попытки введения новой классификации и номенклатуры β -поворотов [8–10]. Так, результаты А. де Бреверна [10], опубликованные в 2016 г., вновь показали, что наиболее часто встречающимся является β -изгиб I типа. В эту категорию попало 38.2% от всех исследованных поворотов. Вторым по встречаемости стал тип IV, включающий в себя все конформации, не подошедшие по критериям ни к одному из стандартных типов. На эту группу приходится 31.7% β -поворотов. Так как примерно треть всех исследуемых поворотов не была отнесена ни к одному типу, де Бреверн предложил разделение этого сборного кластера на четыре группы. Он проводил кластеризацию несколько раз с разными входными наборами поворотов. Сходный подход использовался в работе К. Мишлетти [11]. Он с коллегами кластеризовал свои данные несколько раз, при этом каждый раз выделялся наибольший из всех кластеров с его дальнейшим удалением из последующих кластеризаций. Новые четыре подтипа включали в себя примерно половину изначальных представителей типа IV, вторая половина была отнесена к типу IV — *miscellaneus*. Следующие величины описывают распределение поворотов в новых подтипах: 16.1%, 12.4%, 11.2% и 8.5%. В табл. 1 приведены значения торсионных углов новых подтипов, они обозначаются как IV с индексом.

В 2019 г. М. Шаповалов [8] провел анализ β -изгибов на основе 1074 белковых структур с очень высоким разрешением ($< 1.2 \text{ \AA}$), в них было найдено 13030 β -поворотов. β -Изгиб определялся согласно следующим критериям: сегмент должен состоять из четырех аминокислотных остатков, расстояние между C_α -атомом первого и четвертого остатка должно быть менее $7 \text{ \AA}$. Первая кластеризация была проведена по методу k -средних. В основе этого метода лежит изначальный выбор k произвольных центров, после чего данные разбиваются на k групп, наиболее близких к выбран-

ным центрам. Однако этот метод не позволил провести качественную кластеризацию, так как либо получалось выделить наиболее встречающиеся классические классы, но не было возможности разделить повороты типа I и типа VIII, либо эти два типа попадали в разные классы, но последствием такого разбиения было наличие огромного количества маленьких кластеров и шума. В результате был выбран метод DBSCAN (Density Based Spatial Clustering of Application with Noise), с последующим применением нескольких циклов кластеризации методом k -средних. В методе DBSCAN используется предположение, что элементы одного кластера формируют область с более высокой плотностью, нежели окружение этого кластера [12, 13]. После проведения первой кластеризации Шаповалов получил 11 кластеров, при более детальном изучении которых стало понятно, что 4 из них могут быть разделены. Он выделил 18 типов поворотов вместо классических 8 типов и ввел новую двухбуквенную номенклатуру. В новой классификации типов β -поворотов совершенно новые восемь типов были получены в результате разделения некоторых классических типов (тип II был разделен на два, тип VIII – на четыре типа, и тип VIb был тоже разделен на два новых типа) и оставшиеся четыре типа являются обновленными кластерами классических типов I, I', II' и VIa. Полная информация по кластерам со значениями торсионных углов и сравнением с классической кластеризацией β -изгибов представлена в табл. 1. По сравнению с классическими восемью типами (тип I, I', II, II', VIa1, VIa2, VIb, VIII), Шаповалов ввел 12 совершенно новых типов, в том числе семь существующих типов и пять подтипов [8].

Все эти работы были сделаны на основании анализа структур, установленных методом рентгеноструктурного анализа. В таких структурах положения атомов водорода определены непрямым методом. Экспериментально устанавливается распределение электронной плотности в анализируемом объекте [14], а не координаты ядер атомов. Координаты ядер атомов водорода рассчитываются на основе простых геометрических соображений. Нейтронографические методы, в отличие от рентгенографических, позволяют экспериментально определить расположение ядер атомов водорода в молекуле. Поток нейтронов рассеивается ядрами атомов. При этом, амплитуда рассеяния легких атомов сравнима с амплитудой рассеяния тяжелых атомов, что позволяет определить координаты атомов водорода, чего невозможно достичь в рентгеноструктурном анализе [14].

В данной работе, используя экспериментально определенные координаты атомов водорода, мы проанализировали двугранные (конформационные) углы β -поворотов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изученные структуры белков. Из базы данных PDB были отобраны все белковые структуры, полученные с помощью нейтронографии (данные на ноябрь 2020 г.):

3TMJ, 3U2J, 3RZ6, 3RYG, 3RZT, 3SS2, 3VXF, 3X2O, 3X2P, 4FC1, 4G0C, 4N3M, 4N9M, 3QBA, 3QF6, 3R98, 3R99, 3QZA, 4K9F, 4JEC, 3CWH, 2VS2, 2YZ4, 2ZOI, 2ZPP, 3A1R, 2ZWB, 2ZYE, 2WYX, 2XQZ, 3HGN, 3BYC, 4ZZ4, 5A90, 5A93, 5AI2, 5DPN, 5E5J, 5E5K, 5EBJ, 3KCL, 3KCO, 3KKX, 3KMF, 3L45, 5C6E, 5C8I, 5CCE, 5CCD, 5CE4, 5CG6, 5CG5, 5D97, 4DVO, 4S2D, 4S2F, 4S2G, 4S2H, 4RSG, 3FHP, 3KYY, 3KYX, 4Q49, 4PVM, 4PVN, 4QCD, 4QDW, 4QDP, 5GX9, 3Q3L, 2R24, 3INS, 3KCJ, 4AR3, 4AR4, 4BD1, 4C3Q, 5K1Z, 5JPR, 5JPC, 4CVI, 4CVJ, 4PDJ, 6E2I, 6K8G, 6L9C, 5MO0, 5MO2, 5MO1, 5MOP, 5MOO, 5MOR, 5MOQ, 5MOS, 5MON, 5MNY, 5MNX, 5MNZ, 4GPG, 5PTI, 4Y0J, 4XPV, 5T8H, 5TKI, 4LNC, 5WEY, 5KSC, 5KWF, 6D54, 6D4L, 6NAF, 6NTI, 6NTJ, 6FJJ, 6FJI, 6RSA, 6F2Q, 6EXY, 6EYM, 6FFT, 6BQ8, 6C78, 5VG1, 5VJZ, 5VNQ, 5XPE, 5TY5, 6AJZ, 6BBS, 6BBR, 5ZN0, 5ZO0, 5RSA, 3OTJ, 5NFE, 5NFW, 5NKU, 4QXK, 6KK8, 6L26, 6L46, 6PTP, 7A0L, 6TAE, 6U58, 6XV4, 1GKT, 1L2K, 2MB5, 1LZN, 1CQ2, 6H1M, 6GTJ, 6GCY, 6U0B, 6U0C, 6U0F, 6U0E, 1NTP, 7JUN, 1IO5, 1IU6, 1WQ2, 1WQZ, 1XQN, 2INQ, 4NY6, 1VCX, 6BCC, 6BC9, 6BBZ, 1C57, 2GVE, 2DXM, 2EFA, 1V9G.

Вычисление параметров водородных связей и поиск стабилизирующей водородной связи. Расчет водородных связей проводился с использованием программного обеспечения HBPlus [7]. Далее с помощью специального скрипта на языке Python все водородные связи были автоматически проанализированы.

Критерий определения изгиба. После расчета всех водородных связей в нейтронографических структурах белков, определенных нейтронографическим методом с использованием программы HBPLUS и с использованием специального скрипта были отобраны фрагменты структур белков, содержащие водородные связи, удовлетворяющие критериям Венкатачала для β -изгибов (наличие водородной связи между карбонильным кислородом основной цепи остатка i и атомом азота основной цепи остатка $i + 3$) [1]. Каждый фрагмент структуры содержал по четыре аминокислотных остатка собственно β -изгиба и по два фланкирующих аминокислотных остатка с N- и C-конца, т.е. всего восемь аминокислотных остатков. Всего было найдено 3733 таких фрагмента.

Вычисление двугранных конформационных углов. Для вычисления торсионных углов аминокислотных остатков фрагмента структуры белка,

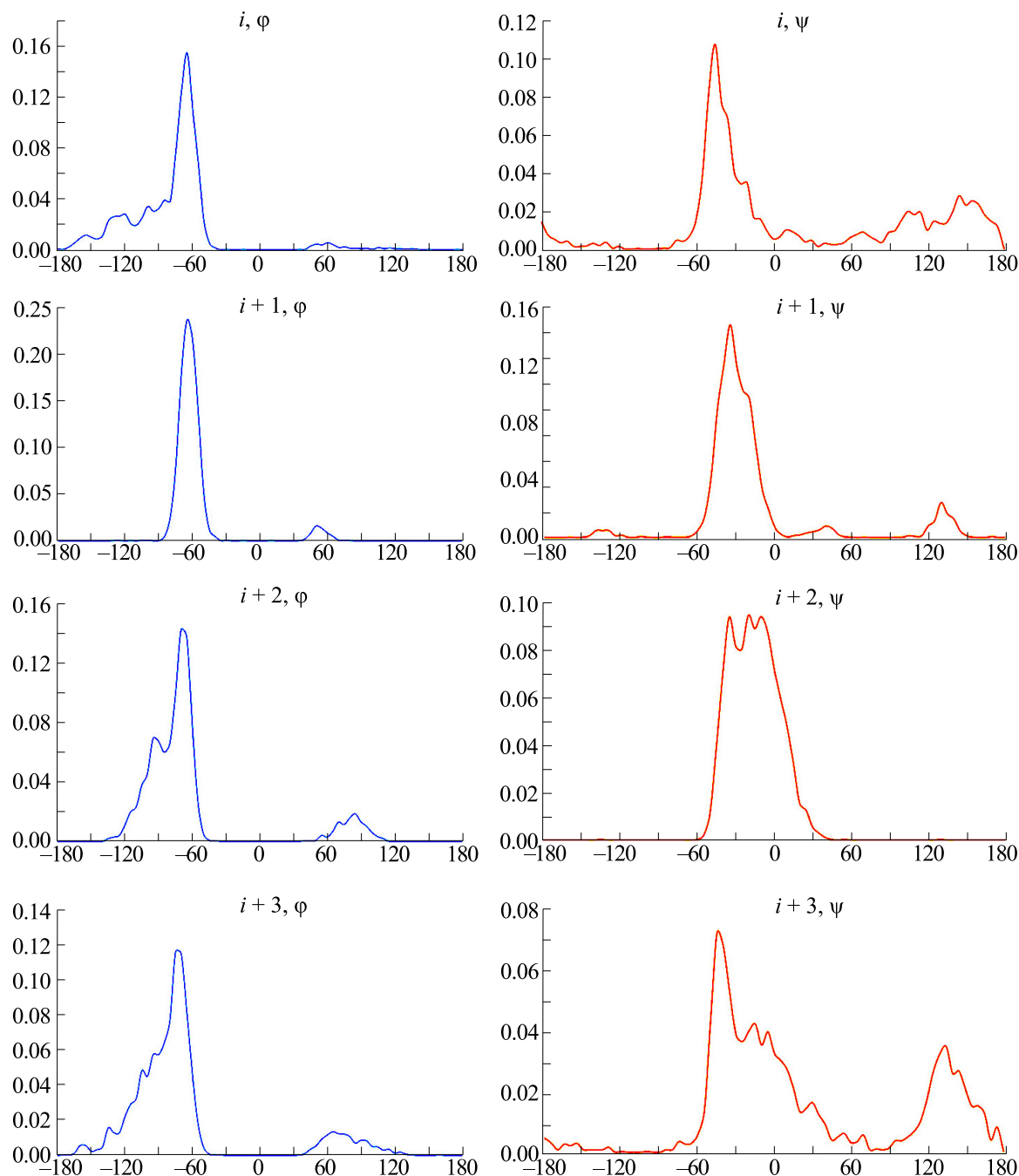


Рис. 1. Распределение величин торсионных углов в изученных 3733 структурах β -изгибов, найденных с помощью программы HBPlus [7] в 179 нейтронографических структурах белков. По оси X приведена величина конформационного угла. Суммарная площадь под каждым графиком равна 1. Характерные значения максимумов распределения величин конформационных углов ϕ и ψ четырех аминокислотных остатков изгиба и доля изгибов с аминокислотным остатком в такой конформации приведены в табл. 2.

содержащего β -изгиб, нами была написана программа на языке C. Программа доступна по запросу. Для визуализации распределений величин торсионных углов были построены гистограммы (рис. 1).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В большинстве структур был найден как минимум один β -изгиб, и лишь пять из 176 структур не содержали ни одного изгиба. В среднем на одну структуру белка пришлось 23 β -изгиба. На рис. 1

Таблица 2. Характерные значения максимумов распределения конформационных углов ϕ и ψ четырех аминокислотных остатков изгиба и доля изгибов с аминокислотным остатком в такой конформации

	i		$i + 1$		$i + 2$		$i + 3$
ϕ	$-129 \pm 25^\circ$ $-70 \pm 25^\circ$ $73 \pm 30^\circ$	22.58% 73.75% 3.67%	$-64 \pm 15^\circ$ $53 \pm 10^\circ$	95.0% 5.0%	$-98 \pm 15^\circ$ $-69 \pm 12^\circ$ $81 \pm 20^\circ$	34.05% 55.21% 10.74%	$-87 \pm 25^\circ$ $78 \pm 30^\circ$
ψ	$-162 \pm 20^\circ$ $-35 \pm 30^\circ$ $99 \pm 30^\circ$ $154 \pm 15^\circ$	4.82% 59.98% 17.57% 17.63%	$-135 \pm 10^\circ$ $-31 \pm 13^\circ$ $37 \pm 12^\circ$ $131 \pm 15^\circ$	1.96% 86.42% 3.3% 8.32%	$-15 \pm 30^\circ$	100.0%	$-161 \pm 20^\circ$ $-41 \pm 15^\circ$ $7 \pm 25^\circ$ $137 \pm 30^\circ$

приведены распределения величин двугранных углов ϕ и ψ , а в табл. 2 приведены характерные значения максимумов распределения конформационных углов ϕ и ψ четырех аминокислотных остатков изгиба и доля изгибов с аминокислотным остатком в такой конформации.

Результаты анализа распределения конформационных углов двух центральных аминокислотных остатков β -изгиба стали основными данными при формировании границ значений углов кластеров β -поворотов. С учетом комбинаторно возможных вариантов углов ϕ и ψ остатка $i - 1$ и угла ϕ остатка $i + 2$ предварительно были оценены границы 24 потенциально возможных кластеров.

В результате проведения кластеризации оказалось, что далеко не все комбинаторные варианты встречаются в белках. Количество ненулевых кластеров составило десять вариантов — из них два кластера содержали всего по одному β -изгибу и в последующем анализе не участвовали. Далее был определен центральный элемент каждого кластера и вычислена дисперсия. Параметры центрального элемента кластера приведены в табл. 1.

Для предварительной классификации границы кластеров были выбраны приблизительно. Однако в процессе отнесения изгибов к тому или иному кластеру только 5% структур остались в фоновом классе. Описание выявленных восьми кластеров дано в табл. 1. Максимально полным образом материал по конформационному анализу β -изгибов представлен в табл. 3.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе работы проанализировано 176 структур, полученных методом нейтронографии. По критерию замыкающей водородной связи, предложенному Венкатачаламом в 1968 г. [1], выявлено 3733 фрагмента, содержащих β -изгиб. Распределение величин двугранных углов ϕ и ψ остатков i , $i + 1$, $i + 2$ и $i + 3$ позволило выявить характерные значения углов для остатков $i + 1$ и $i + 2$. Кластеризация изгибов по комбинаторно возможным

24 классам показала, что только 8 классов изгибов содержат более одного элемента. Для каждого класса изгибов был определен центральный элемент кластера и вычислена дисперсия. Четыре из восьми полученных классов соотносятся с классическими типами β -изгибов [1, 2, 6], поэтому центральные значения конформационных углов изгибов типа I, типа I', типа II и типа II' были уточнены (табл. 3). Из полученных данных видно, что как углы Венкатачалама [1], так и углы Льюиса [2] и Торнтонна [5], были рассчитаны умозрительно, на основе геометрических моделей, без учета квантово-механических свойств полипептидной цепи и взаимного влияния электронных облаков. Особенно интересны данные по ψ для $i + 2$, ведь это — запрещенные области.

Поиск дополнительной стабилизирующей бифуркатной водородной связи, которая могла бы образоваться между атомом кислорода СО-группы i -го остатка и атомом азота $i + 2$, не выявил ни одной искомой связи в исследованных β -изгибах. Данные результаты говорят об отсутствии дополнительной стабилизации напряженной конформации β -изгиба на уровне вторичной структуры белка бифуркатной водородной связью. Наиболее близка к искомой конформации конформация II'. Возможно, что неудача в поиске стабилизирующей водородной связи связана либо с точностью определения координат атомов существующими методами, либо принятыми представлениями о геометрии водородной связи. Можно полагать в этой связи, что определенную роль в организации изгибов играет поле ядер водородов, образующееся в районах изгибов полипептидных цепей.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят Ю.Д. Нечипуренко за ценные советы при написании статьи.

Таблица 3. Восемь кластеров β-изгибов, полученных при кластеризации по конформационным углам β-изгибов из нейтронографических структур

Ссылка на источник														
[1]					[2]					[5]				
i + 1		i + 2			i + 1		i + 2			i + 1		i + 2		
фи	пси	фи	пси		фи	пси	фи	пси		фи	пси	фи	пси	
I	−60°	−30°	−90°	0°	I	−60°	−30°	−90°	0°	I	−60°	−30°	−90°	0°
II	−60°	120°	80°	0°	II	−60°	120°	80°	0°	II	−60°	120°	80°	0°
III	−60°	−30°	−60°	−30°	III	−60°	−30°	−60°	−30°					
I'	60	30	90	0	I'	60	30	90	0	I'	60	30	90	0
II'	60	−120	−80	0	II'	60	−120	−80	0	II'	60	−120	−80	0
III'	60	30	60	30	III'	60	30	60	30					
										VIa	−60	120	−60	−30
										VIb	−120	120	−60	130
										VIII	−60	−30	−120	120
										IV				
					IV	±40	±40	±40	±40					
					V	−80	80	80	−80					
					VI			Cis–Pro						
					VII	180		60						

Таблица 3. Продолжение

Ссылка на источник															
[8]						Наши данные					[10]				
		$i + 1$		$i + 2$			$i + 1$		$i + 2$			$i + 1$		$i + 1$	
		фи	пси	фи	пси		фи	пси	фи	пси		фи	пси	фи	пси
AD	I	−62	−23	−96	−2	I	−66±20°	−22±25°	−99±15°						
Pd	II	−55	133	91	−6	II	−58±20°	132±20°	85±30°						
AG	new (prev. VIII)	−66	−19	−82	63	III	−61±20°	−33±30°	−69±10°						
ad	I'	47	45	83	1	I'	54±10°	38±15°	78±25°						
pD	II'	57	−130	−95	11	II'	54±10°	−133±15°	−92±15°						
PcisD	VIa1	−60	144	−93	8	VIa	−61±20°	139±18°	−94±20°						
BcisP	VIb	−138	119	−66	164						I VIV ₁ 1	−120.0	130.0	−120.0	130.0
PcisP	new (prev VIb)	−66	148	−76	142	VIc	−51±20°	140±15°	−77±15°						
AB2	VIII	−69	−30	−120	128										
AB1	new (prev. VIII)	−67	−31	−136	162										
AZ	new (prev. VIII)	−74	−28	−140	75										
											I VIV ₃ 3	−71.0	−30.0	−71.0	−30.0
dD	new	94	−1	−128	15										
cisDA	new	−94	8	−61	−38						I VIV ₄ 4	−97.0	−2.0	−97.0	−2.0
pG	new	74	−162	−79	77										
cisDP	new	−86	4	−71	158						I VIV ₂ 2	−85.0	−15.0	−85.0	−15.0
dN	new	69	9	−132	−63										
Dd	new	−115	16	101	−12										
Other	IV					IV	54±10°	−133±15°	−71±10°						
Pa	new (prev. II)	−60	135	59	28										

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-24-00936 на тему «Характерные свойства конформационно-устойчивых структур в генезисе специфических дальнедействующих взаимодействий в процессах различной природы»).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. C. M. Venkatachalam, *Biopolymers*, **6**, 1425 (1968). DOI: 10.1002/bip.1968.360061006
2. P. N. Lewis, F. A. Momany, and H. A. Scheraga, *Biochim. Biophys. Acta – Protein Struct.*, **303**, 211 (1973). DOI: 10.1016/0005-2795(73)90350-4
3. J. S. Richardson, In *Advances in Protein Chemistry*, Ed. by C. B. Anfinsen, J. T. Edsall, and F. M. Richards, (Acad. Press, 1981), V. 34, pp. 167–339.
4. P. Y. Chou and G. D. Fasman, *J. Mol. Biol.*, **115**, 135 (1977). DOI: 10.1016/0022-2836(77)90094-8
5. C. M. Wilmot and J. M. Thornton, *J. Mol. Biol.*, **203**, 221 (1988). DOI: 10.1016/0022-2836(88)90103-9
6. C. M. Wilmot and J. M. Thornton, *Prot. Engineer., Design and Selection*, **3** (6), 479 (1990). DOI: 10.1093/protein/3.6.479
7. E. G. Hutchinson and J. M. Thornton, *Prot. Sci.*, **3**, 2207 (1994).
8. M. Shapovalov, S. Vucetic, and R. L. Dunbrack, *PLoS Comput. Biol.*, **15** (3), e1006844 (2019). DOI: 10.1371/journal.pcbi.1006844
9. O. Koch and G. Klebe, *Proteins*, **74**, 353 (2009). DOI: 10.1002/prot.22185
10. A. G. de Brevern, *Sci. Rep.*, **6**, 33191 (2016). DOI: 10.1038/srep33191
11. C. Micheletti, F. Seno, and A. Maritan, *Proteins*, **40**, 662 (2000). DOI: 10.1002/1097-0134(20000901)40:4<662::aid-prot90>3.0.co;2-f
12. Y. Liu, Z. Li, H. Xiong, et al., In *Proc. IEEE Int. Conf. on Data Mining* (2010), ISBN 978-1-4244-9131-5.
13. D. Moulavi, P. A. Jaskowiak, R. Campello, et al., In *Proc. SIAM Int. Conf. on Data Mining* (2014). DOI: 10.1137/1.9781611973440.96
14. E. Oksanen, J. C.-H. Chen, and S. Z. Fisher, *Molecules*, **22**, 596 (2017). DOI: 10.3390/molecules22040596

The Refinement of the Parameters of β -Turns Using Neutron Diffraction Data

A.A. Korobkov*, A.A. Khurmuzakiy**, N.G. Esipova*, V.G. Tymanyan*, and A.A. Anashkina*

*Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 32, Moscow, 119991 Russia

**I.M. Sechenov First Medical University (Sechenov University), ul. Trubetskaya 8, Moscow, 119991 Russia

Beta-bends are a difficult to interpret type of polypeptide chain backbone structure of globular proteins. Beta-bends are usually classified according to the dihedral angles ϕ and ψ of amino acid residues $i + 1$ and $i + 2$. Ramachandran map analysis of amino acid residues $i + 1$ and $i + 2$ indicates the resulting conformational stresses in bending. The mechanism of stabilization of their energetically disadvantageous conformations is still unclear. This kind of conformation stresses can only be compensated by additional interactions, such as additional hydrogen bonds, whose geometry and energy compensates for the beta-bending stress. Neutronography is the only available direct method for determining the position of hydrogen atoms in the structures of chemical compounds, including proteins. In this work, beta-bends from 176 protein structures from PDB established by neutronography are studied. In these structures, 3733 beta-bends were found using the $i \rightarrow i + 3$ hydrogen bonding criterion. Using clustering by the magnitude of conformational angles, eight types of bends were newly identified. The magnitudes of conformational angles for each type of bend were determined. The hypothesis of additional hydrogen bonding to stabilize the bend was not confirmed, suggesting that the bending stress is compensated by other factors.

Keywords: β -turn, conformation, polypeptide chain, β -hairpin