

Как уже указывалось (см. стр. 144), наличие линейной памяти в полимерной цепи приводит к ее особым физическим свойствам [1]. Поведение молекулы белка определяется свойствами цепи как целого, электронно-конформационными взаимодействиями (см. стр. 146) и конкретными особенностями первичной структуры — информационными характеристиками, кодируемыми на генетическом уровне. Важная физическая задача состоит в установлении связи между пространственным строением молекулы белка и первичной структурой цепи или цепей, ее образующих.

Конечная цель биофизических исследований заключается в физическом истолковании биологических функций белка, прежде всего его ферментативной функции.

Вопрос о способе возникновения первичной структуры белковой цепи в процессе матричного синтеза, идущего с необходимым участием других информационных макромолекул (молекул нуклеиновых кислот), представляет собой сложную физическую проблему. В связи с этим возникает физическая проблема генетического кода. Представление о генетическом коде исходит из предположения о существовании специфического молекулярного механизма превращения генетической информации в структурную функциональность белковых молекул. Это предположение имеет физический характер.

Наряду с ферментативным катализом, биофизика исследует и другие динамические свойства белковых молекул, ответственные за механохимические процессы, за иммунологическую защиту, за запасание и перенос кислорода и т. д. Соответственно следует говорить о физике сократительных белков как основе механохимии, о физике иммунитета и даже о физике отдельных белков — миоглобина и гемоглобина, например.

Таким образом, задачи физики белка сводятся к следующим:

1) Теоретическое и экспериментальное исследование структуры белковых молекул (а также надмолекулярных систем, которые они образуют совместно с другими биологически-функциональными веществами).

2) Установление связи первичной структуры белковых цепей и пространственного строения молекул белков.

3) Исследование физических механизмов биосинтеза белка.

4) Исследование физических механизмов, лежащих в основе биологических функций белков.

## § 4.2. КОНФОРМАЦИИ ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПИ

Для понимания структуры белка необходимо рассмотреть конформационное строение полипептидной цепи.

Как уже сказано, пептидная единица цепи, группа  $-CO-NH-$  имеет плоское строение (см. стр. 69). Структур-

ные параметры такой единицы, установленные в результате рентгенографического исследования как пептидов, так и ряда родственных соединений, приведены в табл. 4.1 [2—4].

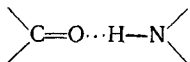
Таблица 4.1

Структурные параметры пептидных единиц:  
длина связей (в Å) и углы между ними

$C^{\alpha}-C$	1,53	$\angle C^{\alpha}CN$	$114^{\circ}$
$C-N$	1,32	$\angle OCN$	$125^{\circ}$
$N-C^{\alpha}$	1,47	$\angle C^{\alpha}CO$	$121^{\circ}$
$C=O$	1,24	$\angle CNC^{\alpha}$	$123^{\circ}$
$N-H$	1,00	$\angle CNH$	$123^{\circ}$
$C^{\alpha}-C^{\beta}$	1,54	$\angle HNC^{\alpha}$	$114^{\circ}$
$C^{\alpha}-H$	1,07	$\angle XC^{\alpha}Y$	$109,5^{\circ}$

Здесь  $C^{\alpha}$  — углеродный атом аминокислотного остатка, входящий в цепь,  $C^{\beta}$  — первый углеродный атом заместителя R, который можно представить в виде  $-C^{\beta}H_2-R'$ , X и Y — атомы, с которыми связан  $C^{\alpha}$  как в основной цепи, так и в привеске. Полностью вытянутая цепь (без деформации валентных углов и изменений длин связей) имеет *транс*-конформацию, характеризующуюся нулевыми значениями угла  $\phi$  поворота вокруг связи  $N-C^{\alpha}$  и угла  $\psi$  поворота вокруг связи  $C^{\alpha}-C$ . Угол поворота вокруг пептидной связи  $C-N$ , соединяющей соседние пептидные единицы, обозначается  $\omega$ . В вытянутой *транс*-конформации он также равен нулю.

Однако такая конформация не является наиболее стабильной. Между атомами кислорода карбонильных групп  $C=O$  и атомами водорода иминных групп  $N-H$  образуются водородные связи (см. ниже § 4.3) с энергией около 5 ккал/моль:



Нахождение наиболее устойчивой конформации полипептидной цепи требует минимизации ее полной энергии, включая энергию внутримолекулярных водородных связей.

Не проводя количественной минимизации энергии, Полинг и Кори определили наиболее устойчивые конформации полипептидной цепи, основываясь на данных рентгеноструктурных исследований пептидных группировок и на теоретическом рассмотрении плотной упаковки цепей с максимальным числом водородных связей [5, 6]. Таких конформаций три.

Наибольшее значение имеет конформация  $\alpha$ -спирали, показанная на рис. 4.1. Эта спираль характеризуется поворотом

вокруг оси на  $100^\circ$  и перемещением вдоль оси на  $1,5 \text{ \AA}$  на каждую пептидную единицу. Соответственно на один полный виток спирали приходится 3,6 пептидной единицы и смещение вдоль оси на  $5,4 \text{ \AA}$ . Водородные связи соединяют карбонильную группу

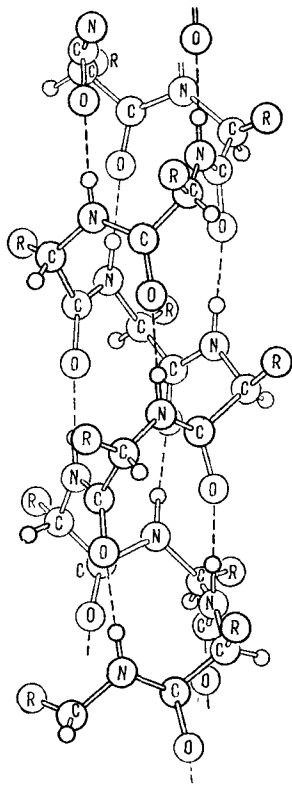


Рис. 4.1. Схематическое изображение  $\alpha$ -спирали.

данной единицы с иминной группой, принадлежащей четвертой предшествующей единице. Все группы  $C=O$  и  $N-H$ , за исключением конечных, соединены водородными связями. Структура весьма компактна и, в принципе, может быть построена из любых аминокислотных остатков, за исключением пролина, не содержащего группы  $N-H$  и поэтому не образующего водородной связи.

$\alpha$ -спираль может быть закручена вправо и влево. В первом случае  $\phi = 132^\circ$ ,  $\psi = 123^\circ$ , во втором случае  $\phi = 228^\circ$ ,  $\psi = 237^\circ$  (углы отсчитываются от плоского *транс*-положения цепи). Пептидные группы  $-CO-NH-$  сохраняют в  $\alpha$ -спирали свою плоскую структуру. Именно это обстоятельство и является одним из определяющих  $\alpha$ -спиральную конформацию.

Другие конформации с максимальным насыщением водородных связей — *параллельная* и *антипараллельная  $\beta$ -формы* — показаны на рис. 4.2 и 4.3. Это упорядоченные конформации уже не отдельной цепи, но совокупности цепей, образующей слоистую структуру (*pleated sheet*). Цепи в  $\beta$ -форме не имеют плоского, *транс*-строения (рис. 4.4). В параллельной конформации  $\phi = 61^\circ$ ,  $\psi = 239^\circ$ , в антипараллельной  $\phi = 380^\circ$ ,  $\psi = 325^\circ$ .

$\beta$ -форма может реализоваться и в отдельной полипептидной цепи в результате ее систематических изгибов. Схематическое изображение такой *кросс  $\beta$ -формы* показано на рис. 4.5. Очевидно, что в местах изгибов углы внутреннего вращения имеют значения, отличные от углов, свойственных упорядоченным участкам.

Существенная особенность полипептидной цепи состоит в стабилизации выделенной конформации в растворе водородными связями. Как уже сказано, отбор одного ротамера обычной мак-

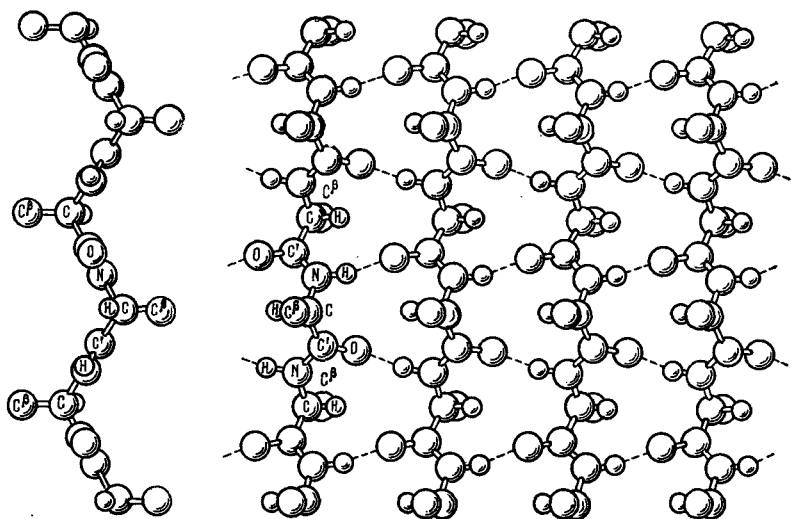


Рис. 4.2. Схематическое изображение параллельной  $\beta$ -формы.  
Слева — схема отдельной цепи.

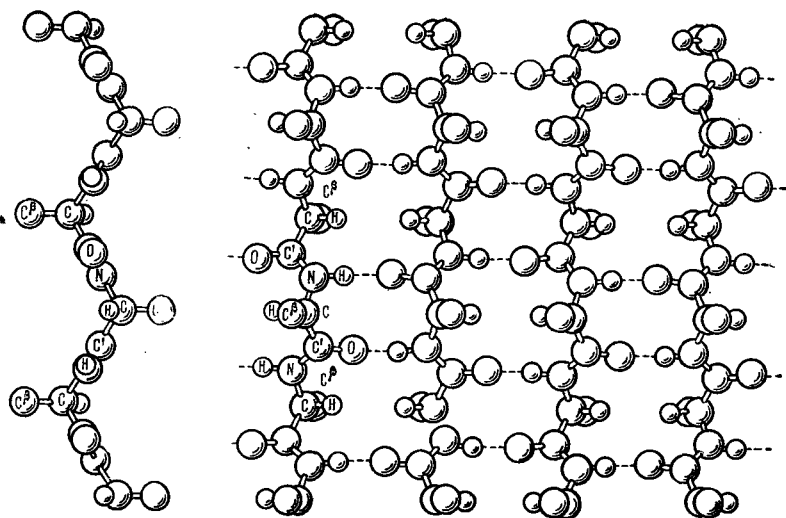
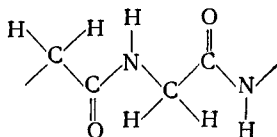


Рис. 4.3. Схематическое изображение антипараллельной  $\beta$ -формы.  
Слева — схема отдельной цепи.

ромолекулы происходит в кристаллическом полимере, содержащем множество макромолекул (см. стр. 125). В этом смысле  $\alpha$ -спираль и кросс  $\beta$ -форма подобны кристаллам — соответственно одномерному и двумерному.

$\alpha$ - и  $\beta$ -формы — важнейшие, но не единственные конформации полипептидных цепей. Полиаминокислота полиглицин



образует либо  $\beta$ -форму, либо форму II, в которой все полипептидные цепи параллельны друг другу и каждая из них обладает

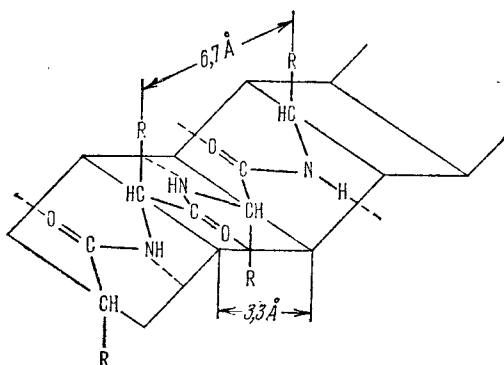


Рис. 4.4. Общая структура полипептидной цепи в  $\beta$ -форме.

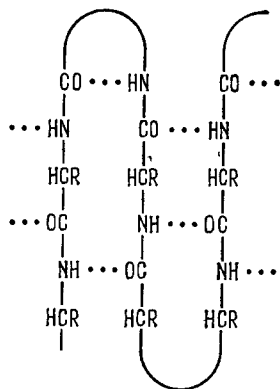


Рис. 4.5. Схематическое изображение кросс  $\beta$ -формы.

винтовой осью третьего порядка. Переход от одной пептидной единицы к соседней осуществляется продольными перемещением на 3,1 Å и поворотом вокруг оси спирали на  $120^\circ$ . Цепи уложены в гексагональную структуру, каждая цепь соединена с шестью соседними водородными связями. Эти особенности структуры были установлены Криком и Ричем методом рентгенографии [7]. Строение кристаллического полиглицина II показано на рис. 4.6 [7, 8]. Такой структуре отвечают углы  $\phi = 100^\circ$  и  $\psi = 330^\circ$ . Особое строение полиглицина определяется тем, что глицил, в отличие от всех остальных аминокислотных остатков, не содержит объемистых радикалов R.

С другими специфическими конформациями полипептидных цепей приходится встречаться при исследовании фибриллярных (волокнистых) белков (см. ниже § 4.11).

Конформацию белковой цепи как целого или некоторого ее участка принято называть *вторичной структурой*.

Рассмотрим зависимости энергии полипептидной цепи от углов внутреннего вращения  $\phi$  и  $\psi$ , образующие так называемые *стерические карты* [2, 4, 9].

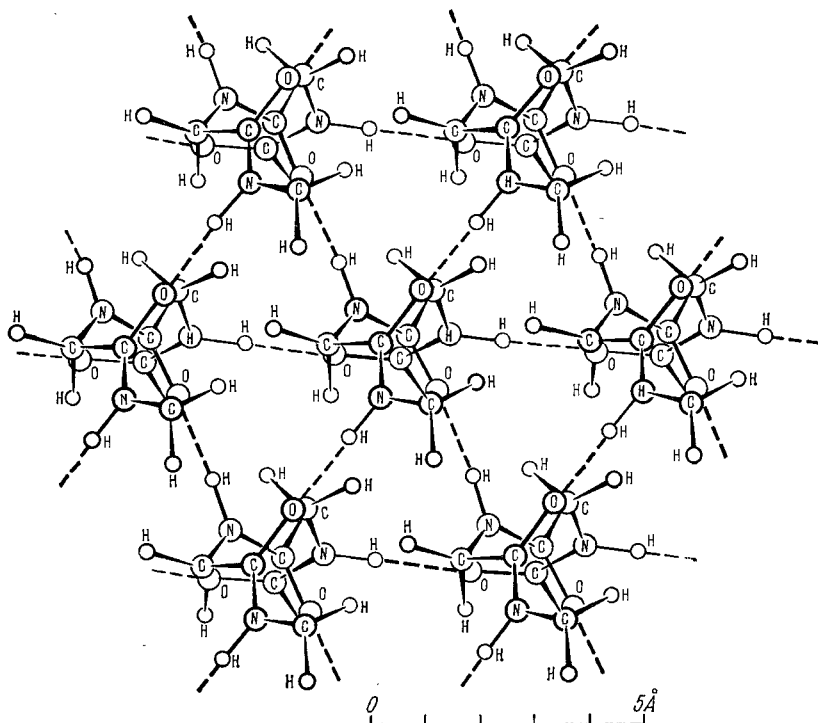


Рис. 4.6. Кристаллическая структура полиглицина II.

Конформационная энергия цепи определяется взаимодействием химически несвязанных атомов. Особенность полипептидной цепи, обуславливаемая плоским строением пептидной группы, состоит в том, что углы поворота  $\phi_i$ ,  $\psi_i$  данного  $i$ -го звена практически не зависят от значений углов  $\phi_{i-1}$ ,  $\psi_{i-1}$  соседнего звена (пептидной группы) [2, 10]. Если углы  $\phi_i$ ,  $\psi_i$  варьируют в области значений, не запрещенных стерическим перекрыванием атомов пептидных групп, соединенных связями  $i$ -го и  $(i+1)$ -го звена, и если одновременно варьируют углы  $\phi_{i+1}$ ,  $\psi_{i+1}$ , то не существует такой комбинации этих четырех углов, при которой возможно стерическое взаимодействие  $i$ -го звена с  $(i+2)$ -м. В этом смысле полипептидная цепь имеет ограниченную

кооперативность и ближние взаимодействия в ней ограничены ближайшими соседями, что позволяет рассматривать порознь конформационные энергии для отдельных аминокислотных остатков [2]. Очевидно, что стерическая карта для данного остатка существенно зависит от природы входящего в него радикала R. Таким образом, можно считать, что взаимодействия в данной паре пептидных групп характерны для аминокислотного остатка, соединяющего эти группы. Соответствующие расчеты были впервые проведены Рамачандраном с сотрудниками [11]; в этой работе исследовался дипептид глицил-L-аланин. Иными словами, индийские ученые получили конформационную (стерическую) карту для аланина. Расчет проводился на основе простейшего предположения об атомах как о твердых сферах, характеризующихся ван-дер-ваальсовыми радиусами, которые находили из данных по межатомным расстояниям в молекулярных кристаллах. В табл. 4.2 приведены нормальные расстояния между контактирующими атомами, чаще всего наблюдаемые в кристаллах, и минимальные расстояния, наблюдаемые лишь в немногих случаях.

Таблица 4.2 [2]

Контактные расстояния  
между атомами в полипептидах

Пара атомов	Обычное расстояние, Å	Минимальное расстояние, Å	Пара атомов	Обычное расстояние, Å	Минимальное расстояние, Å
C...C	3,2	3,0	O...N	2,7	2,6
C...O	2,8	2,7	O...H	2,4	2,2
C...N	2,9	2,8	N...N	2,7	2,6
C...H	2,4	2,2	N...H	2,4	2,2
O...O	2,8	2,7	H...H	2,0	1,9

Рассматривая потенциал твердых сфер, можно, очевидно, получить только разрешенные и запрещенные области значений  $\phi$  и  $\psi$ . На рис. 4.7 показаны результаты расчетов, проведенных в работе [11]. Сплошными линиями обведены области, разрешенные при обычных межатомных расстояниях, пунктирными — при минимальных расстояниях, приведенных во втором столбце табл. 4.2. На карте показаны конформации правой и левой  $\alpha$ -спиралей ( $\alpha_R$  и  $\alpha_L$ ), параллельной и антипараллельной  $\beta$ -форм ( $\beta_p$  и  $\beta_a$ ) полиглицина II и коллагена (K). Аналогичные карты были получены для ряда других аминокислотных остатков [4, 12, 13]. Естественно, что с увеличением размера радикала R область разрешенных значений углов  $\phi$ ,  $\psi$  уменьшается.

Расчеты конформационных энергий проводятся с использованием более точных выражений для потенциалов. Потенциал складывается из эффекта скрещенных связей и эффекта ориентации (см. стр. 123). В общем виде он может быть записан в виде

$$U(\phi, \psi) = \frac{1}{2}U_{\phi}^0(1 - 3 \cos \phi) + \frac{1}{2}U_{\psi}^0(1 - 3 \cos \psi) + \sum_{i,k} U(r_{ik}) + U_C. \quad (4,1)$$

Потенциал  $U(r_{ik})$  записывается либо в форме (3,10) (см. стр. 124), либо по Леннард-Джонсу

$$U(r_{ik}) = \frac{d_{ik}}{r_{ik}^{12}} - \frac{e_{ik}}{r_{ik}^6}, \quad (4,2)$$

где  $d_{ik}$  и  $e_{ik}$  — соответствующие константы для пары атомов  $i, k$ .  $U_C$  характеризует кулоновское, электростатическое взаимодействие между соседними парами пептидных групп, определяемое

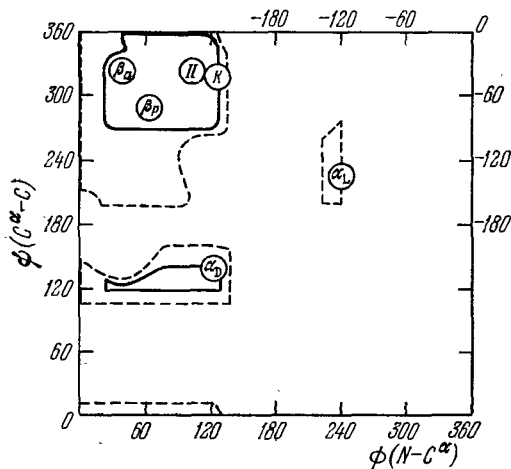


Рис. 4.7. Стерическая карта для L-аланина (объяснение в тексте).

их большими дипольными моментами, достигающими 3,7 дебая (см. стр. 190).

Барьеры внутреннего вращения  $U_{\phi}^0$  и  $U_{\psi}^0$  находят из данных, полученных при исследовании модельных низкомолекулярных соединений. По-видимому,  $0,48 < U_{\psi}^0 < 1,3$  ккал/моль (0,48 — значение барьера для  $\text{CH}_3\text{—CO—OH}$ , 1,3 — для  $\text{CH}_3\text{—CO—Cl}$ ). По оценке Скотта и Шераги [14]  $U_{\psi}^0$  даже меньше 0,2 ккал/моль, а по данным Брандта и Флори [10] — меньше 1,5 ккал/моль. Так или иначе барьеры  $U_{\phi}^0$  и  $U_{\psi}^0$  малы, заметно меньше, чем для углеводородов (стр. 123).



Притяжение несвязанных атомов, дающее отрицательный вклад в энергию  $U(r_{ik})$ , определяется ван-дер-ваальсовыми дисперсионными силами (см. § 4.3). Коэффициенты  $e_{ik}$  в (4,2) и соответствующие им коэффициенты  $K'$  в уравнении (3,10) (см. стр. 124) определяются поляризуемостями атомов и числами их внешних электронов [4]. В табл. 4.3 приведены константы, входящие в выражение для  $U(r_{ik})$  (см. (4,2)).

Таблица 4.3 [4]

Константы потенциала Леннард-Джонса

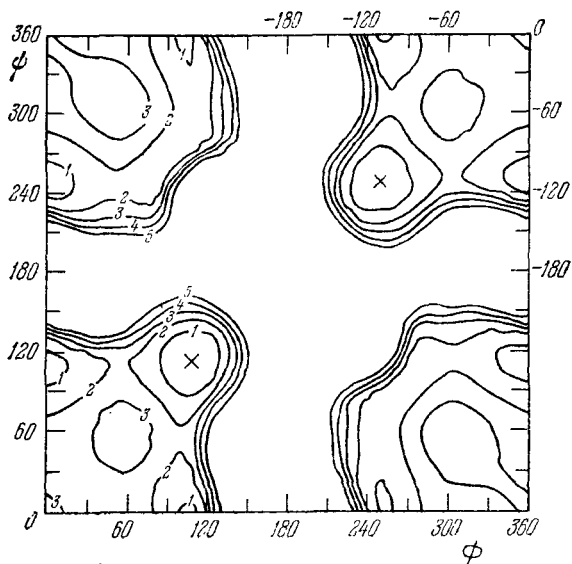
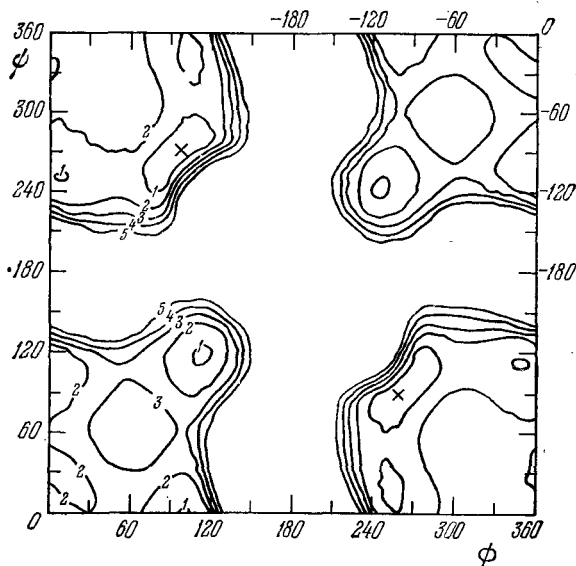
Атомы	$e_{ik}$ , ккал/моль·Å	$r_{ik}$ (минимум), Å	$10^{-3} d_{ik}$ , ккал/моль·Å <sup>12</sup>
H...H	47	2,40	4,5
C...C	370	3,40	286
N...N	363	3,10	161
O...O	367	3,04	145
C...O	367	3,22	205
C...N	366	3,25	216
C...H	128	2,90	38
N...O	365	3,07	153
H...O	124	2,72	25
H...N	125	2,75	27

Расчет энергии электростатического взаимодействия  $U_C$  затруднен тем, что неизвестно значение диэлектрической проницаемости  $\epsilon$ , фигурирующей в законе Кулона

$$U_C = \sum_{i, k} \frac{q_i q_k}{\epsilon r_{ik}}, \quad (4,3)$$

где  $q_i, q_k$  — заряды на  $i$ -х и  $k$ -х атомах. Если между взаимодействующими атомами нет других атомов цепи или молекул растворителя, то  $\epsilon$  определяется поляризуемостями взаимодействующих атомов и реактивным полем окружающей среды. На таких расстояниях  $\epsilon \approx 3,5$  [10]. Расчеты  $U_C$  были проведены с использованием парциальных зарядов атомов, подобранных таким образом, чтобы дать правильные значения дипольных моментов связей и пептидной группы в целом [15]. Поланд и Шерага прибегли для этой же цели к значениям  $\sigma$ - и  $\pi$ -электронных зарядов атомов, вычисленным методом молекулярных орбит (см. стр. 110) [16].

Для атомов O и N, соединенных водородной связью, можно воспользоваться полуэмпирической функцией  $U_{в.с} = U_{ik} + U_C$ , которая определяется значениями энергии водородной связи и равновесными расстояниями O...H—N [4, 15, 16].

Рис. 4.8. Стерическая карта для глицила, полученная без учета  $U_C$ .Рис. 4.9. Стерическая карта для глицила, полученная с учетом  $U_C$ .

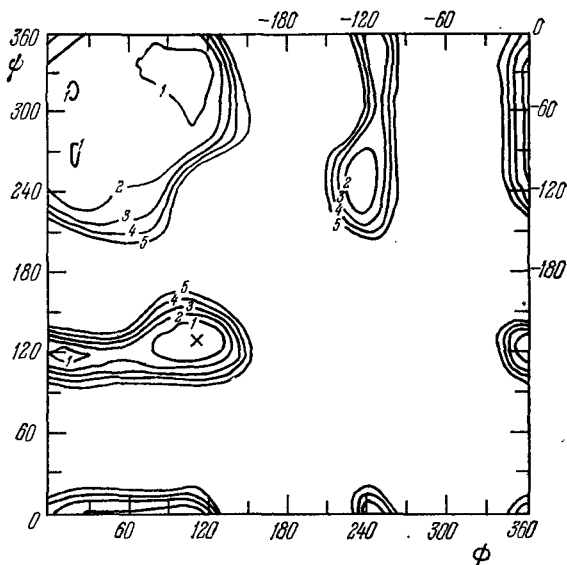


Рис. 4.10. Стерическая карта для аланина, полученная без учета  $U_C$ .

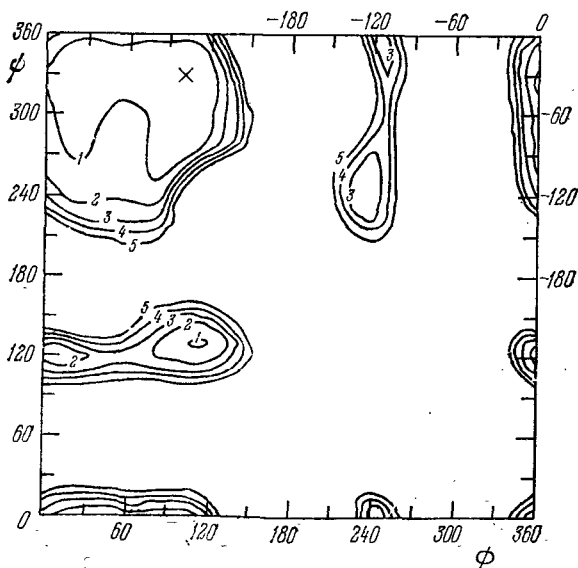


Рис. 4.11. Стерическая карта для аланила, полученная с учетом  $U_C$ .

Выражение (4,1) не учитывает искажений длин связей и валентных углов, определяемых силовыми постоянными, найденными из частот колебательных спектров. Искажения эти, по-видимому, малы; их расчет пока еще не проводился.

Выражение (4,1) относится к изолированной полипептидной цепи. В водном растворе она окружена сольватной оболочкой и, рассматривая взаимодействие несвязанных атомов, следует учитывать изменение свободной энергии молекул воды, удаляемых из этой оболочки при возникновении контакта между атомами. Такое изменение значительно в случае полярных, и в особенности, заряженных атомов и групп [4, 17]. В сущности при нахождении стабильных конформаций следует минимизировать сумму внутримолекулярной потенциальной энергии и свободной энергии растворителя [18].

Расчеты для ряда полипептидных цепей и для таких полипептидов, как грамицидин-*S*, окситоцин, вазопрессин и др., проводились на ЭВМ Шерагой с сотрудниками и Флори с сотрудниками.

На рис. 4.8—4.11 показаны стерические карты, полученные Флори с сотрудниками [2, 19] без учета и с учетом  $U_c$  для глицила и аланила (цифры у кривых указывают значения соответствующих энергий в *ккал/моль*). Проведены «геодезические» линии, отвечающие энергиям от 1 до 5 *ккал/моль*. Линии, соответствующие большим энергиям, не показаны. Крестиками отмечены самые низкие значения энергии. Учет электростатического вклада несколько изменяет расположение этих минимумов, но в целом сказывается на виде карты не очень сильно. Поучительно сравнение карт на рис. 4.10 и 4.11 с картой разрешенных областей значений  $\phi$  и  $\psi$  для аланила (см. рис. 4.7).

Более строгие расчеты индийских авторов, использующие потенциалы, в принципе не отличающиеся от атом — атом потенциалов Китайгородского (см. стр. 124), привели к результатам, близким к приведенным [20].

### § 4.3. ВАН-ДЕР-ВААЛЬСОВЫ СИЛЫ

Функционирование вещества в обычной химии определяется прежде всего сильными взаимодействиями — химическими валентными связями. Напротив, взаимодействия, ответственные за передачу и рецепцию химических сигналов в биологических системах, — преимущественно слабые, невалентные взаимодействия. Это связано с рядом факторов. Клетка, организм существуют в мягких условиях физиологической температуры и нормального давления. Биохимические процессы реализуют тонкую перестройку химических связей, зачастую не сопровождаемую значительными изменениями свободной энергии, но суммарный