

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.

α -спирали и β -формы представляют собой элементы пространственной структуры белковой молекулы, которые могут присутствовать в части белковой цепи. Биологически функциональна пространственная структура белка, в большинстве случаев глобулярная. Еще недавно было принято называть такую структуру *третичной*. Таким образом, строилась иерархия структур — первичная, вторичная, третичная и, наконец, *четвертичная* — агрегация некоторого числа глобул в молекулярную или надмолекулярную систему (в качестве примеров укажем на гемоглобин, молекула которого содержит четыре глобулы, и белок вируса табачной мозаики, состоящий из 2000 идентичных глобулярных частиц).

В действительности же не имеет смысла разделять вторичную и третичную структуру белка — мы имеем дело с единственной пространственной структурой, содержащей те или иные регулярные участки и неупорядоченные звенья. Сказанное не отвергает иерархического принципа в биологии. Иерархия структур возникает в любых системах, строящихся из большого числа однотипных элементов при наличии взаимодействий между ними. Проблема биологической иерархии была рассмотрена Берналом [77].

Можно сформулировать два исходных принципа биологической иерархии. Во-первых, в клетке синтезируется множество тождественных макромолекул. Во-вторых, вероятность образования структур высшей сложности из ее элементов возрастает, а число возможных путей формирования такой структуры убывает, если изучаемые структуры можно представить в виде конечного ряда субструктур, последовательно включенных одни в другие. Иерархия свойственна, например, Космосу — звезды образуют галактики, галактики входят в метagalaktiku и т. д. В биофизике мы имеем дело с атомами, входящими в пептид, с пептидами, образующими белковую цепь, с белковыми глобулами, образующими четвертичные структуры, и т. д.

Характер структур на каждом уровне организации определяется геометрическими свойствами структур предыдущего уровня и силами, действующими между их элементами. Возникновение высшей структуры происходит «автоматически» в результате *самосборки*, принципы которой еще далеко не ясны. Решение проблемы самосборки означало бы, например, возможность предсказания макроскопической структуры мышцы по данным о химическом строении ее белков. Объяснение строения кристаллов, состоящих из малых молекул, на основе знания структуры этих молекул является решением проблемы самосборки в гораздо более простом случае (ср. [27]).

Нельзя, однако, считать третичную структуру белковой глобулы состоящей из вторичных структур — само формирование

упорядоченных участков белковой цепи связано с формированием пространственной структуры в целом.

В отличие от статистического клубка, белковая глобула является не рыхлым флуктуирующим образованием, но компактной, плотно упакованной регулярной системой — аperiodическим кристаллом. Плотная глобулярная структура белковой молекулы непосредственно доказывается малой вязкостью белков в растворе. Характеристическая вязкость $[\eta]$ (см. стр. 148) составляет для белков величину порядка сотых дециметра на 1 г (см., например, [78]). Определенный отсюда удельный объем много меньше, чем у обычных полимеров, образующих в растворе рыхлые клубки, и близок к удельному объему сухого белка. Это подтверждается всей совокупностью результатов исследования белков методами седиментации, диффузии, светорассеяния, рентгенографии, рассеяния рентгеновских лучей под малыми углами, электронной микроскопии и т. д.

Вследствие полифункциональности аминокислотных остатков в образовании глобулы участвуют разнообразные силы. Несомненно, что особенности белковой глобулы лишь частично отражаются моделью гомогенной цепи ввиду определяющего значения разнородности звеньев и взаимодействий.

Единственные сильные взаимодействия в белковой глобуле — это химические дисульфидные связи между остатками Цис (см. стр. 58). Наличие нескольких дисульфидных «сшивок» между звеньями одной цепи или нескольких цепей (например, инсулин, см. стр. 74) накладывает заметные ограничения на возможные конформации цепи. Однако нельзя было бы говорить о глобуле, если бы взаимодействия сводились к дисульфидным мостикам. В этом случае полипептидная цепь была бы подобна цепи каучука в резине, вулканизированной серой. Каучук в резине сохраняет свойства статистического клубка, несмотря на наличие ди- и полисульфидных мостиков.

Глобула формируется слабыми взаимодействиями — силами Ван-дер-Ваальса (см. § 4.3), водородными связями (см. § 4.4), электростатическим притяжением противоположно заряженных ионогенных групп (солевые связи). Особое значение имеют *гидрофобные взаимодействия*, рассматриваемые далее подробно. Сложная игра всех этих сил приводит к образованию плотной глобулы с устойчивой регулярной структурой в водном растворе при физиологических значениях pH и ионной силы. Для образования глобулы существенны как энергетические, так и энтропийные факторы. Если участки полипептидной цепи обладают достаточной жесткостью (например, α -спиральные участки), то образование элементов компактной структуры возможно и в отсутствие энергетических взаимодействий. Эта ситуация была рассмотрена Флори [75] применительно к взаимодействию цепей

в концентрированных растворах полимеров и к кристаллизации полимеров.

В концентрированном растворе полимерные цепи не могут существовать в различных конформациях независимо друг от друга. Возможны лишь такие конформации, в которых каждое из звеньев цепи занимает положение в пространстве, не занятое другими ее звеньями или звеньями соседних макромолекул.

Если z — число возможных конформаций каждого звена, то общее число конформаций отдельной цепи, содержащей N звеньев, равно z^N . Для n цепей, независимых друг от друга, число конформаций равно z^{Nn} . В растворе с объемной долей полимера v число конформаций каждой макромолекулы уменьшается в e^{-vN} раз [75], и общее число конформаций равно

$$\mathcal{Z} = (ze^{-v})^{Nn}. \quad (4,75)$$

В неразбавленном полимере $v = 1$. Если гибкость цепи, характеризуемая z , мала, так что $z \rightarrow e$, то $\mathcal{Z} \rightarrow 1$. Неупорядоченному состоянию отвечает $\mathcal{Z} > 1$. Значение $\mathcal{Z} = 1$ означает упорядоченность, т. е. кристаллизацию при $v = 1$ или образование жидкокристаллической фазы при $v < 1$. Очевидно, что мы рассмотрели здесь чисто энтропийный фактор — упорядочение цепей может происходить и в отсутствие каких-либо сил (кроме сил, препятствующих внутреннему вращению), если сами цепи достаточно жестки.

Важная задача физики белков состоит в нахождении структуры глобулы, образуемой цепью или цепями известной первичной структуры в водном окружении (см. § 4.9).

Рассмотрение глобулы в вакууме лишено физического смысла. Белки функционируют в воде, и она активно действует на растворенные молекулы. Строение макромолекулы белка в водном растворе специфично и должно отличаться от ее строения в ином окружении. Решение указанной выше задачи должно одновременно учитывать и свойства белка, и свойства среды.

Прежде всего, вода влияет на водородные связи в глобуле. Для стабилизации элементов вторичной структуры и пространственной структуры в целом необходимо, чтобы образование внутримолекулярных водородных связей давало бы больший выигрыш свободной энергии, чем образование водородных связей с молекулами воды. Эти эффекты, однако, не столь значительны. Клотц и Франклин [79, 80] установили, что образование водородносвязанных димеров метилацетамида $\text{H}_3\text{C}-\text{NH}-\text{COCH}_3$ энергетически выгодно в органических растворителях, но не в воде. Теплота образования димера в CCl_4 равна 4,0 ккал/моль, в CHCl_3 она равна 1,6 ккал/моль, а в воде близка к нулю. Птицын и Скворцов оценили энергию образования водородных связей в полиглутаминовой кислоте и в полилизине, проводя тео-

ретический анализ перехода спираль — клубок в водном растворе [81]. И в этих случаях эффективная энергия связи мала — она составляет примерно 0,2 ккал/моль. Можно думать, что роль воды в стабилизации глобулы в основном иная.

Предположение об определяющем значении гидрофобных взаимодействий для глобуляризации белка было высказано еще в 1944 г. [82, 83]. Идея состояла в том, что углеводородные неполярные радикалы аминокислотных остатков преимущественно контактируют друг с другом, а не с водой; напротив, полярные радикалы взаимодействуют с водой. В результате гибкая макромолекула белка в воде сворачивается в глобулу. неполярные, гидрофобные, радикалы располагаются внутри глобулы, а полярные, гидрофильные, радикалы — на ее поверхности, соприкасающейся с водой.

Эта идея основана прежде всего на данных о низкой растворимости неполярных веществ, например углеводов в воде. Вместе с тем, как следует из ряда фактов, молекулы, содержащие и полярные, и неполярные группы, находясь в водном окружении, располагаются таким образом, что полярные группы контактируют с водой, а неполярные удаляются из водного окружения. Классические опыты Лэнгмюра, изучавшего мономолекулярные слои жирных кислот на поверхности воды, показали, что полярные карбоксильные группы молекул слоя погружены в воду, а неполярные углеводородные радикалы обращены наружу [84]. Та же ситуация определяет структуру мицелл в водных коллоидных растворах мыл: гидрофобные группы располагаются внутри мицеллы, гидрофильные — на ее поверхности.

Глобулярные белки денатурируются (см. § 4.8) под действием слабополярных органических растворителей, образующих водородные связи с большим трудом, чем вода. Действие таких растворителей определяется контактами с гидрофобными группами; эти контакты нарушают гидрофобные взаимодействия. Денатурирующее действие спиртов на белки возрастает с увеличением размеров алифатического радикала [85, 86]. Сильное денатурирующее действие мочевины также объясняется ее способностью ослаблять гидрофобные взаимодействия. Концепция гидрофобных взаимодействий как важнейшего фактора, определяющего пространственную структуру белка, была подробно обоснована Кауцманном [87].

Физическая природа гидрофобных взаимодействий своеобразна. Плохая растворимость углеводов в воде связана не с повышением энергии системы, а с уменьшением ее энтропии. Соответственно растворимость углеводорода в воде уменьшается при нагревании. Опыт показывает, что энергия (энтальпия) при растворении алифатических углеводов понижается, растворение экзотермично. Однако это понижение энергии перекры-

вается возрастанием свободной энергии за счет понижения энтропии. В табл. 4.10 [87] приведены значения ΔS_u , ΔH и ΔF при переносе углеводов из неполярного растворителя в воду.

Таблица 4.10

Изменения термодинамических характеристик углеводов
при переносе их из неполярного растворителя в воду

Исходная система	$T, ^\circ K$	$\Delta S_u,$ э. е.	$\Delta H,$ кал/моль	$\Delta F,$ кал/моль
Метан CH_4 в бензоле	298	-18	-2800	2600
Метан в эфире	298	-19	-2400	3300
Метан в CCl_4	298	-18	-2500	2900
Этан C_2H_6 в бензоле	298	-20	-2200	3800
Этан в CCl_4	298	-18	-1700	3700
Этилен C_2H_4 в бензоле	298	-15	-1610	2920
Ацетилен C_2H_2 в бензоле	298	-27	-190	1870
Жидкий пропан C_3H_8	298	-23	-1800	5050
Жидкий <i>n</i> -бутан C_4H_{10}	298	-23	-1000	5850
Жидкий бензол C_6H_6	291	-14	0	4070
Жидкий толуол C_7H_8	291	-16	0	4650
Жидкий этилбензол C_8H_{10}	291	-19	0	5500
Жидкий <i>m</i> - или <i>p</i> -ксилол	291	-20	0	5800

ΔS_u равно полному изменению энтропии при разбавлении жидкого углеводорода до молярной концентрации x

$$\Delta S_u = \Delta S + R \ln x, \quad (4,76)$$

где $R \ln x$ — энтропия смешения. Соответственно

$$\Delta F = -RT (\ln K + \ln x), \quad (4,77)$$

где K — константа равновесия раствора. Значения ΔH и ΔS_u находят из температурной зависимости K . Образование мицелл молекулами мыл в воде также сопровождается значительным понижением энтропии [88].

Батлер показал, что эти эффекты характеризуют изменение состояния воды, а не углеводорода [89]: их можно трактовать как внедрение неполярных молекул в структурированные (льдоподобные) области воды и в более плотные неструктурированные области. В первом случае молекулы размещаются в пустотах рыхлой структуры, образуя своего рода клатраты, причем дополнительные контакты приводят к уменьшению энергии. Во втором случае увеличение числа контактов углеводород — вода приводит к уменьшению числа контактов вода — вода, которым отвечает более низкая энергия. В результате энергия увеличивается. Следовательно, углеводороды лучше растворяются в структурированных областях и равновесие должно сдвигаться

в сторону увеличения структурированности, что означает понижение энтропии [87, 90]. Эти рассуждения имеют качественный характер, и из них, очевидно, не следует, что понижение энтропии должно превалировать над понижением энергии. Нужно подчеркнуть, что концепция гидрофобных взаимодействий противоречит гипотезе об окружении молекулы белка упорядоченными слоями «структурированной» воды, стабилизирующими нативную, глобулярную конформацию. Эта гипотеза (см. [91—94]) сомнительна — образование таких упорядоченных слоев приводило бы не к уменьшению, а к увеличению свободной энергии.

Имеется ряд попыток построения количественной теории гидрофобных взаимодействий, основанных на моделях структуры воды. Как уже указывалось (см. стр. 206), Шерага и сотрудники предложили модель, учитывающую ряд возможных состояний молекул H_2O , а именно, состояний без водородных связей, с одной, двумя, тремя и четырьмя водородными связями. Последнее состояние отвечает льдоподобной структуре. Координационные числа для таких структур меняются в обратной последовательности — наибольшее соответствует несвязанному состоянию, в котором молекулы могут быть плотно упакованы, наименьшее, равное 4, — льдоподобной структуре (ср. стр. 202) [47, 52, 95—100]. Введение гидрофобной молекулы или группы увеличивает координационное число для льдоподобной структуры и, следовательно, понижает энергию молекул с четырьмя водородными связями на некоторую величину ΔE_1 . Напротив, энергии остальных четырех состояний повышаются предположительно на одну и ту же величину ΔE_2 (рис. 4.21). Немети и Шерага оценивают два параметра ΔE_1 и ΔE_2 из опытных данных и находят для алифатических углеводородов $\Delta E_1 = -0,03$, $\Delta E_2 = 0,31$ ккал/моль, для ароматических $\Delta E_1 = -0,16$, $\Delta E_2 = 0,18$ ккал/моль. Получив соответствующее выражение для статистической суммы, можно рассчитать величины ΔF , ΔH , ΔS и Δc_p , отвечающие контактам в любых парах неполярных боковых групп белковой молекулы. Найденные значения, естественно, варьируют для разных групп. При 25 °C ΔF варьирует от $-0,2$ до $-1,5$ ккал/моль, ΔH — от $0,3$ до $1,8$ ккал/моль, ΔS — от $1,7$ до 11 ккал/моль·град и Δc_p — от -10 до -50 кал/град. Как подчеркивает Птицын

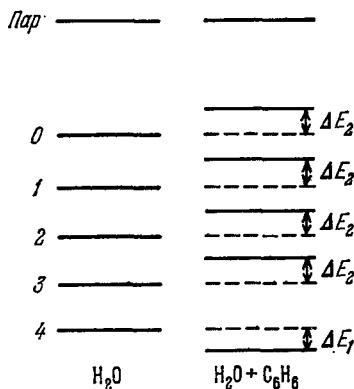


Рис. 4.21. Схема уровней энергии для воды и водного раствора углеводорода.

[101], если учесть, что гидрофобные аминокислотные остатки составляют от $1/3$ до $1/2$ всех остатков в большинстве белков [102] и в гидрофобных взаимодействиях могут участвовать и неполярные части полярных боковых цепей, то выигрыш свободной энергии при образовании гидрофобного ядра может быть вполне достаточен для стабилизации глобулярной структуры.

Приведенные численные оценки согласуются с описанными качественными представлениями. Однако, как уже указывалось (см. стр. 206), эта модельная теория не подтверждается спектроскопическими данными.

Метод, предложенный в работе [174] (см. стр. 207), был эффективно применен Дашевским и соавторами к расчету термодинамических функций систем вода плюс метан и вода плюс твердые сферы [175—177]. В этих работах развита статистическая механика гидрофобных взаимодействий. Впервые определены кривые зависимости свободной энергии гидрофобного взаимодействия от расстояния между частицами. Дальнейшее развитие таких работ может оказаться существенным для физики белков.

Очевидно, что бессмысленно говорить о «гидрофобных силах». Специфических сил здесь нет, мы имеем дело, с одной стороны, с обычными ван-дер-ваальсовыми силами и водородными связями, с другой — со структурой воды как целого.

В следующем параграфе будет рассмотрено влияние водного окружения, т. е. прежде всего гидрофобных взаимодействий, на различные силы, действующие в глобуле, на ее тонкую структуру. Остановимся предварительно на грубой оценке влияния гидрофобных взаимодействий на форму глобулы. Такая оценка была дана Фишером [103], разбившим все аминокислотные остатки на две группы — полярные, или гидрофильные (Арг, Асп, Гис, Глу, Лиз, Сер, Тир, Тре), и неполярные, или гидрофобные (остальные 12).

Положим для простоты, что все аминокислотные остатки имеют примерно одинаковые объемы. Гидрофобные взаимодействия заставляют располагаться внутри глобулы гидрофобные остатки; гидрофильные остатки располагаются на ее поверхности. Приближенную форму глобулы можно найти путем элементарного расчета. Считаем, что внешний слой глобулы, состоящий из гидрофильных остатков, мономолекулярен и имеет постоянную толщину d . Если глобула сферична, то объем этого слоя равен

$$V_e = \frac{4\pi}{3} [r^3 - (r - d)^3], \quad (4,78)$$

где r — радиус глобулы. Внутренний объем глобулы, т. е. объем гидрофобных остатков,

$$V_i = \frac{4\pi}{3} (r - d)^3. \quad (4,79)$$

Отношение числа гидрофильных остатков к числу гидрофобных $b = V_e/V_i$. Для сферической глобулы

$$b = b_s = \frac{r^3}{(r-d)^3} - 1. \quad (4,80)$$

Получаем

$$V_e = V_t \frac{b}{b+1}, \quad (4,81)$$

где $V_t = V_e + V_i$ — полный объем глобулы. Вместе с тем $V_e \approx Ad$, где A — поверхность гидрофобного ядра глобулы. Фишер считает $d \approx 4 \text{ \AA}$. Следовательно,

$$b = \frac{A}{1/4 V - A} \quad (4,82)$$

(здесь A измеряется в \AA , V — в \AA^3). Чем меньше V_t , тем меньше

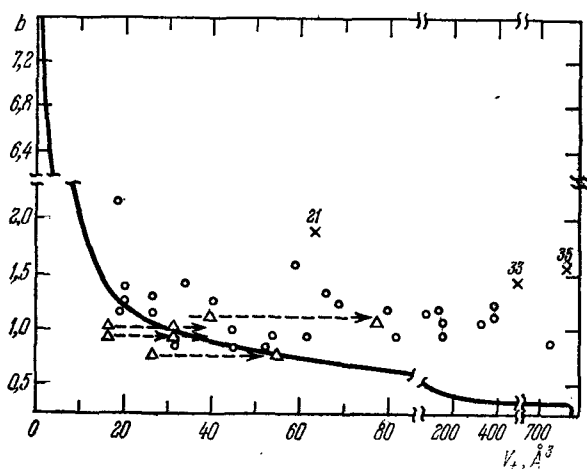


Рис. 4.22. Значения b , вычисленные из данных о составе 35 белков, как функция V_t (21 — тропиомозин, 33 — фибриноген, 35 — миозин).

м. в. белка, тем больше должна быть его относительная гидрофильность (полярность). Возможны ситуации, в которых гидрофобные остатки остаются незакрытыми гидрофильными остатками. Для сферы с радиусом $r \rightarrow d$ $b_s \rightarrow \infty$.

На рис. 4.22 приведены для сравнения теоретическая кривая (4,82), вычисленная для сферы (сплошная линия), и экспериментальные значения V_t и b для ряда белков. Экспериментальные точки располагаются вблизи теоретической кривой, однако, как правило, выше нее. Глобула может быть сферической лишь при $b = b_s$. Обычно $b > b_s$, и глобула принимает форму эллипсоида, уже не отвечающую условию минимума поверхности при

данном объеме. При $b > b_s$ число гидрофильных остатков больше минимального, необходимого для защиты гидрофобного ядра от водного окружения. Если $b \gg b_s$, то возникает не глобулярная, а фибриллярная структура (крестики на рис. 4.22).

Напротив, при $b < b_s$ гидрофильные остатки не закрывают гидрофобные. На поверхности глобулы располагаются теперь и гидрофобные остатки, не защищенные от растворителя. Гидрофобные взаимодействия этих остатков могут привести к слипанию глобул. Такая агрегация означает возникновение четвертичной структуры (треугольники на рис. 4.22). В результате агрегаций они смещаются вправо, что показано пунктирными стрелками.

Позднее Фишер рассмотрел условия гидратирования молекулы белка [104]. Он предположил, что поверхность белка покрыта мономолекулярным слоем воды, в котором молекулы H_2O распределены равномерно. Молекула воды занимает объем $33,3 \text{ \AA}^3$, соответствующий поверхности белка площадью $10,3 \text{ \AA}^2$. Следовательно, масса (в г) воды, приходящаяся на 1 \AA^2 поверхности белка, равна

$$g = \frac{18 \text{ г} \cdot \text{моль}^{-1}}{10,3 \text{ \AA}^2 \cdot 6,02 \cdot 10^{23} \text{ моль}^{-1}} = 2,9 \cdot 10^{-24} \text{ г/\AA}^2.$$

Гидратируемая поверхность белка равна A . Так как $V_e \approx Ad$, то $A = V_e/d = 1/4 V_e \text{ \AA}^2$. Следовательно, для массы воды, приходящейся на 1 г белка, находим

$$gA = 1/4 g V_e = 0,725 \cdot 10^{-24} V_e = 0,725 \cdot 10^{-24} V_t \frac{b}{b+1}. \quad (4,83)$$

Вычисления, проведенные для 34 белков, показали, что величина gA меняется от 0,22 до 0,33 для белков с м. в. от 12 500 до 320 000. В среднем $gA = 0,28$. При сделанных предположениях это означает, что поверхность макромолекулы белка растет пропорционально ее объему — отношение A к V_t есть величина примерно постоянная, не зависящая от b (в рассмотренных 34 белках b меняется от 0,7 до 1,7). Сравнение этих данных с предыдущими расчетами показывает, что с ростом V_t (т. е. м. в.) b/b_s возрастает по закону, близкому к линейному. Чем больше объем макромолекулы белка, тем сильнее она отличается от сферы. Следует иметь в виду, что объем V_t , входящий в (4,83), вычислен из м. в. белка в грубом предположении о среднем равенстве удельных объемов (на единицу молекулярного веса) у всех аминокислотных остатков. При этом и получается линейная зависимость gA от $b/(b+1)$.

В действительности же эта закономерность далеко не всегда выполняется. Известны и очень крупные белки сферической формы.

Результаты работ Фишера свидетельствуют в пользу представлений об определяющей роли гидрофобных взаимодействий. В этих работах предпринята попытка обойти трудности строгого рассмотрения молекулы белка как ансамбля, состоящего из 20 разнородных типов единиц. Вместо 20 типов рассматриваются лишь два. Действительность, конечно, гораздо сложнее. Такое упрощение пригодно лишь для грубых оценок; оно игнорирует не только многообразие полярных и неполярных остатков, но и наличие заданной их последовательности вдоль цепи. Очевидно, что неполярные гидрофобные остатки могут фигурировать и на поверхности глобулы, если в цепи они соседствуют с гидрофильными остатками. С другой стороны, можно думать, что ядро глобулы должно быть преимущественно гидрофобным, так как это стабилизирует структуру. В § 4.7 будет показано, что последнее предположение подтверждается прямым опытом.

Таблица 4.11

Гидрофобность аминокислотных остатков

Остаток	ΔF , кал/моль	Гидрофобный вклад	Полярный вклад	Вклад аромати- ческой группы
1. Три	3000	5850	—600	—3200
2. Иле	2970	2600		
3. Тир	2870	4500	—600	—1600
4. Фен	2650	4500		—1600
5. Про	2600	1950		
6. Лей	2420	2600		
7. Вал	1690	1950		
8. Лиз	1500	2600	—600	
9. Гис	1400 (оценка)	2600	—1200	
10. Мет	1300	1950		
11. Ала	730	650		
12. Арг	730	1950	—1800	
13. Цис	650			
14. Глу	550	1300	—1200	
15. Асп	540	650	—1200	
16. Тре	440	1300	—600	
17. Сер	40	650	—600	
18. Гли	0			
19. Асн	—10	650	—1200	
20. Глн	—100	1300	—1200	

Разделение аминокислотных остатков на гидрофобные и гидрофильные до некоторой степени условно. В сущности, следует говорить о *степени гидрофобности* остатка и ввести ее количественную меру. В качестве нее Тенфорд предложил величину изменения свободной энергии ΔF , приходящуюся на боковую группу свободной аминокислоты, при переносе аминокислоты из C_2H_5OH в воду [105]. В табл. 4.11 приведены значения ΔF , экс-

периментально определенные Тенфордом, и оценки различных вкладов в эти величины, полученные Даннилом [106] (см. также [107]). ΔF для Гли принято за нуль, так как он не содержит боковой группы. Первые 10 аминокислот можно условно считать гидрофобными, вторые 10 — гидрофильными. Очевидно, что эта классификация не совпадает с классификацией по полярности, т. е. по дипольным моментам. Сильно полярный Арг имеет ту же гидрофобность, что и неполярный Ала, благодаря наличию объемистого углеводородного остатка.

Учет степени гидрофобности аминокислотных остатков дает информацию о степени стабилизации глобулярной макромолекулы белка гидрофобными взаимодействиями. Однако такого рода оценки недостаточны. Необходимо рассматривать реальную структуру глобулы и учитывать весь баланс происходящих в ней взаимодействий. Упрощенная теория Фишера не обеспечивает этого.

Распределение остатков между внешним слоем и ядром глобулы должно зависеть от свободных энергий их взаимодействия с водой и соседними остатками. В равновесных условиях должно быть соответствующее больцмановское распределение. Брандтс развил и уточнил идею Фишера [107]. Он рассматривал три типа остатков: гидрофобные, находящиеся преимущественно внутри глобулы (Ала, Вал, Лей, Фен и т. д.), гидрофильные, преимущественно располагающиеся на поверхности (в частности, все заряженные остатки), и нейтральные (Гли, Сер, Цис и, вероятно, Асн и Гли), локализующиеся внутри и снаружи глобулы. Числа заполнения внутренних и внешних ячеек для каждого типа остатков взвешиваются в соответствии со свободной энергией переноса остатка извне вовнутрь и со статистическим вырожждением. Это дает возможность написать статистическую сумму для глобулы и построить статистико-термодинамическую теорию денатурации (см. §§ 4.7, 4.8).

§ 4.7. СТРУКТУРА И УСТОЙЧИВОСТЬ ГЛОБУЛЫ

Мы располагаем следующими источниками информации о структуре глобулы:

1. Данные рентгеноструктурного анализа, в идеале позволяющие локализовать каждый атом в молекуле белка (см. § 5.1).
2. Данные оптических и спектроскопических измерений, дающие возможность оценить долю остатков, находящихся в α -спиральной, в кросс β - и в неупорядоченной формах (см. гл. 5).
3. Данные, полученные путем изучения дейтеробмена, позволяющие оценить долю остатков, соединенных водородными связями.