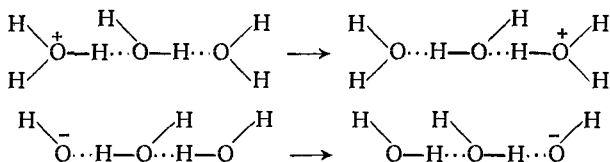


потенциалом, описывающим образование водородных связей. Получена модель, удовлетворительно воспроизводящая ряд свойств жидкости и примечательная своим отличием от льдоподобной структуры.

В работе [174] термодинамические свойства воды вычислялись с помощью метода Монте-Карло на основе атом-атом потенциалов Китайгородского. Для водородной связи применялся потенциал Морзе, энергия водородной связи принималась равной 5,5 ккал/моль. Расчеты термодинамических функций, проведенные для температур 300, 320 и 350 ° К, дали разумное согласие вычисленных и измеренных значений внутренней энергии, теплоемкости и свободной энергии. Метод дает возможность найти расположение и ориентацию молекул H_2O в жидкости.

Остановимся в заключение на электрических свойствах воды. Большая величина ее диэлектрической проницаемости объясняется не только полярностью отдельных молекул, но и корреляциями их взаимной ориентации [53], т. е. наличием водородных связей. Малая электропроводность воды, по-видимому, определяется присутствием ничтожного числа ($2 \cdot 10^{-9}$) сильно гидратированных ионов H^+ и OH^- (H_3O^+ и др.). Исследование подвижности ионов H^+ и OH^- показало, что для них она существенно больше, чем для других одновалентных ионов в воде. Для H^+ $u_+ = 3,62 \cdot 10^{-3}$, для OH^- $u_- = 1,98 \cdot 10^{-3} \text{ см}^2 \cdot \text{в}^{-1} \cdot \text{сек}^{-1}$, тогда как для Na^+ $u_+ = 0,53 \cdot 10^{-3}$ и для Cl^- $u_- = 0,79 \cdot 10^{-3} \text{ см}^2 \cdot \text{в}^{-1} \cdot \text{сек}^{-1}$. Это можно объяснить способностью водородных связей облегчать быстрый перенос протонов по цепи молекул воды

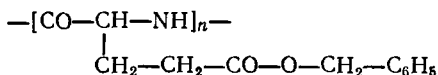


Подвижность ионов H^+ и OH^- во льде больше, так как в нем водородные связи более упорядочены [41, 44, 54].

§ 4.5. ПЕРЕХОДЫ СПИРАЛЬ — КЛУБОК

Регулярные конформации полипептидных цепей, стабилизированные водородными связями (прежде всего, α - и β -формы), устойчивы лишь в определенных условиях. Изменение температуры, растворителя, pH среды приводит к переходам порядок — беспорядок, к превращению регулярной конформации цепи в статистический клубок. Эти процессы удобнее всего изучать в модельных системах — синтетических полиаминокислотах.

Многие полиаминокислоты, в частности полиглутаминовая кислота (ПГК) и ее производное — поли-γ-бензилглутамат (ПБГ)



фигурируют в растворах в форме α-спиралей, что доказывается всей совокупностью их гидродинамических и оптических свойств. Доти установил, что *переходы спираль — клубок* весьма резки [55, 56]. На рис. 4.16 показана зависимость степени ионизации, характеристической вязкости [η] и удельной вращающей способности [α] ПГК от рН среды. В области вблизи рН 6 происходит резкое падение вязкости и удельного вращения.

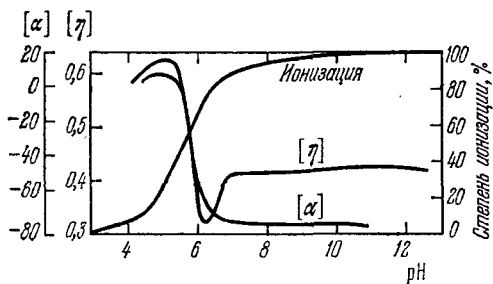


Рис. 4.16. Графики зависимости степени ионизации, [η] и [α] от рН среды в переходе спираль — клубок в ПГК.

В отличие от ПГК, ПБГ растворяется в органических растворителях. В дихлорэтано, хлороформе, формамиде ПБГ существует в виде жестких палочек — α-спиралей. Это доказано методами светорассеяния и вискозиметрии, а также непосредственно методом электронной микроскопии. Напротив, в растворителях, дающих с ПБГ водородные связи (например, в трихлоруксусной и трифторуксусной кислотах), макромолекулы ПБГ находятся в состоянии статистического клубка. Такие растворы характеризуются малой вязкостью и малым двойным лучепреломлением в потоке. При постепенном изменении состава растворителя (бинарной смеси) в некоторой узкой области наступает резкий переход спираль — клубок (рис. 4.17). Резкость перехода свидетельствует о его кооперативном характере. В этом смысле переход спираль — клубок подобен плавлению кристалла, в данном случае одномерного. Причина кооперативности непосредственно очевидна из рассмотрения структуры α-спираль. Конформация пептидных единиц цепи взаимозависима, так как водородная связь между группой С=О *i*-й единицы и группой N—H (*i*—4)-й единицы накладывает жесткие ограничения на конформации (*i*—1)-, (*i*—2)- и (*i*—3)-й единиц. Для освобождения данной пептидной единицы, означающего выигрыш энтропии, необходимо одновременно разорвать не менее трех водородных связей кряду, что требует соответствующей затраты

энергии. Поэтому пептидные единицы могут освобождаться только кооперативно.

Теория перехода спираль — клубок строится на основе модели Изинга (см. стр. 40, 137). Задача, очевидно, состоит в нахождении статистической суммы для α -спирали. Эта задача решалась в ряде работ [57—61]. Наиболее простое и ясное построение теории содержится в работе Зимма и Брегга [57] (см. также [62, 63]).

Каждое пептидное звено может находиться в свободном и закрепленном водородной связью состоянии. Приписем первому (свободному) состоянию i -го звена символ $\mu_i = 0$, второму (связанному) — символ $\mu_i = 1$. Свободная энергия цепи зависит от значений μ_i , причем непосредственно взаимозависимы конформации четырех последовательных звеньев. Поэтому свободная энергия цепи равна

$$F(\mu_1, \mu_2, \dots, \mu_N) = \sum_{i=1}^N \tilde{F}(\mu_{i-3}, \mu_{i-2}, \mu_{i-1}, \mu_i). \quad (4,29)$$

Как и ранее (см. стр. 138), считаем цепь весьма длинной, $N \gg 1$, и пренебрегаем концевыми эффектами. Очевидно, что свободная энергия свободного звена не зависит от состояний предшествующих звеньев, т. е.

$$F_{\text{своб}} \equiv \tilde{F}(\mu_{i-3}, \mu_{i-2}, \mu_{i-1}, 0). \quad (4,30)$$

Свободная энергия связанного звена зависит от состояний предшествующих звеньев. Свободная энергия связанного звена, следующего за связанным, равна

$$F_{\text{связ}} \equiv \tilde{F}(\mu_{i-3}, \mu_{i-2}, 1, 1). \quad (4,31)$$

$F_{\text{связ}}$ не зависит от состояний $(i-3)$ -го и $(i-2)$ -го звеньев, так как ограничения, накладываемые связанным $(i-1)$ -м звеном на эти звенья, учтены тем, что $\mu_{i-1} = 1$.

Таким образом, изменение свободной энергии цепи при увеличении числа связанных звеньев на единицу за счет соседнего несвязанного равно

$$\Delta F = F_{\text{связ}} - F_{\text{своб}} = \tilde{F}(\mu_{i-3}, \mu_{i-2}, 1, 1) - \tilde{F}(\mu_{i-3}, \mu_{i-2}, 1, 0). \quad (4,32)$$

Если связанное звено появляется после трех свободных, то для этого нужна дополнительная энергия сверх ΔF . Связывание

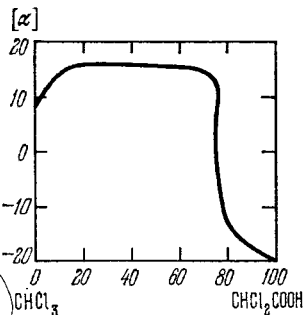


Рис. 4.17. Оптическая активность ПБГ как функция состава растворителя.

звена означает инициирование спирали, и оно одновременно накладывает ограничения на четыре звена. Имеем

$$\tilde{F}(0, 0, 0, 1) = F_{\text{связ}} + F_{\text{иниц}}. \quad (4,33)$$

$F_{\text{иниц}}$ определяется уменьшением энтропии связываемых пептидных групп. Если принять, что при вращении свободного звена около каждой связи возможно возникновение трех поворотных изомеров, то

$$F_{\text{иниц}} = 4RT \ln 3 \approx 2,5 \text{ ккал/моль},$$

т. е. получается величина, значительно превосходящая RT .

Очевидно, что свободная энергия, требуемая для освобождения одного или двух звеньев, заключенных между связанными звеньями, должна быть весьма велика, так как на самом деле освобождения в этом случае не происходит, звенья остаются в спирали. Энергия, затрачиваемая на разрыв водородных связей, не компенсируется повышением энтропии, и поэтому можно положить

$$\tilde{F}(\mu_{i-3}, 1, 0, 1) \rightarrow \infty, \quad \tilde{F}(1, 0, 0, 1) \rightarrow \infty. \quad (4,34)$$

Располагая этими значениями \tilde{F} , можно написать выражение для статистической суммы Z . Вклад данного состояния цепи в Z содержит следующие множители:

1) Множитель 1 для каждой единицы в свободном состоянии ($\mu_i = 0$). Иными словами, ее свободная энергия принята за нуль

$$\exp(-F_{\text{своб}}/kT) = 1.$$

2) Множитель

$$s = \exp(-\Delta F/kT) \quad (4,35)$$

для звена в связанном состоянии ($\mu_i = 1$). Величина s имеет смысл константы равновесия для реакции образования водородной связи в звене, следующем за связанным.

3) Множитель

$$\sigma = \exp(-F_{\text{иниц}}/kT) \quad (4,36)$$

для каждого связанного звена, следующего за тремя и более свободными. Величина σ есть константа равновесия для реакции образования одного разрыва в последовательности водородных связей. Если $F_{\text{иниц}} \approx 2,5 \text{ ккал/моль}$, то $\sigma \sim 10^{-2}$. Очевидно, что именно σ играет роль параметра кооперативности.

4) В соответствии с (4,34) множитель 0 для каждого связанного звена, следующего за несвязанным, если число последних меньше трех.

Итак,

$$Z = \sum_{\{\mu_i\}} \exp\left(-\frac{F\{\mu_i\}}{kT}\right) = \sum_{\{\mu_i\}} \prod_{i=1}^N s^{\mu_i} \sigma^{\mu_i(1-\mu_{i-1})} [1 - \delta_{\mu_i, 1} \delta_{\mu_{i-1}, 0} (1 - \delta_{\mu_{i-2}, 0} \delta_{\mu_{i-3}, 0})], \quad (4,37)$$

где δ — символ Кронекера. Суммирование производится по всем наборам $\{\mu_i\}$.

Как мы видели (см. стр. 138), Z , выраженное в виде суммы произведений, можно представить как след некоторой матрицы, взятой в степени N . В рассматриваемом случае матрица имеет ранг 3, так как нужно учесть состояние трех последовательных звеньев, каждое из которых может быть в двух разных состояниях (μ_i равно 0 или 1). Зимм и Брегг провели полный анализ этой задачи и показали, что практически те же результаты можно получить, сильно ее упростив. Если ограничиться рассмотрением состояний всего лишь двух последовательных звеньев, то ранг матрицы уменьшится до двух. Между тем связь состояний i -го, $(i-2)$ -го и $(i-3)$ -го звеньев дается лишь условиями (4,34). Если отвлечься от этих условий, то

$$F(\mu_1, \mu_2, \dots, \mu_N) = \sum_{i=1}^N \tilde{F}(\mu_{i-1}, \mu_i) \quad (4,38)$$

и

$$F_{\text{своб}} = \tilde{F}(\mu_{i-1}, 0), \quad (4,39)$$

$$F_{\text{связ}} = \tilde{F}(1, 1), \quad (4,40)$$

$$F_{\text{связ}} + F_{\text{иннц}} = \tilde{F}(0, 1). \quad (4,41)$$

Считая свободную энергию несвязанного звена нулевой, получаем статистическую сумму, учитывая, что каждое связанное звено вносит в нее множитель s , свободное — множитель единицу, а первое из связанных звеньев, следующее за одним или большим числом свободных, — множитель σ . Имеем

$$Z = \sum_{\{\mu_i\}} \prod_{i=1}^N s^{\mu_i} \sigma^{\mu_i(1-\mu_{i-1})} = \text{Sp}(\mathbf{P}^N). \quad (4,42)$$

Матрица \mathbf{P} имеет вид

$$\mathbf{P} = \begin{array}{c|cc} & \mu_i & \\ \hline \mu_{i-1} & \begin{array}{cc} 0 & 1 \end{array} \\ \hline & \begin{pmatrix} 1 & \sigma s \\ 1 & s \end{pmatrix} \end{array}. \quad (4,43)$$

Ее характеристическое уравнение

$$(\lambda - 1)(\lambda - s) = \sigma s, \quad (4,44)$$

где λ — собственное значение (корень) матрицы.

Рассмотрим два крайних случая: полной кооперативности и полного ее отсутствия. Кооперативность максимальна, когда $F_{\text{иниц}} \rightarrow \infty$, т. е. при $\sigma = 0$. В этом случае имеем два корня $\lambda = 1$ и $\lambda = s$. Статистическая сумма равна

$$Z = 1 + s^N \quad (4,45)$$

и при $N \gg 1$

$$Z = \begin{cases} s^N, & s > 1, \\ 1, & s < 1. \end{cases} \quad (4,46)$$

Значение Z резко меняется при $s = 1$ — происходит кооперативный переход спираль — клубок. Доля связанных пептидных групп равна

$$\theta = \frac{1}{N} \frac{\partial \ln Z}{\partial \ln s} = \frac{s^N}{1 + s^N} \quad (4,47)$$

и при $N \gg 1$

$$\theta \approx \begin{cases} 1, & s > 1, \\ 0, & s < 1. \end{cases} \quad (4,48)$$

Кооперативный переход происходит по принципу «все или ничего» в точке $s = 1$. Если σ мало, но отлично от нуля, то решение (4,44) также дает переход, но уже не в одной точке, а в некотором интервале значений s , который тем уже, чем меньше σ . Тем самым, имеется некоторая область сосуществования спиральных и неупорядоченных участков цепи — принцип «все или ничего» здесь не работает.

Если кооперативности нет, $F_{\text{иниц}} = 0$ и $\sigma = 1$. Корни уравнения (4,44) при этом равны $1 + s$ и 0 . Статистическая сумма равна

$$Z = (1 + s)^N, \quad (4,49)$$

т. е. представляет собой просто произведение статистических сумм отдельных единиц; иными словами, разрыв и образование водородных связей в каждой единице происходят независимо. Доля связанных пептидных групп равна

$$\theta = \frac{1}{N} \frac{\partial \ln Z}{\partial \ln s} = \frac{s}{1 + s}. \quad (4,50)$$

Зависимость θ от s в этом случае плавная — никакого резкого перехода нет. На рис. 4.18 показаны кривые $\theta(s)$ для $\sigma = 10^{-4}$, $\sigma = 10^{-2}$ и $\sigma = 1$. Очевидно, что зависимость θ от s означает, согласно (4,35), зависимость θ от температуры. Температуру пе-

перехода спираль — клубок можно назвать температурой плавления спирали. Плавлению спирали соответствует $s = 1$, т. е.

$$\Delta H - T_{пл} \Delta S = 0. \quad (4,51)$$

Здесь ΔH — разность энтальпий клубка и спирали, т. е. теплота перехода. Расчет показывает, что интервал температур перехода при конечном, но малом значении σ дается условием [62]

$$\frac{\Delta T}{T_{пл}} = 2 \sqrt{\sigma} \frac{kT_{пл}}{|\Delta H|}. \quad (4,52)$$

Выражение (4,50), отвечающее некооперативному переходу, т. е. независимому изменению состояния отдельных пептидных единиц, при полной кооперативности заменяется выражением (4,47), описывающим кооперативное превращение всех N единиц. В промежуточных случаях, когда $0 < \sigma < 1$, приближенно имеем

$$\theta = \frac{s^n}{1 + s^n}, \quad (4,53)$$

где $1 < n < N$. Введем обозначение $s^n = \bar{s}$. Величина \bar{s} имеет смысл константы равновесия для мономолекулярной реакции, в которой участвует n единиц, т. е.

$$\bar{s} = \exp \left[- \frac{\Delta H_{эфф} - T \Delta S_{эфф}}{kT} \right], \quad (4,54)$$

где $\Delta H_{эфф}$ и $\Delta S_{эфф}$ — эффективные значения изменений энтальпии и энтропии, зависящие от n . Расчет показывает, что в области перехода $\Delta H_{эфф}$ не зависит от температуры и, следовательно, \bar{s} есть экспоненциальная функция от $1/kT$. Поскольку $\bar{s} = s^n$, можно положить

$$\Delta H_{эфф} = n \Delta h, \quad (4,55)$$

где Δh — изменение энтальпии при освобождении одного звена. Очевидно также, что n связано с параметром кооперативности σ : если $\sigma = 1$, то $n = 1$, если $\sigma = 0$, то $n = N$. Найдем эту связь.

Общее решение характеристического уравнения (4,44) имеет вид

$$\lambda_{1,2} = 1/2 (1 + s) \pm [1/4 (1 - s)^2 + \sigma]^{1/2}. \quad (4,56)$$

При $N \gg 1$ статистическая сумма выражается только через больший корень λ_1 (со знаком +)

$$Z \approx \lambda_1^N. \quad (4,57)$$

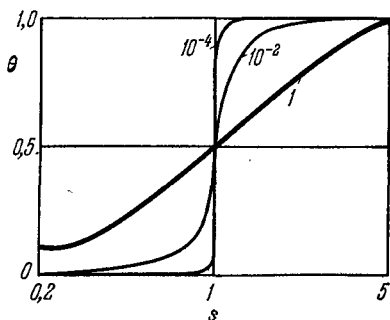


Рис. 4.18. Теоретические кривые $\theta(s)$ при разных значениях σ . Числа у кривых указывают величины σ .

Доля связанных единиц равна

$$\theta = \frac{1}{N} \frac{\partial \ln Z}{\partial \ln s} \approx \frac{\partial \ln \lambda_1}{\partial \ln s} = \frac{\lambda_1 - 1}{2\lambda_1 - 1 - s}, \quad (4,58)$$

приравняв это выражение $\theta = \tilde{s}/(1 + \tilde{s})$, получим

$$\tilde{s} = \frac{\lambda_1 - 1}{\lambda_1 - s}. \quad (4,59)$$

Разность энтальпий в силу (4,54) равна

$$\Delta H_{\text{эфф}} = - \frac{d \ln \tilde{s}}{d(1/kT)} = - \frac{d \ln s}{d(1/kT)} \frac{d \ln \tilde{s}}{d \ln s} = \Delta h \frac{d \ln \tilde{s}}{d \ln s}. \quad (4,60)$$

Расчет дает

$$\frac{d \ln \tilde{s}}{d \ln s} = \frac{s}{(\lambda_1 - 1)(\lambda_1 - s)} \frac{2(\lambda_1 - 1)(\lambda_1 - s) + \sigma(1 - s)}{2\lambda_1 - 1 - s} \quad (4,61)$$

и в области перехода, в которой $s \approx 1$,

$$\frac{d \ln \tilde{s}}{d \ln s} \approx \frac{2s}{2\lambda_1 - 1 - s} \approx \frac{1}{\sqrt{\sigma}}. \quad (4,62)$$

Следовательно,

$$\Delta H_{\text{эфф}} \approx \Delta h / \sqrt{\sigma}, \quad (4,63)$$

и число единиц, совместно совершающих переход, обратно пропорционально корню квадратному из параметра кооперативности

$$n \approx 1/\sqrt{\sigma}. \quad (4,64)$$

Величину $\Delta H_{\text{эфф}}$ можно найти по наклону кривой зависимости θ от $1/kT$ в области перехода. В самом деле, так как в этой области $\tilde{s} \approx 1$, то

$$\begin{aligned} \frac{d\theta}{d(1/kT)} &= - \frac{d\theta}{d \ln \tilde{s}} \Delta H_{\text{эфф}} = - \frac{\tilde{s}}{(1 + \tilde{s})^2} \Delta H_{\text{эфф}} \approx - 1/4 \Delta H_{\text{эфф}} = \\ &= - \frac{\Delta h}{4\sqrt{\sigma}}. \end{aligned} \quad (4,65)$$

Оптические методы исследования (см. гл. 5) позволяют непосредственно определять θ как функцию температуры и, тем самым, $\Delta h/\sqrt{\sigma}$. Для нахождения величин Δh и σ порознь необходимы другие данные. Их можно получить путем изучения зависимости $T_{\text{пл}}$ от степени полимеризации N . В работах [64, 65] была развита теория переходов в полипептидных цепях с конечными значениями N . При уменьшении N точка перехода смещается в сторону больших значений s , т. е. в сторону образования клубка. Одновременно расширяется интервал значений s (или T), отвечающих переходу. Конкретные зависимости θ от s при разных N дают искомые параметры Δh , σ , ΔS .

В работе [66] были получены кривые плавления для поли- γ -бензил-L-глутамата при $N = 1500, 46$ и 26 . Были найдены значения $\Delta h = 890 \pm 130$ кал/моль и $\sigma = 2 \cdot 10^{-4}$.

В табл. 4.9 приведены характеристики переходов для трех синтетических полипептидов.

Таблица 4.9
Характеристики переходов спираль — клубок в полипептидах [62]

	Поли- γ -бензил- L-глутамат	Поли-L-глутами- новая кислота, ионизованная на 67%	Поли-L-лизин, ионизованный на 20%
Растворитель	$\text{CHCl}_2\text{COOH} +$ $+1,2\text{-C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ (4:1)	0,2M NaCl в $\text{H}_2\text{O} +$ $+ \text{диоксан}$ (2:1), 25 °C	H_2O , 22 °C
N	1600	260	1500
$\Delta h/\sqrt{\sigma}$, ккал/моль	$+70 \pm 14$	$-50 \pm 0,5$	$-5,3 \pm 0,5$
Δh , ккал/моль	$+1000 \pm 200$	-70 ± 7	-75 ± 7
ΔS , ккал/моль·град	$+3,2 \pm 0,6$	$-0,23 \pm 0,02$	$-0,25 \pm 0,02$
σ	$2 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$

Мы видим, что величина Δh может быть как положительной, так и отрицательной. В первом случае спиральное состояние менее выгодно, чем клубкообразное: переход спираль — клубок происходит не при повышении, а при понижении температуры. Одновременное положительное значение ΔS , т. е. увеличение энтропии в спирали по сравнению с клубком, можно объяснить только уменьшением энтропии растворителя. Отрицательные значения Δh и ΔS в двух других случаях отвечают переходу спираль — клубок при повышении температуры и уменьшенной энтропии спирали по сравнению с клубком. Именно в этих случаях уместно говорить о плавлении спирали.

Теория перехода спираль — клубок, вызванного изменением растворителя или pH среды, а не повышением температуры, строится на тех же основах (см. [62]). Во втором случае необходимо учесть, что каждое пептидное звено может находиться уже не в двух, а в трех состояниях: без водородной связи, с внутримолекулярными водородными связями и с межмолекулярными водородными связями с молекулами растворителя. Межмолекулярное связывание мы вправе считать некооперативным, и тогда каждое несвязанное звено внутри молекулы вносит в Z множитель, равный не единице, а $1 + \exp(\Delta\mu/kT)$, где $\Delta\mu$ — разность химических потенциалов звена в состоянии с межмолекулярной водородной связью и в свободном состоянии, т. е. изменение свободной энергии звена при образовании водородной

связи [58, 61]. Соответственно условие перехода зависит от $\Delta\mu$. Резкость перехода по-прежнему зависит от σ . При увеличении концентрации специфически связываемых молекул растворителя $T_{пл}$ понижается. Если в отсутствие межмолекулярного взаимодействия температура плавления равна $T_{пл}^0$, то в присутствии активного растворителя [62]

$$T_{пл} = \frac{T_{пл}^0}{1 + (kT_{пл}^0 / |\Delta H|) \ln(1 + \exp(\Delta\mu/kT))}. \quad (4,66)$$

При $\Delta\mu \rightarrow -\infty$, т. е. когда состояние с межмолекулярной водородной связью практически не осуществляется, $T_{пл} = T_{пл}^0$. Чем больше $\Delta\mu$, тем меньше $T_{пл}$.

Полипептиды, построенные из ионизуемых аминокислотных остатков (например, полиглутаминовая кислота, полилизин), совершают переходы спираль — клубок при изменении рН. Переход можно обнаружить и изучить как упомянутыми выше методами оптики и гидродинамики, так и методом потенциометрического титрования, дающего степень ионизации (см. рис. 4.16). Теория перехода спираль — клубок в полипептидах с ионизуемыми группами развита в работах [61, 67]. Последняя работа по-прежнему основана на методе Изинга.

В цепи с ионизуемыми звеньями каждое звено следует характеризовать не только параметром $\mu_i = 0, 1$ соответственно для свободного и связанного звена, но и вторым параметром $\eta_i = 0, 1$ соответственно для незаряженной и заряженной ионизуемой группы. Статистическая сумма для цепи имеет вид

$$Z = \sum_{\{\mu_i\}} \exp(-F\{\mu_i\}/kT) \sum_{\{\eta_i\}} \prod_{i=1}^N a^{\eta_i} \exp(-F_{\{\mu_i\}}^{(e)}(\{\eta_i\})/kT), \quad (4,67)$$

где $F\{\mu_i\}$ — свободная энергия незаряженной цепи при данном наборе значений μ_i , $F_{\{\mu_i\}}^{(e)}(\{\eta_i\})$ — электрический вклад в свободную энергию, a — отношение активностей заряженного и незаряженного звеньев, связанное с рН среды уравнением

$$\lg a = \pm (\text{pH} - \text{pK}) \quad (4,68)$$

(ср. стр. 62). Знак плюс относится к кислотной, знак минус к основной группе. В сущности $F_{\{\mu_i\}}^{(e)}(\{\eta_i\})$ — свободная энергия электростатического взаимодействия заряженных групп при заданных наборах μ_i и η_i . Таким образом, в выражении для Z учтено взаимное отталкивание заряженных групп, естественно, зависящее от конформаций звеньев, т. е. от набора $\{\mu_i\}$. Расчет показывает, что в спиральной конформации цепи отталкивание сильнее, чем в клубкообразной. Следовательно, зарядка цепи

способствует переходу спираль — клубок. Нахождение статистической суммы по методу Изинга позволяет количественно определить понижение $T_{пл}$ при увеличении степени ионизации цепи α , а также найти кривую титрования полипептида (рис. 4.19), на которой отчетливо обнаруживается излом, соответствующий переходу спираль — клубок.

Если полипептидная цепь не гомогенна, но содержит и кислотные и основные группы, то деспирализация цепи может происходить и при кислотных и при щелочных рН. Рассмотрим простейшую модель сополимера, в котором на каждые три неионизируемые единицы приходится одна ионизируемая, причем кислотные и основные аминокислотные остатки (a и k) закономерно чередуются. Такой сополимер, очевидно, лучше моделирует белок, чем однородная полиаминокислота. Расчет статистической суммы для этой модели дает кривую зависимости степени спиральности θ от рН куполообразной формы [68]. При полной кооперативности, т. е. при $\sigma = 0$ купол превращается в прямоугольник, причем ось симметрии пересекает абсциссу в точке $pH = \frac{1}{2} (pK_a + pK_b)$. Ширина прямоугольника или соответственно колокола сильно зависит от s и, тем самым, от температуры.

Форма кривой $\theta(pH)$ различна для разных последовательностей кислотных и основных звеньев. В работе [68] рассмотрены различные модели цепей. Так, если полипептидная цепь содержит достаточно крупные блоки, состоящие из однотипных остатков, то кривая может быть не выпуклой, а вогнутой. Возможно и появление на такой кривой двух максимумов, расположенных вблизи рК соответствующих групп.

Теория, развитая в [68], объясняет зависимость степени спиральности мышечных белков от рН среды, изученную Лави [69]. Удалось установить корреляцию между формой кривых и относительным содержанием анионных и катионных остатков в тропмиозине и других мышечных белках.

Экспериментальное изучение зависимости удельного вращения (а отсюда и степени спиральности) поли-L-лизина, поли-L-глутаминовой кислоты и их сополимера от рН дало результаты, показанные на рис. 4.20 [70, 71]. Теоретические расчеты согласуются с этими данными [68]. Была рассчитана электростатическая энергия сополимера, причем было показано, что ее зависимость от рН определяется различием в электростатических

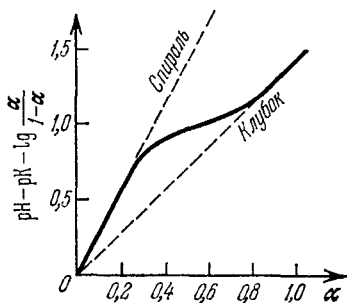


Рис. 4.19. Кривая титрования полипептида.

взаимодействиях зарядов на мономерах, возникающим из-за разницы в длине привесков.

Можно ли считать переходы спираль — клубок фазовыми переходами первого рода, подобными плавлению? Существует ли равновесие между двумя фазами в этих случаях?

Ландау и Лифшиц [72] доказали невозможность такого равновесия в одномерной системе. Свободная энергия двухфазной одномерной системы равна

$$F = N\theta F_1 + N(1 - \theta) F_2 + mkT \ln \frac{m}{eN} + m\psi, \quad (4,69)$$

где θ — доля первой фазы, F_1 и F_2 — свободные энергии звеньев в первой и во второй фазах. Логарифмический член выражает энтропию смешения m точек соприкосновения между фазами со звеньями цепи, ψ — энергия поверхностного натяжения в этих точках. Имеем

$$\frac{\partial F}{\partial m} = kT \ln \frac{m}{N} + \psi. \quad (4,70)$$

Так как $m < N$, то F уменьшается с ростом m , стремясь к минимуму при $\partial F / \partial m = 0$, т. е.

$$m = N \exp(-\psi/kT). \quad (4,71)$$

Обе фазы будут перемешиваться, пока не разделятся на малые конечные отрезки, удовлетворяющие условию (4,71). Значит, фазового равновесия в одномерной системе нет, невозможны и фазовые переходы.

Рис. 4.20. Зависимость удельного вращения от рН.

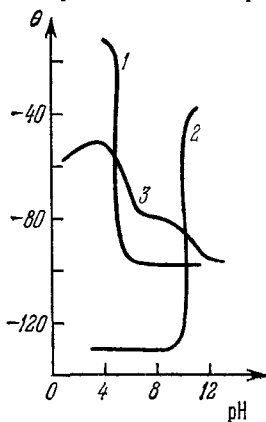
1 — поли-L-глутаминовая кислота, 2 — поли-L-лизин, 3 — их сополимер.

Переход спираль — клубок сходен с плавлением, но это не истинный фазовый переход. Вычисление средней доли пар звеньев, находящихся на стыке связанных и свободных участков, дает

$$\frac{m}{N} = \sqrt{\sigma} = \exp(-F_{\text{иниц}}/2kT). \quad (4,72)$$

Сравнение последних двух соотношений показывает, что $1/2 F_{\text{иниц}}$ играет роль энергии поверхностного натяжения. При конечном значении $F_{\text{иниц}}$, т. е. при $\sigma < 1$, переход не абсолютно резок. Фазовый переход получается только при $\sigma = 0$, т. е. при $F_{\text{иниц}} \rightarrow \infty$, что невозможно.

Переход β -форма — клубок имеет иной характер, так как β -форма двумерна. Теория таких переходов развита Бирштейн и др. [73] применительно к кросс β -форме полипептидной цепи.



Такая структура свойственна поли-S-карбобензоксиметил-L-цистеину [74]. В работе [73] вычислена статистическая сумма для плоской системы, состоящей из структурированных и неструктурированных участков. К первым относятся жесткие участки с ненасыщенными водородными связями («стержни») и участки, входящие в β -форму. Рассматривается ансамбль цепей различной длины с разными числами звеньев N . Статистическая сумма для такого обобщенного ансамбля имеет вид

$$Z(\mu) = \sum_{N=1}^{\infty} Z(N) \exp(-\mu N/kT), \quad (4,73)$$

где μ — химический потенциал звена. Для достаточно больших N

$$Z(N) = \exp(-F/kT) \equiv \exp(\mu_0 N/kT), \quad (4,74)$$

Переход β -форма — клубок происходит при некотором критическом значении μ . Теория дает границы раздела между двумя фазами: клубка с примесью β -формы и регулярной β -формы, т. е. фазовую диаграмму. В зависимости от величины энергии контакта двух единиц, т. е. энергии водородной связи, происходит переход первого или второго рода. Более реалистичен первый случай.

Теория позволяет получить аналитические выражения для долей мономеров в структурированной и неструктурированной формах в зависимости от параметров системы и температуры [73]. Основной физический вывод из анализа переходов β -форма — клубок состоит в том, что в случае жестких цепей малого притяжения достаточно для скачкообразного изменения характеристик системы (переход первого рода). Это согласуется с теорией кристаллизации жестких полимерных цепей Флори [75]. Недавно было показано также, что для жестких цепей образование компактных структур на кубической решетке происходит по принципу «все или ничего» [76].

Таким образом, слабые взаимодействия в моделирующих блоках полипептидных системах приводят к их резко выраженному кооперативному поведению, к наличию переходов, подобных фазовым. Дальнейшие подробности, относящиеся к теории и экспериментальным исследованиям этих переходов, см. в монографиях [62, 63].

§ 4.6. БЕЛКОВАЯ ГЛОБУЛА И ГИДРОФОБНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

Вторичные структуры — α -спирали и β -формы реализуются в чистом виде у полиаминокислот, не являющихся информационными макромолекулами. Соответственно эти структуры имеют монотонное периодическое строение.